

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ ЕКОНОМІКИ,  
ТОРГІВЛІ ТА СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА УКРАЇНИ  
ДЕРЖАВНИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ ІНСТИТУТ З ЛАБОРАТОРНОЇ  
ДІАГНОСТИКИ ТА ВЕТЕРИНАРНО-САНІТАРНОЇ ЕКСПЕРТИЗИ

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ  
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**КОЗИЦЬКА ТАМАРА ГРИГОРІВНА**

УДК 619:616.98:579.861.2:636(477)

ДИСЕРТАЦІЯ

**МЕТИЦИЛІНРЕЗИСТЕНТНИЙ СТАФІЛОКОК:  
ПОШИРЕННЯ, БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА ДІАГНОСТИКА**

16.00.03 — ветеринарна мікробіологія, епізоотологія,  
інфекційні хвороби та імунологія  
211 — ветеринарна медицина

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,  
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_ Т. Г. Козицька

Науковий керівник: **Гаркавенко Тетяна Олександрівна**,  
кандидат ветеринарних наук,  
старший науковий співробітник

Київ — 2021

## АНОТАЦІЯ

**Козицька Т. Г. Метицилінрезистентний стафілокок: поширення, біологічні властивості та діагностика.** – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.03 «Ветеринарна мікробіологія, епізоотологія, інфекційні хвороби та імунологія». – Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи; Національний університет біоресурсів і природокористування України. Київ. 2021.

Дисертаційна робота присвячена вивченню поширення *S. aureus* на території України серед сільськогосподарських тварин, контамінації золотистими стафілококами продукції тваринного походження і об'єктів довкілля, які підлягають ветеринарно-санітарному контролю, вивченню їхніх біологічних властивостей, виявленню в польових ізолятів *S. aureus* набутих механізмів резистентності (*mecA*-гена) та визначенню частки метицилінрезистентних *S. aureus* (*MRSA*) серед виділених ізолятів стафілококів.

Завдяки результатам власних досліджень та аналізу офіційної звітності державних лабораторій Держпродспоживслужби за період 2015–2019 рр., встановлено високий рівень циркуляції збудника стафілококозу в Україні: серед хутрових звірів – 18,3 % у середньому по Україні за п'ять років від загальної кількості матеріалів, що надійшли з підозрою на це захворювання, спостерігалася тенденція до зростання від 19 % у 2015 р. до 100 % у 2019 р., щодо великої рогатої худоби, то питома вага позитивних результатів становила 5,7 %, виділення збудника зростало з кожним роком відповідно від 4,8 % до 11,5 %, частка виділених від дрібної рогатої худоби *S. aureus* становила 5,1 %, показники виявлення мали також тенденцією до зростання від 5,1 % до 14,3 % у 2019 р., щодо виділення *S. aureus* від птиці, то в середньому за п'ять років позитивні результати були виявлені у 0,8 % та зросли за п'ять років від 0,3 % до 1,6 %. Лише аналогічні показники у свиней мали тенденцію до зниження, за п'ятирічний

період у середньому було виділено 1,1 % *S. aureus*, у 2015 р. було діагностовано 1,5 % збудників стафілококозу та у 2019 р. не було виявлено жодного позитивного випадка.

Найбільша кількість випадків стафілококозів за період 2015–2019 рр. зустрічалась у Рівненській області – 62 %, Запорізькій – 54,1 %, Хмельницькій – 50 %, Дніпропетровській – 47,2 %, Сумській – 44,7 % і Кіровоградській – 40 %. За п'ять років найбільша кількість досліджень була проведена у Львівській області – 25 508, проте частка позитивних результатів *S. aureus* становила лише 0,02 %. У Закарпатській і Миколаївській областях стафілококоз тварин лабораторно не підтверджено в жодному випадку. В інших областях питома вага виявлення *S. aureus* серед тварин коливалася у межах від 0,8 % до 31,3 %.

Щодо контамінації *S. aureus* продукції тваринного походження, то протягом цього ж періоду найвищий рівень забруднення цим мікроорганізмом спостерігався в баранині – 10,8 %, у досліджуваних зразках іншої продукції тваринного походження кількість виділених ізолятів *S. aureus* за період 2015–2019 рр. значно знизилася, зокрема у зразках яловичини – від 3,6 до 2,0 %; у фарші м'ясному – від 10,3 до 0,8%; у фарші з м'яса птиці – від 5,4 до 1,6 %; у напівфабрикатах з м'яса – від 0,2 до 0,1 %; яйцепродуктах – від 4,8 до 0,2 %; кисломолочній продукції – від 0,1 до 0,02 % від загальної кількості досліджених зразків продукції, що пов'язано, на нашу думку, з обов'язковим запровадженням на всіх підприємствах харчової промисловості системи виробничого контролю НАССР.

Що стосується зразків змивів, відібраних з об'єктів навколишнього середовища, то аналіз результатів проведених досліджень на наявність *S. aureus* показав, що за період 2015–2019 рр. серед 315 579 досліджених зразків змивів було виявлено 487 (0,2 %) невідповідностей. Найбільша кількість *S. aureus* була виділена зі змивів, відібраних з обладнання закладів громадського харчування – 1,3 % та з обладнання торгівельних закладів – 1,1 %. Серед досліджених змивів, відібраних з обладнання дитячих закладів, частка контамінації *S. aureus* склала 0,8 %, серед лікувальних закладів – 0,6 %. Виділення стафілококу з інвентаря та

обладнання м'ясопереробних цехів, птахофабрик і тваринницьких приміщень становило лише 0,1 % від загальної кількості досліджених змивів.

Проведено експериментальні дослідження з вивчення резистентності та виведення антибіотикограм загального профілю польових ізолятів *S. aureus*, одержаних зі зразків патологічного та біологічного матеріалу від тварин, продукції тваринного походження і об'єктів навколишнього середовища. Уперше в Україні вивчено чутливість ізолятів *S. aureus* до 12 груп антибактеріальних препаратів. До групи пеніцилінів рівень резистентності досліджуваних *S. aureus* склав 65,8 % від всіх досліджених ізолятів, до тріметоприму – 44,8 %, до групи макролідів – 38,5 %, до фузидієвої кислоти – 37,8 %, до груп хінолонів та лінкозамідів – 36,8 %, до рифампіцинів – 34,2 %, до аміноглікозидів – 31,6 %, до тетрациклінів – 30,0 %, до глікопептидів – 11,8 %, до амфеніколів – 10,0 %, до оксизолідінонів – 7,8 %. Аналіз результатів досліджень свідчив про суттєве поширення резистентних стафілококів (82,1 % від загальної кількості досліджених ізолятів).

Уперше в Україні вивчено рівень поширеності *S. aureus* з набутими механізмами резистентності (геном *mecA*); вивчено рівень поширеності *MRSA* серед тварин, у продукції тваринного походження та об'єктах довкілля, які підлягають ветеринарно-санітарному контролю. Результати досліджень показали, що частка *MRSA* склала 53,8 % від загальної кількості досліджуваних штамів.

Проведено експериментальні випробування з використанням фенотипових методів виявлення *MRSA* серед ізолятів *S. aureus*, одержаних зі зразків продукції тваринного походження, об'єктів довкілля методом скринінгу з цефокситіном як специфічного маркера та встановлено, що питома вага штамів *MRSA* серед 39 досліджуваних штамів *Staphylococcus aureus* складала більше половини досліджуваних культур – 21 (53,8 %) та засвідчувала високий рівень їхньої поширеності у харчовому ланцюзі людини та довкіллі. Також було проведено пряме визначення гена *mecA* молекулярно-генетичним методом (ПЛР) для

підтвердження ідентифікації *MRSA*. У результаті чого було також підтверджено наявність гена *tesA* в 21 штамі (53,8 %).

Для контролю якості проведення мікробіологічних досліджень як тест-культуру (позитивний контроль) було обрано штам *S. aureus* «22/22» з набутим хромосомальним геном *tesA*, що підтверджено результатами скринінгу з цефокситіном, який був задепонований в Державному науково-контрольному інституті біотехнології і штамів мікроорганізмів (Свідоцтво про первісне депонування штаму мікроорганізму в Депозитарії від 18.02.2019 р.) та кріогенізований і зберігається у стані глибокої заморозки за температури мінус  $72 \pm 5$  °C в Музеї антибіотикорезистентних штамів збудників зоонозів у лабораторії діагностики інфекційних захворювань бактеріальної етіології науково-дослідного бактеріологічного відділу ДНДІЛДВСЕ.

У дисертаційній роботі висвітлено проблему здатності біоплівкоутворення золотистими стафілококами. Аналіз результатів досліджень показав актуальність проблеми, оскільки антибіотикорезистентні досліджувані штами *S. aureus* у 85,7 % випадків володіли властивістю утворювати біоплівки з різним рівнем активності їх формування та високим і середнім рівнями оптичної густини, що підтверджує стратегію виживання цих бактерій у займаних ними екологічних нішах. Перебуваючи у прикріпленому стані у складі біоплівок, бактерії захищені від шкідливих факторів навколишнього середовища та дії антибактеріальних речовин.

Частину дисертаційної роботи присвячено проведенню експериментальних досліджень з польовими ізолятами *Staphylococcus aureus* щодо визначення їхньої стійкості до дезінфікуючих засобів з різними діючими речовинами. Аналіз одержаних результатів досліджень показав, що мультиантибіотикорезистентні, у т. ч. метицилінрезистентні штами *S. aureus*, були стійкими до різних дезінфікуючих засобів у низьких концентраціях – 0,25 % за експозиції 30 хв, хоча виробник рекомендував означені концентрації для знешкодження збудника на поверхнях об'єктів, що підтверджує ймовірність

формування певних однакових механізмів захисту від антибактеріальних препаратів і дезінфікуючих засобів.

Практичне значення одержаних результатів досліджень підтверджується застосуванням у лабораторній практиці розроблених методичних рекомендацій, спрямованих на визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів, виявлення *MRSA* та механізмів резистентності *S. aureus* до антибактеріальних препаратів, визначення бактерицидної активності дезінфікуючих засобів щодо золотистих стафілококів у біоплівках.

Аналіз проведених результатів досліджень засвідчує, що резистентність до антибіотиків у *S. aureus* є зростаючою загрозою суспільному здоров'ю, яка безпосередньо пов'язана з поширенням золотистих стафілококів, зокрема *MRSA*, серед людей, сільськогосподарських тварин, контамінації ними продукції тваринного походження та об'єктів довкілля.

Ситуація, що склалася, свідчить про необхідність у подальшому розробки національної програми бактеріологічного моніторингу *MRSA* в рамках концепції «Єдине здоров'я» задля проведення оцінки ризиків, запобіганню їх поширення серед тварин, людей, у харчових продуктах та об'єктах довкілля

*Ключові слова:* *Staphylococcus aureus*, *MRSA*, антибіотикорезистентність, набуті механізми резистентності, ген *mecA*, антибіотики, цефокситін, біоплівка, дезінфікуючі засоби, бактерицидна дія.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

**Статті у наукових фахових виданнях України,  
у тому числі включених до міжнародних наукометричних баз даних**

1. Гаркавенко Т. О., Козицька Т. Г., Ординська Д. О., Меженська Н. А., Семенчукова І. В. Метицилінрезистентний стафілокок (*MRSA*) – стан проблеми у світі та в Україні. *Ветеринарна біотехнологія*. 2015. Вип. 26. С. 41–51.

(Здобувачем взято участь в аналізі та зборі даних, формулюванні висновків та написанні статті).

2. **Козицька Т. Г.**, Гаркавенко Т. О. Аналіз результатів дослідження щодо наявності метицилінрезистентного стафілокока (*MRSA*) в харчових продуктах тваринного походження. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки*. 2018. Т. 20. № 87. С. 112–115. (Здобувачем взято участь в проведенні експериментальних досліджень, аналізі отриманих результатів, формулюванні висновків та підготовці статті).

3. Гаркавенко Т. О., **Козицька Т. Г.**, Горбатюк О. І., Коваленко В. Л. Вивчення стійкості антибіотикорезистентних штамів *S. aureus* до дезінфікуючих засобів з різними діючими речовинами. *Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин*. 2019. Вип. 20. № 2. С. 183–193. (Здобувачем взято участь в проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).

4. Горбатюк О. І., Гаркавенко Т. О., **Козицька Т. Г.**, Ординська Д. О., Мусієць І. В., Щур Н. В. Бактеріологічний моніторинг стафілокової інфекції у свиней, сировині і продукції із свинини на території України та біологічні ризики для людини. *Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин*. 2019. Вип. 20. № 2. С. 194–200. (Здобувачем взято участь в проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).

5. Гаркавенко Т. О., Горбатюк О. І., **Козицька Т. Г.**, Андріяшук В. О., Кухтин М. Д., Коваленко В. Л., Мусієць І. В., Ординська Д. О. Вивчення здатності до формування біоплівки польовими ізолятами *S. aureus*, виділеними із сировини і продукції тваринного походження. *Ветеринарна біотехнологія*. 2020. Вип. 37. С. 20–30. (Здобувачем взято участь в проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).

**Стаття у науковому виданні України, включеному до міжнародної  
наукометричної бази даних Web of Science**

6. Kovalenko V. L., Ponomarenko G. V., Kukhtyn M. D., Paliy A. P., Bodnar O. O., Rebenko H. I., **Kozytska T. G.**, Makarevich T. V., Ponomarenko O. V., Palii A. P. Evaluation of acute toxicity of the «Orgasept» disinfectant. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2020. Vol. 10. Iss. 4. P. 273–278. *(Здобувачем взято участь в аналізі отриманих результатів, формулюванні висновків та підготовці статті).*

**Методичні рекомендації**

7. Гаркавенко Т. О., Неволько О. М., **Козицька Т. Г.**, Ординська Д. О., Меженська Н. А. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів: методичні вказівки. К., 2019. 79 с. *(Затверджено науково-методичною радою Державної фітосанітарної служби України, протокол № 1 від 25 грудня 2014 р. Здобувачем взято участь в написанні текстової частини вказівок).*

8. Гаркавенко Т. О., **Козицька Т. Г.**, Горбатюк О. І., Андріяшук В. О., Азиркіна І. М., Дибкова С. М., Гаркавенко В. М., Мех Н. В. Сучасні методи визначення чутливості та виявлення механізмів резистентності *Staphylococcus aureus* до антибактеріальних препаратів: методичні вказівки. К., 2019. 54 с. *(Затверджено Вченою радою Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, протокол № 1 від 27.02.2019 р. Здобувачем взято участь у проведенні досліджень, підготовці та написанні вказівок).*

9. Кухтин М. Т., Коваленко В. Л., Гаркавенко Т. О., Горбатюк О. І., **Козицька Т. Г.**, Болтик Н. П., Климик В. Т., Рущинська Т. М., Горюк Ю. В., Салата В. З. Методичні рекомендації з визначення бактерицидної активності дезінфікуючих засобів на бактеріях у біоплівках. К., 2020. 25 с. *(Затверджено Вченою радою Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, протокол № 1 від*



24.02.2020 р. Здобувачем взято участь у проведенні досліджень, підготовці та написанні вказівок).

### Тези наукових доповідей

10. **Kozytska T.**, Garkavenko T. Analysis of the results of the study on the presence of methicillin-resistant *Staphylococcus* (MRSA) in food products of animal origin. *3<sup>rd</sup> Annual BTRP Ukraine Regional One Health Research Symposium, Kyiv, Ukraine, 16–20 April 2018* : abstract. Kyiv, 2018. P. 296. (Здобувачем взято участь в проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та написанні тез).

11. **Kozytska T.**, Garkavenko T. Circulation of methicillin-resistant *Staphylococcus* (MRSA) in livestock and domestic animals in Ukraine. *4<sup>th</sup> Annual BTRP Ukraine Regional One Health Research Symposium, Kyiv, Ukraine, 20–24 May 2019* : abstract. Kyiv, 2019. P. 245. (Здобувачем взято участь в проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та написанні тез).

### ANNOTATION

**Kozytska T. G. Methicillin-resistant staphylococcus: distribution, biological properties and diagnosis.** – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

The dissertation on competition of a scientific degree of the candidate of veterinary sciences on a specialty 16.00.03 – "Veterinary microbiology, epizootology, infectious diseases and immunology". – State Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary Sanitary Examination, Ministry of Economic Development of Ukraine; National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, 2021.

The dissertation is devoted to the study of the spread of *Staphylococcus aureus* on the territory of Ukraine among farm animals, contamination with *Staphylococcus aureus* of products of animal origin and environmental objects, study of their biological

properties, detection of acquired resistance mechanisms in mezoicin among the isolated isolates of staphylococcus.

Thanks to the results of own research and analysis of official reports of state laboratories of the State Food and Consumer Service for the period 2015–2019, a high level of circulation of the pathogen of staphylococcus in Ukraine: among fur animals – 18.3% on average in Ukraine for five years. suspected of this disease, there was a tendency to increase from 19% in 2015 to 100% in 2019, for cattle, the percentage of positive results was 5.7%, the release of the pathogen increased every year in response to 4.8% to 11.5%, the percentage of *S. aureus* isolated from small cattle was 5.1%, detection rates also tended to increase from 5.1% to 14.3% in 2019, relative to the allocation of *S. aureus* from poultry, on average over five years positive results were found in 0.8% and increased over five years from 0.3% to 1.6%. Only similar indicators in pigs tended to decrease, over a five-year period, an average of 1.1% of *S. aureus* was isolated, in 2015 1.5% of staphylococcal pathogens were diagnosed and in 2019 no positive case was detected.

The largest number of cases of staphylococci in the period 2015–2019 occurred in Rivne region – 62%, Zaporizhzhia – 54.1%, Khmelnytskyi – 50%, Dnipropetrovsk – 47.2%, Sumy – 44.7% and Kirovohrad – 40%. In five years, the largest number of studies was conducted in the Lviv region – 25,508, but the percentage of positive results of *S. aureus* was only 0.02%. In the Zakarpattia and Mykolaiv regions staphylococcus of animals is not confirmed in laboratory in any case. In other areas, the percentage of detection of *S. aureus* among animals ranged from 0.8% to 31.3%.

Regarding the contamination of *S. aureus* products of animal origin, during the same period the highest level of contamination with this microorganism was observed in mutton – 10.8%, in the experimental samples of other products of animal origin the number of isolated isolates of *S. aureus* for the period 2015–2019 decreased significantly in particular in beef samples – from 3.6 to 2.0%; in minced meat – from 10.3 to 0.8%; in minced poultry – from 5.4 to 1.6%; in semi-finished meat products – from 0.2 to 0.1%; egg products – from 4.8 to 0.2%; fermented milk products – from 0.1 to 0.02% of the total number of tested product samples, which is associated, in our

opinion, with the mandatory introduction of the HACCP production control system at all food industry enterprises.

As for the samples of washings taken from environmental objects, the analysis of the results of studies on the presence of *S. aureus* showed that for the period 2015–2019 among 315,579 tested samples of washings were found 487 (0.2%) discrepancies. The largest amount of *S. aureus* was isolated from washes taken from the equipment of catering establishments – 1.3% and from the equipment of trade establishments – 1.1%. Among the studied washes selected from the equipment of children's institutions, the percentage of *S. aureus* contamination was 0.8%, among medical institutions – 0.6%. Isolation of staphylococcus from the inventory and equipment of meat processing plants, poultry farms and livestock facilities accounted for only 0.1% of the total number of washed washes.

For the first time in Ukraine, experimental studies have been conducted to study the resistance and derivation of antibioticograms of the general profile of *S. aureus* field isolates obtained from samples of pathological and biological material from animals, products of animal origin and environmental objects. 39 isolates of *S. aureus* were used, the sensitivity of which was tested up to 12 groups of antibacterial drugs. The level of resistance of the experimental *S. aureus* to the group of penicillins was 65.8% of all studied isolates, to trimethoprim – 44.8%, to the group of macrolides – 38.5%, to the fusidic acid – 37.8%, to the groups of quinolones and lincosamides – 36.8%, to rifampicins – 34.2%, to aminoglycosides – 31.6%, to tetracyclines – 30.0%, to glycopeptides – 11.8%, to amphenicols – 10.0%, to oxazolidinones – 7.8%. Analysis of the study results showed a significant prevalence of resistant staphylococci (82.1% of the total number of studied isolates).

For the first time in Ukraine, the problem of determining *S. aureus* with acquired mechanisms of resistance (*mecA* gene) was raised and the prevalence of *MRSA* among animals, animal products and environmental objects subject to veterinary and sanitary control was studied. The results showed that the share of *MRSA* was 36.8% of the total number of isolated strains.

For the first time in Ukraine, experimental tests were performed using phenotypic methods for detecting *MRSA* among isolates of *S. aureus* obtained from samples of animal products, objects of the environment by screening with cefoxitin as a specific marker and found that the proportion of *MRSA* strains among 39 experimental strains *S. aureus* accounted for more than half of the experimental cultures – 21 (53.8%) and showed a high level of their prevalence in the human food chain and the environment. Molecular genetic determination of the *mecA* gene by PCR was also performed to confirm the identification of MPA. As a result, the presence of the *mecA* gene in 21 strains (53.8%) was also confirmed.

To control the quality of microbiological studies as a test culture (positive control), was selected *S. aureus* strain "22/22", with the acquired chromosomal gene *mecA*, confirmed by screening with cefoxitin, which was deposited in the State Scientific Control Institute of Biotechnology and Strains of Microorganisms with the assignment of the Certificate of initial deposit of the strain of the microorganism in the Depository from 18.02.2019 and cryogenized, stored in a state of deep freezing at a temperature of minus  $72\pm 5^{\circ}\text{C}$  in the Museum of antibiotic-resistant diseases of infectious strains etiology of the research bacteriological department of SSRILDVSE.

In the dissertation work the problem of the ability of biofilm formation by *Staphylococcus aureus* was covered. The analysis of research results showed the urgency of the problem, as antibiotic-resistant experimental strains of *S. aureus* in 85.7% of cases had the ability to form biofilms with different levels of activity and high and medium levels of optical density, which confirms the survival strategy of these bacteria in their ecological niches. Being in an attached state in the composition of biofilms, bacteria are protected from harmful environmental factors and the action of antibacterial substances.

Part of the dissertation was devoted to experimental studies with field isolates of *Staphylococcus aureus* to determine the resistance to disinfectants with different active substances. Analysis of the obtained results showed that multiantibiotic-resistant, including methicillin-resistant strains of *S. aureus*, were resistant to various disinfectants at low concentrations – 0.25% at an exposure of 30 min, although the

manufacturer recommended these concentrations to neutralize the pathogen on the surfaces of confirming the possibility of the formation of certain identical mechanisms of protection against antibacterial drugs and disinfectants.

The practical significance of the obtained research results is confirmed by the application in laboratory practice of developed methodological recommendations aimed at determining the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs, detection of *MRSA* and resistance mechanisms of *S. aureus* to antibacterial drugs, determination of bactericidal activity of disinfectants against *S. aureus* in biofilms.

Analysis of the results of studies shows that antibiotic resistance in *S. aureus* is a growing threat to public health, which is directly related to the spread of *Staphylococcus aureus*, including *MRSA*, among humans, farm animals, their contamination of animal products and objects environment.

The current situation indicates the need to further develop the national bacteriological monitoring program *MRSA* within the concept of "One Health", in order to assess the risks, prevent their spread among animals, humans, food and the environment.

*Key words: Staphylococcus aureus, MRSA, antibiotic resistance, acquired mechanisms of resistance, mecA gene, antibiotics, cefoxitin, biofilm, disinfectants, bactericidal action.*

## З М І С Т

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ .....	16
ВСТУП .....	17
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ .....	24
1.1 Систематика та характеристика властивостей стафілококів .....	24
1.2 Стафілококові інфекції в Україні .....	30
1.3 Метицилінрезистентний стафілокок ( <i>MRSA</i> ) – стан проблеми у світі .....	32
1.4 Механізми резистентності <i>MRSA</i> .....	35
1.5 Методи виявлення <i>MRSA</i> .....	40
1.6 Висновки з огляду літератури .....	45
РОЗДІЛ 2 ВИБІР НАПРЯМІВ ДОСЛІДЖЕННЯ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ .....	48
РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ .....	61
3.1 Аналіз результатів бактеріологічних досліджень проб патологічного та біологічного матеріалу від тварин щодо <i>S. aureus</i> на території України за період 2015–2019 рр. ....	61
3.2 Аналіз результатів бактеріологічних досліджень щодо контамінації продукції тваринного походження <i>S. aureus</i> за період 2015–2019 рр. ....	73
3.3 Аналіз результатів бактеріологічних досліджень щодо контамінації об'єктів довкілля <i>S. aureus</i> в Україні за період 2015–2019 рр. ....	81

3.4 Вивчення особливостей біологічних властивостей та діагностики ізолятів <i>S. aureus</i> , одержаних з патологічного та біологічного матеріалів від тварин, проб продукції тваринного походження і з проб, відібраних з об'єктів довкілля .....	89
3.5 Визначення чутливості досліджуваних штамів <i>S. aureus</i> до антибактеріальних препаратів .....	100
3.6 Виявлення метицилінрезистентних штамів <i>S. aureus</i> ( <i>MRSA</i> ) з патологічного та біологічного матеріалів від тварин, проб продукції тваринного походження і проб, відібраних з об'єктів довкілля .....	109
3.6.1 Ідентифікація метицилінрезистентних <i>S. aureus</i> методом полімеразної ланцюгової реакції в режимі реального часу .....	114
3.6.2 Депонування штаму <i>MRSA</i> .....	114
3.7 Результати досліджень біоплівкоутворюючих властивостей штамів <i>S. aureus</i> .....	117
3.8 Вивчення стійкості антибіотикорезистентних штамів <i>S. aureus</i> до дезінфікуючих засобів .....	122
РОЗДІЛ 4 АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ	
РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ .....	134
ВИСНОВКИ.....	146
ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ .....	149
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ .....	150
ДОДАТКИ .....	177

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

- АБП – антибактеріальні препарати
- АМР – антимікробна резистентність
- ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я
- ДДМ – диско-дифузійний метод
- ДНДІЛДВСЕ – Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи
- ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота
- ЖСА – жовтково-сольовий агар
- КА – кров'яний агар
- МІК – мінімальна інгібуюча концентрація
- МПА – м'ясо-пептонний агар
- МПБ – м'ясо-пептонний бульйон
- МСА – молочно-сольовий агар
- ПЗБ – пеніцилінзв'язуючий білок
- ПЗБ2а – додатковий пеніцилінзв'язуючий білок
- ПЛР-РЧ – полімеразна ланцюгова реакція в режимі реального часу
- РНК – рибонуклеїнова кислота
- CA-MRSA* – community associated *MRSA*
- ECDS – Європейський центр по нагляду та попередження захворювань
- EMRSA – епідеміологічний метицилінрезистентний стафілокок
- EUCAST – Європейський комітет з тестування чутливості до антимікробних препаратів
- HA-MRSA* – health care associated *MRSA*
- LA-MRSA* – livestock associated *MRSA*
- MRSA* – метицилінрезистентний стафілокок
- S. aureus* – *Staphylococcus aureus*
- SCC*mec* – staphylococcal cassette chromosome *mec*



## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Проблема стафілококозів стала однією з найбільш важливих у сучасній інфекційній патології сільськогосподарських тварин, оскільки у її структурі за останні роки значно зросла частота виявлення кокових інфекцій. Патогенність стафілококових збудників пов'язана з токсиноутворенням, інвазивністю, стійкістю до дії антибіотиків і є етіологічним фактором багатьох захворювань людини і тварин. Серед представників роду *Staphylococcus* найбільшим патогенним потенціалом володіє *S. aureus*. Епідеміологічна служба України повідомляє про статистику щодо зростання частоти виділень збудника стафілококу серед людей, які за професійною діяльністю мають контакт з тваринами або переробкою тваринницької сировини, що свідчить про передачу збудника між тваринами, продуктами забою та людиною [18].

Увага дослідників зосереджена на швидкому поширенні стафілококових інфекцій, виникненні особливо важких її проявів, безпосередньо пов'язаних із формуванням набутої резистентності до дії антибактеріальних препаратів (АБП), доказах щодо високої вірулентності штамів стафілококів серед тварин і птиці та збудниках стафілококозів, виділених від хворих та персоналу різних лікарняних закладів, а також значній резистентності патогенних стафілококів до дії зовнішнього середовища [1, 16].

Нині все частіше зустрічаються штами *S. aureus*, стійкі до метициліну. Метицилінрезистентні стафілококи (*MRSA*) – це стафілококи, стійкі до  $\beta$ -лактамних антибіотиків. Основний компонент цієї стійкості – так званий ген *mecA*, який кодує утворення модифікованого пеніцилін-зв'язуючого протеїну та цим перешкоджає вбудовуванню  $\beta$ -лактаму в клітинну стінку [32, 35, 105].

Проблема стафілококової інфекції привертає до себе увагу й тим, що незмінно спостерігається високий рівень реєстрації захворювань у тварин і людей, зумовлених стафілококами, тривале безсимптомне стафілококоносійство, тенденція до зростання стійкості стафілококів до антибіотиків, виявлення нових

факторів патогенності – здатності до формування бактерійної біоплівки, де збудник *S. aureus* значно краще захищений і проявляє свою стійкість до дії антибактеріальних засобів і препаратів [8, 34, 197].

На сучасному етапі означені питання є високо актуальними, тому стали основою цієї дисертаційної роботи.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Матеріали дисертації є фрагментом наукових досліджень Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи відповідно до наукових програм «Розробка, вивчення та порівняння різних методів і засобів ветеринарно-санітарної оцінки і контролю якості та безпеки продукції тваринного і рослинного походження та кормів» (номер державної реєстрації 0109U001082, 2009–2018 рр.) та «Оцінка ступеню поширення антибіотикорезистентності у збудників зоонозів в Україні» (номер державної реєстрації 0118U100599, 2019–2028 рр.).

**Мета та завдання дослідження.** Мета дисертації – дослідити поширення, біологічні властивості *S. aureus*, які циркулюють серед тварин, у продукції тваринного походження та в об'єктах довкілля на території України та удосконалити методи діагностики *MRSA*.

Для досягнення мети було поставлено такі завдання:

- дослідити поширення стафілококозів серед тварин в Україні, частоту виділення *S. aureus* у зразках продукції тваринного походження та в об'єктах довкілля, що підлягають ветеринарно-санітарному контролю в Україні;
- дослідити зразки патологічного та біологічного матеріалу від тварин, продукції тваринного походження та об'єктів довкілля бактеріологічними методами з метою індикації ізолятів *S. aureus*;
- вивчити особливості культурально-морфологічних, біохімічних та патогенних властивостей ізолятів *S. aureus*;
- визначити чутливість одержаних ізолятів *S. aureus* до антибактеріальних препаратів;

- виявити та вивчити набуті молекулярно-генетичні механізми стійкості до метициліну (ген *mecA*) в ізолятів *S. aureus*;
- встановити рівень поширеності *MRSA* серед ізолятів *S. aureus*, виділених з об'єктів досліджень;
- вивчити здатність до утворення біоплівки в ізолятів *MRSA*;
- дослідити чутливість до дезінфікуючих засобів ізолятів *MRSA* та *S. aureus* з набутою множинною стійкістю до антибактеріальних препаратів.

*Об'єкт дослідження* – зразки патологічного та біологічного матеріалу від тварин, харчових продуктів тваринного походження, об'єктів довкілля, ізоляти *S. aureus*.

*Предмет дослідження* – біологічні властивості ізолятів *S. aureus*.

**Методи дослідження:** бактеріологічні (культурально-морфологічні, ферментативні, біохімічні, визначення чутливості до антибактеріальних препаратів, вивчення здатності до формування біоплівки високої щільності, встановлення стійкості до дезінфікуючих засобів); біологічні (патогенність *S. aureus* для білих мишей); молекулярно-генетичні (підтвердження наявності гену *mecA* методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі).

**Наукова новизна одержаних результатів.** Проведено широко-масштабний аналіз результатів бактеріологічних досліджень щодо поширення *S. aureus* серед різних видів тварин, у зразках продукції тваринного походження, об'єктів довкілля, що підлягають ветеринарно-санітарному контролю, в Україні; встановлено широке розповсюдження зоонозного патогену *S. aureus* в зазначених об'єктах. Так, за досліджуваний період 2015–2019 рр. виявлено зростання випадків реєстрації стафілококозу серед тварин із 0,9 % у 2015 р. до 2,3 % у 2019 р. Найчастіше це захворювання реєструвалося у великої та дрібної рогатої худоби, а також у птиці. У харчових продуктах також спостерігали тенденцію до зростання контамінації цим збудником із 7,7 до 11,2 %, найбільше невідповідностей було виявлено в м'ясі та м'ясопродуктах. Щодо об'єктів довкілля, які підлягали ветеринарно-санітарному контролю, *S. aureus* ізолювали постійно, рівень контамінації становив 0,2 % за п'ять років.

Встановлено, що прояви біологічних властивостей (культуранально-морфологічних, ферментативних, патогенних) у 39 дослідних ізолятів *S. aureus* були характерними для штамів виду *S. aureus*, що підтверджувалося типовим ростом на диференційно-діагностичних поживних середовищах, ферментативною здатністю до розщеплення глюкози, лактози, сахарози та маніту з утворенням кислоти без газу та відсутністю ферментів для розщеплення мальтози, підтвердженням належності означених культур також були позитивні тести на продукцію каталази, лецитинази, коагулази та наявність  $\alpha$ -токсину, який забезпечував  $\beta$ -гемоліз на кров'яному агарі.

Досліджено та проведено порівняльний аналіз чутливості до антибактеріальних препаратів дослідних ізолятів *S. aureus*, встановлено поширення *S. aureus* у межах 82,1 %, від загальної кількості досліджених, з різною стійкістю до різних груп антибіотиків.

Експериментально обґрунтовано доцільність проведення комплексних досліджень із застосуванням мікробіологічних та молекулярно-генетичних методів для визначення набутих механізмів резистентності у *S. aureus* (виявлення гену *mecA*) та вивчення метицилінрезистентних *S. aureus*. Встановлено наявність гену *mecA* у 53,8 % досліджених ізолятів *S. aureus*; отримані дані чітко збігалися з результатами скринінгу зі специфічним чутливим маркером цефокситіном за постановки диско-дифузійного методу щодо виявлення *MRSA*.

Задепоновано штам *MRSA* (Свідоцтво про первинне депонування штаму мікроорганізму № «22-22» в Депозитарії Державного науково-дослідного контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів від 18.02.2019 р).

Досліджено та проведено порівняльний аналіз здатності до утворення біоплівки у штамів *S. aureus*, одержаних із різних об'єктів; встановлено що високий рівень щільності було виявлено серед 57,1 % досліджуваних штамів *S. aureus*; середній рівень щільності формували 2,6 % штамів *S. aureus*; низький рівень щільності біоплівок було виявлено у 14,3 % досліджуваних штамів.

На основі аналізу проведених експериментів отримано нові наукові дані про стійкість виявлених антибіотикорезистентних штамів *S. aureus* (*MRSA*) до

дезінфікуючих засобів із різними діючими речовинами, встановлено, що метицилінрезистентні штами *S. aureus* «18/52», «28/70» та «30/75» були стійкими до дезінфікуючого засобу № 1 з вмістом діючих речовин, таких як бензалконію хлорид, глутаровий альдегід та формальдегід у концентрації 0,25 % за експозиції 30 хв, а також штам *MRSA* «28/70» був стійким до дезінфікуючих засобів № 2 (гліоксалевий альдегід, глутаровий альдегід, бензалконій хлорид, додецилдиметиламоній хлорид) та № 3 (глутаровий альдегід, гліоксалевий альдегід, четвертинні амонієві сполуки, полігекса-метилenguанідин гідрохлорид) у концентрації 0,05 % за експозиції 30 хв.

**Практичне значення одержаних результатів.** Результати досліджень стали науковим підґрунтям для розроблення та впровадження в систему лабораторної діагностики в регіональних державних лабораторіях Державної служби України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів нормативних документів, а саме: «Методичних вказівок щодо визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» (*розглянуто та затверджено Науково-методичною радою Державної ветеринарної та фітосанітарної служби України, протокол № 1 від 25 грудня 2014 року*), «Методичні вказівки. Сучасні методи визначення чутливості та виявлення механізмів резистентності *S. aureus* до антибактеріальних препаратів», «Методичні рекомендації з визначення бактерицидної активності дезінфікуючих засобів на бактеріях у біоплівках» (*розглянуто та затверджено Вченою радою Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, відповідно протокол № 1 від 27 лютого 2019 року та протокол № 1 від 24 лютого 2020 року*).

Розроблено паспорт на штам *S. aureus* «22/22» та задепоновано для внутрішнього лабораторного контролю якості мікробіологічних досліджень, для розроблення діагностикумів та використання в якості тест-культури (позитивного контролю) штам *MRSA* «22-22» в Державному науково-дослідному контрольному інституті біотехнології і штамів мікроорганізмів (*Свідоцтво про первинне депонування штаму мікроорганізму в Депозитарії від 18.02.2019 р.*).

**Особистий внесок здобувача.** Здобувачем самостійно здійснено інформаційний пошук та аналіз літературних даних за темою дисертації; виконано експериментальну частину; проведено статистичну обробку результатів і зроблено їх узагальнення.

Планування експериментів було проведено під керівництвом наукового керівника кандидата ветеринарних наук, старшого наукового співробітника Т. О. Гаркавенко. Дослідження з визначення здатності до утворення біоплівки, чутливості до дезінфікуючих засобів в ізолятів *S. aureus* з набутою множинною стійкістю до антибактеріальних препаратів та у *MRSA* проведено за участі кандидатів ветеринарних наук О. І. Горбатюк, В. О. Андріюшак та Л. В. Марущак.

**Апробація результатів дисертації.** Матеріали дисертації доповідалися та обговорювалися на: III та IV щорічних Регіональних симпозіумах в рамках концепції «Єдине здоров'я» (м. Київ, 2018 р., 2019 р.); семінарі з питань застосування антимікробних препаратів у секторі тваринництва (м. Уппсала, Королівство Швеція, 2018 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Біотехнологія та її роль в забезпеченні здоров'я людей та тварин» (м. Київ, 2018 р.); Міжнародній виставці LabComplex «Лабораторні дослідження як інструмент забезпечення епізоотичного благополуччя та безпеки харчових продуктів» (м. Київ, 2018 р.); VIII Міжнародній науково-практичній конференції «Ветеринарні препарати: розробка, контроль якості та застосування» (м. Львів, 2019 р.), Всеукраїнському семінарі бактеріологів «Сучасні підходи до вирішення проблеми антибіотикорезистентності мікроорганізмів. Програми державного ветеринарно-санітарного контролю сальмонельозу птиці в птахогосподарствах України» (м. Івано-Франківськ, 2018 р.); Всеукраїнському семінарі бактеріологів «Нагляд за протимікробною резистентністю зоонозних та комменсальних бактерій в Україні. Мікробіологія харчового ланцюга» (м. Київ, 2020 р.).

**Публікації.** Основні положення дисертації викладено в 11 наукових працях, з яких 5 статей у наукових фахових виданнях України, у тому числі включених до міжнародних наукометричних баз даних, стаття у науковому

виданні, включеному до міжнародної наукометричної бази даних Web of Science, 3 методичні рекомендації, 2 тези наукових доповідей.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертацію викладено на 176 сторінках, ілюстровано 19 таблицями та 21 рисунком. Робота складається з анотацій, вступу, 4 розділів, висновків, списку використаних джерел та додатків. Список використаних джерел налічує 224 найменування.

## РОЗДІЛ 1

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### 1.1 Систематика та характеристика властивостей стафілококів

Стафілококи були виділені вперше Friedrich Daniel von Recklinghausen в 1871 році та від тоді стали розглядатися як причина захворювань. Праці Ogston A. та основоположника мікробіології Пастера Л. переконливо показали роль стафілококів в етіології захворювань тварин та людей. Rosenbach F.J. перший виділив чисту культуру та присвоїв назву *Staphylococcus*. Стафілококи відносяться до сімейства Micrococcaceae, роду *Staphylococcus* [172, 180, 186].

Вивчення властивостей стафілококів показало, що це складна група мікроорганізмів з різними біологічними властивостями. У зв'язку з цим виникла необхідність систематизувати представників роду *Staphylococcus*. Згідно прийнятої в 1965 році Міжнародним підкомітетом по таксономії стафілококів та мікрококів класифікації рід *Staphylococcus* був розділений на 2 види: *S. aureus* і *S. epidermidis*. Однак така класифікація не задовольняла спеціалістів.

Штами *S. aureus*, виділені від різних видів тварин, відрізняються між собою за біологічними властивостями. Це слугувало підставою для розділення *S. aureus* на ековари. Meyer Witte розділив *S. aureus* на п'ять варіантів ековарів: *hominis*, *bovis*, *ovis*, *canis*, *gallinae* та два неідентифіковані типи, позначені, як A/B та C/D. Слід відмітити, що існує зв'язок між назвами ековарів та їхніми хазяями. Основними ознаками, за якими можливо диференціювати ековари *S. aureus* слугують коагуляційна активність плазми крові, тип гемолізу, ДНК-азна активність, фібринолізин, ферментація маніту, чутливість до типових фагів великої рогатої худоби та набору людських фагів [143].

Hejek V. et al. на підставі глибокого вивчення штамів стафілококів, передбачив існування 6 біотипів: А, В, С, D, Е и F. Він дійшов висновку, що культури *S. aureus* біотипів Е та виділені від коней, собак, голубів відрізняються від штамів біотипів А і D. Це дозволило штамів Е и F виділити в окремий вид коагулазопозитивних стафілококів, назвав його *S. Intermedius* [78, 128, 191].



Згідно класифікації Берги, рід *Staphylococcus* включає 3 види: *S. aureus*, *S. epidermidis* та *S. saprophyticus*. Висока частота захворювань, які спричиняє *S. aureus*, в останні роки доповнюється зростаючою хвороботворною роллю *S. epidermidis*. Слід зазначити, що велика кількість штамів не вкладається в характеристику цих видів [29].

Було описано багато видів стафілококів, які виділялись від людини – Kloos W.E. et al., 1975, 1983; від тварин – Hajek V., 1976, Kloos W.E. et al., 1976, Devriese L.A. et al., 1978, 1983 [128, 146, 147].

На даний час існує два види коагулазопозитивних стафілококів: *S. aureus* і *S. epidermidis* та цілий ряд коагулазонегативних: *S. saprophyticus*, *S. cohnii*, *S. haemolyticus*, *S. xylois*, *S. epidermidis*, *S. warneri*, *S. capitis*, *S. hominis*, *S. simulans*, *S. sciuri*, *S. hyicus* та його підвиди subsp. *hyicus*, subsp. *chromogenes*, *S. saccharolyticus*, *S. caseolyticus*, *S. carnosus*, *S. gallinarum*, *S. caprae* [98, 100, 144, 145, 148, 192, 193, 195].

Schleifer K.H. штам *S. sciuri* розділив на два види: *S. sciuri* та *S. lentus*. У 1984 році Schleifer K.H., Kilper-Balz R. ідентифікували види: *S. arlettae*, *S. eguorum* та *S. Kloosu* [194].

Акатов А.К. та Schleifer K.H. звертають увагу на те, що види *S. epidermidis*, *S. Warneri*, *S. capitis*, *S. hominis*, *S. haemoliticus* мають високий ступінь гомології ДНК. Це свідчить про спорідненість між деякими видами роду *Staphylococcus* [2, 196].

У літературі є дані про те, що у стафілококів існує суворі адаптація до організму господаря, тому може йти мова про стафілококи, як збудники захворювань у людей, тварин, птиці та ін. (табл. 1.1).

Екологію та патогенність видів стафілококів показує А.К. Акатов [2, 196].

Однак дослідженнями Артемова А.А. (1969), Шатохіна Н.Г. (1979) та ін. за допомогою методу фаготипування доведено існування перехресних взаємовідносин між збудниками стафілококових інфекцій тварин і людей, тому широкому розповсюдженню стафілококів сприяють основні три шляхи:

сільськогосподарські та домашні тварини, обслуговуючий персонал на фермах і господарі, а також об'єкти навколишнього середовища [63].

Таблиця 1.1

**Адаптація стафілококів як збудників  
захворювань до організму людини та тварини**

Представники виду виявлені:		
у людини	у тварин	у людини та тварин
<i>St. capitis</i>	<i>St. hyicus</i>	<i>St. aureus</i>
<i>St. hominis</i>	<i>St. intermedius</i>	<i>St. cohnii</i>
<i>St. saprophyticus</i>		<i>St. epidermidis</i>
<i>St. warneri</i>		<i>St. haemoliticus</i>
		<i>St. sciuri</i>
		<i>St. simulans</i>
		<i>St. xylosis</i>

Стафілококи – мікроорганізми шароподібної форми, у препаратах з дослідного матеріалу, окрім гроноподібного розташування, можуть знаходитись у середині клітин, а в мазках з культур розташовуються у вигляді виноградних грон, грампозитивні, спор не утворюють, нерухливі, деякі утворюють капсулу. Opdebeck J.P. et al. вважають, що у 93% випадків *S. aureus* утворюють капсулу, яка є провідним фактором у захисті збудника. Величина клітин нестала, можуть спостерігатися великі та маленькі форми [176].

По типу дихання стафілококи відносяться до факультативних анаеробів. Стафілококи добре ростуть на звичайних поживних середовищах. При культивуванні на твердих поживних середовищах вони утворюють *S*-, *R*- та *L*-форми колоній. Колонії можуть бути забарвлені в золотистий, лимонно-жовтий

та білі кольори. Пігмент колоній не визначає відношення штаму стафілокока до патогена чи сапрофіта.

Як діагностичні середовища кращими є молочно-сольовий та жовточно-сольовий агари. До складу цих середовищ входить поварена сіль (7–10%), яка пригнічує ріст інших мікроорганізмів, тому їх використовують для виділення стафілококів із забрудненого матеріалу. Для виявлення стафілококів із харчових продуктів, найчастіше застосовують середовище Байрд-Паркер агар, до складу якого входить розчин телуриту калію і літію хлорид, які є інгібіторами росту супутньої мікрофлори, також стафілокок відновлює телур з телуриту калію, забарвлює його колонії в чорний колір, гліцин і піруват натрію стимулюють зростання стафілококів. До готового середовища додається суспензія яєчного жовтка, що дає можливість перевірити лецитиназну активність у стафілококів.

У літературі говориться про те, що стафілококи, які виділені від людей та тварин, мають неоднакову ферментну активність.

Нечаєва Є.А. (1965) провела порівняльне вивчення великої кількості стафілококів, які були виділені від людей та різних видів тварин. Вивчення коагуляції плазми крові показало, що з плазмою кролика реагували всі культури стафілококів, а виділені від людей, корів і собак: з плазмою людини – 98% людських, 92% коров'ячих та 45% від собак, з плазмою великої рогатої худоби – 6, 85 та 13% відповідно [41].

Mayer W. спостерігав різницю в коагуляції плазми між штамами варіантів *S. hominis*, *S. bovis*, *S. canis*. Штами варіантів *S. hominis* згортали тільки плазму людини, *S. bovis* – плазму людини та корови, а *S. canis* – тільки плазму корови.

Петерсон К. А. під час дослідження стафілококів, які були виділені з молока корів, спостерігав коагуляцію плазми крові кролика – 100%, корови – 15,3%, людини – 89,2% [45].

Цікаві дані з вивчення коагуляції плазми приводить Shan N.M. (1985). За бактеріологічного дослідження 600 зразків секрету вимені корів у 144 зразках було виділено стафілококи, з яких 50 культур відносились до *S. aureus* і 94 культури – до *S. epidermidis*. Позитивну реакцію коагуляції плазми *S. aureus*

проявили: через 1 год – 15 культур, через 4 год – 5 культур, решта – через 24 год [201].

Дані з вивчення коагулазної активності 105 штамів *S. intermedius*, які були виділені від собак, приводить Сох Н.В. Використовували плазму крові кролика та собак. Із 105 штамів *S. intermedius* 98,1% коагулювали плазму, проте плазму крові собак коагулювали лише 45,5% штамів [94].

Тривалий час основною ознакою патогенності вважали пігментоутворення стафілококів. До патогенних відносили тільки стафілококи, які утворювали золотистий пігмент. Пізніше Вигодчиков Г.В., Ruffa G. та інші стали вважати коагуляцію плазми крові найбільш достовірним критерієм патогенності стафілококів для тварин і людей, а якщо штами не володіли такою властивістю, то їх відносили до авірулентних. Цю точку зору було спростовано багаточисленними дослідженнями Акатова А.К. (1980), Smith H.B. (1969) та інших [189].

Световидова В.М. виявила, що 48% коагулазонегативних штамів розщеплювали маніт, 9,7% проявляли лецитиназну активність, 14,7% володіли дерманекротичними властивостями [53].

Для визначення патогенності стафілококів дослідники запропонували використовувати лецитиназну активність, проте отримані багатьма дослідниками результати є вкрай суперечливими.

Під час визначення ДНК-азної активності у стафілококів Мордвінова Н.Б., Калюк А.Н., Сидорова Ю.І. виявили високу кореляцію цієї ознаки з іншими тестами патогенності. Тому вони рекомендували впровадження цього методу в широку лабораторну практику [40].

Як тест патогенності розщеплення маніту в анаеробних умовах у комплексі з іншими тестами показало, що у патогенних штамів стафілококів ця реакція була позитивною у 88,4%, а у непатогенних – тільки в 5,3% випадків. Отримані результати підтвердили дані авторів про те, що властивість ферментувати маніт без доступу кисню притаманне здебільшого тільки патогенним стафілококам.

Патогенні стафілококи продукують токсин, який володіє антигенними та імуногенними властивостями, а також чинять гемолітичну, дерманекротичну та летальну дію.

Вигодчиков Г.В. (1963) вважав, що гемолітична, дерманекротична та летальна дії знаходяться в певному кількісному співвідношенні одна до одної та є проявом єдиної антигенної субстанції [10].

У теперішній час у стафілококів найбільш вивчені  $\alpha$ -,  $\beta$ - та  $\delta$ -гемолізینی.

Альфа-гемолізін – це білок, який окрім літичної дії на еритроцити, володіє дерманекротичними та летальними властивостями. Wisemen G.M. довів, що  $\alpha$ -гемолізін виявляється від стафілококів, як неактивний протиолітичний фермент, він активізується іншими протеазами.  $\alpha$ -гемолізін лізує еритроцити кролика, проте не лізує еритроцити людини та коня [210].

Реакція гемолізу перебігає у дві фази. Перша фаза характеризується фіксацією  $\alpha$ -токсину на еритроцитах, що спричиняє вихід іонів калію з мембран еритроцитів. Мембрани втрачають властивість до вибіркової проникності та настає друга фаза – вихід гемоглобіну з еритроцитів. У результаті на кров'яному агарі утворюються широкі прозорі з нерівними краями зони гемолізу.

Бета-гемолізін – фермент фосфоліпази (сфінгомієліназа), діє на сфінгомієлін мембрани еритроцитів. Різний склад сфінгомієліну в мембрані еритроцитів різних видів тварин обумовлює неоднакову чутливість еритроцитів до дії  $\beta$ -токсину. Найбільш висока концентрація фосфоліпідів в еритроцитах барана, які є найбільш чутливими до дії  $\beta$ -токсину.

$\beta$ -гемолізін лізує еритроцити барана в умовах теплохолодового лізісу.

Дельта-гемолізін лізує еритроцити людини, барана, кролика, коня, утворюючи вузьку зону повного гемолізу навколо колоній з чітко обмеженим краєм. Патогенні штами стафілококів продукують дельта-гемолізін частіше в поєднанні з іншими токсинами. Ці дані підтверджуються результатами досліджень Петерсон К.А. (1982), яка виділяла  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\delta$ -гемолізینی в різних стафілококах від 39 % до 66,7 % [45].

Таким чином, питання про патогенність виділеної культури стафілококу потрібно вирішувати тільки на підставі комплексу біохімічної активності, а не брати за основу окремі тести.

## 1.2 Стафілококові інфекції в Україні

Частота виявлення золотистих стафілококів серед людей за останні роки значно зростала, особливо серед тих, хто за професійною діяльністю контактує з тваринами, пов'язаний з переробкою тваринницької сировини, з виробництвом продукції тваринного походження. Це свідчить про передачу збудника між тваринами, тваринницькою продукцією, контамінованими об'єктами довкілля та людиною [1, 16].

Стафілококова інфекція вже понад 50 років є однією з найбільш важливих та актуальних проблем як в гуманній, так і у ветеринарній медицині [2, 4, 12].

Аналіз сучасного стану проблеми стафілококових інфекцій вказує на значний ріст захворювань стафілококової етіології. Увага дослідників зосереджена на наступних факторах:

- широке поширення стафілококових інфекцій та виникнення особливо тяжких її проявів, тісно зв'язаних з розвитком у патогенних стафілококів резистентності до дії антибіотиків;
- накопичення доказів високої вірулентності штамів стафілококів, виділених від хворих і персоналу різних закладів охорони здоров'я;
- значну резистентність патогенних стафілококів до дії зовнішнього середовища (висихання, зберігання в пилу) [4, 11, 12].

Як стверджують Вішанов Ю.Ю. та Авилов С., патогенність стафілококових збудників пов'язана з токсиноутворенням, інвазивністю, стійкістю до дії антибіотиків і є етіологічним фактором багатьох захворювань людини і тварин. Серед представників роду *Staphylococcus* найбільшим патогенним потенціалом володіє *S. aureus* [1, 8].

Хворі тварини, бактеріоносії, заражена або контамінована сировина та продукти харчування є джерелом інфекції. У більшості випадків поширення

патогенних стафілококів серед сільськогосподарських тварин зумовлене низьким технологічним рівнем ведення господарства. Для сільськогосподарської галузі особливу небезпеку несуть антибіотикорезистентні штами *S. aureus*, зокрема метицилінрезистентні (*MRSA*), які мають ген *mecA* та є стійкими до  $\beta$ -лактамних і часто до інших антибіотиків. Забруднення стафілококами продукції тваринного походження найчастіше відбувається у процесі переробки через порушення санітарно-гігієнічних норм і у більшості випадків, саме *S. aureus* найчастіше стає причиною харчових токсикоінфекцій, спричинених продукованими ним ентеротоксинами [17, 28].

Останнім часом спостерігається зростання резистентності *S. aureus* до антибактеріальних препаратів, що використовують у клінічній практиці. Причому, поширення резистентності має значні розбіжності у різних регіонах як в Україні, так і в інших країнах [49, 51, 52, 112].

Поява та поширення *MRSA*, що спричиняють нозокоміальні і позалікарняні інфекції, викликає особливе занепокоєння [114, 125, 190].

За даними Пономаренка А.М. та Салманова А.Г. після проведення 1 335 888 досліджень з метою визначення чутливості клінічних штамів *S. aureus* до 37 антибіотиків, аналіз їх результатів показав, що  $27,4 \pm 0,14$  % штамів *S. aureus* були резистентними до антибіотиків, які випробовувались. Резистентність до оксациліну *S. aureus* у хірургічних стаціонарах України протягом досліджуваного періоду в середньому становила 35,7 %. За результатами розрахунків з імовірністю 95 % можна стверджувати, що частота виділення *MRSA* від хворих з післяопераційними гнійно-запальними інфекціями у зазначений період варіювала у межах 40,8–41,4 %. Цими вченими встановлено суттєві відмінності частоти виділення штамів *MRSA* у стаціонарах, показники яких у різних регіонах України варіювали у межах 7,5–72,1 % [47].

### 1.3 Метицилінрезистентний стафілокок (*MRSA*) – стан проблеми у світі

Антимікробна резистентність (AMP) – одна з найсерйозніших глобальних загроз громадському здоров'ю цього століття. Перший глобальний звіт Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) щодо спостереження за AMP, опублікований у квітні 2014 року, вперше зібрав дані з національних і міжнародних мереж спостереження, показуючи масштаби цього явища у багатьох частинах світу, а також наявність прогалин в існуючому нагляді за AMP [88].

Золотистий стафілокок, один з найпатогенніших збудників інфекційних захворювань у людини та тварин. Він має сукупність факторів вірулентності та здатність набувати стійкості до більшості антибіотиків. Клінічне використання метициліну призвело до появи *MRSA* [70, 133, 158, 169].

*S. aureus* – перший з мікроорганізмів, у якого була виявлена стійкість до раніше безвідмовно діючих антибіотиків. З нього почалася історія вивчення пеніцилінази – першої в ряду  $\beta$ -лактамаз [92, 123, 151, 152, 153, 160, 163, 205].

До відкриття антибіотиків смертність від стафілококозів сягала 90%. Антибіотики дозволили значно знизити смертність, але не стали радикальним вирішенням проблеми. Неможливість остаточно перемогти інфекцію за допомогою антибіотиків криється у фундаментальній властивості живої матерії – здібності до мутації. Будь-який антибіотик з точки зору еволюції – просто несприятливий фактор навколишнього середовища. Діє він не на поодинокі бактерію, а на численну популяцію, в якій бактерії не абсолютно ідентичні завдяки спонтанним мутаціям. Як правило, мутанти є менш життєздатними, ніж «нормальні» організми. Але у разі появи нового несприятливого фактора, який вбиває «нормальних» (їх переважна більшість), перевагу отримують ті індивіди, які в результаті мутації придбали стійкість до несприятливого фактора. Саме нащадки цього «щасливого» мутанта швидко розмножуються та займають місце тих, кого вбив новий несприятливий фактор (у даному випадку – антибіотик). Застосування перших антибіотиків (наприклад, пеніциліну) в 1940-х роках було



дуже ефективним, але зараз більшість штамів стафілококу є стійкими до цього антибіотика завдяки пеніциліназі (*Penicillinase*) – ферменту, який розщеплює молекулу пеніциліну. У теперішній час проти стафілококу широко застосовують метицилін – хімічно модифікований пеніцилін, який пеніциліназа не руйнує. Однак усе частіше трапляються штами *Staphylococcus aureus*, стійкі до метициліну: вони синтезують білок, який утворює міцний і нешкідливий для бактерій комплекс з метициліном [20, 26].

Починаючи з 1960-х років, стійкий до метициліну золотистий стафілокок з'явився, поширився в усьому світі і став провідною причиною бактеріальних інфекцій як в охороні здоров'я, так і в громадах. Однак, спостерігається помітна географічна різниця навантаження на *MRSA* через декілька факторів, включаючи відмінності в локальній практиці боротьби з інфекцією та патоген-специфічні характеристики циркулюючих клонів. Різні клони *MRSA* були результатом незалежного придбання хромосоми стафілококової касети *mec* (*SCCmec*), яка містить гени, що кодують білки, які роблять бактерію стійкою до більшості  $\beta$ -лактамних антибіотиків (таких як метицилін) кількома клонами *S. aureus*. Успіх *MRSA* є наслідком широкого арсеналу факторів вірулентності, вироблених *S. aureus* у поєднанні з  $\beta$ -лактамною резистентністю та, для більшості клонів, стійкістю до інших класів антибіотиків. Клінічні прояви *MRSA* варіюються від безсимптомної колонізації слизової оболонки носа, легкої інфекції шкіри та м'яких тканин до фулмінантного інвазивного захворювання з високою смертністю [159].

Спостереження за циркуляцією різних клональних ліній *MRSA* впродовж останніх десяти років демонструє динамічність популяції збудника в часі та просторі. Так, наприклад, *MRSA ST 239* (Віденський штам), який вважається найбільш поширеною клональною лінією в світі, до кінця 1990-х років був широко розповсюджений в Австрії та Чехії, на сьогоднішній день домінує в Південній Європі (Туреччина) та Росії, але практично відсутній у Німеччині. Епідемічний штам *EMRSA 16*, *CC 30* зустрічається тільки у Великій Британії, де є другим за частотою з виділених штамів *MRSA*. У лікарнях Німеччині у 2010 році

найчастіше виявлялися домінуючі впродовж багатьох років штами Барнім (ST 22) – 76 % та Рейг-Гессен (ST 255) – у 59 % випадків. Також існують штами *MRSA*, адаптовані до тварин, найбільш поширений – *LA-MRSA* CC 398. Ця клональна лінія з'явилася між 2003 і 2005 роками у свиней в Нідерландах [21, 57, 66, 71, 75, 76, 202].

*MRSA* CC 398 може спричиняти захворювання у людей, не дивлячись на те, що велика кількість людей є здоровими носіями інфекції. *MRSA* CC 398, як і інші стафілококи, провокують виникнення інфекції, особливо на шкірі, де можуть з'являтися виразки та абсцеси. Не так часто ці бактерії можуть спричиняти зараження крові з летальним результатом, що спостерігався в Данії. До серпня 2014 року було зафіксовано чотири смертельних випадки, які можна зв'язати з *MRSA* CC 398, у той час як за той же період було зафіксовано 700 смертей як результат інших стафілококових інфекцій [81, 86, 88, 91, 101, 102, 106, 107].

Уперше про *MRSA* заговорили понад 50 років тому під час клінічних випробувань метициліну в Англії. З часу появи метицилінрезистентні штами *S. aureus* є одними з провідних збудників нозокоміальних інфекцій. Частота *MRSA* у структурі стафілококових інфекцій останніми роками різко зросла в усьому світі, наприклад у США з 2 % у 1975 р. до 57,3 % – у 2008 р. У Російській Федерації у 2006–2008 рр. частка *MRSA* склала 54,4 % [109, 110, 121, 122, 124, 127].

Географічне розповсюдження *MRSA* в країнах Європи можна оцінити, спираючись на дані Європейського центру з профілактики та контролю захворюваності (ECDC), який реєструє питому вагу метицилінрезистентних серед всіх штамів *S. aureus*. Упродовж багатьох років питома вага *MRSA* на півдні Європи (Португалія, Греція, Іспанія, Італія) сягає 50 %. Скандинавські країни демонструють традиційно низький рівень *MRSA*. Між 10 та 25 % знаходиться питома вага метицилінрезистентного стафілокока в центральній Європі та Великобританії. В Німеччині після зростання в 1990-х роках упродовж багатьох років цей показник стабільно знаходився на рівні 19–25 % [131, 132, 134, 135, 137, 138].

#### 1.4 Механізми резистентності *MRSA*

Антибіотикорезистентність основних збудників інфекційних захворювань є однією з найбільших проблем сучасної медицини. Швидкість, з якою формується та поширюється стійкість мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів, вражає. Препарати, які ще декілька років тому були ефективними, сьогодні втрачають свої позиції і їх використання вимушено обмежується. Згідно даних Всесвітньої Організації Охорони Здоров'я, швидке підвищення стійкості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів загрожує підірвати основи охорони здоров'я, зроблені медичною наукою протягом останніх 50 років [57, 80, 84, 104, 113, 166, 173].

Відомо, що рівні резистентності різних мікроорганізмів до різних антибіотиків мають відмінності в залежності від регіону. Тому, насамперед, вкрай важливою є адекватна оцінка стану антибіотикорезистентності основних збудників до широко використовуваних антибактеріальних препаратів. На жаль, в Україні сьогодні не існує актуальних об'єктивних систематизованих даних щодо стану антибіотикорезистентності мікроорганізмів [64, 65, 68, 87, 187, 188, 200].

Під резистентністю мікроорганізмів до антибактеріальних засобів розуміють збереження їхньої здатності до розмноження в присутності таких концентрацій цих речовин, які створюються за введення терапевтичних доз.

Існує декілька типів стійкості бактерій до антибіотиків:

- *природна стійкість*, яка визначається властивостями даного виду або роду мікроорганізмів, наприклад стійкість грамнегативних бактерій до бензилпеніциліну, бактерій – до протигрибкових, а грибів – до антибактеріальних препаратів;

- *набута стійкість*, яка, у свою чергу, може бути первинною або вторинною. Термін «набута стійкість» застосовують у випадках, коли в чутливій до даного препарату популяції мікроорганізмів знаходять резистентні варіанти. Вона виникає, здебільшого, унаслідок мутацій, що відбуваються в геномі клітини.

Первинна стійкість (як результат мутації) виявляється в окремих клітинах популяції через її гетерогенність до початку лікування антибіотиками.

Вторинна стійкість формується також за рахунок мутацій. Може зростати при контакті бактерій з антибіотиками. Мутації не є спрямованими та пов'язаними з дією антибіотиків. Останні відіграють лише роль селективних агентів. Вони елімінують чутливі особини популяції і відповідно починають переважати резистентні клітини [72, 74, 83, 85].

До недавнього часу, штами *MRSA* були найбільш чутливими до  $\beta$ -лактамних антибіотиків. Однак з часом резистентність багатьох штамів стафілококів до цих антибіотиків почала зростати.

*MRSA* часто є збудником внутрішньолікарняних інфекцій (*HA-MRSA – health care associated MRSA*), які стали стійкими до найбільш поширених антибіотиків, що значно ускладнює лікування. Усе частіше сукупність асоційованих штамів *MRSA* трапляється у людей, яких не було госпіталізовано та навіть у здорових дітей (*CA-MRSA – community associated MRSA*).

Штами метицилінрезистентного стафілококу пристосувалися до людей (*HA-MRSA* та *CA-MRSA*), при тісному контакті можуть передаватися й тваринам, які, у свою чергу, можуть виступати як носії та передавати їх людям.

Адаптовані до тварин штами *MRSA* (*LA-MRSA – livestock associated MRSA*) опинилися в центрі уваги всього декілька років тому. Наприклад, клональний комплекс *MRSA CC398*, який найчастіше зустрічається у свиней, викликає особливе занепокоєння. Зустрічалися випадки колонізації з *CC398* також у інших видів тварин. Безсимптомне носійство усіх цих клональних комплексів поширене також серед людей, які працюють з інфікованими свинями.

Відомо про спалахи у коней, собак і кішок, здебільшого *CA-MRSA*, що може сприяти зараженню людей, свійських тварин та об'єктів навколишнього середовища [95, 97, 119, 130, 209].

Харчові продукти тваринного походження нерідко можуть бути контамінованими *MRSA*, у результаті чого формується основний шлях передачі інфекції від сільськогосподарських тварин до людей. Факторами передачі можуть

також стати такі харчові продукти, як фрукти або овочі, контаміновані випорожненнями інфікованих тварин або брудною водою.

У табл. 1.2 представлена характеристика цих трьох різних субтипів *MRSA*.

Метицилінрезистентні штами золотистого стафілококу (*MRSA*) придбали ген (*mecA*), який робить їх стійкими до всіх  $\beta$ -лактамних антибіотиків.

Виявлення резистентності до пеніциліназостійких напівсинтетичних пеніцилінів (метицилін, оксацилін) у стафілококів – важливий фактор при виборі адекватних антибактеріальних препаратів. На генетичному рівні резистентність стафілокока пов'язана з наявністю так званого *mec*-комплексу в складі стафілококової хромосомної касети *mec* (staphylococcal cassette chromosome *mec* – *SCCmec*). Основними компонентами *mec*-комплексу є структурний ген *mecA*, який кодує синтез додаткового пеніцилінзв'язуючого білка – ПЗБ2а, котрий володіє низькою афінністю до  $\beta$ -лактамних антибіотиків (пеніциліни, цефалоспорини, монобактами, карбапенеми); *mecI* та *mecR1* – регулярні елементи, які контролюють транскрипцію *mecA*, а також *mec*-асоційовані ДНК. За розвиток метицилінрезистентності безпосередньо відповідає *mecA*. Пеніцилінзв'язуючі білки (ПЗБ) є пептидазами, які беруть участь у синтезі пептидоглікана клітинної стінки бактерій. Дія  $\beta$ -лактамів обумовлена сполученням їхніх структурних компонентів – білків та блокування, таким чином, синтезу клітинної стінки бактерій. Наявність ПЗБ2а вказує на низьку чутливість до всіх  $\beta$ -лактамних антибіотиків [140, 149, 150, 170, 177, 179, 183].

*S. aureus*, який несе модифікований пеніцилінзв'язуючий білок, позначається як метицилін(оксацилін)резистентний золотистий стафілокок (*MRSA*). *S. aureus*, який несе звичайний пеніцилінзв'язуючий білок, позначається як метицилін(оксацилін)чутливий золотистий стафілокок (*MSSA*). Таким чином резистентність стафілококів до оксациліну (метициліну) обумовлена трьома основними механізмами:

Характеристика субтипів *MRSA*

	<i>HA-MRSA</i>	<i>CA-MRSA</i>	<i>LA-MRSA</i>
Визначення, походження	Перебування у стаціонарі > 48 годин	Амбулаторні пацієнти або ті, які перебувають у стаціонарах < 48 годин	Сільсько-господарські / домашні тварини
Фактори ризику	Перебування в стаціонарах або закритих установах, катетери, хронічні рани, антибіотикотерапія	Подорож в ендемічні регіони, контакт з носіями <i>CA-MRSA</i>	Контакт з сільськогосподарськими тваринами (ветеринари, скотарі та ін.)
Переважаюча клінічна маніфестація	Післяопераційні ранові інфекції, остеомієліти, пневмонії	Шкірні інфекції, абсцеси, фасциїти, пневмонії	Інфекції шкіри та м'яких тканин, пневмонії у хворих на штучну вентиляцію легень
Поширення	У Німеччині: близько 14 000 випадків на рік = 5 % всіх внутрішньолікарняних інфекцій	У США: більше 50% амбулаторних шкірних інфекцій та абсцесів	Менше 1 % внутрішньолікарняних <i>MRSA</i> -інфекцій
Молекулярно-епідеміологічні маркери	SPA-тип (t) клональні комплекси (CC), лінії (ST)	Синтез Panton Valentine Leukocidin-гена	ST 398

- продукцією додаткового пеніцилінзв'язуючого білка (ПЗБ) – ПЗБ2а – класична або справжня резистентність до метициліну (оксациліну);
- інактивацію внаслідок гіперпродукції  $\beta$ -лактамаз;
- модифікацію нормальних ПЗБ.

З клінічної точки зору важливо диференціювати штами з класичною (*tesA*-обумовленою) резистентністю від штамів з парою інших механізмами резистентності, які рідко зустрічаються та які обумовлюють низький або граничний рівень стійкості. Це пов'язано з тим, що за інфекцій, які спричинені штами з *tesA*-обумовленою резистентністю, терапія  $\beta$ -лактамами антибіотиками (пеніцилінами, цефалоспоринами, карбапенемами) буде неефективною. Окрім того, ці штами часто бувають резистентними практично до всіх інших класів антибіотиків, за виключенням ванкоміцину та тейкопланіну. Фенотипічні характеристики, які можуть допомогти диференціювати три перерахованих вище механізми резистентності, наведено в табл. 1.3.

Штами з класичним типом резистентності можуть, у свою чергу, бути гомо- або гетерогенними за типом експресії резистентності. За гомогенного типу експресії переважно всі мікробні клітини проявляють резистентність в *in vitro* тестах, у той час як за гетерогенного типу тільки невелика частина клітин проявляє резистентність фенотипово. Нерідко тільки 1 з 10–100 млн клітин у популяції з наявним геном *tesA* експресує резистентність, що веде до отримання граничних результатів за визначення чутливості до оксациліну (МІК 2–8 мг/л). Резистентність, обумовлена гіперпродукцією  $\beta$ -лактамаз і мутацією нормальних ПЗБ, також призводить до отримання граничних значень МІК. Хоча, резистентність до оксациліну, обумовлена гіперпродукцією  $\beta$ -лактамаз, можна легко відрізнити від класичної резистентності по зворотності резистентності за використання інгібіторів  $\beta$ -лактамаз [198, 199, 204, 208, 211, 212].

На відміну від штамів з класичною резистентністю, гіперпродуценти  $\beta$ -лактамаз і штами з мутаціями нормальних ПЗБ зазвичай не мають множинної резистентності до інших антибіотиків [141, 142, 161, 161, 182].

Типи резистентності до метициліну (оксациліну) у стафілококів

Тип резистентності	Наявність гена <i>tesA</i>	Механізм	Гранична резистентність	Ефективність інгібіторів $\beta$ -лактамаз	Перехресна резистентність до всіх $\beta$ -лактамам	Полірезистентність до інших класів антибіотиків
Класична						
- гомогенна	+	Додатковий ПЗБ (ПЗБ-2а)	–	–	+	+
- гетерогенна	+		+/-	–	+	+
Інактивація $\beta$ -лактамазами	–	Гіперпродукція $\beta$ -лактамаз	+	+	–	–
Модифіковані ПЗБ (1,2,4)	–	Мутації звичайних ПЗБ (1,2,4)	+	–	–	–

У табл. 1.4 представлено найбільш розповсюджені штами *MRSA*, названі за місцем першого виділення, з профілем антибіотикорезистентності, згруповані за трьома молекулярно-генетичними групами маркерів – клональним комплексом (CC), клональним лініям (ST) та SPA типу (t) [111, 136, 139, 174].

### 1.5 Методи виявлення *MRSA*

Проведення лабораторних досліджень з метою визначення чутливості збудників інфекційних хвороб людини та тварин до антибактеріальних препаратів набуває все більш важливого значення.



Генетичні та фенотипічні маркери штамів *MRSA*

Клональний комплекс (CC)	Назва штаму	Клональна лінія (ST)	SPA тип (t)	Фенотипічна резистентність
CC 8	<i>MRSA</i> клональної групи III	ST 8	t 008	PEN, <b>OXA</b> , ERY, CLI, CIP, MFL
CC 8	Віденський	ST 239	t 037	PEN, <b>OXA</b> , ERY, CLI, CIP, MFL, GEN, STX, TET, RAM (PHO, LIN)
	Північно-німецький	ST 247	t 052	PEN, <b>OXA</b> , ERY, CLI, CIP, MFL, GEN, STX, RAM
CC 5	Південно-німецький	ST 228	t 052	PEN, <b>OXA</b> , ERY, CLI, CIP, MFL, GEN, TET
	Рейн-Гессен	ST 5 ST 255	t 002 t 003	PEN, <b>OXA</b> , ERY, CLI, CIP, MFL
CC 22	Барнім	ST 22	t 005 t 002 t 032	PEN, <b>OXA</b> , ERY, CLI, CIP, MFL
CC 45	Берлінський	ST 45	t 004 t 038 t 065	PEN, <b>OXA</b> , CIP, MFL (ERY, CLI)
CC 30	EMRSA-16, UK	ST 36	t 018	PEN, <b>OXA</b> , ERY, CLI, CIP, MFL
CC 398	LA-MRSA	ST 389	-	PEN, <b>OXA</b> , ERY, CLI, TET (CIP, SXT)

*Примітка:* PEN – бензилпеніцилін, ERY – еритроміцин, CLI – кліндаміцин, OXA – оксацилін, CIP – ципрофлоксацин, MFL – моксифлоксацин, GEN – гентаміцин, STX – триметоприм, TET – тетрациклін, RAM – рифампіцин, PHO – фосфоміцин, LIN – лінезолід. У дужках вказано антибіотики, до яких резистентні тільки деякі зі штамів.

Вивчення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів здійснюється для вирішення низки завдань:

- обґрунтування цілеспрямованої індивідуальної антибактеріальної терапії для лікування конкретної інфекційної хвороби;
- обґрунтування емпіричної терапії окремих нозологічних форм інфекційних хвороб у межах лікувальних установ/господарств або регіонів;
- спостереження за розповсюдженням антибіотикорезистентності мікроорганізмів;
- дослідження нових хімічних сполук на наявність антибактеріальної активності [184].

Стандартні методи визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків було розроблено у другій половині XX століття і з тих пір вони принципово не змінилися.

Серед стандартизованих методів визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів розрізняють методи серійних розведень і дифузійні. Крім того, у даний час все більш широкого розповсюдження набувають автоматичні методи.

Для визначення величини МІК (мінімальна концентрація препарату, яка пригнічує видимий ріст досліджуваного мікроорганізму в бульйонному або на щільному поживному середовищі) певні концентрації антибіотика вносять у поживне середовище, яке потім засівають культурою досліджуваного мікроорганізму, і після інкубації оцінюють наявність або відсутність видимого росту.

Розрізняють методи серійних розведень в агарі або в бульйоні. Залежно від об'єму використаного бульйону розрізняють методи серійних макро- та мікророзведень. В автоматизованих системах для визначення чутливості мікроорганізмів використовується метод, заснований на використанні тільки двох концентрацій антибіотиків, які відповідають граничним значенням МІК.

В основу дифузійних методів визначення чутливості покладена дифузія АБП з носія у щільне поживне середовище до концентрації препарату, яка

перевищує МІК і пригнічує ріст досліджуваної культури в цій зоні. Існують дві основні модифікації дифузійного методу: диско-дифузійний та Е-тест.

У диско-дифузійному методі як носій антибактеріальних препаратів використовують паперовий диск. Утворення зони пригнічення росту відбувається в результаті дифузії АБП з носія у поживне середовище. Диско-дифузійний метод дозволяє лише опосередковано зробити висновок про величину МІК, а результатом дослідження є віднесення мікроорганізму до однієї з категорій чутливості (чутливий, помірно-стійкий або резистентний).

Е-тест – це вузька полімерна смужка (0,5×6,0 см), на яку нанесений градієнт концентрацій АБП (від мінімальних до максимальних). Пригнічення росту мікроорганізму навкруги смужки Е-тесту відбувається тільки в тій зоні, де концентрація АБП, що дифундує з носія, вище МІК, при цьому утворюється краплеподібна зона інгібіції. Значення концентрацій АБП на кожній ділянці носія нанесені на зовнішній (звернений до дослідника) поверхні Е-теста. Величину МІК вираховують у тому місці, де межа зони пригнічення росту впритул підходить до носія. Детальні інструкції про визначення чутливості з використанням Е-тестів додаються виробником до набору.

Для вивчення антибіотикочутливості мікроорганізму, незалежно від методу дослідження, необхідно послідовно виконати такі етапи:

- приготувати поживні середовища;
- приготувати суспензії досліджуваних мікроорганізмів (інокулюма);
- ввести інокулюм в поживне середовище;
- інкубувати посіви визначений проміжок часу за відповідних температурних параметрів;
- облік результатів та їх інтерпретація, формулювання рекомендацій щодо лікування.

Дифузійні методи включають також етап накладення дисків або смужок Е-тесту на щільне поживне середовище.

Препаратами вибору для лікування стафілококових інфекцій, спричинених *S. aureus* і коагулазанегативними стафілококами, є β-лактамі антибіотики.

Штами *Staphylococcus* spp., які мають ПЗБ-2а (метицилінорезистентні), клінічно стійкі до всіх  $\beta$ -лактамних АБП. Маркером наявності ПЗБ2а є стійкість до оксациліну і метициліну.

Метицилін практично повністю витіснив з клінічної практики оксацилін, відповідно з'явився термін «оксацилінорезистентність», що є повним синонімом терміну «метицилінорезистентність».

При визначенні чутливості штамів стафілококів до оксациліну. При дослідженні стандартними методами необхідно враховувати деякі особливості:

- для приготування інокулюму використовують тільки прямий метод суспендування колоній;
- тривалість інкубації до обліку результатів визначення чутливості до оксациліну повинна становити не менше 24 год.

Особливості тестування диско-дифузним методом: використовують диски, що містять 1 мкг оксациліну; під час обліку результатів звертають увагу навіть на поодинокі дрібні колонії стафілококів, знайдені в межах зони пригнічення росту.

Особливість тестування методами серійних розведень: до поживного середовища доцільно додавати NaCl [93, 126].

Штами стафілококів, резистентні до оксациліну, вважають стійкими до усіх  $\beta$ -лактамних АБП. Якщо результати дослідження суперечливі, вирішальними є результати визначення чутливості до оксациліну. Визначати чутливість стафілококів до  $\beta$ -лактамних АБП, крім бензилпеніциліну та оксациліну, недоцільно.

У разі виявлення у стафілококів множинної резистентності за чутливості до оксациліну дослідження повторюють. Критерії оцінки резистентності до метициліну для *S. aureus* і коагулазанегативних стафілококів відрізняються.

У випадку отримання сумнівних результатів необхідно використовувати додаткові методи: скринінг на агарі, пряме виявлення гена *mecA* або білка ПЗБ2а.

У разі виділення пенициліно- і метициліночутливих штамів стафілококів, мікроорганізм вважається чутливим до всіх бета-лактамних АБП, а препаратами вибору будуть природні та амінопеніциліни [165, 167].

За виявлення продукції  $\beta$ -лактамаз і чутливості до оксациліну, мікроорганізм резистентний до природних пеніцилінів, аміно-, карбокси- і уреїдо-пеніцилінів, але чутливий до оксациліну, інгібіторозахищених пеніцилінів і цефалоспоринів I–II поколінь, які є препаратами вибору в даному випадку. Відносно даних штамів будуть також активні цефалоспорини IV покоління та карбапенеми, проте переваг, порівняно з препаратами вибору, вони не мають.

За умови виявлення метицилінорезистентності штам вважається стійким до всіх  $\beta$ -лактамних антибіотиків, для лікування необхідно використовувати препарати інших груп, препаратами вибору в цьому випадку є глікопептиди.

Найнадійнішим методом виявлення метицилінорезистентності у стафілококів є безпосереднє визначення наявності гена *mecA* молекулярно-генетичними методами (за допомогою ПЛР). Крім того, розроблений метод виявлення пеніцилінозв'язуючого білка – ПЗБ2а в реакції аглютинації [171, 214].

## 1.6 Висновки з огляду літератури

Отже, стафілококи відіграють одну з ключових ролей в етіології захворювань тварин і людей.

Вивчення властивостей стафілококів показало, що вони є складною групою мікроорганізмів з різними біологічними властивостями.

Для бактеріологічних досліджень з метою виявлення стафілококів, кращими діагностичними середовищами є такі, до складу яких входить поварена сіль, яка пригнічує ріст інших мікроорганізмів. Для виявлення стафілококів з харчових продуктів, найчастіше використовують середовище Байрд-Паркер, до складу якого входить розчин телуриду калію і літію хлорид, які є інгібіторами росту супутньої мікрофлори. Також до готового середовища додається суспензія яєчного жовтка, що надає можливість перевірити лецитиназну активність.

Для вивчення коагуляції плазми крові, найкраще реагують культури стафілококів коли використовують плазму крові кролів.

Однією з ознак патогенності стафілококів є утворення золотистого пігменту.

Розщеплення маніту в анаеробних умовах також використовується як тест патогенності стафілококів.

Патогенні стафілококи продукують токсин, який володіє антигенними та імуногенними властивостями, а також чинить гемолітичну, дерманекротичну та летальну дію.

Визначення патогенності культури стафілококу потрібно вирішувати на підставі комплексу біохімічної активності.

Стафілококові інфекції є однією з найбільш важливих та актуальних проблем, як у гуманній, так і у ветеринарній медицині.

За даними українських дослідників захворюваність стафілококової етіології значно зросла за останні роки. Джерелом інфекції є хворі тварини, контамінована збудником продукція тваринного походження та об'єкти довкілля.

Українські дослідники встановили, що у різних регіонах України частота виділення *MRSA* у стаціонарах лікарень варіювала у межах 7,5–72,1 %.

Згідно літературних даних *MRSA* є розповсюдженими у багатьох країнах світу.

Широке поширення стафілококової інфекції тісно пов'язане з розвитком у патогенних стафілококів антибіотикорезистентності. Серед представників роду *Staphylococcus* найбільшим патогенним потенціалом володіє *S. aureus*. Особливу небезпеку несуть метицилінрезистентні *S. aureus*, які мають ген резистентності *mecA* та стійкі до  $\beta$ -лактамних і часто до інших антибіотиків.

Установлено декілька типів стійкості бактерій до антибіотиків – природна та набута, яка, у свою чергу може бути первинною та вторинною. Так, *MRSA* набули ген резистентності *mecA*, який робить їх стійкими до антибіотиків.

Для визначення резистентності *S. aureus*, зокрема *MRSA*, до антибактеріальних препаратів, застосовують стандартизовані методи, такі як:

методи серійних розведень (мікро- та макро-), диско-дифузійні методи; а також автоматизовані методи, якими безпосередньо визначається наявність гена резистентності – це молекулярно-генетичні методи (за допомогою ПЛР). Крім того, розроблений метод виявлення пеніцилінозв'язуючого білка – ПЗБ2а в реакції аглютинації.

На жаль, поза увагою залишається широкомасштабне вивчення розповсюдженості *MRSA* серед різних видів тварин, виявлення його у харчових продуктах та об'єктах довкілля. У зв'язку з цим, існує необхідність поглиблення знань щодо біологічних властивостей резистентних до антибіотиків культур *S. aureus*, зокрема *MRSA*, які циркулюють в Україні.

## РОЗДІЛ 2

### ВИБІР НАПРЯМІВ ДОСЛІДЖЕННЯ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

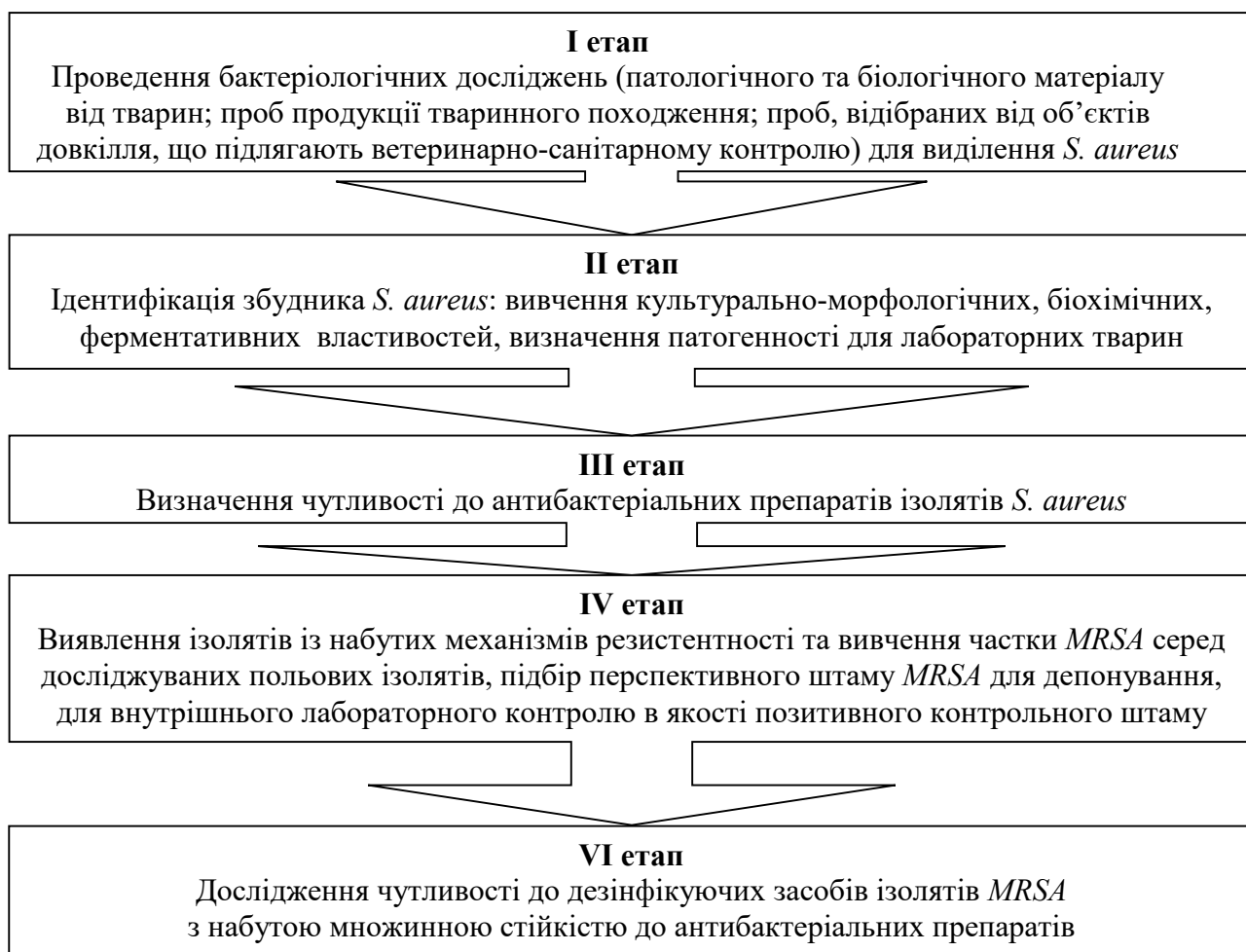
Робота виконана упродовж 2014–2020 років на базі науково-дослідного бактеріологічного відділу Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (ДНДІЛДВСЕ).

Під час проведення досліджень в умовах лабораторії було використано дорослих білих мишей обох статей інбредної лінії C57BL/6 вагою 20–22 г. Дослідження з використанням лабораторних тварин проводили з дотриманням вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1995), ухвали першого наукового конгресу з біоетики (Київ, 2001) та Закону України «Про захист тварин від жорсткого поводження» від 23.03.2006 р. Постановку експериментальних досліджень проводили за розробленою схемою досліджень у 6 етапів (рис. 2.1).

**Перший етап** було присвячено бактеріологічним дослідженням *S. aureus*, циркулюючого на території України серед тварин, ізолюваного з проб продукції тваринного походження та об'єктів довкілля за результатами офіційної звітності державних лабораторій Держпродспоживслужби та ДНДІЛДВСЕ.

**Другий етап** присвячений виділенню польових ізолятів *S. aureus*, одержаних за результатами досліджень їхніх морфологічних, культуральних, біохімічних, біологічних властивостей. Було досліджено 39 польових ізолятів *S. aureus*, одержаних із патологічного та біологічного матеріалу від тварин, від проб продукції тваринного походження та об'єктів довкілля, ідентифікованих у науково-дослідному бактеріологічному відділі Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи та поміщених на зберігання в Музей ізолятів збудників зоонозних інфекцій бактеріальної етіології, який було створено відповідно до Доручення Держпродспоживслужби від 12.10.2018 р. № 602-06-06/42 (табл. 2.1).





**Рис. 2.1. Загальна схема проведення експериментальних досліджень.**

*Таблиця 2.1*

**Перелік досліджуваних ізолятів *S. aureus* та категорії об'єктів, n=39**

Категорія дослідного об'єкта				
Ізоляти <i>S. aureus</i> , виділені із патологічного та біологічного матеріалу від тварин (n=9)	Ізоляти <i>S. aureus</i> , виділені в зразках продукції тваринного походження (n=26)			Ізоляти <i>S. aureus</i> , виділені з проб, відібраних від об'єктів довкілля (n=4)
1	2			3
28/70	2/15	22/22	80/187	21/57
94/205	37/92	23/59	81/188	27/69
18/52	42/105	69/164	82/189	30/75

1	2			3
84/191	56/142	70/165	83/190	95/206
85/192	57/143	74/169	90/197	
86/193	59/152	75/170	145/328	
87/194	60/153	77/173	147/329	
88/195	66/161	78/174	148/345	
89/196	62/155	79/176		

Під час проведення ідентифікації *S. aureus* у виділених польових ізолятів вивчали: морфологічно-тинкторіальні властивості, особливості культурального росту на простих і диференційно-діагностичних поживних середовищах; здатність до продукції каталази, коагулази, лецитинази, альфа-токсину, ферментів для розщеплення глюкози, сахарози, лактози, маніту з утворенням кислоти без газу та відсутність ферменту для розщеплення мальтози, відсутність продукції оксидази та уреаз.

Для досліджень були використані звичайні поживні середовища: м'ясо-пептонний агар (МПА) (виробник – HiMedia, Індія); м'ясо-пептонний бульйон (МПБ) (виробник – HiMedia, Індія); жовтково-сольовий агар (ЖСА) (виробник – HiMedia, Індія); середовище Байрд-Паркера (виробник – HiMedia, Індія); молочно-сольовий агар (МСА) (виробник – HiMedia, Індія); кров'яний агар (Колумбійський агар) (КА) (виробник – HiMedia, Індія); бульйон із сечовиною (виробник – HiMedia, Індія); диски з оксидазою (виробник – HiMedia, Індія); цитратну плазму крові кроля ліофілізовану (фірма-виробник – HiMedia, Індія); бульйон з феноловим червоним та вуглеводами глюкозою, сахарозою, лактозою, мальтозою, манітом, мальтозою (виробник – HiMedia, Індія).

Патогенні властивості досліджуваних штамів *S. aureus* і його властивостей до продукції ентеротоксину за летальним ефектом були досліджені на 320 мишах інбредної лінії C57BL/6 вагою 20–22 г.

Мишей утримували у звичайних лабораторних умовах за 12-годинного режиму день/ніч на раціоні віварію з вільним доступом до їжі та води. У вентиляваному приміщенні температура повітря становила 20–22 °С, вологість – 50–60 %. Тварин утримували у пластикових клітках з ґратчастими сітками з нержавіючої сталі (довжина – 60 см, ширина – 40 см, висота – 20 см). У кожній клітці знаходилося по 6–12 мишей. Підстилку та воду тваринам міняли щоденно. Як підстилку використовували тирсу деревини, яку перед використанням автоклавували (тиск – 1,5 атм.). Тварини отримували кип'ячену фільтровану воду кімнатної температури. Годували мишей комбінованим гранульованим кормом такого складу (%): кукурудзяне борошно – 5,0; пшеничне борошно – 30,0; ячмінне борошно – 17,0; вівсяне борошно – 5,0; рибне борошно – 6,0; просяне борошно – 5,0; висівки – 6,0; шрот соєвий – 5,0; м'ясо-кісткове борошно – 5,0; дріжджі сухі – 1,5; риб'ячий жир – 2,0; крейда – 1,0; сіль – 0,5; сухе молоко – 6,0; шрот соняшниковий – 5,0.

Для зараження мишей виготовляли мікробні суспензії *S. aureus* шляхом проведення змивів добових агарових культур золотистих стафілококів стерильним фізіологічним розчином. Для зараження застосовували концентрації  $1,0 \times 10^9$  КУО/см<sup>3</sup> у дозі 0,2 см<sup>3</sup>, яку вводили білим мишам у ділянці латеральної поверхні задньої кінцівки.

На третю добу після зараження проводилась евтаназія експериментальних тварин інгаляційним шляхом за допомогою хлороформу.

Після евтаназії тварини піддавались розтину для подальшого вивчення патологоанатомічних змін внутрішніх органів. Після розтину у білих мишей спостерігалася гіперемія кишечника та крапкові крововиливи на його слизових оболонках; відзначалася гіперемія та набряк легень; спостерігалася збільшення та кровонаповнення печінки та нирок.

На *третьому етапі* були проведені дослідження з визначення чутливості до антибіотиків 39 досліджуваних штамів *S. aureus* і визначено їхні антибіотикограми загального профілю за постановки диско-дифузійного методу Кірбі-Бауера (ДДМ), інтерпретацію результатів проводили за методологією EUCAST (версія № 8.1 від 15.05.2018 р.).

Для визначення чутливості польових ізолятів *S. aureus* використовували диски антибіотиків виробництва HiMedia (Індія), які належали до 12 груп антибактеріальних препаратів (табл. 2.2).

Таблиця 2.2

**Перелік дисків з антибіотиками, які використовувались  
для визначення чутливості досліджуваних ізолятів *S. aureus***

№ п/п	Назва групи антибактеріальних препаратів	Назва антибіотика
1	2	3
1	група пеніцилінів	- бензилпеніцилін (1 мкг) - оксацилін (5 мкг)
2	група глікопептидів	- ванкоміцин (50 мкг);
3	група тетрациклінів:	- тетрациклін (30 мкг)
4	група макролідів	- еритроміцин (15 мкг)
5	група лінкозамідів	- кліндаміцин (2 мкг)
6	група аміноглікозидів	- амікацин (5 мкг) - гентаміцин (10 мкг) - тобраміцин (10 мкг)
7	група флюорохінолонів	- ципрофлоксацин (5 мкг) - левофлоксацин (5 мкг) - норфлоксацин (10 мкг) - офлоксацин (5 мкг)

1	2	3
8	група цефалоспоринів:	- цефокситин (30 мкг)
9	група оксилідинонів	- лінезолід (10 мкг)
10	група амфеніколи	- хлорамфенікол (30 мкг)
11	природний антибіотик, що є похідним стероїдів	- фузидієва кислота (10 мкг)
12	інші синтетичні групи	- рифампіцин (5 мкг), - тріметоприм (5 мкг).

За постановки досліду чітко дотримувалися рекомендацій EUCAST, тому використовували агар Мюллера-Хінтона (МХА) (виробник – HiMedia, Індія) з рівнем рН у діапазоні від 7,2 до 7,4. Після проведення стерилізації МХА охолоджували до температури 42–45 °С, ретельно перемішували та розливали у чашки Петрі близько 25,0 см<sup>3</sup> середовища в кожену, щоб висота стовпчика агару була завтовшки 4,0±0,5 мм. Після повного застигання агару слідкували, щоб на поверхні агару та внутрішній стороні верхньої частини чашки Петрі не було конденсату. За наявності конденсату чашки з агаром підсушували. Розлитий і підсушений МХА перевіряли на стерильність, на придатність для росту бактерій *S. aureus*.

Для подальших досліджень виготовляли інокулюм з досліджуваних штамів *S. aureus*. Для приготування інокулюму застосовували прямий метод виготовлення бактеріальної суспензії *S. aureus*, рекомендований EUCAST. Стерильною бактеріологічною петлею відбирали кілька типових (морфологічно схожих) колоній 18–24-годинної культури контрольних і досліджуваних бактерій, культивованих на КА. Бактеріальну масу вносили у стерильний фізіологічний розчин і виготовляли суспензію, ретельно перемішуючи. Щільність дослідної бактеріальної суспензії *S. aureus* вимірювали шляхом візуального порівняння зі

стандартом каламутності 0,5 (стандарт Мак-Фарланда), використовуючи шаблон із нанесеними чорними лініями на білому фоні.

Далі проводили інокуляцію чашок з МХА виготовленими інокулятами контрольного та досліджуваних штамів *S. aureus*. Для цього суспензії досліджуваних *S. aureus* наносили на поверхню МХА та проводили розтирання бактеріальної суспензії *S. aureus* на чашках ватним тампоном, ретельно, уникаючи проміжків між штрихами, штрихували нанесену культуру у трьох напрямках, регулюючи поворот чашки Петрі на 120 ° по колу.

Диски з антибіотиками на поверхню МХА наносили протягом 15 хв після інокуляції чашок культурою та відразу відправляли до термостату. Режим інкубації проходив за температури 35±1 °С за звичайної атмосфери з терміном 16–20 год.

Перед початком обліку результатів звертали увагу на сформований рівномірний суцільний ріст бактерій *Staphylococcus aureus* («газон»).

Облік результатів проводили шляхом вимірювання зон затримки росту навколо диску з будь-яким антибіотиком, орієнтуючись на зону пригнічення росту мікроорганізмів, яку можна визначити візуально за розміщення чашки на відстані близько 30 см від очей. Для вимірювання зон затримки росту чашку Петрі із закритою кришкою розміщували догори дном над темною матовою поверхнею так, щоб світло падало під кутом 45 ° – ефект відбитого світла. Вимірювання зон пригнічення росту проводили з точністю до найближчого міліметра за допомогою лінійки. Інтерпретацію результатів проводили згідно чинної версії EUCAST [115].

Зона інгібування росту штамів *S. aureus*, була чітко візуально видимою, без наявності будь-якого росту. Зону затримки росту *S. aureus* вважали відсутньою за суцільного росту культури навколо диска з антибіотиком. У випадках, коли виявляли подвійну зону затримки росту або ріст окремих колоній у зоні пригнічення росту, дослідний ізолят перевіряли на чистоту культури. У разі підтвердження чистоти дослідної культури стафілокока, діаметр зони затримки росту обліковували за внутрішньою зоною, вільною від росту колоній.

У процесі обліку результатів з визначення чутливості ізолятів *S. aureus* до антибіотиків нами були враховані деякі особливості бактерій золотистого стафілококу, на які звертає увагу EUCAST, зокрема до дії лінезоліду і бензилпеніциліну. Облік результатів на чутливість стафілококів до лінезоліду проводили через дно чашки у пронизуючих променях джерела світла з метою виявлення росту окремих колоній у межах зони інгібування росту. За відсутності росту колоній, дослідний ізолят оцінювали, як чутливий; за наявності росту колоній – як резистентний до дії лінезоліду. За обліку результатів з визначення чутливості ізолятів *S. aureus* до бензилпеніциліну звертали увагу на краї зони пригнічення росту в проникаючому світлі. Якщо діаметр зони інгібування росту *S. aureus* перевищував граничні значення –  $\geq 26$  мм і мав візуально видиму чітку межу зони інгібування росту, штам золотистого стафілокока оцінювали, як резистентний до дії бензилпеніциліну. Якщо межа зони інгібування росту була нечіткою і мала діаметр  $\leq 26$  мм, штам оцінювали, як чутливий до бензилпеніциліну [14, 116, 168].

**Четвертий етап** присвячено дослідженням з виявлення набутих механізмів резистентності серед вищезначених 39 польових ізолятів *S. aureus* за допомогою скринінгу з використанням як чутливого, специфічного маркера *mecA/mecC*-опосередкованої резистентності до метициліну – цефоксітіну (30 мкг) із застосуванням диско-дифузійного методу за методикою EUCAST з оцінкою метицилінрезистентності досліджуваних *S. aureus* (MRSA-штамів), якщо зона затримки росту навколо диска з цефоксітіном складала  $> 22$  мм.

Підтвердження наявності хромосомального гена *mecA* здійснювали за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі (ПЛР-РЧ) із застосуванням набору реагентів AmpliSens MRSA-screen-titre-FRT PCR kit варіант FRT-100 F (Росія).

Облік та інтерпретація результатів були проведені на основі наявності пересікання кривої флуоресценції з встановленою на відповідному рівні порогової лінії, що визначає наявність для даного зразка ДНК значення порогового циклу  $C_t$  у відповідності до графі в таблиці результатів.

**П'ятий етап** було присвячено вивченню біоплівкоутворюючих властивостей у польових ізолятів *S. aureus* та дослідженню рівнів щільності утворених біоплівок у 7 штамів збудника: «2/15», «37/92», «42/105», «66/161», «77/173», «82/189» і «86/193».

Усі досліджувані штами *S. aureus* були полі- та мультиантибіотикорезистентними за результатами попередніх досліджень їхньої чутливості до антибактеріальних препаратів. Зокрема, *S. aureus* штам «2/15» був стійким до бензилпеніциліну, оксациліну, лінкоміцину, ванкоміцину, тетрацикліну, рифампіцину та лінезоліду (групи пеніциліні, глікопептидів, тетрациклінів, інших агентів); штам «37/92» – до еритроміцину, фузидіксової кислоти і рифампіцину (групи макролідів, інших агентів); штам «42/105» – до нетилміцину, тигецикліну, триметопрім-сульфаметоксазолу (аміноглікозидів, тетрациклінів, інших агентів); штам «66/161» – до бензилпеніциліну, ципрофлоксацину, тигецикліну, фузидіксової кислоти та ванкоміцину (групи пеніцилінів, флюорохінолонів, тетрациклінів, інших агентів, глікопептидів); штам «77/173» – бензилпеніциліну, фузидіксової кислоти, рифампіцину (групи пеніциліні, інших агентів); штам «82/189» – бензилпеніциліну, еритроміцину, кліндаміцину та тетрацикліну (групи пеніцилінів, макролідів, лінкозамідів, тетрациклінів); штам «86/193» – бензилпеніциліну, амікацину, тобраміцину, кліндаміцину, фузидіксової кислоти, триметопріму (групи пеніциліні, аміноглікозидів, лінкозамідів, інших агентів).

Здатність до утворення біоплівки дослідних ізолятів *S. aureus* вивчали за розробленою та валідованою методикою згідно з «Методичними рекомендаціями з визначення бактерицидної активності дезінфікуючих засобів на бактеріях у біоплівках (Кухтин М. Д. та ін., 2020), де в результаті проведених досліджень діставали промивний спиртовий розчин, який зливали у стерильні ємності та вимірювали його оптичну густину на спектрофотометрі за довжини хвилі 570 нм.

Облік результатів проводили за наступними критеріями: якщо оптична густина промивного спиртового розчину складала до 0,5 Од – густину



сформованих біоплівки вважали низькою; за оптичної густини від 0,5 до 1,0 Од – середньою; за оптичної густини більше 1,0 Од – високою.

**Шостий етап** був присвячений проведенню експериментальних досліджень з польовими ізолятами *S. aureus* на визначення стійкості до дезінфікуючих засобів з різними діючими речовинами. Було використано 7 (означених вище) штамів *S. aureus*: «18/52», «21/57», «23/58», «27/69», «28/70», «30/75» і «62/155», виділених із біологічного і патологічного матеріалів від тварин, проб готової продукції тваринного походження та об'єктів довкілля.

Як позитивний контроль використовували тест-культуру *S. aureus* ATCC 6538.

Надалі нами був проведений контроль тест-культури *S. aureus* ATCC 6538 на стійкість до еталонних дезінфікуючих засобів – 0,2 %-го розчину хлораміну (експозиція 15 хв); 3,0 %-го розчину перекису водню (експозиція 20 хв); 0,06 %-го розчину глутарового альдегіду (експозиція 10 хв); 0,025 %-го розчину алкілдіметілбензіламонію (АДБАХ, експозиція 10 хв), після дії яких, бактеріальні клітини тестової культури *S. aureus* ATCC 6538 загинути.

Після одержання результатів, які підтверджували відповідність основних типових властивостей тестової культури *S. aureus* ATCC 6538 і бактерицидний характер дії на неї еталонних дезінфікуючих засобів, тестову культуру використовували для контролю якості в наступних експериментальних дослідженнях з дослідними штамами золотистих стафілококів. Для цього були проведені пересіви означених культур на МПА з культивуванням упродовж 24 год за температури  $37 \pm 1$  °C.

Із одержаних добових агарових досліджуваних культур золотистого стафілокока виготовляли суспензії у концентрації  $2,0 \times 10^9$  м. к./см<sup>3</sup> за оптичним стандартом каламутності МакФарланда та проводили дослідження щодо вивчення характеру дії досліджуваних дезінфікуючих засобів.

Під час досліджень використовували дезінфектанти з різними складовими компонентами, які наведено в табл. 2.3.

**Досліджувані дезінфікуючі засоби  
та вміст діючих речовин згідно листівок-вкладок**

Дезінфікуючий засіб	№ 1		№ 2		№ 3	
	в 100 мл препарату, г		в 1 кг препарату, г		діючі речовини (%):	
Уміст діючих речовин згідно листівки-вкладки	Бензалконій хлорид	5,0	Гліоксалевий альдегід	5,0	Глутаровий альдегід	8
	Глутаровий альдегід	10,0	Глутаровий альдегід	115,0	Гліоксалевий альдегід	8
	Формальдегід	14,8	Бензалконій хлорид	240,0	Четвертинні амонієві сполуки	20
			Додецилдиметиламоній хлорид	5,0	Полігексаметиленгуанідин гідрохлорид	1
Досліджувані концентрації, %	0,25; 0,5; 1,0		0,05; 0,25; 0,5		0,05; 0,25; 0,5	
Експозиція, хв	30		30		30	

Дослідження з визначення стійкості штамів *S. aureus* до дезінфікуючих засобів проводились згідно «Методичних рекомендацій з визначення бактерицидної активності та контролю відсутності бактеріостатичного ефекту дезінфікуючих засобів», затверджених Вченою радою Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів та Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (протокол № 2 від 23 квітня 2019 р.).

Для виконання дисертаційної роботи згідно робочої програми нами використано комплекс сучасних методів досліджень: клінічних, морфологічних, культуральних, біохімічних, серологічних, біологічних та проведена статистична обробка одержаних результатів експериментів.

Одержання польових ізолятів *S. aureus*, виділених з патологічного і біологічного матеріалів від тварин, їхню ідентифікацію за морфологічними, культуральними, біохімічними, біологічними властивостями проводили за загально прийнятими методами [27, 33, 36].

Ізоляцію та ідентифікацію ізолятів *S. aureus* здійснювали відповідно до чинних методик (ISO 6888-1, ISO 6888-2, ISO 6888-3, ДСТУ ISO 6888-1:2003, ДСТУ ISO 6888-2:2003, ДСТУ IDF 138:2003, ГОСТ 30347-97, «Методические рекомендации. Лабораторная диагностика стафилококковых инфекций» (1989 г.), «Методичні рекомендації щодо мікробіологічної діагностики збудників стафілококових інфекцій» (1999 р.), «Методические рекомендации по лабораторной диагностике стафилококковых инфекций» (1987 г.), «Методичні вказівки щодо санітарно-мікробіологічного контролю об'єктів виробництва та реалізації, які підлягають ветеринарному нагляду» (2013 р.) [37, 22, 23, 38].

Для визначення чутливості до антибіотиків та виведення антибіотикограми загального профілю досліджуваних штамів *S. aureus* застосовували диско-дифузійний метод за методологією EUCAST [117, 118, 206].

Набуті механізми резистентності у 39 досліджуваних *S. aureus* визначали методом скринінгу за методологією EUCAST фенотиповим методом з використанням диско-дифузійного методу за проведення скринінгу з цефокситином (30 мкг/диск) для виявлення метицилінрезистентних штамів золотистого стафілокока за умови встановлення діаметру зони інгібування росту навколо диска з ним  $< 22$  мм, якщо  $\geq 22$  мм – штам чутливий до метициліну [79, 117, 118].

Виявлення хромосомального гена *mecA* методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі (ПЛР-РЧ) за допомогою набору реагентів AmpliSens

MRSA-screen-titre-FRT PCR kit варіант FRT-100 F проводили згідно інструкції від виробника [56].

Виявлення властивостей досліджуваних польових ізолятів *S. aureus* до утворення біоплівки проводили за розробленою та валідованою нами методикою [30, 157, 213].

Дослідження полі- і мультиантибіотикорезистентних досліджуваних штамів *S. aureus* на виявлення стійкості до дезінфікуючих засобів з різними діючими речовинами проводили за чинними методиками [19, 24, 25, 39 154]

Статистичну обробку одержаних результатів досліджень проводили із обчисленням середніх значень ( $M$ ), середньоквадратичних відхилень ( $m$ ) і порівняльних середніх значень із використанням параметричного  $t$ -критерію Стьюдента за урахуванням порогу вірогідності від  $p < 0,05$  до  $p < 0,001$  [42].

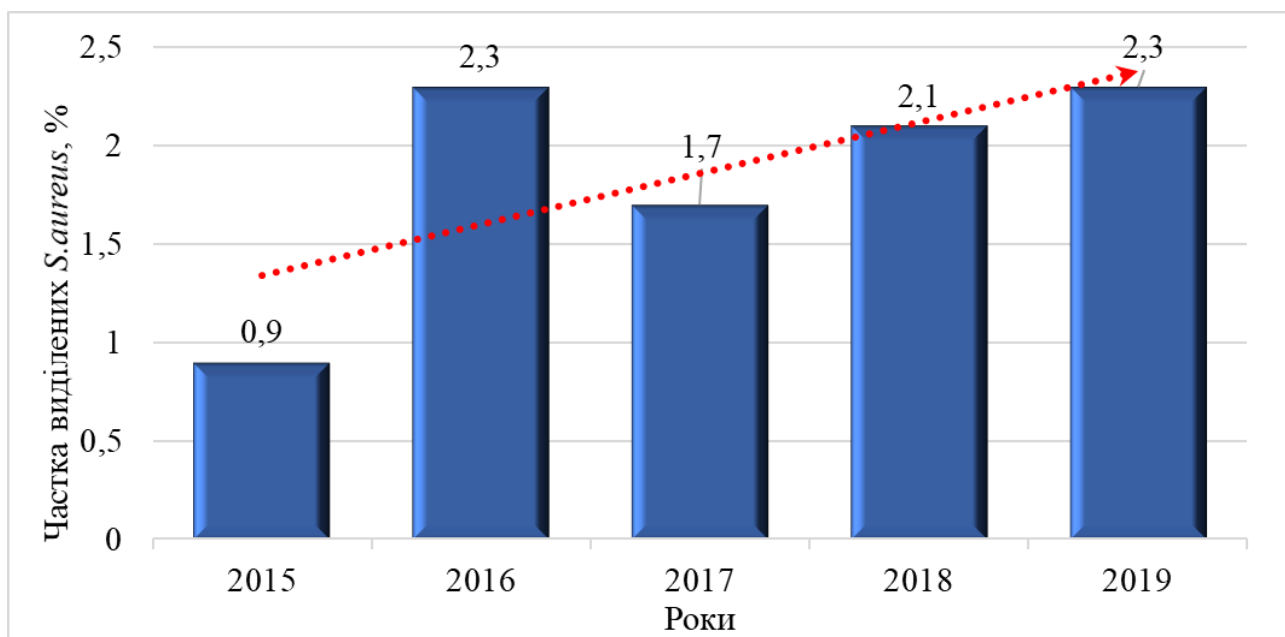
**Висновки до розділу 2.** Застосування загальноприйнятих та спеціальних методів дослідження надало змогу вирішити поставлені у дисертаційній роботі завдання. Методи статистичної обробки результатів дослідження в повній мірі забезпечили достовірність отриманих результатів.

## РОЗДІЛ 3

### РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 3.1 Аналіз результатів бактеріологічних досліджень проб патологічного та біологічного матеріалу від тварин щодо *S. aureus* на території України за період 2015–2019 рр.

Результати бактеріологічних досліджень щодо наявності збудника *S. aureus* у патологічному та біологічному матеріалі від тварин на території України показали тенденцію до зростання з показниками від 1,7 % у 2017 р. до 2,3 % у 2019 р. (табл. 3.1, 3.2, рис. 3.1).



**Рис. 3.1. Показники виділення збудника *S. aureus* з патологічного та біологічного матеріалу від тварин в Україні за період 2015–2019 рр.**

За період 2015–2019 рр. найвищий рівень ураженості тварин золотистими стафілококами на території України спостерігався у 2019 р., коли із 6 465 зразків патологічного матеріалу з підозрою на стафілококову інфекцію, ізоляти збудника *S. aureus* були виявлені у 2,3 % випадків що у 2,6 разу перевищувало показники 2015 р.

Таблиця 3.1

**Результати бактеріологічних досліджень щодо виділення збудника *Staphylococcus aureus*  
з патологічного та біологічного матеріалу від тварин за період 2015–2019 рр.**

Вид тварин	Кількість проведених досліджень					Кількість підтверджених позитивних результатів					Частка виявлених ізолятів <i>S. aureus</i> відносно досліджених, %				
	2015	2016	2017	2018	2019	2015	2016	2017	2018	2019	2015	2016	2017	2018	2019
Коні	1	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
ВРХ	458	221	206	261	156	22	6	7	21	18	4,8	2,7	3,4	8,0	11,5
ДРХ	78	74	146	91	7	4	1	8	6	1	5,1	1,4	5,5	6,6	14,3
Свині	1362	993	778	523	40	20	6	11	2	0	1,5	0,6	1,4	0,4	0,0
Птиця	7969	7791	8567	5871	5419	26	72	55	52	84	0,3	0,9	0,6	0,9	1,6
Хутрові звірі	21	19	16	3	1	4	4	1	1	1	19,0	21,1	6,3	33,3	100,0
Інші	1063	1332	1504	868	842	25	150	104	75	44	2,4	11,3	6,9	8,6	5,2
ВСЬОГО	10952	10435	11217	7617	6465	101	239	186	157	148	0,9	2,3	1,7	2,1	2,3

Таблиця 3.2

**Результати бактеріологічних досліджень щодо виділення збудника *S. aureus* з патологічного  
та біологічного матеріалу від тварин в розрізі областей України за період 2015-2019 рр.**

Області, де проводили дослідження	Кількість проведених досліджень n=46686					Кількість підтверджених позитивних результатів n=831					Частка виявлених ізолятів <i>Staphylococcus aureus</i> відносно досліджених, %				
	2015	2016	2017	2018	2019	2015	2016	2017	2018	2019	2015	2016	2017	2018	2019
Вінницька	255	93	115	10	0	0	0	2	0	0	0	0	1,7	0	0,0
Волинська	41	105	143	217	51	12	4	6	1	5	29,3	3,8	4,2	0,5	9,8
Дніпропетровська	10	11	7	4	4	3	8	3	3	0	30,0	72,7	42,9	75,0	0,0
Донецька	232	200	197	320	222	14	32	30	29	65	6,0	16,0	15,2	9,1	29,3
Житомирська	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Закарпатська	156	99	90	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Запорізька	16	7	4	7	3	10	5	1	4	0	62,5	71,4	25,0	57,1	0,0

Продовження табл. 3.2

Області, де проводили дослідження	Кількість проведених досліджень n=46686					Кількість підтверджених позитивних результатів n=831					Частка виявлених ізолятів <i>Staphylococcus aureus</i> відносно досліджених, %				
	2015	2016	2017	2018	2019	2015	2016	2017	2018	2019	2015	2016	2017	2018	2019
І-Франківська	13	0	1	2	0	1	0	0	0	0	7,7	0,0	0,0	0,0	0,0
Київська	143	0	2	0	0	0	0	2	0	0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0
Кіровоградська	5	0	0	0	0	2	0	0	0	0	40,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Львівська	5374	5245	5777	4400	4712	0	0	4	0	0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0
Миколаївська	2	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Одеська	1268	1121	979	565	60	2	0	8	1	1	0,2	0,0	0,8	0,2	1,7
Полтавська	181	159	115	2	0	0	0	1	0	0	0,0	0,0	0,9	0,0	0,0
Рівненська	10	3	21	12	4	0	3	12	12	4	0,0	100,0	57,1	100,0	100,0
Сумська	52	106	39	52	84	16	77	13	26	17	30,8	72,6	33,3	50,0	20,2



Продовження табл. 3.2

Області, де проводили дослідження	Кількість проведених досліджень n=46686					Кількість підтверджених позитивних результатів n=831					Частка виявлених ізолятів <i>Staphylococcus aureus</i> відносно досліджених, %				
	2015	2016	2017	2018	2019	2015	2016	2017	2018	2019	2015	2016	2017	2018	2019
Тернопільська	41	25	12	2	3	11	5	7	2	1	26,8	20,0	58,3	100,0	33,3
Харківська	149	244	269	118	149	0	41	6	26	13	0,0	16,8	2,2	22,0	8,7
Херсонська	10	6	6	40	9	0	0	0	2	0	0,0	0,0	0,0	5,0	0,0
Хмельницька	0	0	0	2	0	0	0	0	1	0	0,0	0,0	0,0	50,0	0,0
Черкаська	26	11	11	9	16	1	7	7	4	2	3,8	63,6	63,6	44,4	12,5
Чернігівська	37	31	21	17	12	1	0	0	0	0	2,7	0,0	0,0	0,0	0,0
Чернівецька	2	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0
Луганська	2917	2902	3330	1803	1104	28	20	40	32	18	1,0	0,7	1,2	1,8	1,6
ДНДІЛДВСЕ	12	66	77	29	32	0	37	44	13	22	0,0	56,1	57,1	44,8	68,8
ВСЬОГО	10952	10435	11217	7617	6465	101	239	186	157	148	0,9	2,3	1,7	2,1	2,3

Зростання частоти позитивних випадків виділення *S. aureus* свідчило про погіршення епізоотичної ситуації на території України щодо стафілококозів тварин. Аналіз результатів бактеріологічних досліджень засвідчив постійну та динамічну циркуляцію стафілококової інфекції, яка в більшості випадків мала тенденцію до поширення за територіальними ознаками. Зокрема, високі показники виділення польових ізолятів *S. aureus* спостерігалися у Рівненській області, оскільки з усіх патологічних матеріалів від тварин і птиці, доставлених на дослідження, збудник був ідентифікований у 100,0 % випадків (табл. 3.2).

Схожа ситуація складалась і в Тернопільській області, хоча показники виявлення золотистих стафілококів варіювали від 26,8 до 100,0 % у різні роки дослідного періоду. Велика кількість підтверджених позитивних випадків виявлення у патологічному матеріалі від тварин у різні роки дослідного періоду спостерігалася у Дніпропетровській області з показниками, які варіювали у межах 30,0–75,0 %, у Запорізькій області – 25,0–71,4 %.

За дослідний період у Сумській області рівень стафілококозів не опускався нижче 20,2 %. Слід зауважити, що у тваринницьких господарствах Донецької області, попри невисокі показники підтверджених діагнозів упродовж дослідного періоду, у 2019 р. епізоотичний стан щодо ураженості тварин *S. aureus* значно погіршився, оскільки мала місце тенденція до зростання показників до рівня 29,3 %.

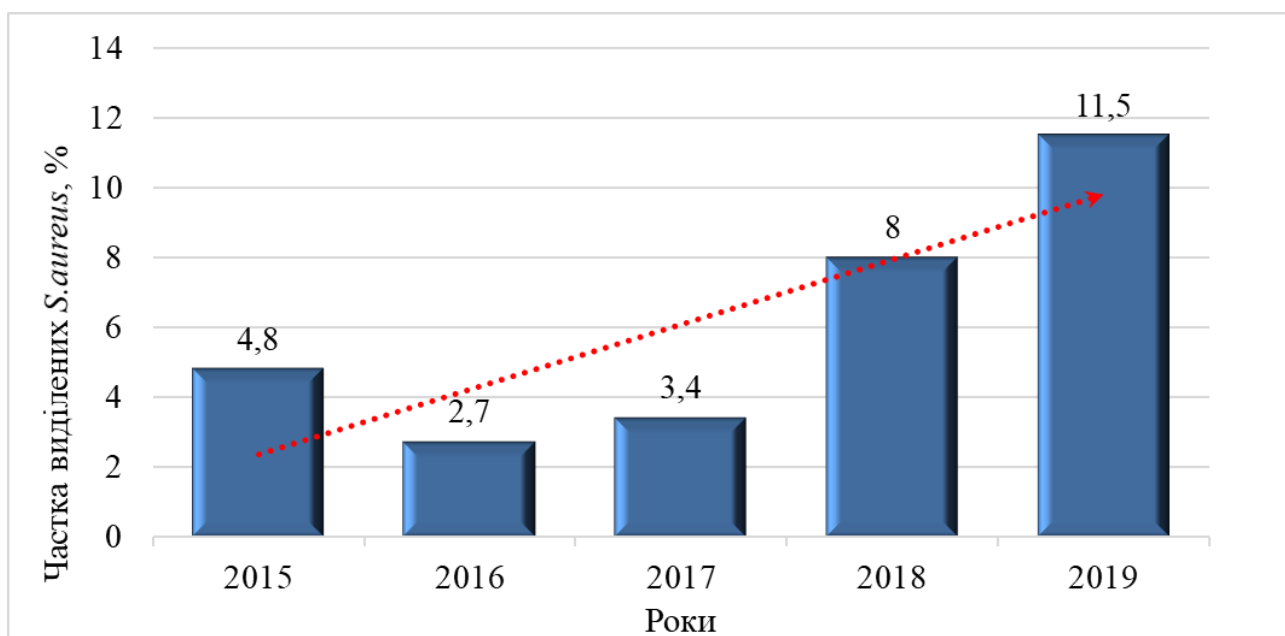
Під час досліджень упродовж 2015–2019 рр. означених показників у тваринницьких і птахогосподарствах Одеської області, порівняно з іншими областями, вони були незначними, оскільки складали від 0,2 до 0,8 % у різні роки. Проте, у 2019 р. показники зросли у 8,5–2,1 разу відповідно, що свідчило про збільшення ураженості поголів'я тварин *S. aureus*.

У господарствах Волинської області у 2015 р. серед досліджених проб збудник *Staphylococcus aureus* був ідентифікований у 29,3 % випадків. Наступні роки відзначилися тенденцією до зниження позитивних показників щодо виявлення золотистих стафілококів серед тварин, навіть до 0,5 % у 2018 р. Проте, у 2019 р. з патологічного матеріалу від худоби та птиці були підтверджені

позитивні результати у 9,8 % випадків, що свідчило про поширення циркуляції *Staphylococcus aureus*.

У господарствах України в Харківській, Черкаській і Луганській областях у 2019 р., порівняно з попередніми роками, спостерігалася тенденція до зменшення показників кількості виявлених позитивних результатів на *S. aureus* у 2,5, 3,5 та 1,1 разу відповідно.

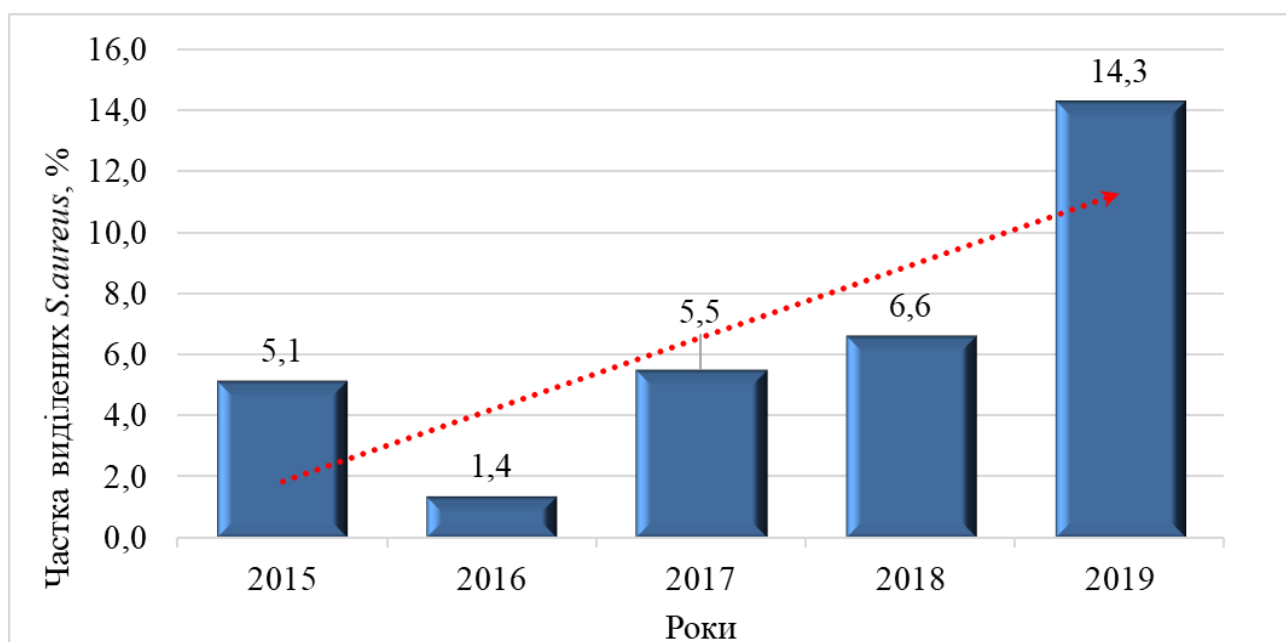
Аналіз статистичних даних щодо виділення мікробіологічним методом польових ізолятів збудника *S. aureus* з патологічного матеріалу від великої рогатої худоби показав, що у 2015–2016 рр. ураженість тварин мала варіаційний характер з тенденцією до скорочення позитивних випадків захворювання. Так, у 2015 р. з 4,8 % підтверджених діагнозів з ізоляцією золотистих стафілококів аналогічний показник у 2016 р. зменшився у 1,8 разу та складав 2,7 % серед досліджених зразків патологічного матеріалу. Починаючи з 2017 р. показник виявлених і ідентифікованих польових ізолятів *S. aureus* з патологічного матеріалу від великої рогатої худоби зростає до 3,4 %, у 2018 р. – до 8,0 % і 2019 р. – до 11,5 % позитивних випадків (рис. 3.2).



**Рис. 3.2. Частота виділення *S. aureus* з проб патологічного матеріалу від великої рогатої худоби в Україні за період 2015–2019 рр.**

Не дивлячись на те, що кількість проб патологічного матеріалу від дрібної рогатої худоби для бактеріологічних досліджень на виявлення збудника *S. aureus* була значно меншою, порівняно з такою у великої рогатої худоби. Проте, частота виділення золотистих стафілококів серед овець і кіз у певні роки дослідного періоду, навіть, перевищувала аналогічні показники у корів.

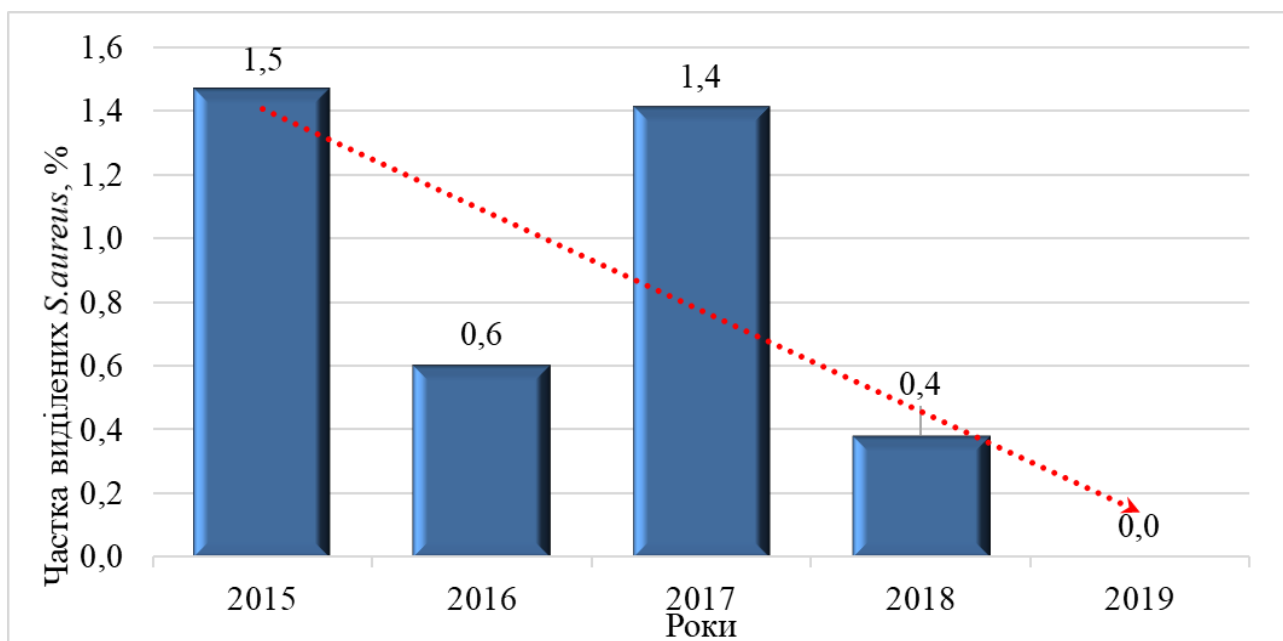
Результати бактеріологічних досліджень показали, що починаючи з 2016 р. спостерігалася тенденція до зростання, більше як у 10 разів, поширеності *S. aureus* серед дрібної рогатої худоби, а саме: від 1,4 % до 14,3 % у 2019 р. (рис. 3.3).



**Рис. 3.3. Частота виявлення *Staphylococcus aureus* у зразках патологічного матеріалу від дрібної рогатої худоби на території України за період 2015–2019 рр.**

Аналіз результатів бактеріологічних досліджень з вивчення циркуляції збудника *Staphylococcus aureus* серед свиней показав значне циклічне варіювання показників. Зокрема, в 2015 р. від рівня 1,5 % виділених польових ізолятів збудника аналогічні показники в 2016 р. зменшилися у 2,5 разу – до 0,6 %. Далі у 2017 р. знову зростання до 1,4 % та зменшення їхньої кількості до 0,4 % у 2018 р. У 2019 р. *Staphylococcus aureus* в жодному випадку не виділяли з

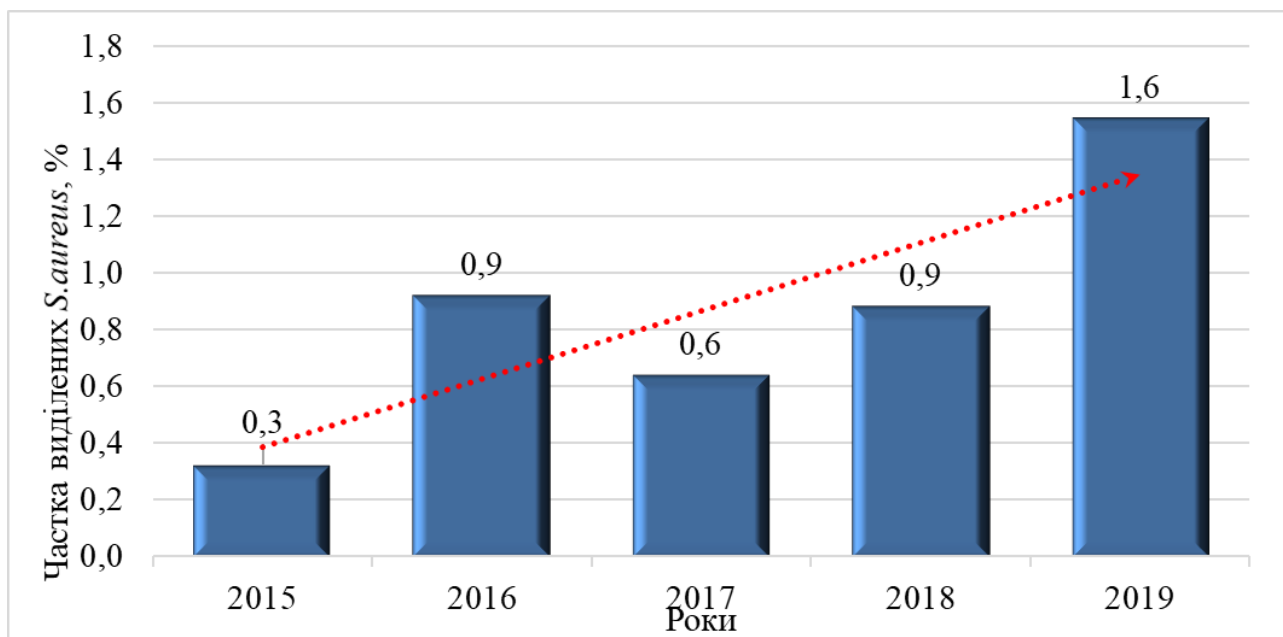
патологічного матеріалу від свиней. Тому, можна сказати про появу тенденції до зниження поширеності *Staphylococcus aureus* серед поголів'я свиней на території України з 2018 р. (рис. 3.4).



**Рис. 3.4. Частота виявлення *S. aureus* з проб патологічного матеріалу від свиней в Україні за період 2015–2019 рр.**

Результати проведених бактеріологічних досліджень *S. aureus* птиці показав тенденцію до постійного зростання показників. За аналізом результатів бактеріологічних досліджень нами було з'ясовано, що впродовж 2015–2017 рр. на бактеріологічні дослідження для виявлення збудника щорічно направляли близько 8,0–8,5 тис. зразків патологічного матеріалу від загиблої птиці. За останні два роки – 2018–2019 рр., кількість проб, що надходили для бактеріологічних досліджень, зменшилася до 5,5–6,0 тис. проб патологічного матеріалу. За таких об'ємів досліджень відсоткова частка ізольованих і ідентифікованих будників *Staphylococcus aureus* була незначною і складала 0,3 % у 2015 р. Проте, з кожним роком згаданий показник зростав та у 2019 р. складав уже 1,9 % (рис. 3.5).

Отже, за останні п'ять років виділення збудника *Staphylococcus aureus* серед птиці зросло більше, ніж у 6 разів, порівняно з показниками 2015 р.



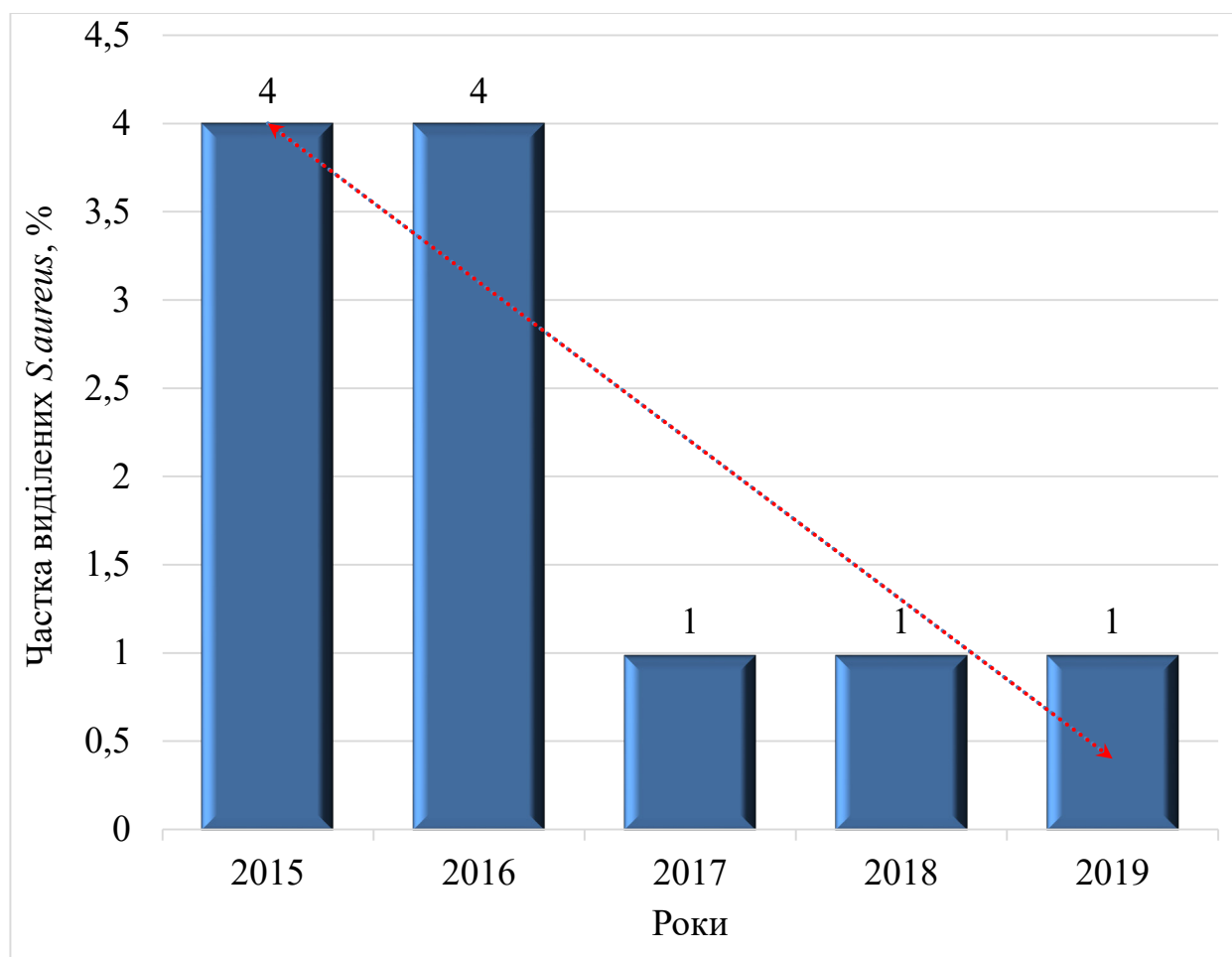
**Рис. 3.5. Частота виявлення *S. aureus* з проб патологічного матеріалу від птиці в Україні за період 2015–2019 рр.**

Циркуляція *S. aureus* серед птиці досить поширена, оскільки збудник є присутнім у всіх місцях, де утримують птицю за високої концентрації поголів'я та наявності інших несприятливих для організму факторів.

Збудник *S. aureus* уражує також і хутрових звірів. За результатами бактеріологічного моніторингу встановлено, що патологічний матеріал від загиблих хутрових звірів поступав у незначних об'ємах та щороку кількість досліджуваних зразків зменшувалася (рис. 3.6).

Так у 2015 р. з підозрою на ураження стафілококовою інфекцією для бактеріологічних досліджень поступив 21 зразок, з яких *S. aureus* було ідентифіковано лише у 4 випадках, що складало 19,0 % підтверджених позитивних результатів.

Із 19 досліджуваних зразків патологічних матеріалів від хутрових звірів у 2016 р. позитивних результатів було встановлено у 4 випадках, що складало 21,0 %. Із поступивших 16 зразків патологічного матеріалу, які були досліджені у 2017 р., позитивний результат був підтверджений лише в одному зразку, що складало 6,3 %.



**Рис. 3.6. Частота виявлення *S. aureus* з проб патологічного матеріалу від хутрових звірів в Україні за період 2015–2019 рр.**

У 2018 р. для бактеріологічних досліджень щодо виявлення збудника *S. aureus* було направлено 3 зразки, у 2019 – 1 зразок патологічних матеріалів від тварин. У першому та другому випадках був виділений польовий ізолят *Staphylococcus aureus* у одному зі зразків, що складало 33,0 % та 100,0 % відповідно.

Аналіз результатів бактеріологічних досліджень *S. aureus* серед коней протягом дослідного 2015–2019 рр. періоду показав повне епізоотичне благополуччя щодо стафілококової інфекції на території України.

Таким чином, за аналізом результатів бактеріологічних досліджень моніторингу *S. aureus* серед сільськогосподарських тварин встановлено, що протягом дослідного періоду (2015–2019 рр.) серед загиблих коней стафілококоз не реєструвався. Було встановлено високий рівень циркуляції збудника серед

великої та дрібної рогатої худоби у тваринницьких господарствах України за цей же період, оскільки, не зважаючи на постійне щорічне зменшення кількості проб патологічного матеріалу, що поступали для бактеріологічних досліджень, показники виявлення *S. aureus* мали тенденцією до зростання. Зокрема, серед великої та дрібної рогатої худоби у 2019 р. порівняно з 2015 р. позитивних випадків було виявлено у 2,4 та 2,8 разу більше відповідно.

Тенденцію до зростання показників виділення ізолятів *S. aureus* було встановлено і серед птиці, оскільки за дослідний період з 2015 по 2019 рр. вони зросли у 5,3 разу. Збільшення частоти виділення *S. aureus* викликає занепокоєння, оскільки сировина та продукція птахівничої галузі найбільше використовується в раціоні українців. Через особливості перебігу захворювання у птиці за ураження *S. aureus*, а саме у вигляді остеомієліту великогомілкової та стегнової кісток, які можуть бути непоміченими під час забою птиці, проходить контамінація сировини та довкілля, доказом чого є зростаючі показники з виявлення збудника *S. aureus*.

Серед хутрових звірів, за постійного зменшення кількості зразків патологічних матеріалів для бактеріологічних досліджень щодо виявлення збудника стафілококозу впродовж 2015–2019 рр., спостерігалася тенденція до зростання підтверджених позитивних результатів у 5,3 разу, порівняно з 2015 р.

Аналіз кількості виділення польових ізолятів *S. aureus* з патологічного матеріалу від свиней на території України за дослідний період (2015–2019 рр.) свідчили про різноманітність показників з тенденцією до зменшення, починаючи з 2017 р., оскільки у наступному 2018 р. позитивних випадків було зареєстровано в 3,5 разу менше та у 2019 р. – їхня відсутність.

Результати цього підрозділу були опубліковані у роботах [16, 18,156].



### 3.2 Аналіз результатів бактеріологічних досліджень щодо контамінації продукції тваринного походження *S. aureus* за період 2015–2019 рр.

Механізми контамінації сировини та продукції тваринного походження пов'язані не лише з циркуляцією збудника *S. aureus* серед тварин різних видів і їхнім стафілококоносійством, які є безпосереднім джерелом зараження, але й з дотриманням санітарно-гігієнічних вимог за технологічної переробки сировини та виготовлення продукції. Більше того, оскільки золотистим стафілококам притаманна властивість розповсюджуватися повітряно-крапельним, контактним побутовим шляхами, то значну роль у мікробному забрудненні сировини та продукції тваринного походження відіграє людський фактор. Саме людина, уражена *S. aureus* або будучи бактеріоносієм, заражає приміщення, інвентар, довкілля, стає джерелом зараження харчової сировини та продукції, тварин і людей [15].

За результатами проведення бактеріологічних досліджень щодо виявлення *S. aureus* у пробах продукції тваринного походження, зокрема свинині, виробленої в Україні, встановлено незначний рівень контамінації. Так, лише 9 ізолятів *S. aureus* було виявлено у 2015 р. та 6 – у 2016 р. Протягом останніх двох років дослідного періоду, а саме: у 2018 р. серед 160 проб свинини та у 2019 р. серед 141 проби, що поступили для досліджень щодо контамінації стафілококами, позитивних результатів не зареєстровано (табл. 3.3). Ймовірно, на таку ситуацію впливає тенденція до зниження рівня поширеності *S. aureus* серед поголів'я свиней на території України, яку нами було встановлено за результатами проведених бактеріологічних досліджень щодо виявлення збудника стафілококозу з проб патологічного матеріалу від свиней. Крім того, низький рівень виявлення *Staphylococcus* spp. у пробах свинини пов'язаний, на нашу думку, з тим, що даний показник не регламентується чинними нормативно-правовими документами, відповідно дослідження свинини на наявність *S. aureus* проводилась лише на вимогу замовника відповідно до технічних вимог на конкретну продукцію.

Таблиця 3.3

**Результати мікробіологічних досліджень щодо виявлення збудника *S. aureus*  
з проб продукції тваринного походження за період 2015-2019 рр.**

Вид продукції	Кількість досліджень зразків продукції тваринного походження					Кількість позитивних ізолятів					Частка виявлених ізолятів <i>S. aureus</i> , %				
	2015	2016	2017	2018	2019	2015	2016	2017	2018	2019	2015	2016	2017	2018	2019
Свинина	131	173	160	160	141	0	9	6	0	0	0	5,2	3,8	0	0
Яловичина	28	65	75	52	50	1	4	1	0	1	3,6	6,2	1,3	0	2,0
Баранина	0	8	11	18	0	0	4	0	0	0	0	50,0	0	0	0
М'ясо птиці	2464	3316	2872	1188	296	6	5	2	0	0	0,2	0,2	0,1	0	0
Фарш із м'яса птиці	538	127	81	87	61	29	5	8	0	1	5,4	3,9	9,9	0	1,6
Фарш м'ясний	418	453	341	275	253	43	29	41	3	2	10,3	6,4	12,0	1,1	0,8

Продовження табл. 3.3

Вид продукції	Кількість досліджень зразків продукції тваринного походження					Кількість позитивних ізолятів					Частка виявлених ізолятів <i>S. aureus</i> , %				
	2015	2016	2017	2018	2019	2015	2016	2017	2018	2019	2015	2016	2017	2018	2019
Напівфабрикати з м'ясом	3238	3262	3446	2166	2429	10	4	49	28	9	0,3	0,1	1,4	1,3	0,4
М'ясо інших видів тварин	69	14	14	60	11	0	0	1	1	0	0	0	7,1	1,7	0
Ковбаси	16536	17188	12774	14816	12186	17	32	0	9	8	0,1	0,2	0	0,1	0,1
Консерви м'ясні	560	454	423	198	125	1	2	0	0	0	0,2	0,4	0	0	0
Субпродукти тварин	42	98	7	58	37	0	0	0	1	0	0	0	0	1,7	0
Субпродукти птиці	31	18	198	58	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Яйцепродукти	21	228	404	524	801	1	0	0	0	2	4,8	0	0	0	0,2

Продовження табл. 3.3

Вид продукції	Кількість досліджень зразків продукції тваринного походження					Кількість позитивних ізолятів					Частка виявлених ізолятів <i>S. aureus</i> , %				
	2015	2016	2017	2018	2019	2015	2016	2017	2018	2019	2015	2016	2017	2018	2019
Яйця	328	254	53	317	239	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Кисломолочні продукти	0	0	3108	2783	4248		0	0	3	1	0	0	0	0,1	0,02
Молоко	6815	7609	5445	5308	3383	11	33	9	14	6	0,2	0,4	0,2	0,3	0,2
Молочні консерви	294	245	215	183	170	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Молочні вироби сухі	928	1000	1158	1095	1077	4	0	1	0	0	0,4	0	0,1	0	0
Сир	13786	10938	9059	8031	8582	4	8	5	6	10	0,03	0,1	0,1	0,1	0,1
Масло тваринне	1250	1621	1760	2451	2215	0	1	1	4	2	0	0,1	0,1	0,2	0,1
УСЬОГО	47477	44071	41604	39828	36310	127	136	124	69	42	0,3	0,3	0,3	0,2	0,1

Проби яловичини щодо контамінації збудником *S. aureus* для бактеріологічних досліджень поступали щорічно, проте підтвердження позитивних результатів було незначним, а найбільша їх кількість була зареєстрована у 2016 р. з показником 6,2 % серед 75 досліджених зразків яловичини. За останні три роки виділення збудника *S. aureus* у яловичині значно зменшилося та коливалося у межах 1,3–2,0 %, на що, ймовірно, впливало запровадження сучасних технологічних ліній на бійнях в Україні.

Проте, за виготовлення фаршу м'ясного зі свинини і яловичини та напівфабрикатів з м'ясом контамінація *S. aureus* була очевидною, оскільки щороку під час проведення бактеріологічних досліджень цих проб за період 2015–2019 рр. виділяли ізоляти *S. aureus*.

Щодо фаршу м'ясного, то варто зазначити тенденцію до зниження кількості позитивних випадків, починаючи з 2017 р. від 12,0 % до 0,8 % у 2019 р., що, ймовірно, також пов'язано з удосконаленням технологічних процесів переробки сировини тваринного походження. Показники контамінації *S. aureus* напівфабрикатів з м'ясом варіювали майже на одному рівні у межах від 0,1 до 1,4 % за дослідний період часу.

У 2015 р. з досліджених 16 536 проб ковбас у 17 випадках було ідентифіковано ізоляти *S. aureus*, що складало 0,1 %. У наступному 2016 р. з досліджених 17 188 зразків ковбас у 0,2 % з них були виділені золотисті стафілококи.

За останні 2018–2019 рр. за проведення бактеріологічних досліджень зразків ковбас щорічно виявляли по 0,1 % позитивних випадків ізоляції *S. aureus*, що викликає велике занепокоєння стосовно якості та безпечності означеної готової продукції.

За результатами бактеріологічних досліджень м'ясних консервів у 2017–2019 рр., то у досліджених зразках *S. aureus* не виявлено, що свідчить про чітке дотримання виробниками температурного режиму та всіх необхідних технологічних норм виробничого процесу (табл. 3.3).

Результати бактеріологічних досліджень упродовж 2015–2019 рр. показали, що найбільш безпечними об'єктами досліджень щодо контамінації *S. aureus* виявилися зразки баранини, оскільки, упродовж дослідного періоду *S. aureus* був виявлений лише у 2016 році у 4 зразках (50 %) з 8 (табл. 3.3). В інші роки дослідного періоду збудника *S. aureus* у досліджуваних зразках баранини не виявляли.

Упродовж 2015–2019 рр. досліджено 58 зразків субпродуктів, виготовлених з сировини тваринного походження; наявність збудника *S. aureus* було встановлено в одному зразку, виділеному у 2018 р.

Не зважаючи на те, що попередньо виявлені ізоляти *S. aureus* з патологічного матеріалу від птиці мали тенденцію до поширення циркуляції збудника серед поголів'я птахів на першому етапі технологічного процесу (за їхнього вирощування), надалі за технології виготовлення м'яса птиці частка виявлених ізолятів *S. aureus* складала 0,2 % у 2015–2016 рр. та 0,1 % – у 2017 р. За останні два роки дослідного періоду (2018–2019 рр.) в жодному випадку не виявляли збудника *S. aureus* у м'ясі птиці.

Щодо фаршу з м'яса птиці, то його забрудненість *S. aureus* спостерігалася протягом дослідного періоду з варіацією показників до 9,9 % у 2017 р. Найнижчу кількість позитивних випадків було виявлено у 2019 р. з 1,6 % контамінації. Ймовірно, це пов'язано з більшою кількістю критичних точок, які на сьогодні впроваджені на усіх м'ясопереробних підприємствах.

За дослідження субпродуктів птиці за дослідний період 2015–2019 рр. ізолятів *S. aureus* не виділяли.

Протягом цього ж періоду зараження яєць збудником *S. aureus* не виявляли в жодному випадку, що підтверджує безпечність цього продукту щодо стафілококових інфекцій.

Під час мікробіологічних досліджень яйцепродуктів щодо наявності золотистих стафілококів у 2015 р. з 81 дослідного зразка у 4,8 % було виділено *S. aureus*. В інші роки дослідного періоду (2016–2018 рр.) констатували безпечність означених продуктів щодо стафілококів. У 2019 р. з доставлених на

мікробіологічне дослідження 801 проб яйцепродуктів у 2 випадках (0,2 %) було виділено ізоляти золотистих стафілококів.

Молоко та молочна продукція складають значну частину щоденного раціону українців, а мікробіологічна небезпека щодо контамінації їх *S. aureus* пов'язана з виробництвом продукції з небезпечного молока або із зараженням молочної продукції у процесі власне виробництва. Аналіз результатів бактеріологічних досліджень щодо *S. aureus* у пробах молока питного за дослідний період 2015–2019 рр. вказував на незначну небезпеку цього продукту, оскільки у ньому щорічно були зафіксовані випадки виявлення золотистих стафілококів із стабільними варіаціями позитивних показників у межах від 0,2 до 0,4 %.

Контамінація молока збудником *S. aureus* не могла не впливати і на мікробіологічну безпеку продукції, виготовленої з молока – сирів, масла тваринного, а за останні роки – і кисломолочних продуктів. Зокрема, у пробах сирів, що поступали для бактеріологічних випробувань у великих об'ємах, та пробах масла тваринного постійно ідентифікували *S. aureus* у кількостях, які перевищували максимально-допустимі рівні у 0,1 % випадків та у 0,2 % відповідно протягом всього дослідного періоду (2015–2019 рр.), що створювало реальні ризики щодо виникнення харчових отруєнь, спричинених збудником та його токсинами у людей.

Результати бактеріологічних досліджень щодо наявності *S. aureus* в кисломолочних продуктів вказують на незначну небезпеку за останні 2 роки – 2018–2019 рр. Саме у цей період були виділені ізоляти *S. aureus* у 0,1 та 0,02 % випадків відповідно у зразках кисломолочної продукції.

У пробах сухих молочних виробів упродовж дослідного періоду були зафіксовані позитивні результати з виявлення *S. aureus* у 2015 р. на рівні 0,4 % та у 2017 р. – на рівні 0,1 %.

Серед продукції, виготовленої з молока, як показали результати бактеріологічних досліджень щодо *S. aureus*, найбільш безпечною виявилися молочні консерви, оскільки в жодному випадку збудник не виділяли, ймовірно,

завдячуючи дотриманню температурних режимів за технології їхнього виготовлення.

Аналізуючи загальний стан мікробіологічної безпеки продукції тваринного походження за результатами бактеріологічних досліджень щодо *S. aureus* упродовж дослідного періоду (2015–2019 рр.) встановлено тенденцію до зниження загального рівня їхньої контамінації золотистими стафілококами, про що свідчить динаміка поступового зменшення кількості виділених ізолятів збудника від 0,3 % у 2015–2017 рр. до 0,1 % у 2019 р.

Таке поліпшення ситуації щодо мікробіологічного забруднення продукції тваринного походження стафілококом пов'язане, ймовірно, з реалізацією в Україні системи НАССР та вимог Закону України «Про основні принципи та вимоги до безпечності та якості харчових продуктів», наближених до європейських стандартів з безпечності харчових продуктів, які вимагають від самих виробників продукції застосування санітарних заходів та належної практики їхнього виробництва.

Таким чином встановлено, що протягом дослідного періоду (2015–2019 рр.) спостерігалася тенденція до зниження мікробіологічної забрудненості *S. aureus* продукції тваринного походження.

Кількість випадків виділення ізолятів *S. aureus* у досліджуваних пробах продукції тваринного походження значно знижувалася у 2019 р. порівняно з 2015 р., зокрема в яловичині – від 3,6 до 2,0 %; у фарші м'ясному – від 10,3 до 0,8 %; фарші з м'яса птиці – від 5,4 до 1,6 %; ковбасах – від 0,2 до 0,1 %; яйцепродуктах – від 4,8 до 0,2 %; кисломолочній продукції – від 0,1 до 0,02 % від кількості досліджених проб харчової продукції, що сприяло поліпшенню ситуації щодо безпечності харчових продуктів тваринного походження стосовно їхньої контамінації золотистими стафілококами.

Результати цього підрозділу були опубліковані у роботах [16, 18, 28, 155].



### **3.3 Аналіз результатів бактеріологічних досліджень щодо контамінації об'єктів довкілля *S. aureus* в Україні за період 2015–2019 рр.**

Санітарно-мікробіологічний контроль об'єктів навколишнього середовища є однією з найважливіших задач контролюючих органів. *S. aureus* потрапляє до навколишнього середовища з виділеннями людини та тварин, хворих на стафілококоз, або прихованих носіїв цього збудника, а також з трупами загинувших від інфекцій тварин. У розповсюдженні стафілококової інфекції певне значення мають предмети побутової й виробничої обстановки, а також руки персоналу. *S. aureus* може порівняно довго зберігатись на поверхні шкіри рук і багатьох предметів (від 1 до 80 діб).

Дотримання переробними підприємствами санітарно-гігієнічних вимог на всіх етапах виробничого процесу є гарантією вироблення високоякісної та безпечної продукції. Це досягається за рахунок організації та ретельного виконання системи заходів щодо контролю у критичних точках. У світовій практиці виробництво безпечної та якісної продукції забезпечується впровадженням у практику внутрішніх систем контролю безпеки та якості, інтегрованих у процес виробництва, зокрема, системи НАССР, що функціонує відповідно до міжнародних стандартів.

Щодо закладів громадського харчування, то мікробіологічний контроль безпеки продуктів, що виготовляються, є ретроспективним, оскільки результати мікробіологічних аналізів можуть бути одержані через 72–96 год, тобто в термін, коли продукція вже реалізована, він дає змогу дати об'єктивну оцінку дотримання санітарно-гігієнічної та технологічного режиму, санітарних правил для кожного конкретного підприємства громадського харчування, а також якості та епідеміологічної безпеки виготовленої продукції [21]. Актуальність цієї проблеми спонукає до проведення моніторингу санітарно-гігієнічного стану об'єктів довкілля за мікробіологічними показниками, які дозволяють визначити ступінь потенційної небезпеки. Ці знання необхідні для санітарно-гігієнічної оцінки стану виробничих приміщень, обладнання та інвентарю, а також для своєчасної профілактики та попередження харчових отруєнь [202].

Для вивчення санітарно-гігієнічного стану об'єктів навколишнього середовища в Україні у період з 2015 по 2019 роки було проведено 315 579 досліджень за показником *S. aureus* та виявлено 487 (0,2 %) невідповідностей.

Найчастіше *S. aureus* виділявся зі змивів інвентаря та обладнання, відібраних у супермаркетах, магазинах і тваринницьких фермах, що склало по 0,3 % позитивних результатів від всіх досліджень проведених за період 2015–2019 рр. Також за цей період по 0,2 % невідповідностей щодо *S. aureus* були виявлені у тваринницьких приміщеннях та на яйцескладах. У забійних цехах і на птахопереробних підприємствах, було виявлено 0,1 % позитивних, також 0,04 % невідповідних результатів по *S. aureus* було виявлено і на молокопереробних підприємствах за аналогічний період часу (табл. 3.4).

Під час виконання планових заходів державного нагляду (контролю) Держпродспоживслужби у 2019 році було виявлено найбільшу кількість випадків щодо контамінації *S. aureus* у закладах громадського здоров'я – 1,3 %. У дитячих закладах в цьому ж році невідповідності по *S. aureus* було зареєстровано у 0,8 % випадках, у лікувальних закладах цей показник склав 0,6 % (табл. 3.4).

Більше всього *S. aureus* з об'єктів навколишнього середовища за період 2015–2019 рр. було виявлено у м. Київ. Так, з 1 345 змивів, відібраних з цих об'єктів, 5,2 % не відповідали встановленим вимогам через контамінацію стафілококом. У Сумській області забруднення стафілококом об'єктів навколишнього середовища мало тенденцією до зростання від нульового рівня у 2017 р. до 3,4 % у 2019 р., та із 7 745 досліджених змивів за п'ятирічний період склало в середньому 1,8 %. У Волинській області також спостерігалась тенденція до зростання *S. aureus* серед об'єктів довкілля до 1 % у 2019 р. та загальна частка виділених *S. aureus* склала 0,6 % від загальної кількості досліджень за період 2015–2019 рр. У Дніпропетровській та Донецькій областях аналогічні показники виявлення *S. aureus* склали по 0,5 % від усіх проведених досліджень за той же період часу, де також спостерігалось зростання кількості виділення *S. aureus* у 2019 році до 1 % та 1,7 % відповідно (табл. 3.5).

Таблиця 3.4

**Результати бактеріологічних досліджень щодо виділення збудника *Staphylococcus aureus*  
з об'єктів навколишнього середовища за період 2015-2019 рр.**

Змиви з інвентарю та обладнання	Кількість досліджень, n = 315579					Кількість позитивних, n = 487					Частка виявлених ізолятів <i>S. aureus</i> , %				
	2015	2016	2017	2018	2019	2015	2016	2017	2018	2019	2015	2016	2017	2018	2019
Ковбасні цехи	5111	5002	2647	4223	4341	5	5	0	0	0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0
Рибопереробні цехи	1679	3571	952	1386	1101	0	0	0	1	0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0
Молокоприймальні пункти	5571	7436	6546	7959	6522	4	2	4	2	0	0,07	0,03	0,06	0,03	0,0
Ферми	8538	9944	2450	4012	4756	0	47	0	0	15	0,0	0,5	0,0	0,0	0,3
Молокопереробні підприємства	3940	6325	4338	4154	5166	0	0	2	2	2	0,0	0,0	0,05	0,05	0,04
Ринки	13090	11143	10608	4295	5510	0	1	2	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Супермаркети, магазини	5043	4279	8175	2595	3876	7	20	0	25	12	0,1	0,5	0,0	1,0	0,3

Продовження табл. 3.4

Змиви з інвентарю та обладнання	Кількість досліджень, n = 315579					Кількість позитивних, n = 487					Частка виявлених ізолятів <i>S. aureus</i> , %				
	2015	2016	2017	2018	2019	2015	2016	2017	2018	2019	2015	2016	2017	2018	2019
М'ясопереробні підприємства	2070	3807	3424	2301	2442	0	7	0	0	0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0
Тваринницькі приміщення	5911	9419	6057	4051	4580	4	2	0	23	7	0,07	0,02	0,0	0,6	0,2
Забійні цехи	4020	4852	2945	2790	2482	1	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Птахофабрики	1200	690	6401	9835	967	0	9	0	10	0	0,0	1,3	0,0	0,1	0,0
Інкубаційні станції	1652	1427	776	134	931	15	0	0	0	0	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0
Забійні цехи та переробні підприємства птиці	2589	1350	613	1480	1141	0	0	0	0	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
Холодильники та морозильні камери для зберігання птиці	60	160	590	468	161	0	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Продовження табл. 3.4

Змиви з інвентарю та обладнання	Кількість досліджень, n = 315579					Кількість позитивних, n = 487					Частка виявлених ізолятів <i>S. aureus</i> , %				
	2015	2016	2017	2018	2019	2015	2016	2017	2018	2019	2015	2016	2017	2018	2019
Холодильники та морозильні камери для зберігання іншого виду продукції	427	1105	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Яйцесклади	58	240	62	1140	982	0	0	0	0	2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2
Склади для зберігання кормів	0	411	125	70	90	0	5	0	0	0	0,0	1,2	0,0	0,0	0,0
Дитячі заклади	0	0	0	0	24988	0	0	0	0	198	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8
Лікувальні заклади	0	0	0	0	4181	0	0	0	0	24	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6
Заклади громадського харчування	0	0	0	0	1640	0	0	0	0	21	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3
УСЬОГО	60959	71161	56709	50893	75857	36	98	8	63	282	0,1	0,1	0,0	0,1	0,4

Таблиця 3.5

**Результати бактеріологічних досліджень щодо виділення збудника *Staphylococcus aureus*  
з об'єктів навколишнього середовища в Україні за 2015-2019 рр. у розрізі областей**

Області, де проводили дослідження	Кількість проведених досліджень n=315579					Кількість підтверджених позитивних результатів n=487					Частка виявлених ізолятів <i>Staphylococcus aureus</i> відносно досліджених, %				
	2015	2016	2017	2018	2019	2015	2016	2017	2018	2019	2015	2016	2017	2018	2019
Вінницька	1383	1892	1580	1744	1706	0	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Волинська	360	440	420	600	2513	0	0	0	0	26	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0
Дніпропетровська	4733	3940	3667	1803	6833	15	20	2	0	67	0,3	0,5	0,05	0,0	1,0
Донецька	180	238	232	334	420	0	0	0	0	7	0,0	0,0	0,0	0,0	1,7
Житомирська	4511	5902	3155	6098	3833	0	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Закарпатська	3132	3412	7319	2042	10814	0	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Запорізька	1664	1310	2142	2371	4359	11	12	4	2	1	0,7	0,9	0,19	0,1	0,0

Продовження табл. 3.2

Області, де проводили дослідження	Кількість проведених досліджень n=46686					Кількість підтверджених позитивних результатів n=831					Частка виявлених ізолятів <i>Staphylococcus aureus</i> відносно досліджених, %				
	2015	2016	2017	2018	2019	2015	2016	2017	2018	2019	2015	2016	2017	2018	2019
І-Франківська	50	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Київська	3909	16778	10144	13699	5959	0	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Кіровоградська	0	0	0	0	3384	0	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Луганська	24519	20931	10854	8825	8226	9	29	0	17	0	0,04	0,1	0,0	0,2	0,0
Львівська	1847	1750	43	540	930	0	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Миколаївська	192	934	1054	1274	3303	0	0	0	0	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,03
Одеська	3503	2946	4297	1162	1130	0	0	0	0	7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6
Полтавська	1025	2110	1262	280	1478	0	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Рівненська	4	224	446	370	380	0	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Продовження табл. 3.2

Області, де проводили дослідження	Кількість проведених досліджень n=46686					Кількість підтверджених позитивних результатів n=831					Частка виявлених ізолятів <i>Staphylococcus aureus</i> відносно досліджених, %				
	2015	2016	2017	2018	2019	2015	2016	2017	2018	2019	2015	2016	2017	2018	2019
Сумська	0	0	2598	1273	3874	0	0	0	10	132	0,0	0,0	0,0	0,8	3,4
Тернопільська	0	0	0	0	541	0	0	0	0	4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7
Харківська	2887	3310	715	627	1000	1	0	0	0	0	0,03	0,0	0,0	0,0	0,0
Херсонська	40	10	2320	839	2956	0	0	2	7	0	0,0	0,0	0,09	0,8	0,0
Хмельницька	273	138	151	1750	3592	0	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Черкаська	2017	2586	3012	2935	4004	0	0	0	12	19	0,0	0,0	0,0	0,4	0,5
Чернігівська	1205	1761	1000	1974	3103	0	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Чернівецька	3525	409	282	338	325	0	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
ДНДІЛДВСЕ	0	120	16	15	1194	0	37	0	15	18	0	30,8	0,0	100,0	1,5
УСЬОГО	60959	71161	56709	50893	75857	36	98	8	63	282	0,1	0,1	0,01	0,1	0,4



Отже, вірогідність частоти накопичення стафілокока на поверхні об'єктів навколишнього середовища свідчить про те, що не завжди дотримуються санітарно-гігієнічні правила на виробництві, такі як несвоєчасне прибирання приміщення, відхилення від інструкції щодо дезінфекції інвентаря, обладнання та стін, недотримання правил гігієни (чистий спецодяг, гумові рукавички), відсутність своєчасного проведення медичного огляду працівників.

Результати цього підрозділу були опубліковані у роботах [16, 18].

### **3.4 Вивчення особливостей біологічних властивостей та діагностики ізолятів *S. aureus*, одержаних з патологічного та біологічного матеріалів від тварин, проб продукції тваринного походження і з проб, відібраних з об'єктів довкілля**

Проведено бактеріологічні дослідження патологічного, біологічного матеріалу тварин, проб продукції тваринного походження та об'єктів довкілля з мікроскопією виготовлених препаратів, пофарбованих за методом Грама та посівами на селективні для бактерій роду *Staphylococcus* поживні середовища – ЖСА, МСА, агар Бейрд-Паркера, КА та прості поживні середовища – МПА і МПБ з подальшим культивуванням для вивчення характеру росту та виділення чистих культур стафілококів для видової диференціації *S. aureus* від епідермальних (*Staphylococcus epidermidis*) та сапрофітних (*Staphylococcus saprophyticus*) стафілококів (табл. 3.6, додаток Б).

Слід зауважити, що зважаючи на те, що стафілококи є представниками галофільних бактерій і добре ростуть на середовищах з підвищеним умістом (до 10,0–15,0 %) NaCl, подавляючи ріст іншої мікрофлори, нами були використані саме такі селективні середовища, які наведено у табл. 3.6, для одержання росту колоній стафілококів.

**Культуральні властивості ізолятів *Staphylococcus spp*, n=39**

№ з/п	Назва поживних середовищ, режим інкубації	Характер росту
1	2	3
1	М'ясо-пептонний агар (24 год/37 °C)	Спостерігався ріст однорідних округлих колоній S-форми, з чіткими рівними краями, непрозорих, жовтого кольору (типові для <i>S. aureus</i> )
2	М'ясо-пептонний бульйон (24 год/37 °C)	Рівномірна каламуть, на дні зразкирки білий осад, що не розбивається у разі струшування (типово для <i>S. aureus</i> )
3	Молочно-сольовий агар (24–48 год/37 °C)	Спостерігався ріст однорідних колоній S-форми, непрозорих, округлих, із рівними чіткими краями, пігментованих до жовто-золотистого відтінку (типово для <i>S. aureus</i> )
4	Жовтково-сольовий агар (24–48 год/37 °C)	Спостерігався ріст колоній круглої форми з чітко вираженими краями, діаметром близько 2–4 мм, жовтувато-золотистого кольору. Навколо колоній було візуально видно зону помутніння та райдужне кільце (лецитиназне кільце) внаслідок розщеплення лецитину яєчного жовтка (типово для <i>S. aureus</i> )

1	2	3
5	Агар Бейрд-Паркера (24–48 год/37 °С)	Спостерігався ріст колоній чіткої круглої форми, випуклих, блискучих, чорного кольору з утворенням візуально видимої зони просвітлення (лецитиназної зони) (типово для <i>S. aureus</i> )
6	Колумбійський агар (24 год/37 °С)	Спостерігався ріст колоній круглої форми з чітким краєм і зоною просвітлення навколо них шириною в межах 0,1–0,4 мм ( $\beta$ -гемоліз) (типово для <i>S. aureus</i> )

Після проведення мікроскопії мазків, пофарбованих за методом Грама і наявністю в полі зору грампозитивних коків у вигляді виноградного грона, для одержання чистих культур усіх 39 досліджуваних ізолятів стафілококів і їхньої подальшої видової ідентифікації проводили пересіви окремих характерних колоній із  $\beta$ -гемолізом (рис. 3.7.), що вирости на КА, зі скошеним МПА з подальшим культивуванням у термостаті за температури  $37 \pm 1,0$  °С протягом 20–24 год.

Після інкубації посівів проводили виготовлення та фарбування мазків за методом Грама та визначали чистоту росту культур стафілококів (табл. 3.7, рис. 3.7).

Для визначення видової належності досліджуваних культур стафілококів вивчали їхні ферментативні властивості, застосовуючи тести на виявлення продукції: каталази, лецитинази, плазмокоагулази, певних цукролітичних ферментів,  $\alpha$ -гемолізину ( $\alpha$ -токсину).

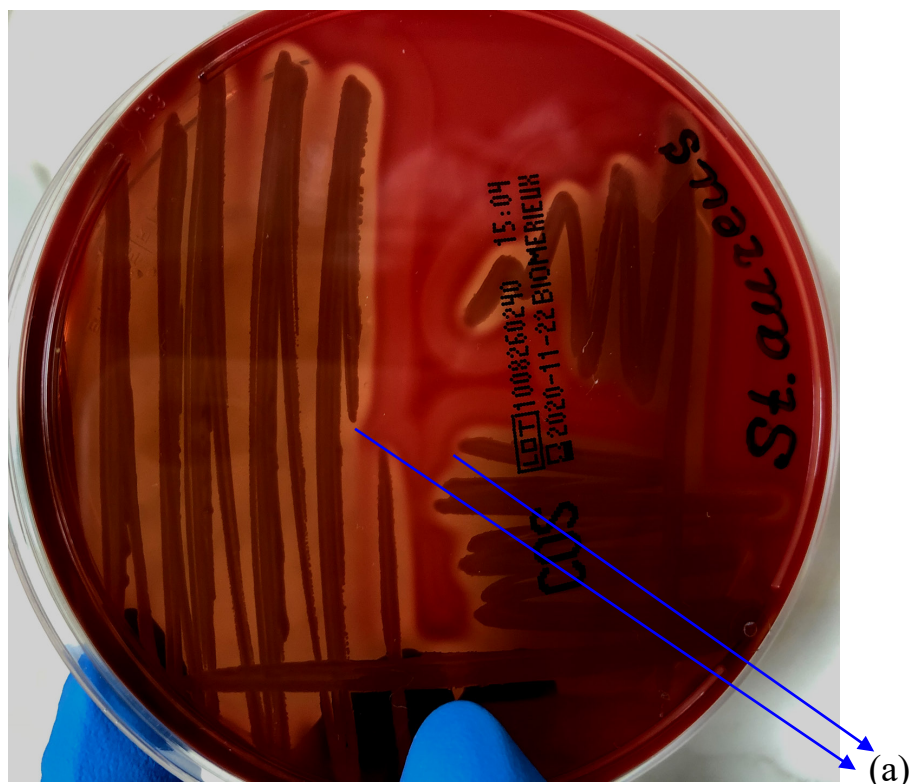
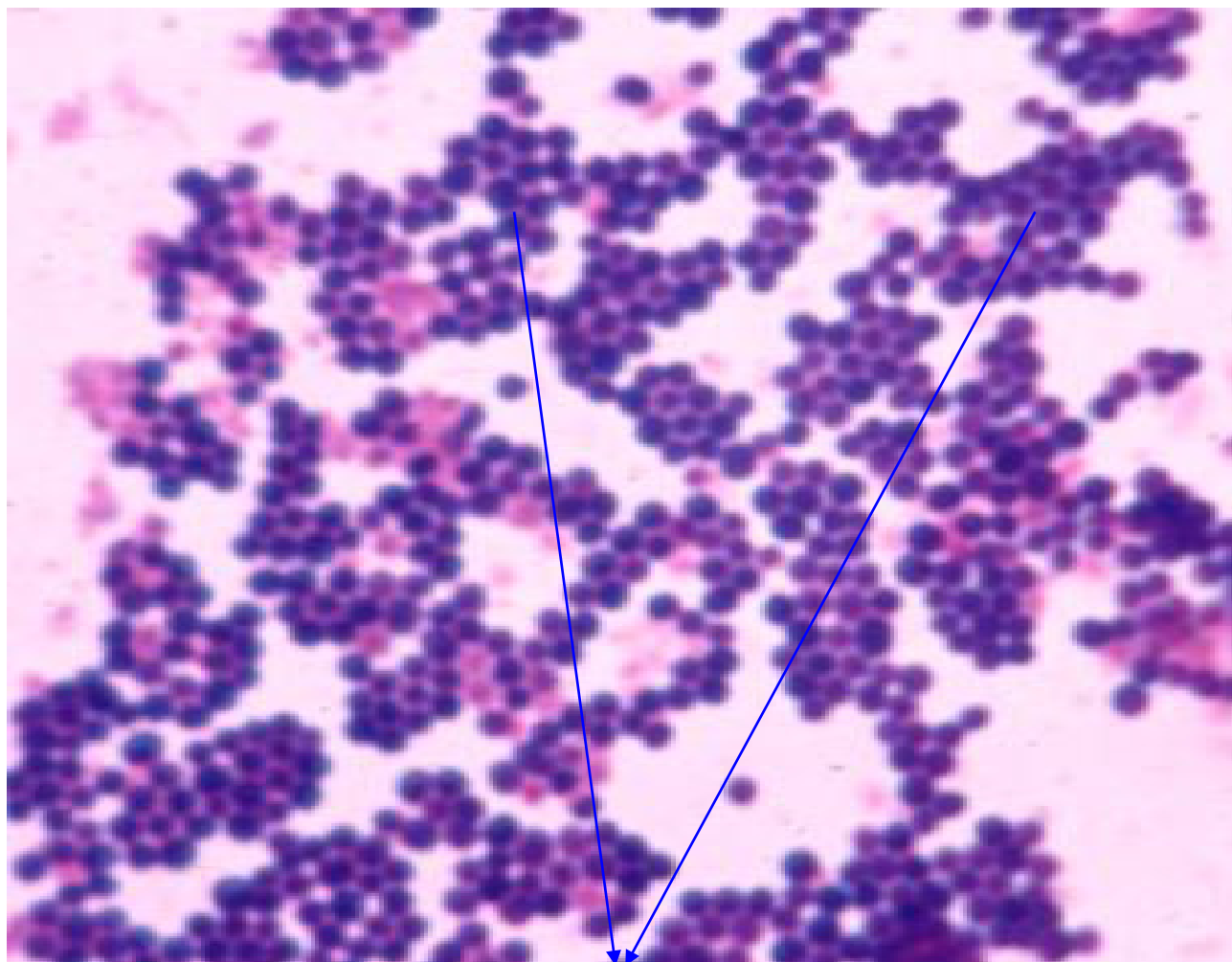


Рис. 3.7.  $\beta$ -гемоліз за росту на кров'яному агарі навколо культури *S. aureus*: (a) – зона гемолізу еритроцитів барана під дією альфа-токсину, що продукується *S. aureus*.

Таблиця 3.7

Результати морфологічних досліджень ізолятів *S. aureus*, одержаних з патологічного, біологічного матеріалів від тварин, проб харчових продуктів тваринного походження та об'єктів навколишнього середовища, за вивчення властивостей культур

Метод фарбування	Досліджувані культури <i>S. aureus</i> , n = 40
	39 ізолятів <i>S. aureus</i> . Позитивний контроль: тестова культура <i>S. aureus</i> ATCC 29923
	Результати морфологічних досліджень:
За Грамом	У полі зору спостерігалися однорідні грампозитивні коки, розміщені скупченнями або у вигляді виноградного грона. Однорідність коків свідчила про чистоту культури та відсутність будь-яких інших бактерій



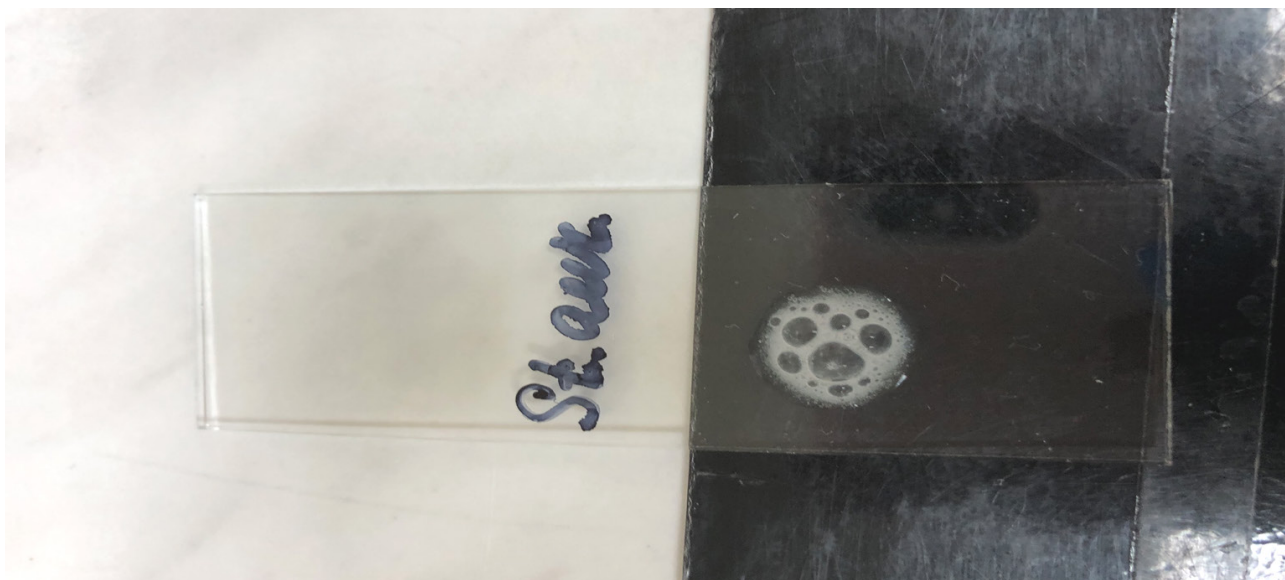
(a)

**Рис. 3.8. Мікроскопія 24-годинної агарової культури *S. aureus*, пофарбованої за методом Грама: (a) – у полі зору грампозитивні коки, розташовані у вигляді виноградних грон.**

Слід зауважити, що продукція стафілококами каталази захищає їх від високотоксичних радикалів кисню, оскільки стафілококи, після проникнення в організм і опсонізації комплементом, можуть фагоцитуватися нейтрофілами або макрофагами під дією їхніх перекисних сполук.

Каталаза стафілоkokів розщеплює означені сполуки та перетворює їх на молекулярний кисень і воду, виконуючи захисну функцію для стафілоkokів (рис. 3.9).

Результати досліджень з вивчення ферментативних властивостей досліджуваних культур стафілоkokів представлені в табл. 3.8.



**Рис. 3.9. Виявлення каталази стафілоkokів на предметному склі за допомогою 3 %-го перекису водню (виділення пухирців газу за контакту культури стафілокока з перекисом водню – «ефект кипіння»).**

*Таблиця 3.8*

**Результати вивчення біохімічних властивостей досліджуваних культур *Staphylococcus* spp. до виду *S. aureus*, n=39**

№ з/п	Назва застосованого тесту для ідентифікації <i>S. aureus</i>	Дослідна культура стафілококу
		облік результатів
1	2	3
Продукція ферментів і токсинів		
1	Тест на визначення каталазної активності	Після внесення кожної з дослідних культур <i>Staphylococcus</i> spp. у краплю перекису водню спостерігалася інтенсивна реакція з утворенням бульбашок газу – «ефект кипіння». Усі 39 штамів були каталазопозитивними

1	2	3
2	Тест на визначення лецитиназної активності	Визначена у попередніх дослідженнях за характеристикою культурального росту на селективних для стафілококів середовищах жовтково-сольового агару з утворенням зони помутніння («райдужної» зони) та на середовищі Байрд-Паркера за утворення зони просвітлення («лецитиназної» зони) навколо колоній. Тест позитивний, що підтверджує належність культур до виду <i>S. aureus</i>
3	Тест на визначення плазмокоагулазної активності	Після внесення кожної з дослідних культур <i>Staphylococcus</i> spp. у пробірки з 0,5 см <sup>3</sup> плазми крові кроля спостерігалось утворення згустку впродовж 30 хв – у 16 культур; впродовж 60 хв – у 14 культур; впродовж 180 хв – у 3 культур та впродовж 24 год – у 6 культур з реакцією на +++ і +++++. Тест позитивний, що підтверджує належність культур до виду <i>S. aureus</i>
4	Тести з визначення наявності й активності цукролітичних ферментів для розщеплення глюкози, сахарози, лактози та маніту, відсутність ферменту для розщеплення мальтози	Після внесення дослідних культур <i>Staphylococcus</i> spp. у низку пробірок з бульйоном із феноловим червоним та вуглеводами глюкозою, сахарозою, лактозою, манітом і мальтозою та їхнім інкубуванням за температури 37±1 °C впродовж 24 год у всіх 39 культур виявлено ферменти для розщеплення глюкози, сахарози, лактози та маніту. Усі дослідні культури стафілококів не ферментували мальтозу, що підтверджує належність культур до виду <i>S. aureus</i>

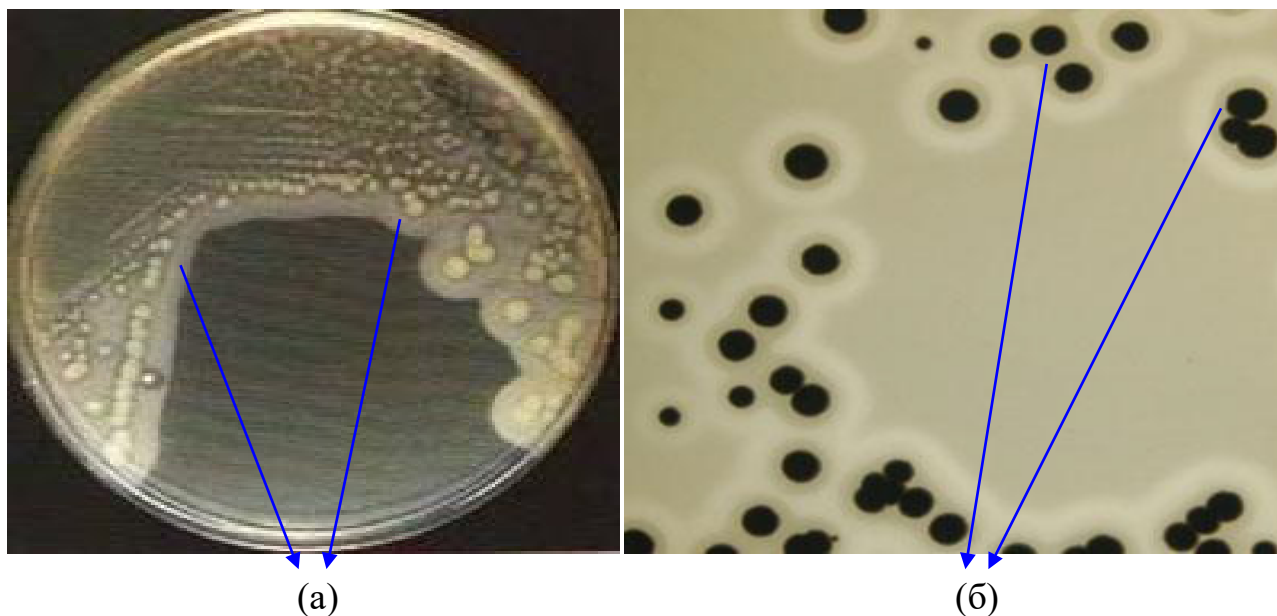
1	2	3
5	Тести з визначення наявності й активності цукролітичних ферментів для розщеплення маніту в сольовому агарі з манітом	За посіву дослідних культур <i>Staphylococcus</i> spp. на чашки Петрі із сольовим агаром та подальшому їхньому інкубуванню за температури $37\pm 1$ °C упродовж 24 год спостерігався ріст випуклих колоній круглої форми, з чіткими краями, жовтого кольору
Відсутність продукції ферментів		
6	Тести з визначення наявності цитохромоксидази (оксидазна активність)	Після втирання добових дослідних культур <i>Staphylococcus</i> spp. на площині диска з оксидазою зміни кольору диску на синій не виявлено. Оксидазонегативність свідчить про належність культур до <i>S. aureus</i>
7	Тести з визначення уреазної активності	За посіву дослідних культур <i>Staphylococcus</i> spp. у пробірки із сечовиною та подальшим їхнім культивуванням за температури $37\pm 1$ °C упродовж 24 год зміни кольору середовища не наступило, що свідчить про відсутність уреазної активності, що є характерним для <i>S. aureus</i>

Продукція дослідними культурами стафілококів, що належать до виду *S. aureus*, лецитинази (лецитовітєлази), яка є ліпазним ферментом, руйнуючим лецитин клітинних мембран тканин макроорганізму, захищає стафілококові бактерії від фагоцитозу та сприяє їхній персистенції у сальних залозах шкіри та жирових сполуках волосяних фолікул.

У солевих поживних середовищах з додаванням яєчного жовтка культури *Staphylococcus aureus* розщеплюють лецитиназу яєчного жовтка та утворюють



навколо колоній «райдувне» (лецитиназне) кільце, що є видовою ознакою збудника (рис. 3.10).



**Рис. 3.10. Характер росту *Staphylococcus aureus* на жовтково-сольовому агарі та «райдужна» зона навколо колоній: (а) – зона опалесценції – «райдужна» (лецитиназна) зона навколо колоній добової культури *S. aureus* за росту на жовтково-сольовому агарі; (б) – зона просвітлення (лецитиназна) навколо колоній *S. aureus* за росту 48-годинної культури на агарі Байрд-Паркера.**

Візуалізація результатів досліджень з вивчення наявності цукролітичних ферментів у досліджуваних культурах стафілококів представлені на рисунку 3.11.

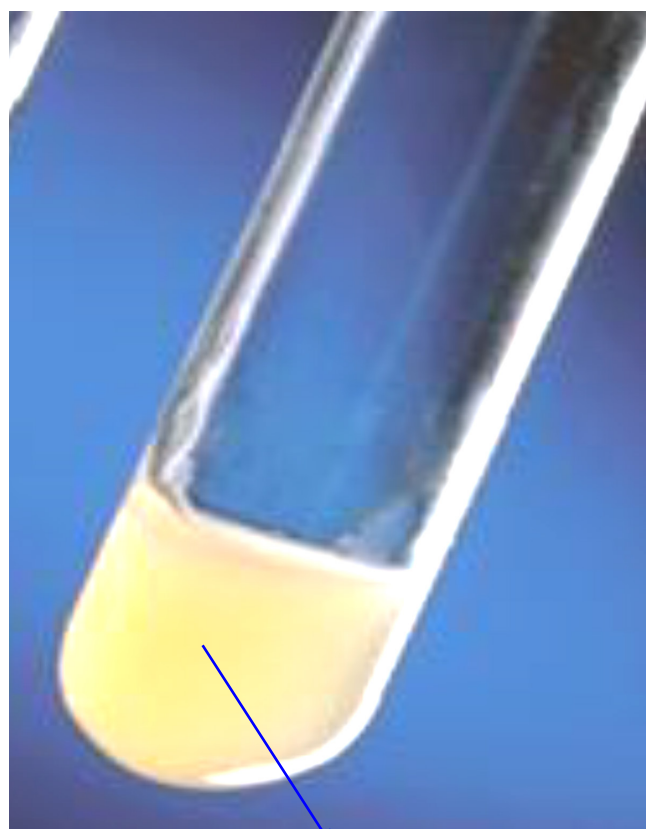


**Рис. 3.11. Візуалізація дослідів з виявлення цукролітичних ферментів у досліджуваних культурі *Staphylococcus aureus* № 22/22 (ферментація маніту з утворенням кислоти без газу).**

Згортання плазми крові є характерною видовою ознакою, що підтверджує належність культур стафілококів до виду *S. aureus*. Фермент коагулаза синтезується культурами *S. aureus* у вигляді проферменту, який активується після контакту з плазмою крові та утворює стафілотромбін, який з білків макроорганізму формує фібринову псевдокапсулу навколо бактерій збудника, чим захищає їх від фагоцитозу та бактерицидної дії сироватки крові (рис. 3.12).



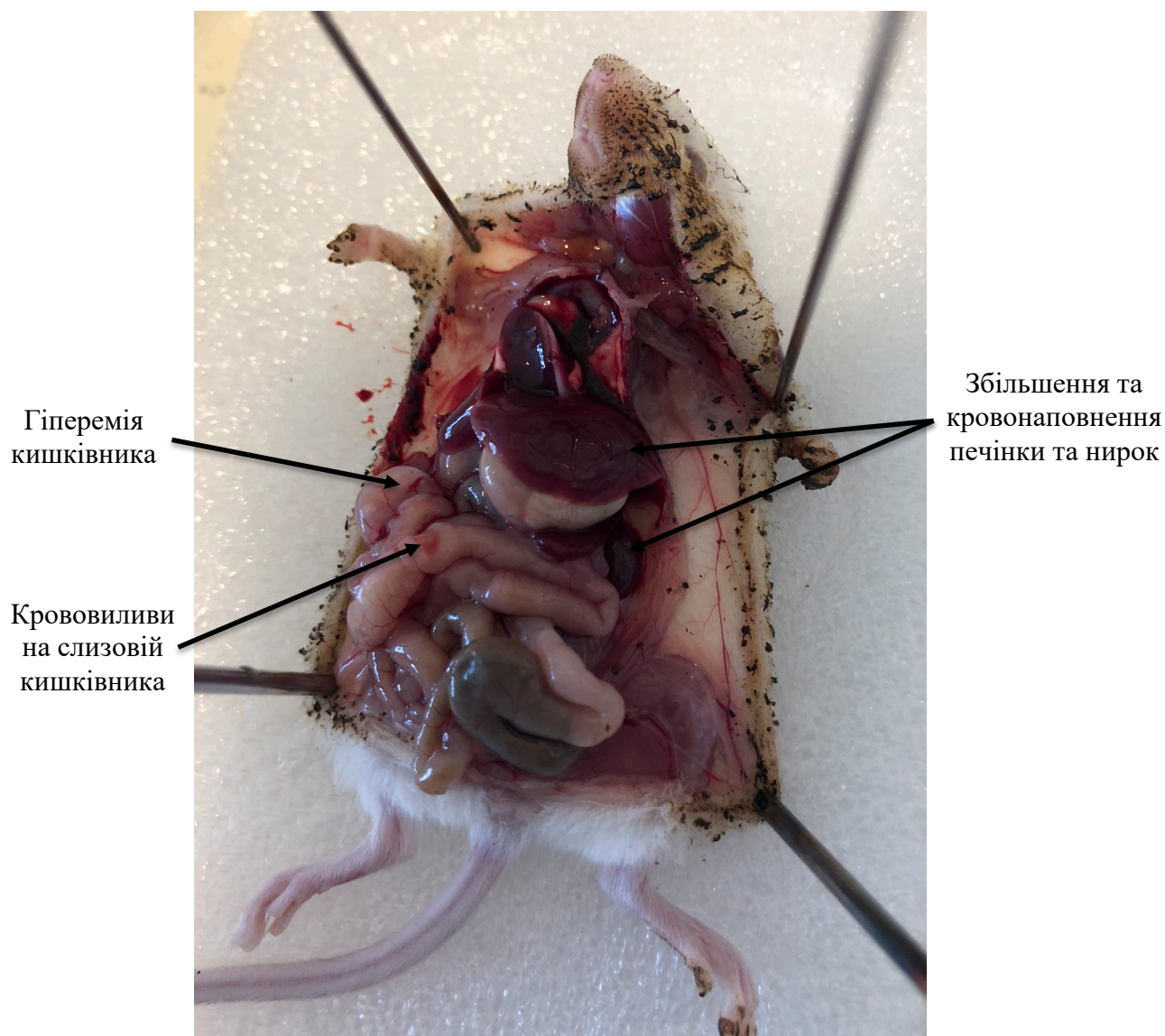
(a)

(б) *S. aureus* № 22/22

**Рис. 3.12. Візуалізація процесу згортання плазми крові кроля за постановки реакції плазмокоагуляції з однією з досліджуваних культур стафілококів: (а) – негативний контроль (відсутність коагуляції плазми крові кроля); (б) – позитивний результат (коагуляція плазми крові кроля після внесення в пробірку добової досліджуваної культури та культивування в термостаті за температури  $37\pm 1$  °C протягом 60 хв).**

Результати досліджень з виявлення патогенних властивостей *S. aureus* і за летальним ефектом на білих мишах показали, що всім дослідним штамам золотистих стафілококів були притаманні означені властивості, оскільки після

загибелі тварин спостерігалися гіперемія кишечника та крапкові крововиливи на його слизових оболонках; відзначалася гіперемія і набряк легень; спостерігалось збільшення та кровонаповнення печінки і нирок та з відібраного патологічного матеріалу від загиблих білих мишей (печінка, селезінка, лігатурована частина ураженого кишечника) за бактеріологічних досліджень було ізольовано збудника *S. aureus*, ідентичного культури, якою проводили зараження.



**Рис. 3.13. Патологоанатомічні зміни під час росту білих мишей після загибелі, заражених дослідними культурами *S. aureus*.**

Таким чином, встановлено, що для 39 досліджуваних ізолятів грампозитивних стафілококів, були характерними: морфологічна і тінкторіальна відповідності, типовість культурального росту на селективних середовищах,

ферментативна здатність до розщеплення глюкози, лактози, сахарози і маніту з утворенням кислоти без газу та відсутність ферментів до розщеплення мальтози; позитивні тести на продукцію каталази, лецитинази, коагулази та наявність  $\alpha$ -токсину ( $\alpha$ -гемолізіну), який забезпечував  $\beta$ -гемоліз на кров'яному агарі, підтверджували належність означених культур до штамів *S. aureus*.

### **3.5 Визначення чутливості досліджуваних штамів *S. aureus* до антибактеріальних препаратів**

За проведення експериментальних досліджень штамів *S. aureus*, одержаних з патологічного та біологічного матеріалу від тварин, проб харчової продукції тваринного походження та проб, відібраних з об'єктів навколишнього середовища на чутливість до антибіотиків диско-дифузійним методом з виведенням антибіотикограм загального профілю, нами були чітко витримані вимоги щодо формування суцільного росту («газону») культур золотистих стафілококів і утворення чітко окреслених кіл щодо країв зони інгібування росту. У більшості досліджуваних штамів за дії застосованих антибіотиків спостерігалася саме така зона інгібування росту культур (рис. 3.14).

Проте, на цілу низку штамів *S. aureus*, деякі застосовані антибіотики не діяли і культури *S. aureus* росли суцільним «газоном» навколо диску з антимікробним препаратом. До таких культур належали штами *S. aureus*: «18/52» і «28/70» за дії тобраміцину; «22/22/58», «56/142» – за дії оксациліну і амікацину; «30/70», «60/153», «69/164», «75/170» – за дії оксациліну; «57/143», «88/195», «90/197» – за дії амікацину; «57/142», «90/197» – за дії бензилпеніциліну; «82/189», «83/190», «85/192», «86/193», «88/195» – за дії тетрацикліну; «28/70», «56/142» – за дії фузидієвої кислоти; «30/75», «56/142», «57/143», «60/153» – за дії рифампіцину та «18/52», «23/59», «28/70», «30/75», «56/142», «57/143», «60/153», «80/187», «83/190», «86/193», «87/194», «88/195» і «89/196» – за дії триметопріму. Такі досліджувані штами *S. aureus* через відсутність зон затримки росту, оцінювали, як резистентні до антибіотика (рис. 3.15).



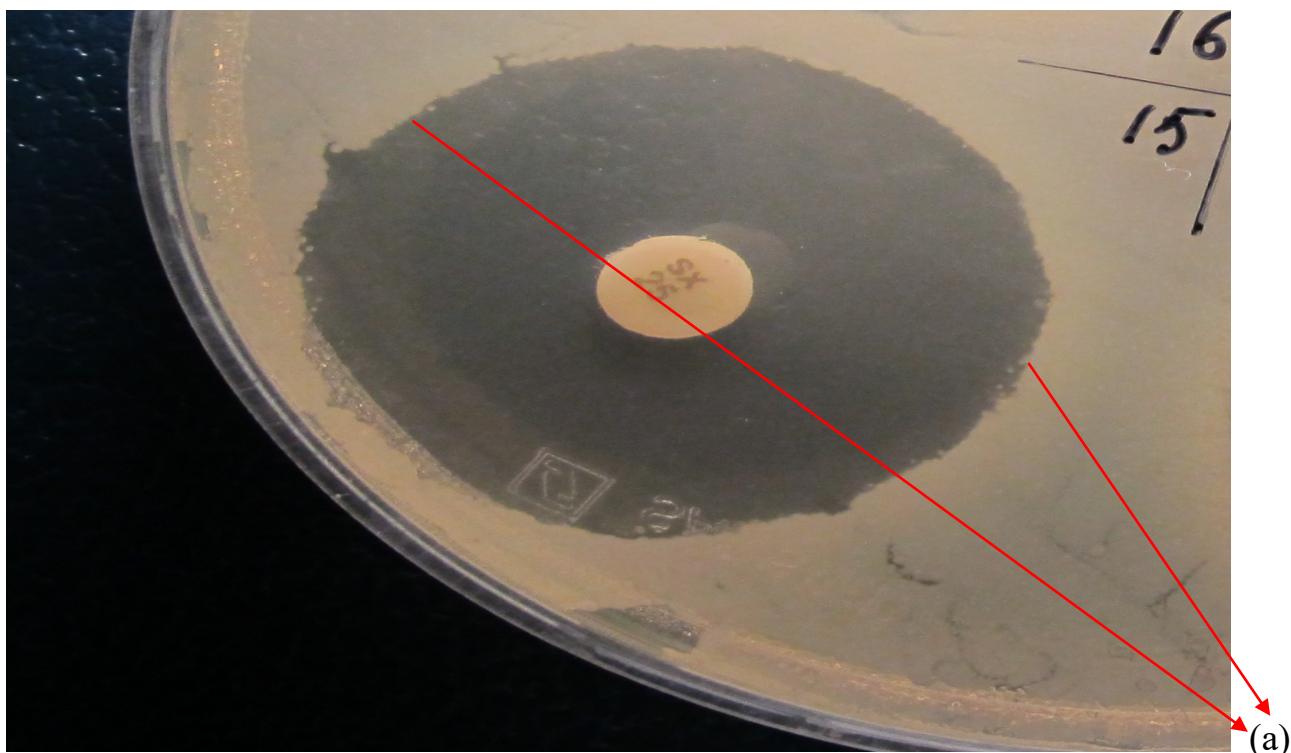


Рис. 3.14. Візуально чітко видима зона інгібування росту *Staphylococcus aureus*: (a) – чітко видимі візуально межі зони інгібування росту за прояву чутливості *Staphylococcus aureus* до антибіотика.

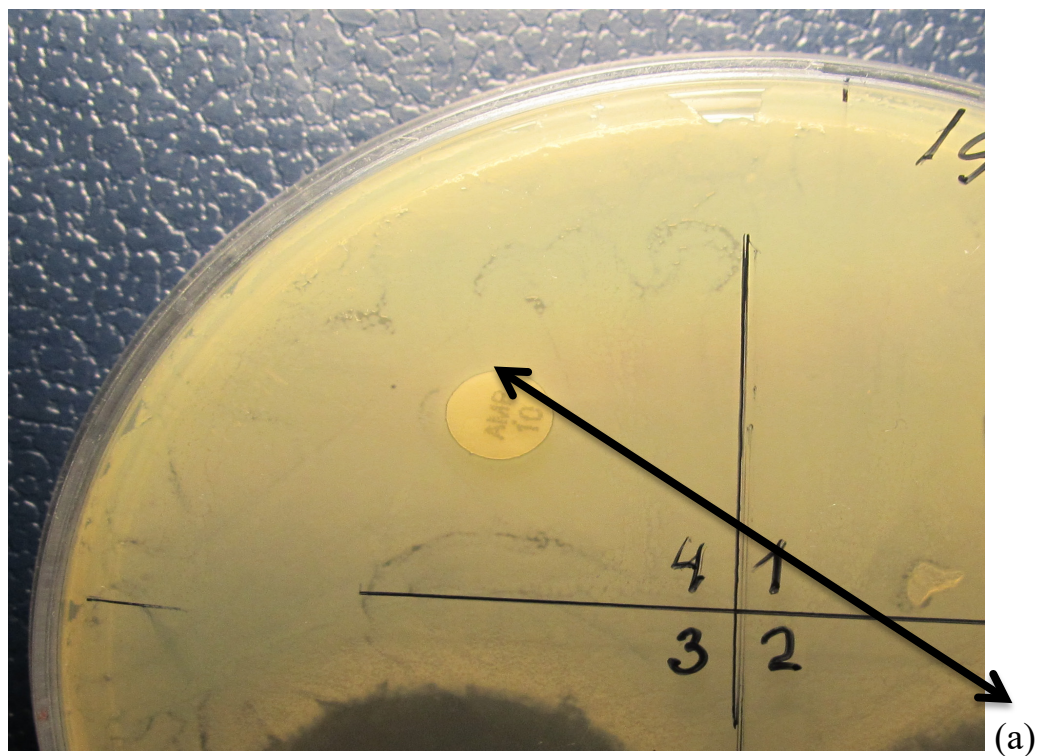
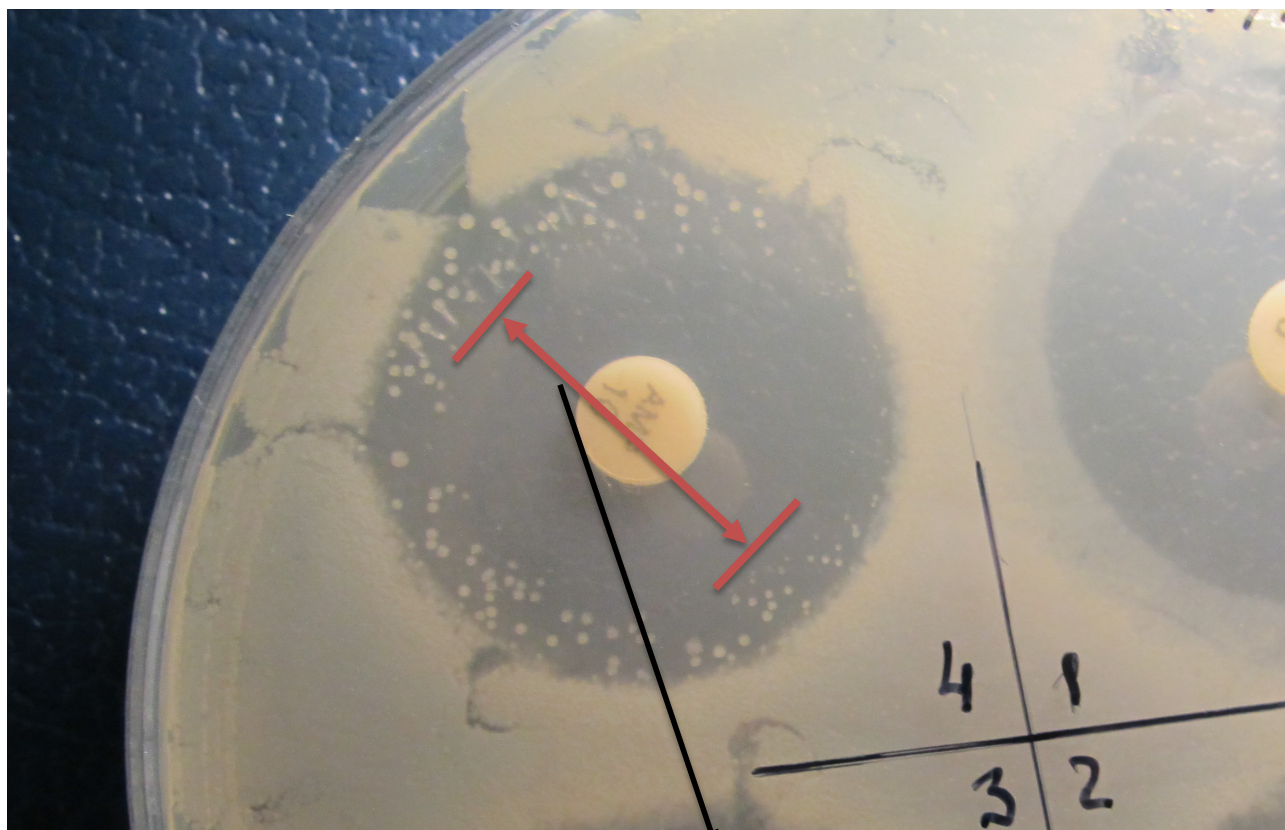


Рис. 3.15. Відсутність зони інгібування росту *S. aureus* «22/22/58»: (a) – суцільний ріст культури навколо диска з ампіциліном (відсутність зони інгібування росту).

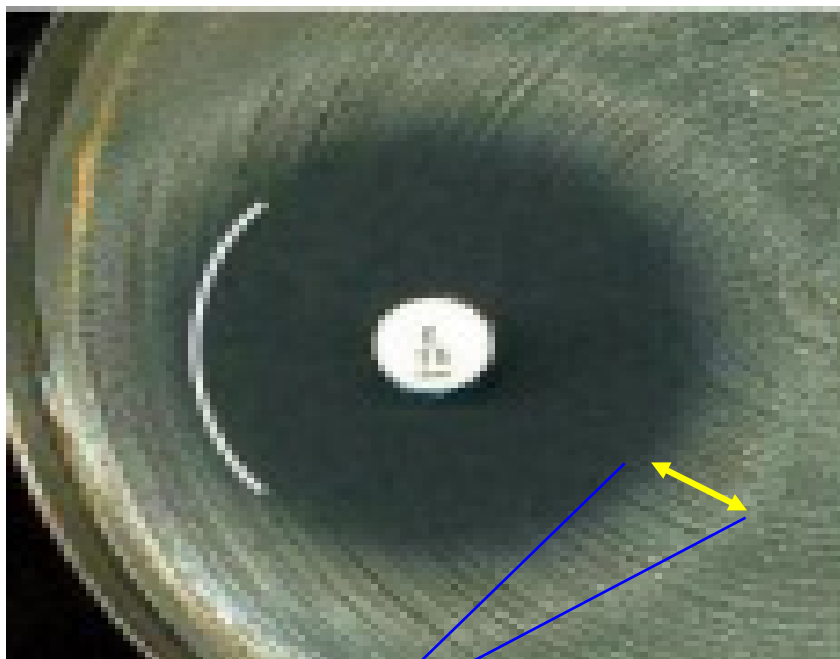
Слід зауважити, що серед досліджуваних *S. aureus* зустрічалися штами з ростом окремих колоній у власне зоні інгібування росту. Зокрема, до них належали штами *S. aureus* «2/15» і «18/52» – за дії оксациліну; «75/170» – за дії бензилпеніциліну і амікацину; «22/22/58» – за дії гентаміцину; «82/189» – за дії бензилпеніциліну і гентаміцину (рис. 3.16).



(a)

**Рис. 3.16. Поява росту окремих колоній штаму *S. aureus* «75/170» у зоні інгібування росту за визначення чутливості до амікацину: (а) – наявність росту окремих колоній *Staphylococcus aureus* штаму «75/170» у зоні інгібування.**

За проведення обліку результатів досліджень з визначення чутливості досліджуваних штамів *Staphylococcus aureus* до антибіотиків у деяких з них у окремих випадках спостерігалася поява подвійної зони росту (рис 3.17).



(a)

**Рис. 3.17. Подвійна зона росту *Staphylococcus aureus* штам «37/92» за визначення чутливості до дії фузидієвої кислоти: (а) – подвійна зона затримки росту *Staphylococcus aureus* штам «37/92» навколо дисків з антибіотиками.**

Це стосувалося зокрема *S. aureus* штамів: «37/92» за дії фузидієвої кислоти; «80/187» – за дії гентаміцину та «78/174» – за дії еритроміцину.

Слід зауважити, що серед усіх штамів *S. aureus*, використаних у дослідженнях, загальна частка їхніх культур, які проявляли стійкість хоча б до одного із застосованих антибіотиків, складала 82,1 %. За результатами аналізу проведених досліджень усі досліджувані штами *S. aureus* нами були умовно розділені на 4 групи. Перша група – це штами *S. aureus*, які проявляли критично високий рівень стійкості від 50,0 до 87,5 % стосовно усіх застосованих 18 різновидностей антибіотиків, які належали до груп пеніцилінів, макролідів, хінолінів, лінкозамідів, рифампіцинів, триметопримів, тетрациклінів, аміноглікозидів, глікопептидів, амфеніколів, оксизилідінонів та до фузедієвої кислоти (табл. 3.9). Другу умовну групу складали штами *S. aureus*, у яких рівень стійкості до застосованих антибіотиків знаходився в діапазоні від 50,0 до 10,0 %. Третя умовна група штамів *S. aureus* була представлена дослідними культурами,

на які застосовані антибіотики діяли з високою активністю та загальна частка резистентних до них склала менше 10,0 %.

До умовної четвертої групи були віднесені досліджувані штами *S. aureus*, у яких була встановлена чутливість до всіх застосованих антибіотичних препаратів.

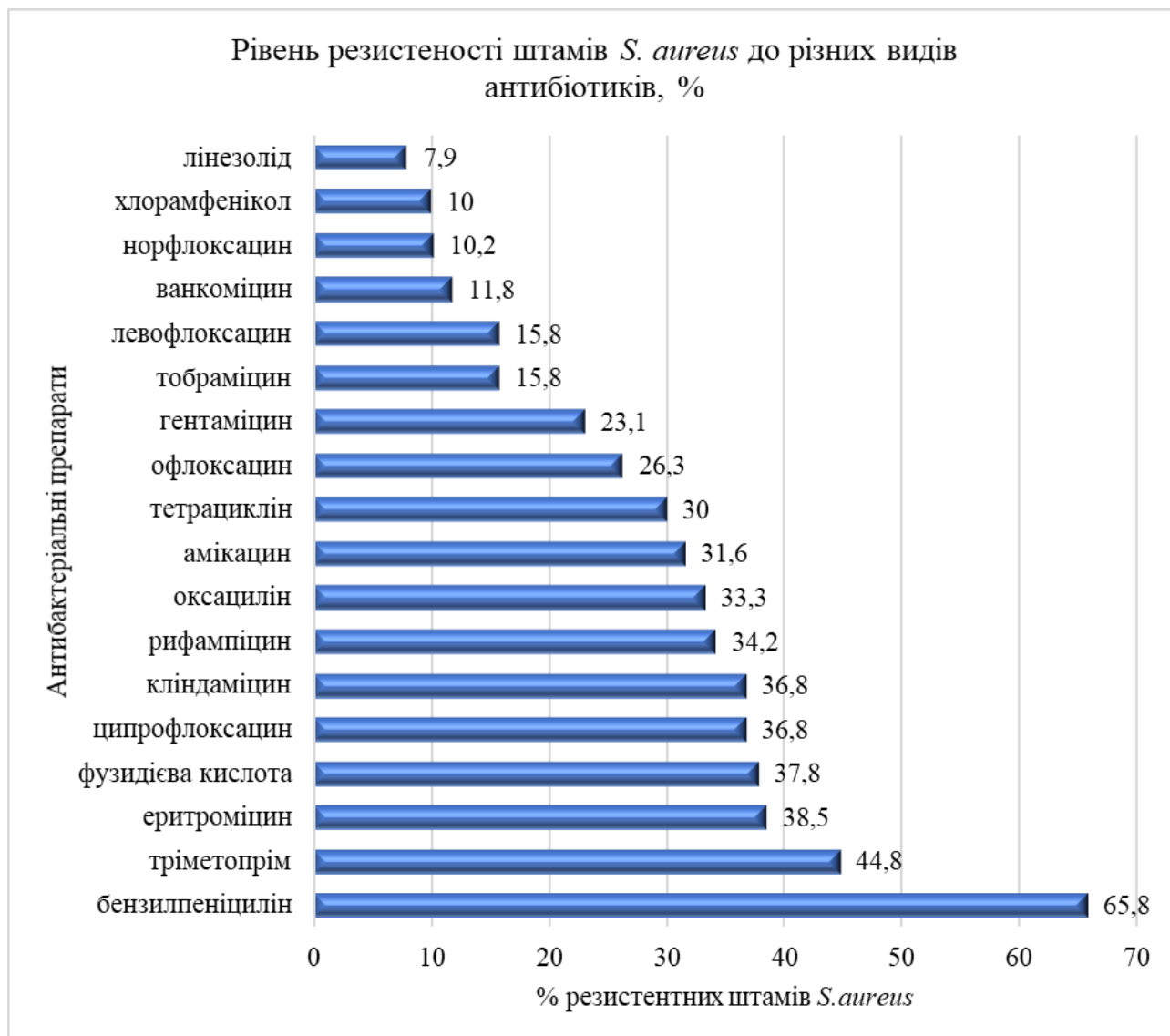
У результаті проведених експериментів нами було встановлено, що серед досліджуваних ізолятів *S. aureus* 28,2 % з них належали умовно до першої групи штамів, які характеризувалися високим критичним рівнем резистентності. Найбільша кількість досліджуваних штамів *S. aureus* – 43,6 % увійшла до другої умовної групи за рівнем стійкості щодо всіх застосованих антибіотиків. Питома вага досліджуваних резистентних штамів *S. aureus*, які умовно належали до третьої групи, становила 10,3 % серед них. Серед досліджуваних *S. aureus* частка штамів, що виявилися чутливими до усіх застосованих антибіотиків, складала 17,9 % (Додаток В).

Щодо виявлених антибіотикорезистентних штамів *S. aureus*, то, з точки зору епізоотичної ситуації і екологічної безпеки, такий стан провокує реальні ризики перезараження тварин і людини збудниками стафілококових інфекцій з набутою резистентністю до антибактеріальних препаратів і сприяє їхньому поширенню на території України. Для підтвердження означеного факту звернули увагу та вважали необхідним охарактеризувати кілька штамів з надвисоким рівнем резистентності одночасно до різних видів і груп антибіотиків – антибіотикорезистентних. Зокрема у *S. aureus* штаму «28/70», виділеного з рани собаки, була виявлена стійкість до представників груп пеніцилінів, аміноглікозидів, глікопептидів, хінолонів, макролідів та фузедієвої кислоти, яка складала 87,5 % від усіх застосованих антибіотиків. Більше того, зважаючи, що рана у собаки зовнішня, її розчухування кігтями, зализування тощо, збудник *S. aureus* з набутою резистентністю до більшості популярних для терапії антибіотиків, контамінує навколишнє середовище і несе потенційну небезпеку щодо ураження ними людини та інших тварин.



Наприклад, інші штами *S. aureus* «2/15» і «56/142», які проявляли стійкість до застосованих антибіотиків на рівні 77,8 і 76,5 % відповідно, були ізольовані з проб харчових продуктів (свинина та фарш свинний охолоджені); штами «90/197», «75/170», «83/190», були виділені із проб готової продукції тваринного походження (салатів, вінегретів, сібасів), що підтверджує реальність зараження антибіотикорезистентними штамми золотистого стафілокока, навіть не застосовуючи самих антибіотиків для лікування стафілококових інфекцій.

Крім вивчення стану загальної мультиантибіотикорезистентності, нас інтересувало визначення рівня набутої резистентності досліджуваних штамів *S. aureus* до кожного із застосованих антибіотичних препаратів (рис. 3.18).



**Рис. 3.18. Рівень резистентності до антибіотиків дослідних штамів *S. aureus*.**

За аналізом результатів експериментальних досліджень серед застосованих антибіотиків найвищий рівень стійкості у досліджуваних штамів золотистого стафілококу було виявлено до групи пеніцилінів, представниками якої були бензилпеніцилін (з резистентністю до нього досліджуваних штамів *S. aureus* на рівні 65,8 %) і оксацилін (з резистентністю до нього досліджуваних штамів на рівні 33,3 %). Оскільки пеніциліни порушують синтез ферменту муреїну (глікопептиду), який входить до складу клітинної стінки стафілококів, вищезначена частина досліджуваних штамів *S. aureus* з набутою резистентністю шляхом продукції бета-лактамаз, виявилася стійкою до їхньої дії.

Високий рівень резистентності було продемонстровано дослідними штамми *S. aureus* до дії еритроміцину, оскільки 38,5 % культур збудника були стійкими до цього антибіотика з групи макролідів. Золотисті стафілококи, завдячуючи синтезу бета-лактамаз, інактивують речовини антибіотиків, які впливають на пригнічення в них ферменту пептидтрансферази і, тим самим, власне відновлюють синтез білка в мікробних клітинах збудника.

До групи антибіотиків з іншим хімічним складом належить фузидієва кислота, яка чинить бактеріостатичну дію на бактеріальні клітини золотистого стафілокока та його *MRSA*-штами, інгібуючи синтез бактеріальних білків. Проте, у наших дослідженнях 37,8 % штамів стафілококу виявилися резистентними до цього антибіотика, оскільки набули механізми резистентності.

Оскільки група хінолонів займає помітне місце в терапевтичній практиці, за проведення досліджень з вивчення характеру їхньої дії на досліджувані штамми *S. aureus*, нами були застосовані препарати групи хінолінів II покоління (ципрофлоксацин, офлоксацин, норфлоксацин) та III покоління (левофлоксацин) покоління. Провідним механізмом набутої резистентності серед штамів *S. aureus* є модифікація мішеней, представлених двома бактеріальними ферментами ДНК-гірази і топоізомерази IV, які потрібні для нормальної реплікації самої бактеріальної клітини збудника. Для збудників золотистих стафілококів фермент топоізомерази IV є первинною мішенню дії, а за зміни структури топоізомерази в результаті мутацій у відповідних генах і за амінокислотних замін у молекулах

ферментів формується набута резистентність до зазначених вище антибіотиків. Аналіз проведених досліджень показав, що середня стійкість досліджуваних ізолятів *Staphylococcus aureus* до групи хінолінів складала 36,0 %. Найбільш стійкими штамми золотистих стафілококів були до антибіотиків II покоління, зокрема: ципрофлоксацину з 36,8 % стійких до нього штамів, офлоксацину – з 26,6 % та норфлоксацину – з 10,2 % штамів *S. aureus*, резистентних до них. До хінолінів III покоління нами був виявлений достатньо високий рівень стійкості серед досліджуваних ізолятів стафілококів, оскільки 15,8 % з них були резистентними до левофлоксацину.

Для вивчення характеру дії антибіотиків групи лінкозамідів на досліджувані штамми *S. aureus* нами був застосований кліндаміцин, стійкість до якого серед стафілококових культур складала 36,8 %. Такий високий рівень резистентності до кліндаміцину серед штамів стафілококової інфекції пов'язаний з модифікацією ними мішені дії, якою є 50S субодиниця бактеріальної хромосоми. Стійкість до лінкозамідів виникає через процеси метилювання. Фермент метилазу кодує ціла низка генів, які локалізуються як на плазмідах, так і на хромосомах бактеріальних клітин стафілококів. Здатність золотистих стафілококів до метилювання основної мішені дії лінкозамідів забезпечує бактеріальним клітинам збудника високу стійкість до їхньої дії.

Представник групи рифампіцинів, антибіотик рифампіцин пригнічує синтез РНК стафілококових бактерій, інгібуючи у них ДНК-залежну РНК-полімеразу. Загальновідомо, що стійкість до рифампіцину розвивається дуже швидко, що підтверджено результатами наших досліджень, оскільки 34,2 % досліджуваних штамів *Staphylococcus aureus* виявилися резистентними до його дії.

Високий рівень резистентності до тетрацикліну, був притаманний 30,0 % дослідним штамам *Staphylococcus aureus*. Через набуті детермінанти резистентності у золотистих стафілококів, які локалізуються на плазмідах, забезпечується внутрішньовидове та зовнішньовидове їх розповсюдження.

Феноменом є те, що бактеріальні клітини стафілококів здатні синтезувати білки, навіть незважаючи на зв'язування молекул тетрацикліну з власними рибосомами.

Під час проведення експериментальних досліджень як представника групи глікопептидів застосовували ванкоміцин. Серед досліджуваних штамів *Staphylococcus aureus* 11,8 % з них за набутих механізмів стійкості проявляли резистентність до ванкоміцину, синтезуючи при цьому фермент, який модифікує попередників клітинної стінки та зашкоджує ванкоміцину проявляти бактерицидну дію на бактеріальні клітини стафілокока.

Як представник групи амфеніколів нами був застосований хлорамфенікол, який діяв на збудників *Staphylococcus aureus* бактеріостатично, порушуючи при цьому синтез білка рибосомами і блокуючи полімеризацію активованих амінокислотних залишків (ацетилювання), зв'язаних з матричною ДНК. За результатами наших досліджень стійкість до хлорамфеніколу виявлена у 10,0 % досліджуваних штамів *Staphylococcus aureus*, що за порівняння з показниками рівня стійкості в інших штамів стафілококів, можна оцінити як низьку.

У дослідях з групою оксизолідинонів ми використовували лінезолід – антибіотик, який донині вважають таким, до якого надто рідко розвивається стійкість у мікроорганізмів. Проте, щодо *S. aureus*, то у трьох досліджуваних штамів («2/18/5», «88/195», «89/196») було виявлено виражену резистентність до лінезоліду, яка складала 7,8 % серед усіх досліджуваних стафілококів.

Таким чином, аналіз результатів досліджень з вивчення чутливості до антибактеріальних засобів з виведенням антибіотикограм загального профілю золотистих стафілококів засвідчив широке розповсюдження, у межах 82,1 %, з різною стійкістю до видів і груп антибіотиків (мультиантибіотикорезистентність) культур *S. aureus*, виділених з патологічного та біологічного матеріалу від тварин, проб продукції тваринного походження та проб, відібраних з об'єктів навколишнього середовища. При цьому, серед 39 досліджуваних штамів збудника *Staphylococcus aureus* 17,9 % з них виявилися чутливими до антибіотичних препаратів. Крім того, до антибіотиків, які оцінюють як такі, до яких ізоляти *Staphylococcus aureus* дуже повільно набувають резистентності –

тобраміцину, ванкоміцину, лінезоліду, виявлена резистентність у 15,8, 11,8 та 7,9 % досліджуваних штамів відповідно. Зростаюча стійкість у *Staphylococcus aureus* до основних антибактеріальних препаратів загрожує втратою їхньої подальшої ефективності за застосування під час лікування людей і тварин від бактеріальних інфекцій.

Результати цього підрозділу були опубліковані у роботах [14].

### **3.6 Виявлення метицилінрезистентних штамів *S. aureus* (MRSA) з патологічного та біологічного матеріалів від тварин, проб продукції тваринного походження і проб, відібраних з об'єктів довкілля**

За визначенням метицилінрезистентні стафілококи (MRSA) – це ізоляти *S. aureus*, які мають додатковий пеніцилінзв'язуючий білок: ПСБ2а або ПСБ2с, які кодуються генами *mecA* або *mecC* та проявляють резистентність до всіх бета-лактамів, за виключенням антибіотиків нового класу – анти-MRSA цефалоспоринів. Елемент *mec*- є чужорідним для *S. aureus* і не зустрічається у метицилінчутливих золотистих стафілококів.

*S. aureus* зоонозного походження (ті, що асоційовані з сільськогосподарськими тваринами – *LA MRSA*) з набутою резистентністю до метициліну (оксациліну) наразі стають величезною загрозою для здоров'я населення різних країн.

У зв'язку з браком наукової інформації про MRSA, особливо зоонозного походження, щодо їхнього поширення серед сільськогосподарських тварин, контамінації ними продукції тваринного походження і об'єктів довкілля на території України, ми вважали за необхідне визначити їхню кількісну частку серед 39 досліджуваних штамів *S. aureus*, виділених саме з таких об'єктів.

За результатами фенотипової оцінки активності оксациліну і метициліну (табл. 3.9), проведеної нами попередньо, не було виявлено різниці в одержаних результатах досліджень [155, 156].

**Порівняльна оцінка резистентності до оксациліну і метициліну  
у польових ізолятів *Staphylococcus aureus***

№ п/п	Види продукції тваринного походження, з якої одержані ізоляти <i>S. aureus</i>	Кількість виділених польових ізолятів	Диски з оксациліном			Диски з метициліном		
			Ч	ПЧ	Р	Ч	ПЧ	Р
1.	М'ясо свинини	2	2	0	0	2	0	0
2.	М'ясо куряче	7	3	2	2	3	2	2
3.	Фарш м'ясний	33	23	8	2	23	8	2
4.	Напівфабрикати м'ясні	5	3	1	1	3	1	1
5.	Ковбаса з м'яса	3	3	0	0	3	0	0
6.	Кури-гриль	2	0	2	0	0	2	0
Всього:		52	34	13	5	34	13	5

В обох випадках оксацилін і метицилін демонстрували ідентичні показники величини зон інгібування росту деяких досліджуваних штамів *S. aureus*, що підтверджували резистентність до означених антибіотиків або були до них чутливими.

Проте, зважаючи на дані EUCAST щодо вираженої гетерогенної експресії гена *mecA*, який дуже часто має низькі показники мінімальної інгібуючої концентрації оксациліну, але резистентний до цього антибіотика; а також дані про відсутність у деяких штамів золотистих стафілококів генів *mecA* і *mecC* і через це відсутність продукції додаткових пеніцилінзв'язуючих білків ПСБ2а і ПСБ2с, але з проявом резистентності до оксациліну (метициліну), а також через низьку кореляцію одержуваних результатів визначення чутливості до оксациліну

(метициліну) диско-дифузійним методом з наявністю гена *mecA* призводить до одержання сумнівних результатів і помилок за визначення *MRSA*. Тому, для одержання вірогідних результатів було враховано рекомендації EUCAST і для виявлення набутих механізмів резистентності до метициліну (оксациліну) і визначення *MRSA* було застосовано скринінг зі специфічним чутливим маркером цефоксітином за постановки диско-дифузійним методом (табл. 3.10).

Таблиця 3.10

**Частота виділення *MRSA* серед дослідних штамів *S. aureus*,  $M \pm m$ ,  $n=39$**

№ з/п	Назва дослідного штаму <i>S. aureus</i>	Цефокситін (30 мкг)	
		Облік результатів	
		Д зон, мм	Інтерпретація
EUCAST		P<22 мм	
<i>S. aureus</i> NCTC 12493		14±0,01	
1	штам 2/15	CP	Р
2	штам 18/52	CP	Р
3	штам 21/57	23±0,67*	Ч
4	штам 22/22	CP	Р
5	штам 23/59	23±0,01	Ч
6	штам 27/69	23±0,67	Ч
7	штам 28/70	10±1,33	Р
8	штам 30/75	CP	Р
9	штам 37/92	20±0,33*	Р
10	штам 42/105	14±0,67	Р
11	штам 56/142	CP	Р
12	штам 57/143	22±033	Ч

№ з/п	Назва дослідного штаму <i>S. aureus</i>	Цефокситін (30 мкг)	
		Облік результатів	
		D зон, мм	Інтерпретація
13	штам 59/152	28±0,10	Ч
14	штам 60/153	СР	Р
15	штам 66/161	18±0,33	Р
16	штам 69/164	16±0,01	Р
17	штам 70/165	22±1,33*	Ч
18	штам 74/169	21±1,67	Р
19	штам 75/170	СР	Р
20	штам 77/173	16±0,33	Р
21	штам 78/174	26±0,33	Ч
22	штам 79/176	24±0,67	Ч
23	штам 80/187	21±1,33	Р
24	штам 81/188	20±1,33*	Р
25	штам 82/189	16±0,01	Р
26	штам 83/190	СР	Р
27	штам 84/191	24±0,33	Ч
28	штам 85/192	22±1,33	Ч
29	штам 86/193	24±1,67*	Ч
30	штам 87/194	23±0,01	Ч
31	штам 88/195	23±0,33	Ч



№ з/П	Назва дослідного штаму <i>S. aureus</i>	Цефокситін (30 мкг)	
		Облік результатів	
		D зон, мм	Інтерпретація
32	штам 89/193	17±0,33*	Р
33	штам 90/197	СР	Р
34	штам 94/205	20±0,33*	Р
35	штам 95/206	22±0,67	Ч
36	штам 145/327	28±0,33	Ч
37	штам 146/328	27±0,33	Ч
38	штам 147/329	30±1,67	Ч
39	штам 148/345	27±0,33	Ч
Всього: 21 – Р; 18 – Ч; Р – 53,8 %; Ч – 46,15 %			

**Примітка.** Р – штам резистентний; Ч – штам чутливий; СР – суцільний ріст; \* — відхилення щодо контрольного штаму *S. aureus* NCTC 12493 вірогідне при  $p < 0,01$ .

За аналізом результатів експериментів з виявлення штамів з набутими механізмами резистентності – *mecA*-геном – установлено, що серед 39 дослідних штамів *S. aureus*, виділених з патологічного матеріалу від тварин, зразків сировини, продукції тваринного походження та об'єктів довкілля, що складав 53,8 % (21 штам), тобто більшу половину від досліджених.

Занепокоєння з приводу циркуляції *MRSA*-штамів серед тварин і людей та контамінацію ними продуктів харчування викликають одержані нами свідчення про їхню мультиантибіотикорезистентність, що було показано в попередніх матеріалах дисертації. Більше того, серед виявлених 21 *MRSA*-штамів, до дії

цефокситіну були абсолютно нечутливими 9 з них, що проявлялося у відсутності зони інгібування росту (суцільний ріст навколо диска із цефокситіном).

Отже, питома вага *MRSA*-штамів серед 39 досліджуваних штамів *Staphylococcus aureus*, виділених з патологічного та біологічного матеріалу від тварин, проб продукції тваринного походження і проб, відібраних з об'єктів навколишнього середовища, складає більше половини культур збудника – 53,8 % та вказує на високий рівень їхньої поширеності у харчовому ланцюзі людини та довкіллі.

**3.6.1 Ідентифікація метицилінрезистентних *S. aureus* методом полімеразної ланцюгової реакції в режимі реального часу.** Дослідження було проведено для підтвердження виявлення *mecA* у 21 ізоляті *S. aureus* та проведено апробацію методики виявлення ДНК метицилінчутливого й метицилінрезистентного *S. aureus*, метицилінрезистентних коагулазонегативних *Staphylococcus* spp. у біологічному матеріалі методом полімеразної ланцюгової реакції із гібридизаційним-флуоресцентною детекцією для подальшого використання в роботі Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи.

Використання молекулярно-генетичних методів дослідження для виявлення гена *mecA* в ізолятах *S. aureus* дасть змогу проводити арбітражні дослідження, скоротити час дослідження, проводити аналіз зв'язків із джерелом контамінації *S. aureus*. А оцінка антибіотикорезистентних генотипів ізолятів може слугувати інструментом для визначення гігієнічних норм в Україні.

Методом полімеразної ланцюгової реакції в режимі реального часу підтверджено наявність гена *mecA* у 21 із 39 досліджених ізолятів *S. aureus*, що складає 53,8 % від усіх досліджених штамів *S. aureus*. Отримані дані чітко співпадали з результатами з виявленими штамми *MRSA*.

**3.6.2 Депонування штаму *MRSA*.** Для депонування *Staphylococcus aureus* з набутим *mecA*-геном (*MRSA*) було обрано штам «22/22/58» для контролю якості проведених мікробіологічних досліджень; для розроблення діагностикумів і використання як тест-культури (позитивного контролю) за досліджень на

виявлення набутого гена резистентності – *tesA*. Означений штам виділений в бактеріологічному відділі ДНДІЛДВСЕ зі зразків ковбасок.

**Морфологічно-культуральні, біохімічні та фізіолого-біологічні особливості *Staphylococcus aureus* штам «22/22/58»:** за фарбування за методом Грама – у полі зору спостерігалися грампозитивні бактерії кулястої форми, величиною до 1,0 мкм. Розміщені поодинокі, парами і скупченнями. Спор і капсул не виявлено. За дослідження рухливості методом «перевернутої краплі» – культура стафілокока є нерухливою.

За особливостями культурального росту та фізіологічними характеристиками бактерії є факультативними анаеробами, добре ростуть на звичайних поживних середовищах в аеробних і анаеробних умовах, у т. ч. на середовищі Кітта-Тароцці.

На МПА утворюють колонії середніх розмірів, круглі, непрозорі, випуклі, блискучі із золотистим відтінком. На МПБ спостерігали інтенсивне помутніння з випаданням значної кількості осаду. За посіву на МПЖ через 24 год інкубації за температури плюс  $37 \pm 1$  °C спостерігався ріст по уколу, через 96 год – спостерігалось розрідження желатини у вигляді лійки, яке починалося з верхньої частини пробірки, що підтверджувало протеолітичні властивості бактерій штаму. Протеолітичні властивості штаму були засвідчені додатково завдяки згортанню молока за посіву на нього культури; позитивним тестом на утворення сірководню, як одного з етапів глибокого розщеплення білків та позитивним тестом на каталазу (як було описано у попередньому матеріалі).

За росту на КА (Колумбійському агарі) навколо колоній спостерігалася зона гемолізу, що підтверджувало наявність гемолітичної активності культури. За вивчення біохімічних властивостей штаму встановлено, що культура ферментувала з утворенням кислоти без газу глюкозу, лактозу, сахарозу і маніт, та не розщеплювала мальтозу. За посіву культури на МСА спостерігався ріст непрозорих, круглих з рівними краями колоній золотистого кольору, інтенсивність якого підсилювалася через 48 год після витримування на світлі, що засвідчувало утворення золотистого пігменту бактеріями *Staphylococcus aureus*.

За посіву на ЖСА культура утворювала колонії, навколо яких було добре видно зону помутніння з райдужним вінчиком, що підтверджувало лецитиназну активність штаму.

Після посіву культури на плазму крові кроля, остання згорталася упродовж 30 хв, що підтверджувало високу плазмокоагулюючу активність бактерій *Staphylococcus aureus* штам «22/22/58» та свідчила про його патогенність.

Патогенність *Staphylococcus aureus* штам «22/22/58» була підтверджена і постановкою біологічної проби на безпородних білих мишах за підшкірного введення суспензії добової культури, змитої стерильним фізіологічним розчином в асептичних умовах з МПА, стандартизованої за оптичним стандартом каламутності за МакФарландом до концентрації  $1,0 \times 10^9$  КУО/см<sup>3</sup> (standard 1), у дозі 0,5 см<sup>3</sup>. Загибель тварин наставала упродовж 48 год.

**Генетичні особливості *Staphylococcus aureus* штам «22/22/58» (ауксотрофність, резистентність до антибіотиків, фагів тощо):** Облік результатів з використанням ДДМ для розширеної постановки антибіотикограми загального профілю *Staphylococcus aureus* штам «22/22/58» показав, що означений штам резистентний до оксациліну (метициліну) (5 мкг) – суцільний ріст; норфлуксацину (10,0 мкг) – 10 мм; доксициліну (30,0 мкг) – 10 мм; неоміцину (30 мкг) – 12 мм; ампіциліну (10,0 мкг) – 10 мм; гентаміцину (10,0 мкг) – 14 мм; триметопріму (5 мкг) – 11 мм; бензилпеніциліну (1 ОД) – 10 мм; хлорамфеніколу (30,0 мкг) – 10 мм; стрептоміцину (10,0 мкг) – 10 мм; енрофлуксацину (10,0 мкг) – 10 мм; кліндаміцину (2,0 мкг) – 11 мм; азітроміцину (15,0 мкг) – 12 мм; амоксициліну (10,0 мкг) – 10 мм; амоксиклаву (10,0 мкг) – 10 мм; іміпенему (10,0 мкг) – 10 мм; цефотаксиму (30,0 мкг) – 10 мм; фосфоміцину (200,0 мкг) – 10 мм; амікацину (30,0 мкг) – 11 мм; тейкопланіну (30,0 мкг) – 13 мм; цефтазидиму (30,0 мкг) – 10 мм; цефотаксим/клавуланової кислоти (30,0/10,0 мкг) – 12 мм; цефтазидим/клавуланової кислоти (30,0/10,0 мкг) – 10 мм; линезолиду (30,0 мкг) – 11 мм; колістину (10 мкг) – 13 мм; меропенему (10,0 мкг) – 10 мм; сульфаметоксазолу (25,0 мкг) – 12 мм; сульфадіазину (100,0 мкг) – 11 мм; флоксациліну (5,0 мкг) – 10 мм; котриманзину

(25 мкг) – 10 мм, рифампіцину (5 мкг) – 10 мм. *Staphylococcus aureus* штам «22/22/58» чутливий до ванкоміцину (50 мкг) – 15 мм; цефазоліну (30 мкг) – 16 мм; еритроміцину (15 мкг) – 26 мм.

Отже, *Staphylococcus aureus* штам «22/22/58» є мультиантибіотикорезистентним.

*S. aureus* штам «22/22» було задепоновано у Депозитарії Державного науково-контрольного інституті біотехнології і штамів мікроорганізмів (Додаток Г). Кріогранули зі штамом *S. aureus* «22/22» зберігаються в Музеї антибіотикорезистентних штамів збудників зоонозів лабораторії діагностики інфекційних захворювань бактеріальної етіології науково-дослідного бактеріологічного відділу Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи в стані глибокої заморозки за температури мінус  $72 \pm 5$  °C. Термін зберігання п'ять років для первинної генерації культури.

Результати цього підрозділу були опубліковані у роботах [14, 17].

### **3.7 Результати досліджень біоплівкоутворюючих властивостей штамів *S. aureus***

Бактерії *S. aureus* у біоплівках проявляють значно вищу стійкість до АБП, порівняно з їхніми планктонними формами, тому існує нагальна потреба у вивченні означеної проблеми. У зв'язку з цим, частина нашої роботи присвячена вивченню саме цього питання.

Оскільки вже відомо, що в процесі своєї життєдіяльності певна частина бактеріальних клітин *S. aureus* у власних популяціях здатна формувати мікробні біоплівки, для нас представляло інтерес вивчити такі властивості у штамів золотистого стафілокока, виділених нами.

За модифікованою нами методикою з виявлення властивостей *S. aureus* до плівкоутворення і визначення рівня щільності сформованих біоплівок, були проведені дослідження деяких досліджуваних штамів *S. aureus* (табл. 3.11).

**Інтенсивність формування біологічних  
плівок у різних штамів *MRSA*,  $M \pm m$ , О. од.,  $n=5$**

№ з/п	Назва штаму <i>S. aureus</i>	Облік результатів	
		показники оптич- ної густини від- мивної спиртової рідини ( $\lambda_{570}$ )	рівень щільності сформованої біоплівки
Контроль			
	Негативний – м’ясо-пептонний бульйон без культури	0,001	залишки білкових решток м’ясо- пептонного бульйону
	Позитивний з низьким рівнем щільності – <i>S. aureus</i> ATCC 25923	0,38±0,01	низька
	Позитивний з високим рівнем щільності штаму <i>S. aureus</i> «22/22» ( <i>MRSA</i> )	3,2±0,3**	висока
1	<i>S. aureus</i> штаму «66/161» (продукція тваринного походження)	1,8±0,06*	висока
2	<i>S. aureus</i> штаму «2/15» (продукція тваринного походження)	0,48±0,03	низька
3	<i>S. aureus</i> штаму «37/92» (продукція тваринного походження)	1,6±0,01**	середня

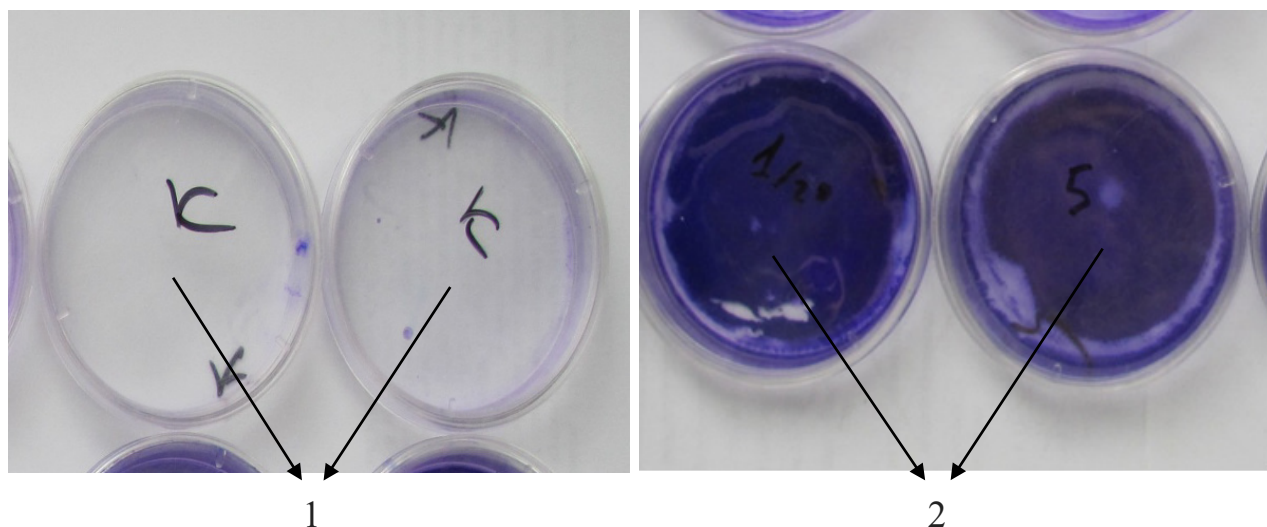
№ з/п	Назва штаму <i>S. aureus</i>	Облік результатів	
		показники оптич- ної густини від- мивної спиртової рідини ( $\lambda_{570}$ )	рівень щільності сформованої біоплівки
4	<i>S. aureus</i> штам «42/105» (продукція тваринного походження)	1,6±0,01	висока
5	<i>S. aureus</i> штам «82/189» (продукція тваринного походження)	0,60±0,01	середня
6	<i>S. aureus</i> штам «77/173» (продукція тваринного походження)	2,0±0,01	висока
7	<i>S. aureus</i> штам «86/193» (патологічний матеріал від тварин)	2,0±0,06*	висока

Примітки: \* — відхилення вірогідне за  $p < 0,01$ ; \*\* — відхилення вірогідне за  $p < 0,001$ .

Результати досліджень негативного контролю (без додавання досліджуваних культур) показали надто низький рівень щільності промивної спиртової рідини –  $0,001 \pm 0,0003$ , ймовірно представлений білковими залишками МПБ (рис. 3.20).

За результатами досліджень постановки позитивного контролю з використанням задепонованого мультирезистентного, *MRSA* штаму «22/22/58» (з набутим механізмом резистентності *tesA* за скринінгом з цефокситіном за

даними EUCAST) встановлена висока активність формування біоплівок, рівень щільності яких знаходився в межах  $3,20 \pm 0,30$  (рис. 3.19).



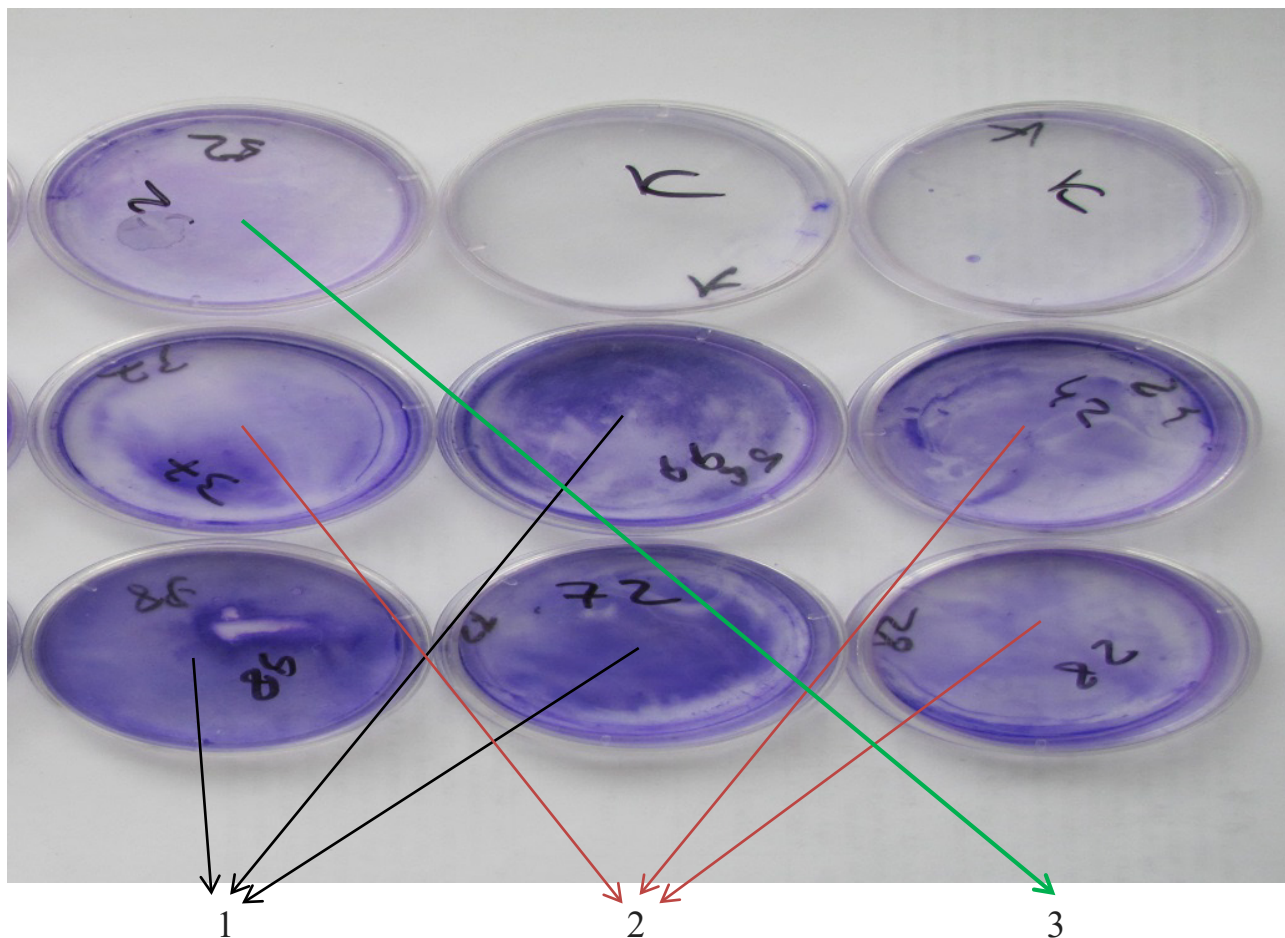
**Рис. 3.19. Візуалізація дослідів негативного (без внесення культури *S. aureus*) та позитивного (*S. aureus* штам «22/22/58») контролів: 1 – дуже низька щільність адгезованих залишків на дні чашок Петрі після промивання та пофарбування висушених залишків. 2 – дуже висока щільність сформованих біоплівків після промивання та пофарбування висушених залишків (позитивний контроль з *MRSA* штамом «22/22/58»).**

Аналіз результатів постановки основного дослідів показав, що всім дослідним штамам *Staphylococcus aureus* була притаманна властивість до плівкоутворення, але з різними рівнями її прояву (щільності). Установлено, що високий рівень щільності сформованих біоплівків був виявлений серед 57,1 % досліджуваних штамів *MRSA*. Біоплівки із середнім рівнем щільності формували 28,6 % штамів *MRSA* та низький рівень щільності біоплівків був сформований у 14,3 % досліджуваних культур золотистого стафілококу. Візуалізація дослідів наведена на рис. 3.20.

Одержані результати досліджень вказують на високу небезпеку для здоров'я тварин та людини через присутність у харчовому ланцюзі *S. aureus* і можливість бути інфікованими стафілококовими збудниками, особливо такими,



що мають властивості утворювати біоплівки, оскільки їм притаманна висока стійкість до несприятливих факторів навколишнього середовища.



**Рис. 3.20. Різні рівні щільності сформованих біоплівок бактеріями досліджуваних штамів *S. aureus* (візуалізація досліду): 1 – високий рівень щільності сформованих біоплівок досліджуваних штамів *S. aureus*; 2 – середній рівень щільності; 3 – низький рівень щільності.**

Аналіз результатів досліджень показав, що всім досліджуваним штамам *MRSA* була притаманна властивість до біоплівкоутворення, але з різними рівнями її прояву (щільності).

Отримані дані випробувань із виявлення біоплівкоутворення серед штамів *MRSA* засвідчив їхню здатність до формування високого та середнього рівнів щільності біоплівок, що складало 85,7 % від штамів, у яких визначали здатність до утворення біоплівок

Результати цього підрозділу були опубліковані у роботах [13, 30].

### 3.8 Вивчення стійкості антибіотикорезистентних штамів *S. aureus* до дезінфікуючих засобів

Результати попередніх наших досліджень ще раз підтвердили факт, що *S. aureus* є одним з головних антибіотикорезистентних патогенів бактеріального походження, який дуже швидко пристосовується до селективного тиску антибіотичних препаратів. Оскільки і антибіотики і дезінфікуючі засоби є антибактеріальними препаратами, для нас представляло інтерес також дослідити характер дії дезінфектантів з різним хімічним складом на полі- та мультиантибіотикорезистентні штами *S. aureus* для пошуку спільних фенотипічних механізмів такої стійкості.

За результатами досліджень з вивчення дії дезінфектантів на досліджувані штами *S. aureus* було встановлено, що тестова культура *S. aureus* ATCC 25923 проявляла чутливість до всіх робочих концентрацій досліджуваних дезінфектантів, що підтверджувало достовірність наступних одержаних результатів за постановки означених експериментів з дослідними штамами *S. aureus*, як показано на табл. 3.12.

Нами було встановлено, що характер дії дезінфікуючого засобу № 1 за 30 хв експозиції у концентраціях 0,25, 0,5 і 1,0 % відзначався повною загибеллю досліджуваних штамів золотистих стафілококів. Проте, 0,25 % концентрація дезінфікуючого розчину № 1 за експозиції 30 хв потужно інгібувала ріст і розмноження бактерій, окрім трьох метицилінрезистентних штамів *Staphylococcus aureus*, зокрема штами «18/52», «28/70» і «30/75», оскільки після посівів обробленої дезінфектантом культури вирости поодинокі колонії збудника, порівняно з суцільним ростом на твердих поживних середовищах у контролі без дезінфектанту та характерним ростом у контролі активності росту культури на триптон-соевому бульйоні з його інтенсивним помутнінням та випаданням осаду.

Таблиця 3.12

Результати досліджень з вивчення бактерицидної дії деяких дезінфікуючих засобів на польові ізоляти *S. aureus*

Штами польових ізолятів <i>S. aureus</i>	Кратність досліджень	Характер росту тестової культури та польових ізолятів <i>S. aureus</i> на поживних середовищах після дії дезінфікуючих препаратів у відповідних концентраціях							
		Триптон-соевий агар (тверде поживне середовище)			контроль росту	Триптон-соевий бульйон (рідке поживне середовище)			контроль росту
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Дезінфікуючий засіб №1									
Експозиція 30 хв									
Робочі концентрації, %									
Х		0,25	0,5	1,0	Х	0,25	0,5	1,0	Х
Тестова культура <i>S. aureus</i> ATCC 29923	1.	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад
	2.								
	3.								

Продовження табл. 3.12

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>S. aureus</i> штам «18/52»	1.	поодинокі колонії	ріст	ріст	суцільний	помутніння середовища, ріст (+)	ріст	ріст	інтенсивне помутніння, осад
	2.		відсутній	відсутній	ріст		відсутній	відсутній	
	3.								
<i>S. aureus</i> штам «21/57»	1.	ріст відсутній	ріст	ріст	суцільний	ріст	ріст	ріст	інтенсивне помутніння, осад
	2.		відсутній	відсутній	ріст	відсутній	відсутній	відсутній	
	3.								
<i>S. aureus</i> штам «22/22/58»	1.	ріст відсутній	ріст	ріст	суцільний	ріст	ріст	ріст	інтенсивне помутніння, осад
	2.		відсутній	відсутній	ріст	відсутній	відсутній	відсутній	
	3.								
<i>S. aureus</i> штам «23/59»	1.	ріст відсутній	ріст	ріст	суцільний	ріст	ріст	ріст	інтенсивне помутніння, осад
	2.		відсутній	відсутній	ріст	відсутній	відсутній	відсутній	
	3.								

Продовження табл. 3.12

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>S. aureus</i> штам 27/69»	1.	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад
	2.								
	3.								
<i>S. aureus</i> штам «28/70»	1.	поодинокі колонії	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	помутніння середовища, ріст (+)	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад
	2.								
	3.								
<i>S. aureus</i> штам «30/75»	1.	поодинокі колонії	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	помутніння середовища, ріст (+)	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад
	2.								
	3.								

Продовження табл. 3.12

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Дезінфікуючий засіб №2									
Експозиція 30 хв									
Робочі концентрації									
Х		0,05	0,25	0,5	Х	0,05	0,25	0,5	Х
Тестова культура <i>S. aureus</i> ATCC 29923	1.	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад
	2.								
	3.								
<i>S. aureus</i> штам «18/52»	1.	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад
	2.								
	3.								
<i>S. aureus</i> штам «21/57»	1.	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад
	2.								
	3.								

Продовження табл. 3.12

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>S. aureus</i> штам «22/22/58»	1.	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад
	2.								
	3.								
<i>S. aureus</i> штам «23/59»	1.	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад
	2.								
	3.								
<i>S. aureus</i> штам 27/69»	1.	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад
	2.								
	3.								
<i>S. aureus</i> штам «28/70»	1.	поодинокі колонії	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	помутніння середовища, ріст (+)	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад
	2.								
	3.								

Продовження табл. 3.12

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>S. aureus</i> штам «30/75»	1.	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад
	2.								
	3.								
Дезінфікуючий засіб №3									
Експозиція 30 хв									
Робочі концентрації									
X		0,05	0,25	0,5	X	0,05	0,25	0,5	X
Тестова культура <i>S. aureus</i> ATCC 29923	1.	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад
	2.								
	3.								
<i>S. aureus</i> штам «18/52»	1.	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад
	2.								
	3.								



Продовження табл. 3.12

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>S. aureus</i> штам «21/57»	1.	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад
	2.								
	3.								
<i>S. aureus</i> штам «22/22/58»	1.	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад
	2.								
	3.								
<i>S. aureus</i> штам «23/59»	1.	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад
	2.								
	3.								
<i>S. aureus</i> штам 27/69»	1.	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад
	2.								
	3.								

Продовження табл. 3.12

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>S. aureus</i> штам «28/70»	1.	поодинокі колонії	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	помутніння середовища, ріст (+)	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад
	2.								
	3.								
<i>S. aureus</i> штам «30/75»	1.	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній	інтенсивне помутніння, осад
	2.								
	3.								

Дезінфікуючі засоби № 2 та № 3 у робочій концентрації 0,25 %, за експозиції 30 хв бактерицидно діяли на досліджувані штами золотистого стафілокока, окрім *Staphylococcus aureus* штам «28/70». Незважаючи на високу бактерицидну активність означених дезінфектантів, концентрація 0,25 % виявилася неспроможною подолати стійкість означеного дослідного штаму збудника, що підтверджувалося ростом поодиноких колоній золотистого стафілокока на твердих поживних середовищах, порівняно з їхнім суцільним ростом у контролі без додавання дезінфектанту та у контролі активності росту культури, де спостерігався характерний ріст збудника у вигляді помутніння ТСБ і випаданням осаду на дні пробірки.

Отже, за результатами проведених досліджень виявлено, що метицилінрезистентний *S aureus* штами «18/52», «28/70» і «30/75» були стійкими до дезінфікуючого засобу № 1 у концентрації 0,25 % за експозиції 30 хв та штам *Staphylococcus aureus* «28/70» був стійким до дезінфікуючих розчинів № 2 і № 3 у таких параметрах, що підтверджено ростом оброблених дезінфектантами культур на відповідних твердих і рідких середовищах.

Результати цього підрозділу були опубліковані у роботах [15, 154].

**Висновки до розділу 3.** Результати проведених бактеріологічних досліджень *S. aureus* за період 2015–2019 рр. серед тварин, забруднення ним продукції тваринного походження та об'єктів довкілля допомогло нам оцінити епізоотичну ситуацію щодо розповсюдження *S. aureus* на території України.

Високий рівень розповсюдженості *S. aureus* був підтверджений серед великої та дрібної рогатої худоби, птиці та хутрових звірів, оскільки показники мали тенденцію до постійного зростання.

За результатами бактеріологічних досліджень щодо *S. aureus*, упродовж дослідного періоду у показників зараження золотистими стафілококами продукції тваринного походження та об'єктів довкілля спостерігалася позитивна динаміка до зменшення кількості контамінації збудником яловичини, фаршу м'ясного, фаршу з м'яса птиці, ковбас, яйцепродуктів, кисломолочної продукції, що свідчило про певне покращення ситуації з їхньої безпечності. Проте,

загальний аналіз результатів досліджень свідчив про розповсюдження та циркуляцію *S. aureus* у продукції тваринного походження на переробних підприємствах України.

Результати бактеріологічних досліджень щодо виявлення польових ізолятів *S. aureus*, виділених з патологічного, біологічного матеріалів від тварин, продукції тваринного походження та об'єктів довкілля, допомогли виділити та ідентифікувати 39 польових ізолятів збудника з характерними для стафілококів морфологічними та тинкторіальними властивостями, особливостями культурального росту на селективних середовищах, ферментативною здатністю до розщеплення глюкози, лактози, сахарози, маніту і відсутністю ферментації мальтози, з продукцією каталази, лецитинази, коагулази та альфа-токсину.

Оскільки наразі в Україні антибіотикорезистентність збудника *S. aureus* є проблемою соціально-економічною, результати досліджень з вивчення чутливості до антибактеріальних препаратів підтвердили широке розповсюдження мультиантибіотикорезистентних штамів *S. aureus* у межах 82,1 % щодо різних видів і груп антибіотиків.

Велику соціальну небезпеку несуть метицилінрезистентні стафілококи (*MRSA*). Набуті ними механізми антибіотикорезистентності – *mecA*-ген, серед 39 досліджуваних штамів золотистих стафілококів були виявлені більше, як у третини виділених культур (36,8 %), що підтверджувало високий рівень їхньої поширеності у харчовому ланцюзі людини, тварин та довкіллі.

Виявлення *MRSA*-штамів допомогло визначити та обрати як тестової культури і задепонувати метицилінрезистентний *S. aureus* штам «22/22/58», виділений з ковбасок, для проведення контролю якості досліджень з виявлення набутих механізмів резистентності (наявності *mecA*-гена) у польових ізолятів золотистих стафілококів, біоплівок.

Результати проведених досліджень з виявлення здатності до біоплівкоутворення показали високий рівень активності (85,7 %) серед досліджуваних полі- і мультиантибіотикорезистентних штамів *S. aureus* до

формування біоплівок, що за такої ситуації вказувало на існуючу небезпеку для людини та тварин через виникнення стійких до несприятливих факторів.

Результати досліджень з виявлення стійкості *MRSA*-штамів, виділених з патологічного, біологічного матеріалів від тварин, пробах продукції тваринного походження та пробах, відібраних з об'єктів довкілля, підтвердили їхню стійкість до дії низьких концентрацій дезінфікуючих засобів, рекомендованих виробниками для знезараження. Це, ймовірно, підтверджує гіпотезу щодо набуття споріднених механізмів захисту у *S. aureus* за дії антибактеріальних препаратів і засобів.

Аналіз результатів проведених досліджень у різних напрямках підтверджує необхідність постійного аналізу даних щодо антибіотикорезистентності збудника *Staphylococcus aureus*, зібраних на значних територіях, та інтерпретації результатів досліджень, виконаних і одержаних у різних регіонах України. Очевидним фактом є необхідність створення та впровадження в Україні єдиної системи бактеріологічного моніторингу *S. aureus* з постійним поповненням інформації, оскільки це допоможе отриманню нової, достовірної, актуальної інформації щодо рівня резистентності виділених польових ізолятів золотистих стафілококів, особливо *MRSA*-штамів, до антибіотиків та сприятиме глобальному вирішенню проблеми з контрольованого застосування антибіотиків і проведення адекватної антибіотикотерапії стосовно людини та тварин.

## РОЗДІЛ 4

### АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Нині проблема антибіотикорезистентності виходить за межі суто медичної та має важливе соціально-економічне значення. Деякі розвинені країни світу розглядають це питання як загрозу національній безпеці. Експерти Світового Банку прогнозують, що без зміни теперішньої ситуації, яка склалася з антибіотикорезистентністю збудників захворювань тварин, до 2050 року такі мікроорганізми можуть завдати глобального економічного збитку, що прирівнюватиметься фінансовій кризі 2008 року, оскільки є значущим викликом для економічного розвитку країн [108, 213].

Питання боротьби зі стійкістю мікроорганізмів до протимікробних препаратів стало однією з чотирьох тем сфери охорони здоров'я, які виносили на розгляд засідання Генеральної асамблеї ООН [103, 120, 181].

Науковці та практичні спеціалісти гуманної і ветеринарної медицини наголошують на тому, що проблема застосування антибіотиків і резистентність до них зоонозного збудника *S. aureus* нині є однією з найсерйозніших загроз глобальної охорони здоров'я людства [8].

Відомо, що стафілококи широко розповсюджені в природі: у повітрі, воді, ґрунті, на предметах побуту. Вони входять до складу нормальної мікрофлори тварин і людини та знаходяться у симбіозі зі здоровим макроорганізмом. В умовах сучасного техногенного навантаження на тварин і людину стафілококи набувають патогенних властивостей [171, 193].

Доведено, що за несприятливих для макроорганізму умов, коли рівень імунітету знижується, стафілококи швидко розмножуються. При цьому, порушення сталого біологічного балансу мікрофлори сприяє інтенсивному кількісному накопиченню стафілококів в організмі тварин і людини. У генезі розвитку стафілококової інфекції суттєву роль відіграють сприятливі чинники:

імунодефіцитний стан, порушення екологічної рівноваги між співчленами мікробіоценозу тварини, субклінічні або клінічні форми порушення обміну речовин, діагностичні та косметичні маніпуляції, що призводять до порушення цілісності шкіряного покриву і слизових оболонок та ін. Розвиток захворювання зумовлюється проникненням збудника через ушкоджену шкіру або слизові оболонки, після чого стафілококи з кров'ю потрапляють у внутрішні паренхіматозні органи та розмножуються [201, 204, 206, 209].

Стафілококи володіють здатністю до формування стійкого стафілококового бактеріоносійства, коли їх постійним місцезнаходженням є слизова носа. При цьому вони постійно виділяються масивними дозами у довкілля, що призводить до перезараження тварин і людини [119, 129, 145].

Хворі тварини, бактеріоносії, заражена або контамінована продукція тваринного походження є джерелом інфекції. Для сільськогосподарської галузі особливу небезпеку несуть антибіотикорезистентні штами *S. aureus*, зокрема метицилінрезистентні (*MRSA*), які мають ген *mecA* та стійкі до β-лактамних і часто до інших антибіотиків [17, 28].

За даними Європейського центру з профілактики та контролю захворюваності (ECDC) питома вага метицилінрезистентних серед всіх штамів *S. aureus* на півдні Європи (Португалія, Греція, Іспанія, Італія) сягає 50 %. Скандинавські країни демонструють традиційно низький рівень *MRSA*. Між 10 та 25 % знаходиться питома вага метицилінрезистентного стафілокока в центральній Європі та Великобританії. В Німеччині після зростання в 1990-х роках упродовж багатьох років цей показник стабільно знаходився на рівні 19–25 % [131, 132, 134, 135, 137, 138].

Результати наших досліджень також підтверджують такі дані. Для оцінки епізоотичної ситуації щодо поширеності золотистих стафілококів серед тварин, контамінації ними продукції тваринного походження та об'єктів довкілля у ветеринарній медицині проводяться бактеріологічні дослідження *S. aureus* для одержання таких даних [4, 5, 9, 12, 50, 58].

Результати проведених нами бактеріологічних досліджень щодо виявлення *S. aureus* за дослідний період (2015–2019 рр.) показали високий рівень поширеності та циркуляції *S. aureus* у тваринницьких господарствах, у продукції тваринного походження на переробних підприємствах України.

Наявність збудника *S. aureus* у патологічному та біологічному матеріалі від тварин на території України мала тенденцію до зростання з показниками від 1,7 % у 2017 р. до 2,3 % у 2019 р.

За період 2015–2019 рр. найвищий рівень стафілококозів на території України спостерігався у 2019 р., коли із 6 465 зразків патологічного матеріалу з підозрою на стафілококову інфекцію ізоляти збудника *S. aureus* було виявлено у 2,3 % випадків, що у 2,6 разу перевищувало показники 2015 р.

У 2017 р. показник виявлених та ідентифікованих польових ізолятів *S. aureus* з патологічного матеріалу від великої рогатої худоби складав до 3,4 %, у 2018 р. – до 8,0 % і у 2019 р. – до 11,5 % позитивних результатів. Частота виділення *S. aureus* серед овець і кіз у певні роки дослідного періоду, перевищувала аналогічні показники в корів. Результати бактеріологічних досліджень показали, що починаючи з 2016 р. спостерігалася тенденція до зростання, більше як у 10 разів, поширеності *S. aureus* серед дрібної рогатої худоби, а саме: від 1,4 % до 14,3 % у 2019 р.

Однак, результати бактеріологічних досліджень з вивчення циркуляції збудника *S. aureus* серед свиней показав значне циклічне варіювання показників. Зокрема, в 2015 р. від рівня 1,5 % виділених польових ізолятів збудника аналогічні показники в 2016 р. зменшилися у 2,5 разу – до 0,6 %. Далі у 2017 р. знову зростання до 1,4 % та зменшення їхньої кількості до 0,4 % у 2018 р. У 2019 р. *Staphylococcus aureus* в жодному випадку не виділяли з патологічного матеріалу від свиней. Цей факт свідчить про тенденцію до зниження поширеності *S. aureus* серед поголів'я свиней на території України з 2018 р.

За аналізом результатів бактеріологічних досліджень було з'ясовано, що за останні два роки (2018–2019 рр.) кількість бактеріологічних досліджень від птиці зменшилася до 5,5–6,0 тис. зразків. За таких об'ємів досліджень частка



ізолюваних та ідентифікованих збудників *S. aureus* була незначною і складала 0,3 % у 2015 р. Проте, з кожним роком цей показник зростає і у 2019 р. складає вже 1,9 %. За останні п'ять років виділення збудника *S. aureus* серед птиці зросло більше, ніж у 6 разів, порівняно з показниками 2015 р.

У більшості випадків поширення патогенних стафілококів серед сільськогосподарських тварин зумовлене низьким технологічним рівнем ведення господарства.

За період 2015–2019 рр. було проведено 291 552 бактеріологічних досліджень щодо виявлення збудника *S. aureus* у зразках продукції тваринного походження, рівень контамінації склав 666 (0,2 %) виявлених невідповідностей.

За результатами проведених досліджень щодо виявлення *S. aureus* із м'яса різних видів тварин спостерігали, що контамінація стафілококом свинини мала незначний рівень, були виділені лише 9 ізолятів *S. aureus* у 2015 р. та 6 – у 2016 р. Упродовж останніх двох років дослідного періоду, серед 160 проб свинини у 2018 р. та серед 141 зразка у 2019 р., які надійшли для досліджень на стафілокок, позитивних результатів не підтверджено.

Аналізуючи загальний стан мікробіологічної безпеки продукції тваринного походження за результатами бактеріологічних досліджень встановлено, що протягом дослідного періоду спостерігалася тенденція до зниження мікробіологічної контамінації збудником *S. aureus* продукції тваринного походження, оскільки у 2019 р., порівняно з 2015 р., у випробувальних зразках свинини, баранини і м'яса птиці, субпродуктах тварин і птиці, яйцях, молочних консервах і молочних сухих виробках не було виділено *S. aureus*. За такого ж періоду кількість випадків виділення ізолятів *S. aureus* у дослідних зразках іншої продукції тваринного походження значно знижувалася, зокрема у зразках яловичини – від 3,6 до 2,0 %, у фарші м'ясному – від 10,3 до 0,8 %, фарші з м'яса птиці – від 5,4 до 1,6 %, ковбасах – від 0,2 до 0,1 %, яйцепродуктах – від 4,8 до 0,2 %, кисломолочній продукції – від 0,1 до 0,02 % від кількості дослідженої продукції, що сприяло поліпшенню ситуації щодо безпечності продукції тваринного походження щодо їхньої контамінації *S. aureus*.

Забруднення стафілококами продукції тваринного походження найчастіше відбувається у процесі переробки через порушення санітарно-гігієнічних норм і, у більшості випадків, саме *S. aureus* найчастіше стає причиною харчових токсикоінфекцій, спричинених продукованими ним ентеротоксинами.

Для вивчення санітарно-гігієнічного стану об'єктів довкілля в Україні було проаналізовано 315 579 проб за показником *S. aureus*, проведених у період з 2015 до 2019 р. та виявлено 487 (0,2 %) невідповідностей.

Найчастіше *S. aureus* виділявся зі змивів інвентаря та обладнання, відібраних у супермаркетах, магазинах, що склало по 0,3 % позитивних результатів від усіх досліджень проведених за період 2015–2019 рр. Також за цей період 0,2 % невідповідностей щодо *S. aureus* були виявлені на яйцескладах. У забійних цехах і на птахопереробних підприємствах було виявлено 0,1 % позитивних результатів, також 0,04 % невідповідних результатів по *S. aureus* було виявлено на молокопереробних підприємствах за аналогічний період часу.

Під час виконання Держпродспоживслужбою планових заходів державного нагляду (контролю) у 2019 р. було виявлено найбільшу кількість випадків щодо контамінації *S. aureus* у закладах громадського здоров'я – 1,3 %. У дитячих закладах у цьому ж році невідповідності по *S. aureus* було зареєстровано у 0,8 % випадках, у лікувальних закладах цей показник склав 0,6 %.

Дані щодо виявлення *S. aureus* на поверхнях об'єктів довкілля, які підлягали ветеринарно-санітарному контролю, свідчать про недотримання санітарно-гігієнічних правил на виробництві, таких як прибирання та дезінфекція приміщення, відхилення від інструкції щодо дезінфекції інвентаря, обладнання та стін, недотримання правил гігієни (чистий спецодяг, гумові рукавички), відсутність своєчасного проведення медичного огляду працівників, якість дезінфекції.

Крім виявлення високого рівня циркуляції *S. aureus* у господарствах на території України, вчені наголошують на тому, що висока ураженість поголів'я сільськогосподарських тварин золотистими стафілококами тісно пов'язана з їхньою антибіотикорезистентністю.

Основними факторами, що впливають на формування антибіотикорезистентності, є широке та безконтрольне їх застосування без попереднього визначення чутливості до них збудника *S. aureus*, також їх використання у субтерапевтичних дозах, як стимуляторів росту, з профілактичною метою, недотримання періоду каренції після застосування антибіотиків тощо [83, 84, 105].

Висока антибіотикорезистентність *S. aureus* призводить до зниження або повної втрати ефективності антибіотикотерапії у ветеринарній медицині та розвитку аналогічної стійкості золотистих стафілококів у людини внаслідок передачі антибіотикорезистентних штамів збудника чи їхніх детермінант резистентності від тварин до людини через харчовий ланцюг [54, 90].

Відомо, що представники *Staphylococcus* spp. характеризуються високим рівнем природної чутливості до антибактеріальних препаратів – бета-лактамів, аміноглікозидів, фторхінолонів, макролідів, лінкозамідів, глікопептидів, рифампіцину ін [117, 118].

За останні роки, окрім тотального розповсюдження, значення *S. aureus* зросло внаслідок формування в них набутої стійкості до антибіотиків пеніцилінового ряду, цефалоспоринів, макролідів, аміноглікозидів та ін. На фоні цієї проблеми особливо вирізняються метицилінрезистентні штами *S. aureus* (*MRSA*), стійкі до бета-лактамів [120].

Доведено, що резистентність *MRSA*-штамів до оксациліну (метициліну) може бути обумовлена дією трьох основних механізмів:

- продукцією додаткового пеніцилін-зв'язуючого білка (ПЗБ) – ПЗБ2 (ферменту, який бере участь у синтезі клітинної стінки бактерії і кодується хромосомальним геном *mecA*);
- інактивацією антибіотика внаслідок гіперпродукції бета-лактамаз;
- модифікацією нормальних ПЗБ [98, 99].

За даними Пономаренка А.М. та Салманова А.Г. після проведення 1 335 888 досліджень з метою визначення чутливості клінічних штамів *S. aureus* до 37 антибіотиків, аналіз їх результатів показав, що  $27,4 \pm 0,14$  % штамів *S. aureus*

були резистентними до антибіотиків, які випробовувались. Резистентність до оксациліну *S. aureus* у хірургічних стаціонарах України протягом досліджуваного періоду в середньому становила 35,7 %. За результатами розрахунків з імовірністю 95 % можна стверджувати, що частота виділення *MRSA* від хворих з післяопераційними гнійно-запальними інфекціями у зазначений період варіювала у межах 40,8–41,4 %. Цими вченими встановлено суттєві відмінності частоти виділення штамів *MRSA* у стаціонарах, показники яких у різних регіонах України варіювали у межах 7,5–72,1 % [47].

Результати проведених нами досліджень підтверджують означені вище дані, оскільки за вивчення чутливості до антибактеріальних препаратів нами було виявлено широке розповсюдження мультиантибіотикорезистентних штамів *S. aureus* – у межах 82,1 % – щодо видів і груп антибіотиків.

Учені констатують факт щодо гуманної медицини, коли людина може піддатися зараженню золотистими стафілококами, навіть не вживаючи антибіотиків, а саме через контаміновану продукцію тваринництва; за вживання антибіотичних препаратів – через їх неповний метаболізм у печінці та кумуляцію в організмі та видаленням з каловими масами в кількості до 20,0 %.

Крім того, використані у тваринництві антибіотики за харчовим ланцюгом потрапляють у рослини та потім – в організм людини. Аналогічним шляхом до організму людини можуть попадати і антибіотикорезистентні штами *S. aureus* [31].

Занепокоєння нині викликають метицилінрезистентні стафілококи (*MRSA*). За методологією EUCAST за гомогенного типу експресії резистентності майже всі мікробні клітини *S. aureus* проявляють стійкість до метициліну (оксациліну) у стандартних *in vitro* тестах. За гетерогенного типу експресії резистентності стійкість до оксациліну (метициліну) проявляє лише невелика кількість клітин у самій популяції бактерій *S. aureus*. Оскільки гетерогенна експресія у *MRSA*-штамів *S. aureus* суттєво впливає на показники рівня резистентності до оксациліну, вона може показувати недостовірні результати. Тому, як специфічний

маркер *mecA/mecC*-опосередкованої резистентності до оксациліну (метициліну) застосовують цефокситін, згідно рекомендацій EUCAST [118].

Дослідження, проведені нами, показали аналогічні результати, оскільки за аналізом результатів експериментів з виявлення штамів з набутими механізмами резистентності – *mecA*-геном, встановлено, що серед 39 дослідних штамів *S. aureus*, виділених з патологічного матеріалу від тварин, зразків сировини, продукції тваринного походження та об'єктів довкілля, *MRSA* складав 53,8 % (21 штам), тобто більше половини від досліджених.

Індустріалізація тваринницької галузі сприяла безконтрольному та безсистемному застосуванню великої кількості антибіотиків, що призвело до виникнення інфекційних захворювань, спричинених умовно-патогенною мікрофлорою. Селекція *MRSA*-штамів зоонозного походження в згаданих умовах призвела до переваги у цій групі штамів з мультирезистентністю до антибіотиків, навіть останніх поколінь [62, 67, 69, 73, 82, 162, 203].

Упродовж останніх років сформувався нове вчення про екологічні закономірності існування мікроорганізмів, особливості їх взаємовідносин у зовнішньому середовищі, в організмі людей і тварин. Основне відкриття в цій галузі пов'язане з вивченням здатності мікроорганізмів формувати біоплівки на поверхнях біогенного та абіогенного походження, що є не менш важливим і одним з основних факторів, які забезпечують *S. aureus* можливість тривалого виживання в довкіллі і в організмі господаря. У складі біоплівок *S. aureus* у десятки разів посилює свою стійкість до дії біоцидів та імунної системи макроорганізму. Небезпечність утворення біоплівок *S. aureus* полягають у тому, що з часом матрична біоплівка дозріває та руйнується. За її руйнування проходить відривання конгломератів клітин, що призводить до поширення збудника у внутрішньому середовищі макроорганізму і генералізації інфекційного процесу [44, 129, 202, 154].

Крім того, стафілококи можуть виступати як самостійні ініціатори біоплівкового процесу, створюючи умови для виживання інших мікроорганізмів.

Є наукові дані про те, що біоплівки, сформовані *S. aureus*, утримують у своєму складі інші бактерії та грибки, в т. ч. *C. albicans* і *P. aeruginosa*. Наразі біоплівкоутворення *S. aureus* додало проблем щодо знешкодження збудника як у довкіллі, так і у внутрішньому середовищі макроорганізму [7, 185].

Мікробна біоплівка представлена безліччю мікроорганізмів одного чи кількох видів, бактеріальні клітини яких прикріплені одна до одної та занурені у позаклітинний матрикс – позаклітинну полімерну слизову речовину, яку вони самі виділяють [46, 48, 96, 164, 185, 207].

Установлено, що у процесі утворення біоплівок мікробні клітини спроможні змінювати свої властивості, які обумовлюються регуляцією експресії генів. Регуляція експресії генів допомагає бактеріальним клітинам контролювати власну структуру і функції. Установлено, що така експресія генів є субстратом для еволюційних змін, оскільки експресія, навіть, одного гена може впливати на функції інших генів в самому макроорганізмі [43].

Утворення біоплівок *S. aureus* з регуляцією експресії генів створює неабиякі ризики для тварин і людини у випадках зараження такими штамами стафілококів та їхнього поширення на території України.

Нині відомо, що не всі бактерії володіють властивістю формувати біоплівки. За науковими даними бактеріальні клітини *S. aureus* від 21,0 до 45,0 % неспроможні до біоплівкоутворення [59].

Така інформація спонукає до думки, що для вибору правильної тактики лікування стафілококових інфекцій у тварин і людини, слід шукати інші підходи, зокрема за мікробіологічної діагностики проводити не лише видову ідентифікацію збудника, але й вивчати схильність виділених ізолятів *S. aureus* до формування біоплівок з кількісною оцінкою інтенсивності біоплівкоутворення, визначати їхню чутливість до антибіотиків [7]. Результати наших досліджень збігаються з даними, одержаними іншими дослідниками, оскільки за виявлення здатності до біоплівкоутворення досліджувані полі- та мультиантибіотикорезистентні штами *S. aureus* показали високий рівень активності (85,7 %) до формування біоплівок, що за такої ситуації вказувало на

існуючу небезпеку для людини та тварин через низьку ефективність або відсутність їхньої дії на сформовані біоплівки *S. aureus* за терапевтичного застосування антибіотиків.

Особливу актуальність мають наукові дані, які засвідчують факт синтезу позаклітинного матриксу біоплівок з пригнічуючими дію фагоцитів крові макроорганізму структурами – ДНК-комплексами, полісахаридними міжклітинними адгезинами, альгінатом, полі-N-ацетилглюкозаміном. Такі структури в комплексі унеможливають проникнення нейтрофілів крові у глибокі шари біоплівки, що дає можливість бактеріальним клітинам *S. aureus* розмножуватися та знову дисоціювати у прилеглі тканини, формуючи пересвистуючи вогнища інфекції, які надалі знову викликають рецидиви інфекції [77, 89].

На сьогодні встановлено ряд факторів, відповідальних за такий важливий для клінічного застосування феномен, як резистентність біоплівок до антибіотиків. До них, зокрема, належать: інактивація антибіотиків позаклітинними полімерами чи ферментами; сповільнення метаболізму і, відповідно, зменшення швидкості росту мікроорганізмів в умовах лімітування поживних речовин у біоплівці, через що антибактеріальний препарат дифундує з біоплівки швидше, ніж встигає на неї подіяти; експресія можливих генів резистентності до антибіотиків; поява в біоплівці під дією антибіотиків мікроорганізмів-персистерів [55].

Одержані дані свідчать про актуальність проблеми біоплівкоутворення *S. aureus*, оскільки вони є особливо небезпечними для тварин і людини через неефективність антибіотикотерапії [60, 61, 173].

Аналіз літературних даних показав, що наразі закономірність формування набутої резистентності до антибіотиків, дезінфікуючих і антисептичних препаратів і засобів у мікроорганізмів і їхнє поширення вивчено недостатньо. Відомо, що антибіотики діють на мікроорганізми диференційовано, проникаючи всередину мікробної клітини і спричиняючи її загибель через зв'язування зі специфічною «мішенню». Це дозволяє антибіотику вибірково діяти і

пригнічувати бактеріальну популяцію. Дія антисептиків і дезінфікуючих засобів не є вибірковою, залежить від їхнього хімічного складу і направлена у кількох напрямках, наприклад викликаючи деструкцію клітинної стінки і цитоплазми; взаємодіючи з ферментами, які контролюють життєдіяльність мікробних клітин; руйнуючи рибосоми; порушуючи синтез білка і та ін., що призводить до загибелі бактерій. За таких обставин у окремих штамів або особин у штамх патогенних мікроорганізмів формується набута резистентність, що характеризується властивістю бактеріальних клітин зберігати свою життєдіяльність за дії на них антимікробних препаратів і засобів через формування нової генетичної інформації або ж зміни власних генів. Особливістю набутої резистентності є те, що вона не зникає і може бути повністю елімінована лише у випадку повної загибелі усіх бактеріальних клітин такої популяції [167].

Зважаючи на сучасні тенденції розвитку тваринницької галузі вимагають розробки та вдосконалення дезінфікуючих засобів з метою підвищення їхньої ефективності та біологічної безпеки для тварин і людини.

Для захисту тварин і людини від інфекційних збудників потрібні сучасні ефективні дезінфікуючі засоби, які володіють універсальними властивостями та здатні забезпечувати належний стан ветеринарно-санітарного благополуччя у тваринницьких господарствах України.

Засоби дезінфекції, які пропонує ринок та ті, що традиційно використовуються, не задовольняють сучасні вимоги сільськогосподарського виробництва. Нині значно змінився спектр антимікробної активності дезінфікуючих засобів, оскільки мікроорганізми пристосовуються до несприятливих умов зовнішнього середовища, адаптуються і, набуваючи механізмів захисту, проявляють високу стійкість до останніх. Тому, характер дії дезінфектантів має важливе значення, оскільки повинен забезпечувати знешкодження патогенних бактерій на території тваринницьких об'єктів. Окрім того, часто постає проблема екологічної безпеки. Саме тому, проведення дезінфекції не повинно супроводжуватися збільшенням викиду небезпечних хімічних речовин у довкілля [197].



За вибору дезінфектантів перевага повинна надаватися препаратам, багатокomпонентним за складом своєї рецептури та поліфункціональним за властивостями, за використання яких небезпека щодо формування стійкості у бактеріальних клітин збудників захворювань стає неможливою [167, 197, 202].

*S. aureus* є одним із найпоширеніших антибіотикорезистентних патогенів, який дуже швидко пристосовується до антибактеріальних препаратів. За результатами наших експериментальних досліджень виникли суперечливі результати з рекомендаціями виробників щодо застосування досліджуваних нами дезінфектантів за низьких концентрацій та при експозиції 30 хв. Наші результати досліджень показали, що польові ізоляти *MRSA* (*S. aureus* штами «18/52», «28/70» і «30/75») були стійкими до дезінфікуючого засобу № 1 за експозиції 30 хв у концентрації 0,25 %, що було підтверджено ростом культур на твердих і рідких середовищах. За 30 хв експозиції після дії дослідних дезінфектантів у найнижчих концентраціях – 0,25 % (засіб № 1) і 0,005 % (засоби № 2 і № 3).

За такої ситуації є необхідність створення і впровадження в Україні єдиної системи бактеріологічного моніторингу *S. aureus* з постійним поповненням і оновленням інформації щодо рівня резистентності виділених польових ізолятів золотистих стафілококів, особливо *MRSA*-штамів, до всіх антибіотиків, які пропонує сучасний ринок.

## ВИСНОВКИ

У дисертації висвітлено результати вивчення поширення збудника стафілококозів серед тварин, у продукції тваринного походження та в об'єктах довкілля на території України. Досліджено біологічні властивості *S. aureus* методом *MRSA*, виділених від тварин та з об'єктів ветеринарно-санітарного контролю. Встановлено здатність до утворення біоплівки виділених ізолятів *MRSA* та визначено ефективність застосування дезінфікуючих засобів.

1. Встановлено, що в Україні стафілококоз протягом досліджуваного періоду 2015–2019 рр. постійно реєструвався серед різних видів тварин. Відсоток виділення збудника коливався від 0,8 до 18,3 %. Серед коней збудника стафілококозу не виділяли. Серед великої рогатої худоби та дрібної рогатої худоби у 2019 р. *S. aureus* було виділено відповідно у 2,4 та 2,8 рази більше в порівнянні з 2015 р. Серед птиці виділення *S. aureus* зросло від 0,3 до 1,6 %. Серед хутрових звірів, у 2019 р. позитивних результатів було в 5,3 рази більше в порівнянні з 2015 р. Аналіз виділення *S. aureus* від свиней свідчив про тенденцію до зменшення поширеності стафілококозів, про що свідчить відсутність виділення *S. aureus* у 2019 р.

2. За результатами бактеріологічних досліджень за період 2015–2019 рр. продукція тваринного походження була контамінована *S. aureus* у 0,2 % випадках. Виділення збудника мало тенденцію до зниження у 2019 р. в порівнянні з 2015 р., зокрема в яловичині – від 3,6 до 2,0 %, у фарші м'ясному – від 10,3 до 0,8 %, у фарші з м'яса птиці – від 5,4 до 1,6 %, у ковбасах – від 0,2 до 0,1 %, у яйцепродуктах – від 4,8 до 0,2 %, у кисломолочній продукції – від 0,1 до 0,02 %, від кількості дослідженої продукції, що сприяло поліпшенню ситуації щодо безпечності харчових продуктів в 2019 р. в порівнянні з 2015 р.

3. Аналіз результатів бактеріологічних досліджень проб, відібраних з об'єктів довкілля щодо виявлення *S. aureus* упродовж дослідного періоду 2015–2019 рр. показав, що *S. aureus* виділявся в межах від 0,04 до 0,3 %. Під час

виконання планових заходів державного нагляду Держпродспоживслужби у 2019 р. було виявлено найбільшу кількість випадків щодо контамінації *S. aureus* у закладах громадського здоров'я – 1,3 %. У дитячих закладах у цьому ж році невідповідності по *S. aureus* було зареєстровано у 0,8 % випадках, у лікувальних закладах цей показник склав 0,6 %.

4. Всі 39 досліджуваних ізолятів *S. aureus* мають характерні: морфологічні й тинкторіальні відповідності, особливості культурального росту на простих та диференційно-діагностичних середовищах, ферментативну здатність до розщеплення глюкози, лактози, сахарози й маніту з утворенням кислоти без газу та відсутність ферментів до розщеплення мальтози; позитивні тести на продукцію каталази, лецитинази, коагулази та наявність  $\alpha$ -токсину ( $\alpha$ -гемолізину), який забезпечував  $\beta$ -гемоліз на кров'яному агарі.

5. Рівень антибіотикорезистентних штамів *S. aureus* серед 39 досліджуваних складає 82,1 %. Стійкість *S. aureus* до антибіотиків третього й четвертого поколінь складає 15,8 % (тобраміцин), 11,8 % (ванкоміцин) та 7,9 % (лінезолід). Чутливість до антибіотиків виявлено в 17,9 % штамів *S. aureus* серед 39 досліджених.

6. Встановлено, що питома частка штамів *MRSA* складає 53,8 % серед 39 досліджуваних штамів *S. aureus*, що свідчить про високий рівень їхньої поширеності у харчовому ланцюзі.

7. Штами *MRSA* володіють властивістю утворювати біоплівки з різним рівнем активності їх формування, що підтверджено 57,1 % сформованих біоплівок із високим рівнем оптичної щільності та 28,6 % з середнім рівнем.

8. 42,9 % досліджуваних штамів *MRSA* стійкі до дезінфікуючого засобу № 1 (в 100 мл препарату: бензилконію хлорид – 5,0 г; глутаровий альдегід – 10,0 г; формальдегід – 14,8 г) у концентрації 0,25 % за експозиції 30 хв та 14,3 % штамів стійкі до дезінфікуючих розчинів № 2 (в 1 кг препарату: гліоксалевий альдегід – 5,0 г; глутаровий альдегід – 115,0 г; бензальконій хлорид – 240,0 г; додецилдиметиламоній хлорид – 5,0 г) і № 3 (глутаровий альдегід – 8 %; гліоксалевий альдегід – 8 %; четвертинні амонієві сполуки – 20 %;

полігексаметилен гуанідин гідрохлорид – 1 %) у концентрації 0,05 % за експозиції 30 хв.

9. Аналіз результатів проведених досліджень підтверджує необхідність створення і впровадження в Україні єдиної системи бактеріологічного моніторингу *S. aureus* із постійним поповненням інформації, зібраної на території держави та інтерпретації результатів досліджень для глобального вирішення проблеми з контрольованого застосування антибіотиків.

## ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

Для практики державних та виробничих лабораторій, а також для біотехнологічного виробництва запропоновано:

1. Штам *MRSA* «22-22» для внутрішньо лабораторного контролю якості мікробіологічних досліджень, розроблення діагностикумів та використання в якості тест-культури (позитивного контролю) (Свідоцтво про первинне депонування штаму мікроорганізму в Депозитарії Державного науково-дослідного контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів від 18.02.2019 р.) (Додаток Г).

2. «Методичні вказівки щодо визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» (затверджено науково-методичною радою Державної фітосанітарної служби України, протокол № 1 від 25 грудня 2014 р.) (Додаток Д).

3. Методичні вказівки «Сучасні методи визначення чутливості та виявлення механізмів резистентності *S. aureus* до антибактеріальних препаратів» (затверджено Вченою радою Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, протокол № 1 від 27.02.2019 р.) (Додаток Е).

4. «Методичні рекомендації з визначення бактерицидної активності дезінфікуючих засобів на бактеріях у біоплівках» (затверджено Вченою радою Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, протокол № 1 від 24.02.2020 р.).

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Авилов, С. Золотистые и смертоносные. *Вокруг света*. 2007. URL: <http://www.vokrugsveta.ru/telegraph/pulse/279/>.
2. Акатов, А. К., Devriese, L. A. Современные представления о систематике стафилококков. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунол.* 1980. № 5. С. 40–45.
3. Акатов, А. К., Зуева, В. С. Стафилококки. Москва : Медицина, 1983. 240 с.
4. Атаманчук, О. В. Частота виділення культур сальмонел і золотистого стафілококу за результатами аналізу звітів ветеринарної та гуманної медицини Одеської області за 2005–2008 роки. Повідомлення 1. Результати аналізу звітності ветеринарної медицини. *Вісн. Полтав. держ. аграр. акад.* 2011. № 2. С. 187–190. URL: <https://www.pdaa.edu.ua/sites/default/files/visnyk/2011/02/187.pdf>.
5. Білоненко, Г. А. та ін. Епідеміологічний моніторинг у пологових будинках як підстава для вибору антибіотиків при лактаційних маститах. *Вестн. гигиены и эпидемиологии*. 2001. Т. 5, № 2. С. 227–229.
6. Ваганова, А. Н. и др. Устойчивость к метициллину *Staphylococcus aureus* зоонозного происхождения — новая угроза здоровью населения. *Журн. инфектологии*. 2019. Т. 11, № 4. С. 122–133. DOI: [10.22625/2072-6732-2019-11-4-122-133](https://doi.org/10.22625/2072-6732-2019-11-4-122-133).
7. Винник, Ю. С. и др. Значение пленкообразующей способности культур стафилококков в выборе дренажного полимера и местных антисептиков при инфицированном панкреонекрозе. *Вестн. эксперим. и клин. хирургии*. 2011. Т. 4, № 4. С. 666–670. eLibraryID: [17636822](https://elibrary.ru/17636822).
8. Вішован, Ю. Ю., Ушкалов, В. О. Поширення стафілококів і захворювань, зумовлених ними. *Вісн. аграр. науки*. 2018. № 2. С. 36–42. DOI: [10.31073/agrovisnyk201802-06](https://doi.org/10.31073/agrovisnyk201802-06).

9. Волобуєва, Л. М. та ін. Видовий склад та біологічні властивості стафілококів ендогенного походження, що є збудниками піодермій. *Укр. мед. альм.* 2013. Т. 16, № 2. С. 16–18. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Uma\\_2013\\_16\\_2\\_6](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Uma_2013_16_2_6).
10. Выгодчиков, Г. В. Стафилококковые инфекции (микробиология, иммунология и эпидемиология). Москва : Медгиз, 1963. 272 с.
11. Выгодчиков, Г. В. Стафилококковые инфекции. *Руководство по микробиологической диагностике инфекционных болезней* / под общ. ред. К. И. Матвеева. 2-е изд, перераб. и доп. Москва : Медицина, 1973. С. 350–356.
12. Гадзевич, Д. В. та ін. Ефективність вакцинопрофілактики стрептококових та стафілококових захворювань у скотарських господарствах. *Вет. медицина.* 2013. Вип. 97. С. 162–164. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/vetmed\\_2013\\_97\\_68](http://nbuv.gov.ua/UJRN/vetmed_2013_97_68).
13. Гаркавенко, Т. О., Горбатюк, О. І., Козицька, Т. Г., Андріяшук, В. О., Кухтин, М. Д., Коваленко, В. Л., Мусієць, І. В., Ординська, Д. О. Вивчення здатності до формування біоплівки польовими ізолятами *S. aureus*, виділеними із сировини і продукції тваринного походження. *Вет. біотехнологія* : бюл. 2020. Вип. 37. С. 20–30. DOI: [10.31073/vet\\_biotech37-02](https://doi.org/10.31073/vet_biotech37-02).
14. Гаркавенко, Т. О., Козицька, Т. Г., Горбатюк, О. І., Андріяшук, В. О., Азиркіна, І. М., Дибкова, С. М., Гаркавенко, В. М., Мех, Н. В. Сучасні методи визначення чутливості та виявлення механізмів резистентності *Staphylococcus aureus* до антибактеріальних препаратів : метод. вказівки : затв. Вчен. радою ДНДІЛДВСЕ (протокол № 1 від 27.02.2019 р.). Київ, 2019. 54 с.
15. Гаркавенко, Т. О., Козицька, Т. Г., Горбатюк, О. І., Коваленко, В. Л. Вивчення стійкості антибіотикорезистентних штамів *S. aureus* до дезінфікуючих засобів з різними діючими речовинами. *Наук.-техн. бюл. Держ. наук.-досл. контрол. ін-ту вет. препаратів та корм. добавок і Ін-ту біології тварин.* 2019. Вип. 20, № 2. С. 183–193. DOI: [10.36359/scivp.2019-20-2.24](https://doi.org/10.36359/scivp.2019-20-2.24).

16. Гаркавенко, Т. О., Козицька, Т. Г., Ординська, Д. О., Меженська, Н. А., Семенчукова, І. В. Метицилінрезистентний стафілокок (MRSA) — стан проблеми у світі та в Україні. *Вет. біотехнологія* : бюл. 2015. Вип. 26. С. 41–51. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/vbtb\\_2015\\_26\\_7](http://nbuv.gov.ua/UJRN/vbtb_2015_26_7).

17. Гаркавенко, Т. О., Неволько, О. М., Козицька, Т. Г., Ординська, Д. О., Меженська, Н. А. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів : метод. вказівки : затв. Наук.-метод. радою Держветфітослужби України (протокол № 1 від 25.12.2014 р.). Київ, 2019. 79 с.

18. Горбатюк, О. І., Гаркавенко, Т. О., Козицька, Т. Г., Ординська, Д. О., Мусієць, І. В., Щур, Н. В. Бактеріологічний моніторинг стафілококової інфекції у свиней, сировині і продукції із свинини на території України та біологічні ризики для людини. *Наук.-техн. бюл. Держ. наук.-досл. контрол. ін-ту вет. препаратів та корм. добавок і Ін-ту біології тварин*. 2019. Вип. 20, № 2. С. 194–200. DOI: [10.36359/scivp.2019-20-2.25](https://doi.org/10.36359/scivp.2019-20-2.25).

19. ГОСТ EN 12353:2016 (EN 12353:2013, IDT). Средства химические дезинфицирующие и антисептические. Консервация тест-организмов, используемых для определения бактерицидной (включая *Legionella*), микобактерицидной, слорицидной, фунгицидной и вируцидной (включая бактериофаги) активности.

20. Демиховская, Е. В. MRSA — знаменитый и неизвестный метициллин-резистентный *S. aureus*: механизмы резистентности, лабораторная диагностика, клиника и эпидемиология. *Болезни и антибиотики*. 2012. № 2. С. 40–47. eLibraryID: [19018059](https://elibrary.ru/19018059).

21. ДСП 4.4.5.078-2001. Мікробіологічні нормативи та методи контролю продукції громадського харчування : затв. пост. гол. держ. сан. лікаря України № 139 від 07.11.2001 р. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0139488-01>.



22. ДСТУ 6888-1:2003 (ISO 6888-1:1999, IDT). Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Горизонтальний метод підрахування коагулазопозитивних стафілококів (*Staphylococcus aureus* та інших видів). Частина 1. Метод з використанням агарового середовища Беард-Паркера.

23. ДСТУ 6888-2:2003 (ISO 6888-2:1999, IDT). Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Горизонтальний метод підрахування коагулазопозитивних стафілококів (*Staphylococcus aureus* та інших видів). Частина 2. Метод з використанням фібриногену плазми крові кролика для агарового середовища.

24. ДСТУ EN 1040:2004 (EN 1040:1997, IDT). Засоби хімічні дезінфекційні та антисептичні. Основна бактерицидна активність. Частина 1. Метод випробовування та вимоги (стадія 1).

25. ДСТУ EN 1656:2019 (EN 1656:2009, IDT). Засоби хімічні дезінфікувальні та антисептики. Кількісний суспензійний метод оцінювання для визначення бактерицидної активності хімічних дезінфікувальних засобів і антисептиків, використовуваних у ветеринарній галузі. Метод випробування та вимоги (етап 2, крок 1).

26. Ефимова, Т. В. и др. Эпидемический процесс инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, вызванных метициллинрезистентными стафилококками: реальность и перспективы. *Мед. альм.* 2014. № 4. С. 22–27. eLibraryID: [22475823](#).

27. Івченко, В.М. та ін. Методичні рекомендації щодо мікробіологічної діагностики збудників стафілококових інфекцій. Біла Церква, 1999. 15 с.

28. Козицька, Т. Г., Гаркавенко, Т. О. Аналіз результатів дослідження щодо наявності метицилінрезистентного стафілокока (MRSA) в харчових продуктах тваринного походження. *Наук. вісн. Львів. нац. ун-ту вет. медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького. Сер. «Вет. науки»*. 2018. Т. 20, № 87. С. 112–115. DOI: [10.15421/nvlvet8722](#).

29. Краткий определитель бактерий Берги / Под. ред. Дж. Хоулта. Москва : Мир, 1980. 496 с.

30. Кухтин, М. Т., Коваленко, В. Л., Гаркавенко, Т. О., Горбатюк, О. І., Козицька, Т. Г., Болтик, Н. П., Климик, В. Т., Рущинська, Т. М., Горюк, Ю. В., Салата, В. З. Методичні рекомендації з визначення бактерицидної активності дезінфікуючих засобів на бактеріях у біоплівках : затв. Вчен. радою ДНДІЛДВСЕ (протокол № 1 від 24.02.2020 р.). Київ, 2020. 25 с.

31. Кучерук, М. Д. та ін. Антибіотикорезистентність польових штамів мікроорганізмів. *Біоресурси і природокористування*. 2018. Т. 10, № 5–6. С. 205–217. DOI: [10.31548/bio2018.05.026](https://doi.org/10.31548/bio2018.05.026).

32. Кучма, І. Ю. Біологічна характеристика бактерій роду *Staphylococcus*, вегетуючих у біотопі дихальних шляхів дітей, хворих на пневмонію. *Інфекц. хвороби*. 2012. № 3. С. 55–58. URL: <https://ojs.tdmu.edu.ua/index.php/inf-patol/article/view/505>.

33. Лабораторная диагностика стафилококковых инфекций : метод. реком. Госагропром МССР. 1989.

34. Макушенко, С. Н. Сучасний стан проблем оксацилінрезистентності стафілококів. *Профілакт. медицина*. 2011. № 1. С. 53–57. URL: [http://nbuv.gov.ua/j-pdf/Pmed\\_2011\\_1\\_14.pdf](http://nbuv.gov.ua/j-pdf/Pmed_2011_1_14.pdf)

35. Меенкер, Д., Блаха, Т. О риске передачи человеку стафилококковой инфекции от свиней. *Perfect Agriculture*. 2010. URL: <http://perfectagro.ru>.

36. Методические рекомендации по лабораторной диагностике стафилококковых инфекций. 1987.

37. Методические указания по диагностике, лечению и профилактике маститов у коров : утв. ГУВ Минсельхоза СССР 5.09.1972 с изм. и доп. от 18.10.1977.

38. Методичні вказівки щодо санітарно-мікробіологічного контролю об'єктів виробництва та реалізації, які підлягають ветеринарному нагляду : затв. Наук.-метод. радою Держ. вет. та фітосан. служби України (протокол № 1 від 19.12.2013 р.).

39. Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности : Р 4.2.2643-10. Москва : Фед. центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. 615 с. URL: [https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT\\_ID=5102](https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=5102).

40. Мордвинова, Н. Б. и др. Распространение носительства стафилококков среди рабочих завода антибиотиков. *Микробиология*. 1971. № 3. С. 144–146.

41. Нечаева, Э. А. Сравнительная характеристика стафилококков, выделенных от людей и животных. *Вопросы мед. и сан. микробиологии*. Ленинград, 1965. С. 35–37.

42. Ойвин, И. А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований. *Патол. физиология и эксперим. терапия*. 1960. № 4. С. 396–401. eLibraryID: [26356780](#).

43. Патрушев, Л. И. Экспрессия генов. Москва : Наука, 2000. 528 с.

44. Педан, В. А. Бактерії роду *Staphylococcus* — збудники стафілококозу перепелів. *Вісн. Сум. нац. аграр. ун-ту*. 2004. Вип. 2. С. 112–114.

45. Петерсон, К. А. и др. О гемолитических свойствах стафилококков, выделенных из молока коров. *Тр. Эстон. с.-х. акад.* Тарту, 1982. Т. 136. С. 17–22.

46. Покришко, О. В., Климнюк, С. І. Носійство золотистих стафілококів серед різних груп населення. *Матеріали всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Інфекційний контроль та антимікробна резистентність у галузі громадського здоров'я і ветеринарії» (Київ, 1 черв. 2017 р.)*. Київ, 2017. С. 70–71. URL: [http://www.infectioncontrol.org.ua/wp-content/uploads/2017/06/Матеріали\\_конф.1.0620.17.pdf](http://www.infectioncontrol.org.ua/wp-content/uploads/2017/06/Матеріали_конф.1.0620.17.pdf).

47. Пономаренко, А. М., Салманов, А. Г. Епідеміологія антибіотикорезистентності нозокоміальних штамів *Staphylococcus aureus* в Україні: результати багатоцентрових досліджень. *Наук. журн. МОЗ України*. 2013. № 1. С. 60–68. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/njmoz\\_2013\\_1\(2\)\\_8](http://nbuv.gov.ua/UJRN/njmoz_2013_1(2)_8).

48. Руководство по медицинской микробиологии / под ред. А. С. Лабинской и др. Москва : Бином, 2015. Кн. 2 : Частная медицинская микробиология и этиологическая диагностика инфекций. 1152 с.

49. Салманов, А. Г., Марієвський, В. Ф. Антибіотикорезистентність штамів *S. aureus*, виділених від хірургічних хворих, які перебували у відділеннях реанімації та інтенсивної терапії хірургічних стаціонарів України в 2008 році. *Україна. Здоров'я нації*. 2011. № 1. С. 83–88. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Uzn\\_2011\\_1\\_17](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Uzn_2011_1_17).

50. Салманов, А. Г., Налапко, Ю. І. Аналіз етіології та антибіотикорезистентності основних збудників внутрішньолікарняних інфекцій у відділеннях інтенсивної терапії м. Києва. *Укр. журн. екстрем. медицини ім. Г. О. Можая*. 2009. Т. 10, № 1. С. 94–100. eLibraryID: [23306309](https://elibrary.ru/23306309).

51. Салманов, А. Г. та ін. Антибіотикорезистентність клінічних штамів *Staphylococcus aureus* у хірургічних стаціонарах України в 2010 році. *Хірургія України*. 2011. № 3. С. 26–31.

52. Салманов, А. Г. та ін. Антибіотикорезистентність нозокоміальних штамів *Staphylococcus aureus* в хірургічних стаціонарах України в 2008 р. *Укр. журн. клін. та лаб. медицини*. 2010. Т. 5, № 4. С. 61–66. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Ujkl\\_2010\\_5\\_4\\_12](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Ujkl_2010_5_4_12).

53. Световидова, В. М. О лабораторной диагностике стафилококковых инфекций. *Лаб. дело*. 1966. № 1. С. 36–40.

54. Страчунский, Л. С.  $\beta$ -лактамазы расширенного спектра — быстро растущая и плохо осознаваемая угроза. *Клин. микробиология и антимикроб. химиотерапия*. 2005. Т 7, № 1. С. 92–96. URL: <https://cmac-journal.ru/publication/2005/1/cmac-2005-t07-n1-p092/cmac-2005-t07-n1-p092.pdf>.

55. Тодосійчук, Т. С. та ін. Підвищення стійкості мікробних патогенів як фактор розробки нових антисептиків. *Наук. вісті Нац. техн. ун-ту України «Київ. політехн. ін-т»*. 2011. № 3. С. 90–97. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/NVKPI\\_2011\\_3\\_16](http://nbuv.gov.ua/UJRN/NVKPI_2011_3_16).

56. ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии». Инструкция по применению набора реагентов для выявления и количественного определения ДНК метициллин-чувствительного и метициллин-резистентного *Staphylococcus aureus*, метициллин-резистентных коагулазо-негативных *Staphylococcus* spp. в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс MRSA-скрин-титр-FL». Москва, 2012. URL: <https://www.amplisens.ru/upload/iblock/4d5/MRSA-skrin-titr-FL.pdf>.

57. Фещенко, Ю. И., Дзюблик, А. Я. Рациональная антибиотикотерапия больных с инфекциями нижних дыхательных путей. *Укр. пульмонолог. журн.* 2009. № 4. С. 5–8. URL: <http://www.ifp.kiev.ua/doc/journals/upj/09/pdf09-4/5.pdf>.

58. Фрич, Н. І. Аналіз чутливості до антибіотиків клінічних штамів мікроорганізмів, виділених в хірургічних та урологічних стаціонарах м. Івано-Франківська. *Аннали Мечников. ін-ту*. 2011. № 2. С. 39–47. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/ami\\_2011\\_2\\_9](http://nbuv.gov.ua/UJRN/ami_2011_2_9).

59. Чеботарь, И. В. Биопленки *Staphylococcus aureus*: структурно-функциональные характеристики и взаимоотношение с нейтрофилами : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Моск. науч.-исслед. ин-т эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского. Москва, 2013. 44 с. URL: <https://search.rsl.ru/ru/record/01005542339>.

60. Чеботарь, И. В. и др. Антибиотикорезистентность биоплёночных бактерий. *Клин. микробиология и антимикроб. химиотерапия*. 2012. Т 14, № 1. С. 51–58. URL: <https://cmac-journal.ru/publication/2012/1/cmac-2012-t14-n1-p051/cmac-2012-t14-n1-p051.pdf>.

61. Чеботарь, И. В. и др. Современные технологии исследования бактериальных биоплёнок. *Соврем. технологии в медицине*. 2013. Т. 5, № 1. С. 14–20. eLibraryID: [19081103](#).

62. Шапіро, А. В. та ін. Мікробіологічний моніторинг у системі нагляду за опортуністичними та госпітальними інфекціями. *Вісн. Він. держ. мед. ун-ту*. 2002. Т. 6, № 2. С. 386.

63. Шатохин, Н. Г. и др. Экология и биология патогенных стафилококков. *Морфология, физиология с.-х. животных*. Самарканд, 1979. Т. 41. С. 25–36.

64. Abubakar, U., Sulaiman, S. A. S. Prevalence, trend and antimicrobial susceptibility of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in Nigeria: a systematic review. *J. Infect. Public Health*. 2018. Vol. 11, No. 6. P. 763–770. DOI: [10.1016/j.jiph.2018.05.013](#).

65. Acheson, D. Iatrogenic high-risk populations and foodborne disease. *Infect. Dis. Clin. North Am*. 2013. Vol. 27, No. 3. P. 617–629. DOI: [10.1016/j.idc.2013.05.008](#).

66. Adhikari, R. P., Novick, R. P. Regulatory organization of the staphylococcal *sae* locus. *Microbiology*. 2008. Vol. 154, No. 3. P. 949–959. DOI: [10.1099/mic.0.2007/012245-0](#).

67. Agabou, A. et al. Emergence of nasal carriage of ST80 and ST152 PVL+ *Staphylococcus aureus* isolates from livestock in Algeria. *Toxins*. 2017. Vol. 9, No. 10. P. 303. DOI: [10.3390/toxins9100303](#).

68. Al-Ashmawy, M. A. et al. Prevalence, molecular characterization, and antimicrobial susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from milk and dairy products. *Foodborne Pathog. Dis*. 2016. Vol. 13, No. 3. P. 156–162. DOI: [10.1089/fpd.2015.2038](#).

69. Antoci, E. et al. Prevalence and molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among subjects working on bovine dairy farms. *Infez. Med*. 2013. Vol. 21, No. 2. P. 125–129. PMID: [23774976](#).

70. Antonanzas, F. et al. Economic features of antibiotic resistance: the case of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Pharmacoeconomics*. 2015. Vol. 33, No. 4. P. 285–325. DOI: [10.1007/s40273-014-0242-y](https://doi.org/10.1007/s40273-014-0242-y).

71. Araj, G. F. et al. Discrepancies between *mecA* PCR and conventional tests used for detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 1999. Vol. 11, No. 1. P. 47–52. DOI: [10.1016/S0924-8579\(98\)00047-8](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(98)00047-8).

72. Arfatahery, N. et al. Characterization of toxic genes and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates in fishery products in Iran. *Sci. Rep.* 2016. Vol. 6. P. 34216. DOI: [10.1038/srep34216](https://doi.org/10.1038/srep34216).

73. Argudín, M. A. et al. Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Toxins*. 2010. Vol. 2, No. 7. P. 1751–1773. DOI: [10.3390/toxins2071751](https://doi.org/10.3390/toxins2071751).

74. Asao, T. et al. An extensive outbreak of staphylococcal food poisoning due to low-fat milk in Japan: estimation of enterotoxin A in the incriminated milk and powdered skim milk. *Epidemiol. Infect.* 2003. Vol. 130, No. 1. P. 33–40. DOI: [10.1017/s0950268802007951](https://doi.org/10.1017/s0950268802007951).

75. Baba, T. et al. Genome and virulence determinants of high virulence community-acquired MRSA. *Lancet*. 2002. Vol. 359, No. 9320. P. 1819–1827. DOI: [10.1016/s0140-6736\(02\)08713-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(02)08713-5).

76. Bae, T. et al. Prophages of *Staphylococcus aureus* Newman and their contribution to virulence. *Mol. Microbiol.* 2006. Vol. 62, No. 4. P. 1035–1047. DOI: [10.1111/j.1365-2958.2006.05441.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05441.x).

77. Balaban, N. Q. et al. Bacterial persistence as a phenotypic switch. *Science*. 2004. Vol. 305, No. 5690. P. 1622–1625. DOI: [10.1126/science.1099390](https://doi.org/10.1126/science.1099390).

78. Bannoehr, J. et al. Population genetic structure of the *Staphylococcus intermedius* group: Insights into *agr* diversification and the emergence of methicillin-resistant strains. *J. Bacteriol.* 2007. Vol. 189, No. 23. P. 8685–8692. DOI: [10.1128/jb.01150-07](https://doi.org/10.1128/jb.01150-07).

79. Bassetti, M. et al. Risk factors and mortality of healthcare-associated and community-acquired *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012. Vol. 18, No. 9. P. 862–869. DOI: [10.1111/j.1469-0691.2011.03679.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03679.x).

80. Bhavnani, S. M. et al. Outcomes evaluation of patients with ESBL- and non-ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species as defined by CLSI reference methods: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2006. Vol. 54, No. 3. P. 231–236. DOI: [10.1016/j.diagmicrobio.2005.09.011](https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2005.09.011).

81. Bignardi, G. E. et al. Detection of the *mec-A* gene and phenotypic detection of resistance in *Staphylococcus aureus* isolates with borderline or low-level methicillin resistance. *J. Antimicrob. Chemother.* 1996. Vol. 37, No. 1. P. 53–63. DOI: [10.1093/jac/37.1.53](https://doi.org/10.1093/jac/37.1.53).

82. Bos, M. E. H. et al. Livestock-associated MRSA prevalence in veal calf production is associated with farm hygiene, use of antimicrobials, and age of the calves. *Prev. Vet. Med.* 2012. Vol. 105, No. 1–2. P. 155–159. DOI: [10.1016/j.prevetmed.2012.01.002](https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.01.002).

83. Boyce, J. M., Havill, N. L. Nosocomial antibiotic-associated diarrhea associated with enterotoxin-producing strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Am. J. Gastroenterol.* 2005. Vol. 100, No. 8. P. 1828–1834. DOI: [10.1111/j.1572-0241.2005.41510.x](https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2005.41510.x).

84. Brown, S. D., Rybak, M. J. Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* and *Haemophilus influenzae* collected from patients across the USA, in 2001–2002, as part of the PROTEKT US study. *J. Antimicrob. Chemother.* 2004. Vol. 54, suppl. 1. P. i7–i15. DOI: [10.1093/jac/dkh313](https://doi.org/10.1093/jac/dkh313).

85. Carrel, M. et al. USA300 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, United States, 2000–2013. *Emerg. Infect. Dis.* 2015. Vol. 21, No. 11. P. 1973–1980. DOI: [10.3201/eid2111.150452](https://doi.org/10.3201/eid2111.150452).



86. Cassat, J. et al. Transcriptional profiling of a *Staphylococcus aureus* clinical isolate and its isogenic *agr* and *sarA* mutants reveals global differences in comparison to the laboratory strain RN6390. *Microbiology*. 2006. Vol. 152, No. 10. P. 3075–3090. DOI: [10.1099/mic.0.29033-0](https://doi.org/10.1099/mic.0.29033-0).

87. Chang, V. S. et al. Antibiotic resistance in the treatment of *Staphylococcus aureus* keratitis: a 20-year review. *Cornea*. 2015. Vol. 34, No. 6. P. 698–703. DOI: [10.1097/ico.0000000000000431](https://doi.org/10.1097/ico.0000000000000431).

88. Charlebois, E. D. et al. Population-based community prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the urban poor of San Francisco. *Clin. Infect. Dis.* 2002. Vol. 34, No. 4. P. 425–433. DOI: [10.1086/338069](https://doi.org/10.1086/338069).

89. Chen, L., Wen, Y.-M. The role of bacterial biofilm in persistent infections and control strategies. *Int. J. Oral. Sci.* 2011. Vol. 3, No. 2. P. 66–73. DOI: [10.4248/ijos11022](https://doi.org/10.4248/ijos11022).

90. Choi, J.-Y. et al. *Acinetobacter* species isolates from a range of environments: species survey and observations of antimicrobial resistance. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2012. Vol. 74, No. 2. P. 177–180. DOI: [10.1016/j.diagmicrobio.2012.06.023](https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.06.023).

91. Climo, M. W. Decreasing MRSA infections: an end met by unclear means. *JAMA*. 2009. Vol. 301, No. 7. P. 772–773. DOI: [10.1001/jama.2009.149](https://doi.org/10.1001/jama.2009.149).

92. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). CLS Document M100-S20. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twentieth Informational Supplement. Wayne, PE, USA : CLSI, 2010. ISBN: 1-56238-716-2.

93. Cosgrove, S. E. et al. Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a meta-analysis. *Clin. Infect. Dis.* 2003. Vol. 36, No. 1. P. 53–59. DOI: [10.1086/345476](https://doi.org/10.1086/345476).

94. Cox, H. U. Comparison of coagulase test methods for identification of *Staphylococcus intermedius* from dogs. *Am. J. Vet. Res.* 1985. Vol. 46, No. 7. P. 1522–1525. PMID: [3927803](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3927803/).

95. Cuny, C. et al. Livestock-associated MRSA: the impact on humans. *Antibiotics*. 2015. Vol. 4, No. 4. P. 521–543. DOI: [10.3390/antibiotics4040521](https://doi.org/10.3390/antibiotics4040521).
96. Daka, D. et al. Antibiotic-resistance *Staphylococcus aureus* isolated from cow's milk in the Hawassa area, South Ethiopia. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 2012. Vol. 11. P. 26. DOI: [10.1186/1476-0711-11-26](https://doi.org/10.1186/1476-0711-11-26).
97. Deiters, C. et al. Are cases of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clonal complex (CC) 398 among humans still livestock-associated? *Int. J. Med. Microbiol.* 2015. Vol. 305, No. . P. 110–113. DOI: [10.1016/j.ijmm.2014.11.007](https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2014.11.007).
98. Devriese, L. A. Isolation and identification of *Staphylococcus hyicus*. *Am. J. Vet. Res.* 1977. Vol. 38, No. 6. P. 787–792. PMID: [879576](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/879576/).
99. Devriese, L. A. et al. *Staphylococcus gallinarum* and *Staphylococcus caprae*, two new species from animals. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1983. Vol. 33, No. 3. P. 480–486. DOI: [10.1099/00207713-33-3-480](https://doi.org/10.1099/00207713-33-3-480).
100. Devriese, L. A. et al. *Staphylococcus hyicus* (Sompolinsky 1953) comb. nov. and *Staphylococcus hyicus* subsp. *chromogenes* subsp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1978. Vol. 28, No. 4. P. 482–490. DOI: [10.1099/00207713-28-4-482](https://doi.org/10.1099/00207713-28-4-482).
101. Diep, B. A. et al. Complete genome sequence of USA300, an epidemic clone of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet*. 2006. Vol. 367, No. 9512. P. 731–739. DOI: [10.1016/s0140-6736\(06\)68231-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(06)68231-7).
102. Dinges, M. M. et al. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin. Microbiol. Rev.* 2000. Vol. 13, No. 1. P. 16–34. DOI: [10.1128/cmr.13.1.16-34.2000](https://doi.org/10.1128/cmr.13.1.16-34.2000).
103. Directive 2001/82/EC of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community code relating to veterinary medicinal products. *OJEU*. 2004. Vol. L311. P. 1–66. URL: <http://data.europa.eu/eli/dir/2001/82/oj>.
104. Doern, G. V., Brown, S. D. Antimicrobial susceptibility among community-acquired respiratory tract pathogens in the USA: data from PROTEKT US 2000-01. *J. Infect.* 2004. Vol. 48, No. 1. P. 56–65. DOI: [10.1016/s0163-4453\(03\)00123-3](https://doi.org/10.1016/s0163-4453(03)00123-3).

105. Doyle, M. E. et al. FRI Food Safety Reviews: White paper on sources of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and other methicillin-resistant staphylococci: Implications for our food supply? Madison : Food Research Institute, University of Wisconsin, 2011. 25 pp. URL: [https://fri.wisc.edu/files/Briefs\\_File/FRI\\_Brief\\_MRSA\\_FoodSupply\\_Feb2011.pdf](https://fri.wisc.edu/files/Briefs_File/FRI_Brief_MRSA_FoodSupply_Feb2011.pdf).

106. Duthie, E. S., Lorenz, L. L. Staphylococcal coagulase; mode of action and antigenicity. *J. Gen. Microbiol.* 1952. Vol. 6, No. 1–2. P. 95–107. DOI: [10.1099/00221287-6-1-2-95](https://doi.org/10.1099/00221287-6-1-2-95).

107. Dyke, K. G. Penicillinase production and intrinsic resistance to penicillins in methicillin-resistant cultures of *Staphylococcus aureus*. *J. Med. Microbiol.* 1969. Vol. 2, No. 3. P. 261–278. DOI: [10.1099/00222615-2-3-261](https://doi.org/10.1099/00222615-2-3-261).

108. EFSA Panel on Biological Hazards. Joint Opinion on antimicrobial resistance (AMR) focused on zoonotic infections. *EFSA J.* 2009. Vol. 7, No. 11. P. 1372. DOI: [10.2903/j.efsa.2009.1372](https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1372).

109. Emmett, M., Kloos, W. E. The nature of arginine auxotrophy in cutaneous populations of staphylococci. *J. Gen. Microbiol.* 1979. Vol. 110, No. 2. P. 305–314. DOI: [10.1099/00221287-110-2-305](https://doi.org/10.1099/00221287-110-2-305).

110. Enright, M. C. et al. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol.* 2000. Vol. 38, No. 3. P. 1008–1015. DOI: [10.1128/jcm.38.3.1008-1015.2000](https://doi.org/10.1128/jcm.38.3.1008-1015.2000).

111. Enright, M. C. et al. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002. Vol. 99, No. 11. P. 7687–7692. DOI: [10.1073/pnas.122108599](https://doi.org/10.1073/pnas.122108599).

112. European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS). Annual report 2007. Bilthoven, The Netherlands : EARSS, 2008. 156 pp. URL: [https://www.ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/healthtopics/antimicrobial-resistance-and-consumption/antimicrobial\\_resistance/publications-documents/Documents/2007\\_EARSS\\_Annual\\_Report.pdf](https://www.ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/healthtopics/antimicrobial-resistance-and-consumption/antimicrobial_resistance/publications-documents/Documents/2007_EARSS_Annual_Report.pdf).

113. European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS). Annual report 2008. Bilthoven, The Netherlands : EARSS, 2009. 180 pp. URL: [https://www.ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/healthtopics/antimicrobial-resistance-and-consumption/antimicrobial\\_resistance/publications-documents/Documents/2008\\_EARSS\\_Annual\\_Report.pdf](https://www.ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/healthtopics/antimicrobial-resistance-and-consumption/antimicrobial_resistance/publications-documents/Documents/2008_EARSS_Annual_Report.pdf).

114. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Annual epidemiological report on communicable diseases in Europe 2008. Stockholm : ECDC, 2008. 320 pp. DOI: [10.2900/22770](https://doi.org/10.2900/22770).

115. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST. Version 10.0. 2020. 20 pp. URL: <https://www.eucast.org>.

116. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 10.0. 2020. 112 pp. URL: <https://www.eucast.org>.

117. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Antimicrobial susceptibility testing EUCAST disk diffusion method. Version 8.0. 2020. 22 pp. URL: <https://www.eucast.org>.

118. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Media preparation for EUCAST disk diffusion testing and for determination of MIC values by the broth microdilution method. Version 6.0. 2020. 5 pp. URL: <https://www.eucast.org>.

119. European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2015. *EFSA J.* 2017. Vol. 15, No. 2. P. 4694. DOI: [10.2903/j.efsa.2017.4694](https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4694).

120. European Food Safety Authority (EFSA). The Community summary report on antimicrobial resistance in zoonotic agents from animals and food in the European Union in 2004–2007. *EFSA J.* 2010. Vol. 8, No. 4. P. 1309. DOI: [10.2903/j.efsa.2010.1309](https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1309).

121. Foster, T. J. Immune evasion by staphylococci. *Nat. Rev. Microbiol.* 2005. Vol. 3, No. 12. P. 948–958. DOI: [10.1038/nrmicro1289](https://doi.org/10.1038/nrmicro1289).

122. Foster, T. J., Höök, M. Surface protein adhesins of *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol.* 1998. Vol. 6, No. 12. P. 484–488. DOI: [10.1016/s0966-842x\(98\)01400-0](https://doi.org/10.1016/s0966-842x(98)01400-0).

123. Geiss, H. K. et al. Identifizierung von speziellen Resistenzmechanismen und Interpretation von Ergebnissen der Antibiotika-Empfindlichkeitstestung bei grampositiven und gramnegativen Erregern. *Chemotherapie J.* 2004. Bd. 13, Hf. 1. S. 1–16.

124. Gonzalez, B. E. et al. Severe Staphylococcal sepsis in adolescents in the era of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Pediatrics.* 2005. Vol. 115, No. 3. P. 642–648. DOI: [10.1542/peds.2004-2300](https://doi.org/10.1542/peds.2004-2300).

125. Gosbell, I. B. et al. Community-acquired, non-multiresistant oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* (NORSA) in South Western Sydney. *Pathology.* 2001. Vol. 33, No. 2. P. 206–210. DOI: [10.1080/00313020123439](https://doi.org/10.1080/00313020123439).

126. Graffunder, E. M, Venezia, R. A. Risk factors associated with nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection including previous use of antimicrobials. *J. Antimicrob. Chemother.* 2002. Vol. 49, No. 6. P. 999–1005. DOI: [10.1093/jac/dkf009](https://doi.org/10.1093/jac/dkf009).

127. Grundmeier, M et al. Truncation of fibronectin-binding proteins in *Staphylococcus aureus* strain Newman leads to deficient adherence and host cell invasion due to loss of the cell wall anchor function. *Infect. Immun.* 2004. Vol. 72, No. 12. P. 7155–7163. DOI: [10.1128/iai.72.12.7155-7163.2004](https://doi.org/10.1128/iai.72.12.7155-7163.2004).

128. Hájek, V. *Staphylococcus intermedius*, a new species isolated from animals. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1976. Vol. 26, No. 4. P. 401–408. DOI: [10.1099/00207713-26-4-401](https://doi.org/10.1099/00207713-26-4-401).

129. Hamiroune, M. et al. Contribution to the study of staphylococcus contamination of cows' milk on a number of farms in Algiers: its impact on human health. *Rev. Sci. Tech.* 2014. Vol. 33, No. 3. P. 1035–1041. PMID: [25812225](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25812225/). URL: <http://web.oie.int/boutique/extrait/282810201400051frhamiroune10351041.pdf>.

130. Haran, K. P. et al. Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus*, including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, isolated from bulk tank milk from Minnesota dairy farms. *J. Clin. Microbiol.* 2012. Vol. 50, No. 3. P. 688–695. DOI: [10.1128/jcm.05214-11](https://doi.org/10.1128/jcm.05214-11).

131. Herbert, S. et al. Repair of global regulators in *Staphylococcus aureus* 8325 and comparative analysis with other clinical isolates. *Infect. Immun.* 2010. Vol. 78, No. 6. P. 2877–2889. DOI: [10.1128/iai.00088-10](https://doi.org/10.1128/iai.00088-10).

132. Hiramatsu, K. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J. Antimicrob. Chemother.* 1997. Vol. 40, No. 1. P. 135–136. DOI: [10.1093/jac/40.1.135](https://doi.org/10.1093/jac/40.1.135).

133. Hiramatsu, K. et al. Molecular cloning and nucleotide sequence determination of the regulator region of *mecA* gene in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *FEBS Lett.* 1992. Vol. 298, No. 2–3. P. 133–136. DOI: [10.1016/0014-5793\(92\)80039-j](https://doi.org/10.1016/0014-5793(92)80039-j).

134. Holden, M. T. G. et al. Complete genomes of two clinical *Staphylococcus aureus* strains: evidence for the rapid evolution of virulence and drug resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. Vol. 101, No. 26. P. 9786–9791. DOI: [10.1073/pnas.0402521101](https://doi.org/10.1073/pnas.0402521101).

135. Horsburgh, M. J. et al. sigmaB modulates virulence determinant expression and stress resistance: characterization of a functional rsbU strain derived from *Staphylococcus aureus* 8325-4. *J. Bacteriol.* 2002. Vol. 184, No. 19. P. 5457–5467. DOI: [10.1128/jb.184.19.5457-5467.2002](https://doi.org/10.1128/jb.184.19.5457-5467.2002).

136. Huletsky, A. et al. New real-time PCR assay for rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* directly from specimens containing a mixture of staphylococci. *J. Clin. Microbiol.* 2004. Vol. 42, No. 5. P. 1875–1884. DOI: [10.1128/jcm.42.5.1875-1884.2004](https://doi.org/10.1128/jcm.42.5.1875-1884.2004).

137. Hultén, K. G. et al. Hospital-acquired *Staphylococcus aureus* infections at Texas Children's Hospital, 2001–2007. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 2010. Vol. 31, No. 2. P. 183–190. DOI: [10.1086/649793](https://doi.org/10.1086/649793).

138. International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements (IWG-SCC). Classification of staphylococcal cassette chromosome *mec* (*SCCmec*): guidelines for reporting novel *SCCmec* elements. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009. Vol. 53, No. 12. P. 4961–4967. DOI: [10.1128/aac.00579-09](https://doi.org/10.1128/aac.00579-09).

139. Ito, T. et al. Novel type V staphylococcal cassette chromosome *mec* driven by a novel cassette chromosome recombinase, *ccrC*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004. Vol. 48, No. 7. P. 2637–2651. DOI: [10.1128/aac.48.7.2637-2651.2004](https://doi.org/10.1128/aac.48.7.2637-2651.2004).

140. Jackson, C. R. et al. Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from retail meat and humans in Georgia. *J. Clin. Microbiol.* 2013. Vol. 51, No. 4. P. 1199–1207. DOI: [10.1128/jcm.03166-12](https://doi.org/10.1128/jcm.03166-12).

141. Jevons, M. P. “Celbenin”-resistant staphylococci. *Brit. Med. J.* 1961. Vol. 1, No. 5219. P. 124–125. DOI: [10.1136/bmj.1.5219.124-a](https://doi.org/10.1136/bmj.1.5219.124-a).

142. Johnson, A. P. et al. Dominance of EMRSA-15 and -16 among MRSA causing nosocomial bacteraemia in the UK: analysis of isolates from the European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS). *J. Antimicrob. Chemother.* 2001. Vol. 48, No. 1. P. 143–144. DOI: [10.1093/jac/48.1.143](https://doi.org/10.1093/jac/48.1.143).

143. Kateete, D. P. et al. Identification of *Staphylococcus aureus*: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 2010. Vol. 9. P. 23. DOI: [10.1186/1476-0711-9-23](https://doi.org/10.1186/1476-0711-9-23).

144. Kilpper-Bälz, R., Schleifer, K. H. Transfer of *Peptococcus saccharolyticus* Foubert and Douglas to the genus *Staphylococcus*: *Staphylococcus saccharolyticus* (Foubert and Douglas) comb. nov. *Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. I. Abt. Orig. C.* 1981. Vol. 2, No. 4. P. 324–331. DOI: [10.1016/S0721-9571\(81\)80025-7](https://doi.org/10.1016/S0721-9571(81)80025-7).

145. Kloos, W. E., Schleifer, K. H. Isolation and characterization of staphylococci from human skin II. Descriptions of four new species: *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus hominis*, and *Staphylococcus simulans*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1975. Vol. 25, No. 1. P. 62–79. DOI: [10.1099/00207713-25-1-62](https://doi.org/10.1099/00207713-25-1-62).

146. Kloos, W. E., Schleifer, K. H. *Staphylococcus auricularis* sp. nov.: An inhabitant of the human external ear. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1983. Vol. 33, No. 1. P. 9–14. DOI: [10.1099/00207713-33-1-9](https://doi.org/10.1099/00207713-33-1-9).

147. Kloos, W. E. et al. Characterization of *Staphylococcus sciuri* sp. nov. and its subspecies. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1976. Vol. 26, No. 1. P. 22–37. DOI: [10.1099/00207713-26-1-22](https://doi.org/10.1099/00207713-26-1-22).

148. Kloos, W. E. et al. Estimation of character parameters in coagulase negative *Staphylococcus* species. *Staphylococci and Staphylococcal Diseases* / Ed. J. Jeljaszewicz. Stuttgart : Gustav Fisher Verlag, 1976. P. 23–41.

149. Kluytmans, J. et al. Food-initiated outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* analyzed by pheno- and genotyping. *J. Clin. Microbiol.* 1995. Vol. 33, No. 5. P. 1121–1128. DOI: [10.1128/jcm.33.5.1121-1128.1995](https://doi.org/10.1128/jcm.33.5.1121-1128.1995).

150. Köck, R. et al. Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) as causes of human infection and colonization in Germany. *PLoS ONE*. 2013. Vol. 8, No. 2. P. e55040. DOI: [10.1371/journal.pone.0055040](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055040).

151. Köck, R. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): burden of disease and control challenges in Europe. *Euro Surveill.* 2010. Vol. 15, No. 41. P. 19688. DOI: [10.2807/ese.15.41.19688-en](https://doi.org/10.2807/ese.15.41.19688-en).



152. Köck, R. et al. The epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Germany. *Dtsch. Arztebl. Int.* 2011. Vol. 108, No. 45. P. 761–767. DOI: [10.3238/arztebl.2011.0761](https://doi.org/10.3238/arztebl.2011.0761).

153. Kohlenberg, A. et al. Time-trends for Gram-negative and multidrug-resistant Gram-positive bacteria associated with nosocomial infections in German intensive care units between 2000 and 2005. *Clin. Microbiol. Infect.* 2008. Vol. 14, No. 1. P. 93–96. DOI: [10.1111/j.1469-0691.2007.01879.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01879.x).

154. Kovalenko, V. L., Ponomarenko, G. V., Kukhtyn, M. D., Paliy, A. P., Bodnar, O. O., Rebenko, H. I., Kozytska, T. G., Makarevich, T. V., Ponomarenko, O. V., Palii, A. P. Evaluation of acute toxicity of the "Orgasept" disinfectant. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2020. Vol. 10, iss. 4. P. 273–278. DOI: [10.15421/2020\\_1982](https://doi.org/10.15421/2020_1982).

155. Kozytska, T., Garkavenko, T. Analysis of the results of the study on the presence of methicillin-resistant *Staphylococcus* (MRSA) in food products of animal origin. *3<sup>rd</sup> Annual BTRP Ukraine Regional One Health Research Symposium (Kyiv, Ukraine, 16–20 April 2018)* : abstr. Kyiv, 2018. P. 296.

156. Kozytska, T., Garkavenko, T. Circulation of methicillin-resistant *Staphylococcus* (MRS) in livestock and domestic animals in Ukraine. *4<sup>th</sup> Annual BTRP Ukraine Regional One Health Research Symposium (Kyiv, Ukraine, 20–24 May 2019)* : abstr. Kyiv, 2019. P. 245.

157. Kukhtyn, M. et al. Formation of biofilms on dairy equipment and the influence of disinfectants on them. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*. 2017. Vol. 5, No. 11. P. 26–33. DOI: [10.15587/1729-4061.2017.110488](https://doi.org/10.15587/1729-4061.2017.110488).

158. Lakhundi, S, Zhang, K. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: molecular characterization, evolution, and epidemiology. *Clin. Microbiol. Rev.* 2018. Vol. 31, No. 4. P. e00020-18. DOI: [10.1128/cmr.00020-18](https://doi.org/10.1128/cmr.00020-18).

159. Lee, A. S. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nat. Rev. Dis. Primers*. 2018. Vol. 4. P. 18033. DOI: [10.1038/nrdp.2018.33](https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.33).

160. Lessa, F. C. et al. Comparison of incidence of bloodstream infection with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between England and United States, 2006–2007. *Clin. Infect. Dis.* 2010. Vol. 51, No. 8. P. 925–928. DOI: [10.1086/656414](https://doi.org/10.1086/656414).

161. Livermore, D. M. Antibiotic resistance in staphylococci. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2000. Vol. 16, Suppl. 1. P. s3–s10. DOI: [10.1016/s0924-8579\(00\)00299-5](https://doi.org/10.1016/s0924-8579(00)00299-5).

162. Locatelli, C. et al. Short communication: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in bulk tank milk of dairy cows and effect of swine population density. *J. Dairy Sci.* 2016. Vol. 99, No. 3. P. 2151–2156. DOI: [10.3168/jds.2015-9940](https://doi.org/10.3168/jds.2015-9940).

163. Mediavilla, J. R. et al. Global epidemiology of community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). *Curr. Opin. Microbiol.* 2012. Vol. 15, No. 5. P. 588–595. DOI: [10.1016/j.mib.2012.08.003](https://doi.org/10.1016/j.mib.2012.08.003).

164. Monds, R. D., O'Toole, G. A. The development model of microbial biofilms: ten years of a paradigm up for review. *Trends Microbiol.* 2009. Vol. 17, No. 2. P. 73–87. DOI: [10.1016/j.tim.2008.11.001](https://doi.org/10.1016/j.tim.2008.11.001).

165. Mongkolrattanothai, K. et al. Novel non-*mecA*-containing staphylococcal chromosomal cassette composite island containing *pbp4* and *tagF* genes in a commensal staphylococcal species: a possible reservoir for antibiotic resistance islands in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004. Vol. 48, No. 5. P. 1823–1836. DOI: [10.1128/aac.48.5.1823-1836.2004](https://doi.org/10.1128/aac.48.5.1823-1836.2004).

166. Mongkolrattanothai, K. et al. Severe *Staphylococcus aureus* infections caused by clonally related community-acquired methicillin-susceptible and methicillin-resistant isolates. *Clin. Infect. Dis.* 2003. Vol. 37, No. 8. P. 1050–1058. DOI: [10.1086/378277](https://doi.org/10.1086/378277).

167. Monnet, D. L. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its relationship to antimicrobial use: possible implications for control. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 1998. Vol. 19, No. 8. P. 552–559. DOI: [10.1086/647872](https://doi.org/10.1086/647872).

168. Moore, C. L. et al. Comparative evaluation of epidemiology and outcomes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) USA300 infections causing community- and healthcare-associated infections. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2009. Vol. 34, No. 2. P. 148–155. DOI: [10.1016/j.ijantimicag.2009.03.004](https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2009.03.004).

169. Nelson, M. U., Gallagher, P. G. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the neonatal intensive care unit. *Semin. Perinatol*. 2012. Vol. 36, No. 6. P. 424–430. DOI: [10.1053/j.semperi.2012.06.004](https://doi.org/10.1053/j.semperi.2012.06.004).

170. Nemati, M. et al. Antimicrobial resistance of old and recent *Staphylococcus aureus* isolates from poultry: first detection of livestock-associated methicillin-resistant strain ST398. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2008. Vol. 52, No. 10. P. 3817–3819. DOI: [10.1128/aac.00613-08](https://doi.org/10.1128/aac.00613-08).

171. Noskin, G. A. et al. The burden of *Staphylococcus aureus* infections on hospitals in the United States: an analysis of the 2000 and 2001 Nationwide Inpatient Sample Database. *Arch. Intern. Med*. 2005. Vol. 165, No. 15. P. 1756–1761. DOI: [10.1001/archinte.165.15.1756](https://doi.org/10.1001/archinte.165.15.1756).

172. Ogston, A. Über Abscesse. *Arch. Klin. Chir*. 1880. Bd. 25. S. 588–600.

173. Oladipo, A. O. et al. Multi-drug resistance traits of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and other Staphylococcal species from clinical and environmental sources. *J. Water Health*. 2019. Vol. 17, No. 6. P. 930–943. DOI: [10.2166/wh.2019.177](https://doi.org/10.2166/wh.2019.177).

174. Oliveira, D. C. et al. Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet Infect. Dis*. 2002. Vol. 2, No. 3. P. 180–189. DOI: [10.1016/s1473-3099\(02\)00227-x](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(02)00227-x).

175. Oliveira, N. M. et al. Correction: Biofilm formation as a response to ecological competition. *PLOS Biol*. 2005. Vol. 13, No. 8. P. e1002232. DOI: [10.1371/journal.pbio.1002232](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002232).

176. Opdebeeck, J. P., Norcross, N. L. Antibodies in bovine serum and lacteal secretions to capsular antigens of *Staphylococcus aureus*. *Am. J. Vet. Res*. 1985. Vol. 46, No. 7. P. 1561–1564. PMID: [4026041](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4026041/).

177. Ortega, E. et al. Multiple roles of *Staphylococcus aureus* enterotoxins: pathogenicity, superantigenic activity, and correlation to antibiotic resistance. *Toxins*. 2010. Vol. 2, No. 8. P. 2117–2131. DOI: [10.3390/toxins2082117](https://doi.org/10.3390/toxins2082117).

178. Prestinaci, F. et al. Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. *Pathog. Glob. Health*. 2015. Vol. 109, No. 7. P. 309–318. DOI: [10.1179/2047773215y.0000000030](https://doi.org/10.1179/2047773215y.0000000030).

179. Pu, S. et al. Isolation and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from Louisiana retail meats. *Appl. Environ. Microbiol.* 2009. Vol. 75, No. 1. P. 265–267. DOI: [10.1128/aem.01110-08](https://doi.org/10.1128/aem.01110-08).

180. Recklinghausen, N. D. von. Ätiologie und Therapie der Staphylokokkeninfektionen. Berlin : Urban und Schwarzenberg, 1871. 143 s.

181. Regulation (EC) No 470/2009 of the European Parliament and of the Council of 6 May 2009 laying down Community procedures for the establishment of residue limits of pharmacologically active substances in foodstuffs of animal origin, repealing Council Regulation (EEC) No 2377/90 and amending Directive 2001/82/EC of the European Parliament and of the Council and Regulation (EC) No 726/2004 of the European Parliament and of the Council. *OJEU*. 2009. Vol. L152. P. 11–22. URL: <http://data.europa.eu/eli/reg/2009/470/oj>.

182. Reynolds, R. et al. Antimicrobial susceptibility of the pathogens of bacteraemia in the UK and Ireland 2001–2002: the BSAC Bacteraemia Resistance Surveillance Programme. *J. Antimicrob. Chemother.* 2004. Vol. 53, No. 6. P. 1018–1032. DOI: [10.1093/jac/dkh232](https://doi.org/10.1093/jac/dkh232).

183. Rhee, C. H., Woo, G.-J. Emergence and characterization of foodborne methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Korea. *J. Food. Prot.* 2010. Vol. 73, No. 12. P. 2285–2290. DOI: [10.4315/0362-028x-73.12.2285](https://doi.org/10.4315/0362-028x-73.12.2285).

184. Robinson, D. A., Enright, M. C. Evolution of *Staphylococcus aureus* by large chromosomal replacements. *J. Bacteriol.* 2004. Vol. 186, No. 4. P. 1060–1064. DOI: [10.1128/jb.186.4.1060-1064.2004](https://doi.org/10.1128/jb.186.4.1060-1064.2004).

185. Romling, U. et al. Microbial biofilm formation: a need to act. *J. Intern. Med.* 2014. Vol. 276, No. 2. P. 98–110. DOI: [10.1111/joim.12242](https://doi.org/10.1111/joim.12242).
186. Rosenbach, F. J. Mikroorganismen bei den Wundinfektionskrankheiten des Menschen. Wiesbaden, 1984. 132 s.
187. Roy, S. et al. Antimicrobial susceptibility pattern of methicillin-resistance *Staphylococcus aureus* from different tertiary care hospitals including Mymensingh Medical College Hospital. *Mymensingh Med. J.* 2016. Vol. 25, No. 3. P. 450–457. PMID: [27612890](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27612890/).
188. Roy, S. et al. Molecular-characterization of methicillin-resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) from different tertiary care hospitals in Bangladesh. *Mymensingh Med. J.* 2017. Vol. 26, No. 1. P. 37–44. PMID: [28260753](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28260753/).
189. Ruffa, G. Etude du diagnostic de la mammite staphylococcique chez la vache. *Vet. Ital.* 1966. Vol. 17. P. 627–630.
190. Salmanov, A. Surgical site infections and antibiotic resistance of causal agents in the hospitals of Kiev, Ukraine. *EpiNorth.* 2009. Vol. 10, No. 3. P. 120–127.
191. Sasaki, T. et al. Reclassification of phenotypically identified *Staphylococcus intermedius* strains. *J. Clin. Microbiol.* 2007. Vol. 45, No. 9. P. 2770–2778. DOI: [10.1128/jcm.00360-07](https://doi.org/10.1128/jcm.00360-07).
192. Schleifer, K. H., Fischer, U. Description of a new species of the genus *Staphylococcus*: *Staphylococcus carnosus*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1982. Vol. 32, No. 2. P. 153–156. DOI: [10.1099/00207713-32-2-153](https://doi.org/10.1099/00207713-32-2-153).
193. Schleifer, K. H., Kloos, W. E. Isolation and characterization of staphylococci from human skin I. Amended descriptions of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus saprophyticus* and descriptions of three new species: *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus haemolyticus*, and *Staphylococcus xylosus*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1975. Vol. 25, No. 1. P. 50–61. DOI: [10.1099/00207713-25-1-50](https://doi.org/10.1099/00207713-25-1-50).

194. Schleifer, K. H. et al. Elevation of *Staphylococcus sciuri* subsp. *lentus* (Kloos et al.) to species status: *Staphylococcus lentus* (Kloos et al.) comb. nov. *Syst. Appl. Microbiol.* 1983. Vol. 4, No. 3. P. 382–387. DOI: [10.1016/s0723-2020\(83\)80022-8](https://doi.org/10.1016/s0723-2020(83)80022-8).

195. Schleifer, K. H. et al. Identification of “*Micrococcus candidus*” ATCC 14852 as a strain of *Staphylococcus epidermidis* and of “*Micrococcus caseolyticus*” ATCC 13548 and *Micrococcus varians* ATCC 29750 as members of a new species, *Staphylococcus caseolyticus*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1982. Vol. 32, No. 1. P. 15–20. DOI: [10.1099/00207713-32-1-15](https://doi.org/10.1099/00207713-32-1-15).

196. Schleifer, K. H. et al. Relatedness among coagulase-negative staphylococci: Deoxyribonucleic acid reassociation and comparative immunological studies. *Arch. Microbiol.* 1979. Vol. 122, No. 1. P. 93–101. DOI: [10.1007/bf00408051](https://doi.org/10.1007/bf00408051).

197. Selvaraj, S., Valiappan, R. Antimicrobial activity of the plant extractions against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Microbiology World*. 2015. No. 12. P. 17–25. URL: <https://issuu.com/microbiologyworld/docs/magazine-issue-12>.

198. SenGupta, D. J. et al. Whole-genome sequencing for high-resolution investigation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* epidemiology and genome plasticity. *J. Clin. Microbiol.* 2014. Vol. 52, No. 8. P. 2787–2796. DOI: [10.1128/jcm.00759-14](https://doi.org/10.1128/jcm.00759-14).

199. Seo, K. S., Bohach, G. A. Chapter 21. *Staphylococcus aureus*. *Food microbiology: fundamentals and frontiers* / Ed. M. P. Doyle, R. L. Buchanan. 4<sup>th</sup> ed. Washington, DC : ASM Press, 2013. P. 547–573. DOI: [10.1128/9781555818463.ch21](https://doi.org/10.1128/9781555818463.ch21).

200. Sergelidis, D, Angelidis, A. S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a controversial food-borne pathogen. *Lett. Appl. Microbiol.* 2017. Vol. 64, No. 6. P. 409–418. DOI: [10.1111/lam.12735](https://doi.org/10.1111/lam.12735).

201. Shan, N. M. et al. Studies on staphylococci in udder of cattle. *Indian Vet. J.* 1985. Vol. 62, No. 6. P. 458–460.

202. Shiferaw, S., Ahmad, M. Prevalence and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* from lactating cow's milk in Bahir Dar dairy farms. *Afr. J. Microbiol. Res.* 2016. Vol. 10, No. 35. P. 1444–1454. DOI: [10.5897/AJMR2016.8015](https://doi.org/10.5897/AJMR2016.8015).
203. Sieber, R. N. et al. Drivers and dynamics of methicillin-resistant livestock-associated *Staphylococcus aureus* CC398 in pigs and humans in Denmark. *mBio*. 2018. Vol. 9, No. 6. P. e02142-18. DOI: [10.1128/mbio.02142-18](https://doi.org/10.1128/mbio.02142-18).
204. Sposini, T et al. Methicillin-resistant staphylococcal strains isolated from clinical samples. *J. Chemother.* 1991. Vol. 3, suppl. 1. P. 169–171. PMID: [12041757](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12041757/).
205. Strommenger, B. et al. *spa* Typing of *Staphylococcus aureus* as a frontline tool in epidemiological typing. *J. Clin. Microbiol.* 2008. Vol. 46, No. 2. P. 574–581. DOI: [10.1128/jcm.01599-07](https://doi.org/10.1128/jcm.01599-07).
206. Tacconelli, E. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia diagnosed at hospital admission: distinguishing between community-acquired versus healthcare-associated strains. *J. Antimicrob. Chemother.* 2004. Vol. 53, No. 3. P. 474–479. DOI: [10.1093/jac/dkh107](https://doi.org/10.1093/jac/dkh107).
207. Tarekgne, E. et al. *Staphylococcus aureus* and other *Staphylococcus* species in milk and milk products from Tigray region, Northern Ethiopia. *Afr. J. Food Sci.* 2015. Vol. 9, No. 12. P. 567–576. DOI: [10.5897/AJFS2015.1373](https://doi.org/10.5897/AJFS2015.1373).
208. Thornsberry, C. The development of antimicrobial resistance in staphylococci. *J. Antimicrob. Chemother.* 1988. Vol. 21, suppl. C. P. 9–17. DOI: [10.1093/jac/21.suppl\\_c.9](https://doi.org/10.1093/jac/21.suppl_c.9).
209. Van Cleef, B. A. G. L. et al. Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in humans, Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 2011. Vol. 17, No. 3. P. 502–505. DOI: [10.3201/eid1703.101036](https://doi.org/10.3201/eid1703.101036).
210. Wiseman, G. M., Gaird, J. D. Mode of action of the alpha toxin of *Staphylococcus aureus*. *Can. J. Microbiol.* 1970. Vol. 16, No. 1. P. 47–50. DOI: [10.1139/m70-008](https://doi.org/10.1139/m70-008).

211. Woodford, N. Biological counterstrike: antibiotic resistance mechanisms of Gram-positive cocci. *Clin. Microbiol. Infect.* 2005. Vol. 11, suppl. 3. P. 2–21. DOI: [10.1111/j.1469-0691.2005.01140.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01140.x).

212. World Health Organization (WHO). Antimicrobial resistance : global report of surveillance. Geneve : WHO, 2014. 232 pp. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/112642>.

213. World Health Organization (WHO). WHO global strategy for containment of antimicrobial resistance. Geneve : WHO, 2001. 105 pp. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/66860>.

214. Wu, S. et al. Tracking the evolutionary origin of the methicillin resistance gene: cloning and sequencing of a homologue of *mecA* from a methicillin-susceptible strain of *Staphylococcus sciuri*. *Microb. Drug Resist.* 1996. Vol. 2, No. 4. P. 435–441. DOI: [10.1089/mdr.1996.2.435](https://doi.org/10.1089/mdr.1996.2.435).



**ДОДАТОК А**  
**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ**  
**ДИСЕРТАЦІЇ ТА ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ**

**Статті у наукових фахових виданнях України,  
у тому числі включених до міжнародних наукометричних баз даних**

1. Гаркавенко Т. О., **Козицька Т. Г.**, Ординська Д. О., Меженська Н. А., Семенчукова І. В. Метицилінрезистентний стафілокок (*MRSA*) – стан проблеми у світі та в Україні. Ветеринарна біотехнологія. 2015. Вип. 26. С. 41–51. *(Здобувачем взято участь в аналізі та зборі даних, формулюванні висновків та написанні статті).*

2. **Козицька Т. Г.**, Гаркавенко Т. О. Аналіз результатів дослідження щодо наявності метицилінрезистентного стафілокока (*MRSA*) в харчових продуктах тваринного походження. Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки. 2018. Т. 20. № 87. С. 112–115. *(Здобувачем взято участь в проведенні експериментальних досліджень, аналізі отриманих результатів, формулюванні висновків та підготовці статті).*

3. Гаркавенко Т. О., **Козицька Т. Г.**, Горбатюк О. І., Коваленко В. Л. Вивчення стійкості антибіотикорезистентних штамів *S. aureus* до дезінфікуючих засобів з різними діючими речовинами. Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин. 2019. Вип. 20. № 2. С. 183–193. *(Здобувачем взято участь в проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).*

4. Горбатюк О. І., Гаркавенко Т. О., **Козицька Т. Г.**, Ординська Д. О., Мусієць І. В., Щур Н. В. Бактеріологічний моніторинг стафілококової інфекції у свиней, сировині і продукції із свинини на території України та біологічні ризики для людини. Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і

Інституту біології тварин. 2019. Вип. 20. № 2. С. 194–200. *(Здобувачем взято участь в проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).*

5. Гаркавенко Т. О., Горбатюк О. І., **Козицька Т. Г.**, Андріяшук В. О., Кухтин М. Д., Коваленко В. Л., Мусієць І. В., Ординська Д. О. Вивчення здатності до формування біоплівки польовими ізолятами *S. aureus*, виділеними із сировини і продукції тваринного походження. Ветеринарна біотехнологія. 2020. Вип. 37. С. 20–30. *(Здобувачем взято участь в проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).*

#### **Стаття у науковому виданні України, включеному до міжнародної наукометричної бази даних Web of Science**

6. Kovalenko V. L., Ponomarenko G. V., Kukhtyn M. D., Paliy A. P., Bodnar O. O., Rebenko H. I., **Kozytska T. G.**, Makarevich T. V., Ponomarenko O. V., Palii A. P. Evaluation of acute toxicity of the «Orgasept» disinfectant. Ukrainian Journal of Ecology. 2020. Vol. 10. Iss. 4. P. 273–278. *(Здобувачем взято участь в аналізі отриманих результатів, формулюванні висновків та підготовці статті).*

#### **Методичні рекомендації**

7. Гаркавенко Т. О., Неволько О. М., **Козицька Т. Г.**, Ординська Д. О., Меженська Н. А. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів: методичні вказівки. К., 2019. 79 с. *(Затверджено науково-методичною радою Державної фітосанітарної служби України, протокол № 1 від 25 грудня 2014 р. Здобувачем взято участь в написанні текстової частини вказівок).*

8. Гаркавенко Т. О., **Козицька Т. Г.**, Горбатюк О. І., Андріяшук В. О., Азиркіна І. М., Дибкова С. М., Гаркавенко В. М., Мех Н. В. Сучасні методи визначення чутливості та виявлення механізмів резистентності *Staphylococcus aureus* до антибактеріальних препаратів: методичні вказівки. К., 2019. 54 с. *(Затверджено Вченою радою Державного науково-дослідного інституту з*

лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, протокол № 1 від 27.02.2019 р. Здобувачем взято участь у проведенні досліджень, підготовці та написанні вказівок).

9. Кухтин М. Т., Коваленко В. Л., Гаркавенко Т. О., Горбатюк О. І., **Козицька Т. Г.**, Болтик Н. П., Климик В. Т., Рушинська Т. М., Горюк Ю. В., Салата В. З. Методичні рекомендації з визначення бактерицидної активності дезінфікуючих засобів на бактеріях у біоплівках. К., 2020. 25 с. *(Затверджено Вченою радою Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, протокол № 1 від 24.02.2020 р. Здобувачем взято участь у проведенні досліджень, підготовці та написанні вказівок).*

#### Тези наукових доповідей

10. **Kozytska T.**, Garkavenko T. Analysis of the results of the study on the presence of methicillin-resistant *Staphylococcus* (MRSA) in food products of animal origin. 3<sup>rd</sup> Annual BTRP Ukraine Regional One Health Research Symposium, Kyiv, Ukraine, 16–20 April 2018: abstract. Kyiv, 2018. P. 296. *(Здобувачем взято участь в проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та написанні тез).*

11. **Kozytska T.**, Garkavenko T. Circulation of methicillin-resistant *Staphylococcus* (MRSA) in livestock and domestic animals in Ukraine. 4<sup>th</sup> Annual BTRP Ukraine Regional One Health Research Symposium, Kyiv, Ukraine, 20–24 May 2019: abstract. Kyiv, 2019. P. 245. *(Здобувачем взято участь в проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та написанні тез).*

#### Апробація результатів дисертації.

Матеріали дисертації доповідалися та обговорювалися на:

- III та IV щорічних регіональних симпозіумах в рамках концепції «Єдине здоров'я» (м. Київ, 16–20.04.2018 р., 20–24.05.2019 р.), постерні доповіді;

- семінарі з питань застосування антимікробних препаратів у секторі тваринництва (м. Уппсала, Королівство Швеція, 06–10.05.2018 р.), наукова доповідь;
- міжнародній науково-практичній конференції «Біотехнологія та її роль в забезпеченні здоров'я людей та тварин» (м. Київ, 16–17.05.2018 р.), наукова доповідь;
- міжнародній виставці LabComplex «Лабораторні дослідження як інструмент забезпечення епізоотичного благополуччя та безпеки харчових продуктів» (м. Київ, 17–19.10.2018 р.), наукова доповідь;
- VIII міжнародній науково-практичній конференції «Ветеринарні препарати: розробка, контроль якості та застосування» (м. Львів, 01.04.2019 р.), наукова доповідь;
- всеукраїнському семінарі бактеріологів «Сучасні підходи до вирішення проблеми антибіотикорезистентності мікроорганізмів. Програми державного ветеринарно-санітарного контролю сальмонельозу птиці в птахогосподарствах України» (м. Івано-Франківськ, 20–24.08.2018 р.), наукові доповіді, член оргкомітету;
- всеукраїнському семінарі бактеріологів «Нагляд за протимікробною резистентністю зоонозних та коменсальних бактерій в Україні. Мікробіологія харчового ланцюга» (м. Київ, 22.12.2020 р.), наукові доповіді, член оргкомітету.

**ДОДАТОК Б**

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ХАРАКТЕРУ КУЛЬТУРАЛЬНОГО  
РОСТУ НА ПРОСТИХ ТА ДИФЕРЕНЦІЙНО-ДІАГНОСТИЧНИХ  
ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩАХ ДЛЯ СТАФІЛОКОКІВ**

№ з/п	Перелік досліджуваних ізолятів <i>S. aureus</i> , n = 40	Фарбування за Грамом	МПА	МПБ	МСА	ЖСА	Агар Бейрд- Паркера	КА
1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>Умови інкубіції, °C / час інкубації, год</i>			<i>37±1,0 °C/ 20-24 год</i>				<i>48±1,0 °C/ 20-24 год</i>	<i>37±1,0 °C/ 20- 24 год</i>
1	Позитивний контроль: тестова культура <i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 12493	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
2	2/15	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
3	18/52	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)

1	2	3	4	5	6	7	8	9
4	21/57	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
5	22/22/58	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
6	23/29	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
7	27/69	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
8	28/70	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)

1	2	3	4	5	6	7	8	9
9	30/75	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
10	37/92	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
11	42/105	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
12	56/142	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
13	57/143	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)

1	2	3	4	5	6	7	8	9
14	59/152	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
15	60/153	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
16	62/155	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
17	66/161	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
18	69/164	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)



1	2	3	4	5	6	7	8	9
19	70/165	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадом	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
20	74/169	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадом	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
21	75/170	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадом	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
22	77/173	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадом	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
23	78/174	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадом	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)

1	2	3	4	5	6	7	8	9
24	79/176	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
25	80/187	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
26	81/188	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
27	82/189	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
28	83/190	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)

1	2	3	4	5	6	7	8	9
29	84/191	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
30	85/192	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
31	86/193	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
32	87/194	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
33	88/195	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)

1	2	3	4	5	6	7	8	9
34	89/196	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
35	90/197	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
36	94/205	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
37	95/206	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
38	145/327	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)

1	2	3	4	5	6	7	8	9
39	147/329	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)
40	148/345	Г+ коки, у вигляді грона винограду	округлі колонії золотистого кольору, Ø 2-4 мм	рівномірне помутніння з рихлим осадам	округлі колоній, з рівними краями, пігментовані до жовто- золотистого відтінку	округлі колонії рівними краями, Ø 2-4 мм, жовтувато- золотистого кольору, лецитиназна зона	округлі колонії, випуклі, блискучі, чорні, лецитиназна зони	округлі колоній, з рівними краями, зоно просвітлення 0,1-0,4 мм (β- гемоліз)

**Примітки:** Г+ – грампозитивний; Ø – діаметр.

**ДОДАТОК В**

**АНТИБІОТИКОГРАМА ЗАГАЛЬНОГО ПРОФІЛЮ ШТАМІВ**  
***STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, ВИДІЛЕНИХ ІЗ ПАТОЛОГІЧНОГО**  
**МАТЕРІАЛУ, ЗРАЗКІВ СИРОВИНИ, ПРОДУКЦІЇ ТВАРИННОГО**  
**ПОХОДЖЕННЯ І ОБ'ЄКТІВ ДОВКІЛЛЯ,  $M \pm m$ ,  $n = 5$**

№ п/п	Назва досліджуваних штамів <i>S. aureus</i>	Назва антибіотиків та їхні групи:									
		група пеніцилінів				група аміноглікозидів					
		бензилпеніцилін (1 ОД)		оксацилін (5 мкг)		амікацин (30 мкг)		тобраміцин (10 мкг)		гентаміцин (10 мкг)	
За рекомендаціями EUCAST		Діаметр зони затримки росту, мм									
		P<26	Ч>26	P<20	Ч>20	P<16	Ч>18	P<18	Ч>18	P<18	Ч>18
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1.	штам 2/15	10±0,2	Р	10±0,2**	Р	14±0,2**	Р	16±0,2	Р	16±0,2	Р
2.	штам 18/52	14±0,2	Р	10±0,4**	Р	14±0,2**	Р	СР	Р	19±0,2	Ч
3.	штам 21/57	33±0,4	Ч	26±0,2	Ч	18±0,2	ПЧ	20±0,2	Ч	19±0,2	Ч
4.	штам 22/22/58	10±0,2	Р	СР	Р	СР	Р	26±0,2	Ч	14±0,2	Р
5.	штам 23/59	31±0,4	Ч	15±0,2**	Р	17±0,2	ПЧ	20±0,2	Ч	19±0,2	Ч
6.	штам 27/69	12±0,4***	Р	24±0,2	Ч	19±0,4	Ч	21±0,2	Ч	22±0,4	Ч
7.	штам 28/70	11±0,2	Р	10±0,4**	Р	15±0,2	Р	СР	Р	18±0,4	ПЧ
8.	штам 30/75	16±0,2	Р	СР	Р	11±0,2**	Р	18±0,2	ПЧ	19±0,2	Ч
9.	штам 37/92	37±0,4	Ч	28±0,2	Ч	17±0,2	ПЧ	37±0,2	Ч	19±0,2	Ч
10.	штам 42/105	32±0,4	Ч	28±0,2	Ч	23±0,2	Ч	23±0,2	Ч	26±0,4	Ч
11.	штам 56/142	15±0,2	Р	СР	Р	СР	Р	18±0,2	ПЧ	17±0,2***	Р
12.	штам 57/143	34±0,2	Ч	27±0,2	Ч	СР	Р	20±0,2	Ч	20±0,2	Ч
13.	штам 59/152	32±0,2	Ч	29±0,2	Ч	17±0,2	ПЧ	18±0,4	ПЧ	18±0,4	ПЧ
14.	штам 60/153	16±0,4***	Р	СР	Р	11±0,2	Р	18±0,2	ПЧ	19±0,2	Ч

15.	штам 66/161	20±0,2**	P	27±0,2	Ч	18±0,2	ПЧ	20±0,2	Ч	19±0,2	Ч
16.	штам 69/164	17±0,2	P	CP	P	20±0,2	Ч	20±0,2	Ч	21±0,2	Ч
17.	штам 70/165	14±0,2	P	25±0,4	Ч	20±0,2	Ч	19±0,2	Ч	20±0,2	Ч
18.	штам 74/169	11±0,2	P	15±0,2**	P	19±0,2	Ч	17±0,2***	P	20±0,2	Ч
19.	штам 75/170	18±0,4**	P	CP	P	10±0,4***	P	16±0,2	P	16±0,2	P
20.	штам 77/173	10±0,4	P	21±0,2	Ч	20±0,2	Ч	21±0,2	Ч	21±0,2	Ч
21.	штам 78/174	36±0,2	Ч	26±0,2	Ч	17±0,2	ПЧ	20±0,4	Ч	18±0,2	ПЧ
22.	штам 79/176	34±0,2	Ч	30±0,2	Ч	20±0,2	Ч	22±0,2	Ч	22±0,2	Ч
23.	штам 80/187	20±0,4	P	27±0,4	Ч	26±0,4	Ч	18±0,2	ПЧ	17±0,2***	P
24.	штам 81/188	12±0,2***	P	22±0,2	Ч	17±0,2	ПЧ	18±0,2	ПЧ	17±0,4**	P
25.	штам 82/189	12±0,2***	P	22±0,2	Ч	19±0,2	Ч	19±0,2	Ч	16±0,2**	P
26.	штам 83/190	13±0,2	P	22±0,2	Ч	13±0,2***	P	20±0,2	Ч	18±0,2	ПЧ
27.	штам 84/191	25±0,2**	P	24±0,2	Ч	20±0,2	Ч	23±0,2	Ч	22±0,2	Ч
28.	штам 85/192	17±0,2**	P	27±0,2	Ч	20±0,2	Ч	21±0,2	Ч	22±0,2	Ч
29.	штам 86/193	18±0,2***	P	16±0,2**	P	14±0,2	P	16±0,2	P	19±0,2	Ч
30.	штам 87/194	23±0,2**	P	28±0,2	Ч	20±0,2	Ч	21±0,2	Ч	20±0,2	Ч
31.	штам 88/195	21±0,2	P	28±0,2	Ч	CP	P	18±0,2	ПЧ	16±0,2**	P
32.	штам 89/196	22±0,2	P	28±0,2	Ч	20±0,2	Ч	24±0,2	Ч	22±0,2	Ч
33.	штам 90/197	CP	P	12±0,2***	P	CP	P	17±0,2	P***	10±0,2**	P
34.	штам 94/205	33±0,2	Ч	25±0,2	Ч	20±0,2	Ч	22±0,2	Ч	21±0,2	Ч
35.	штам 95/206	34±0,4	Ч	26±0,2	Ч	20±0,2	Ч	20±0,2	Ч	25±0,2	Ч
36.	штам 145/327	29±0,2	Ч	32±0,4	Ч	19±0,2	Ч	23±0,2	Ч	21±0,2	Ч
37.	штам 146/328	31±0,2	Ч	34±0,4	Ч	20±0,2	Ч	24±0,2	Ч	24±0,2	Ч
38.	штам 147/329	34±0,2	Ч	36±0,4	Ч	20±0,2	Ч	23±0,2	Ч	23±0,2	Ч
39.	штам 148/345	29±0,2	Ч	31±0,2	Ч	17±0,2	ПЧ	21±0,2	Ч	20±0,2	Ч
Всего резистентных: %		64,1±3,2*	P – 25	33,3±3,4*	P – 13	31,1±3,2*	P – 12	17,9±3,6**	P – 7	23,1±1,5***	P – 9

№ п/п	Назва досліджуваних штамів <i>S. aureus</i>	Назва антибіотиків та їхні групи:									
		група хінолонів								група тетрациклінів	
		ципрофлок сацин (5 мкг)		левофлокса цин (5мкг)		норфлокса цин (10 мкг)		офлокса цин (5 мкг)		тетрацик лін (30 мкг)	
За рекомендаціями EUCAST		Діаметр зони затримки росту, мм									
		P<21 Ч>21		P<22 Ч>22		P<17 Ч>17		P<20 Ч>20		P<19 Ч>22	
1	2...	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
1.	штам 2/15	34±0,4***	Ч	20±0,2	Ч	18±0,2	Ч	19±0,2	Ч	10±0,2	Р
2.	штам 18/52	21±0,2	Ч	22±0,2	ПЧ	16±0,2**	Р	24±0,2	Ч	12±0,2	Р
3.	штам 21/57	28±0,2	Ч	29±0,4	Ч	25±0,4***	Ч	27±0,4	Ч	15±0,2**	Р
4.	штам 22/22/58	22±0,2	Ч	30±0,2	Ч	10±0,2	Р	33±0,2	Ч	28±0,2	Ч
5.	штам 23/59	24±0,2**	Ч	26±0,2	Ч	19±0,2	Ч	24±0,2	Ч	29±0,2	Ч
6.	штам 27/69	26±0,4	Ч	24±0,2	Ч	22±0,2**	Ч	26±0,2	Ч	26±0,2	Ч
7.	штам 28/70	17±0,2	Р	10±0,2	Р	10±0,2	Р	12±0,2	Р	32±0,2	Ч
8.	штам 30/75	13±0,2	Р	23±0,2	Ч	19±0,2	Ч	19±0,2	Р	34±0,2	Ч
9.	штам 37/92	24±0,2	Ч	25±0,2	Ч	20±0,4	Ч	23±0,2	Ч	26±0,4	Ч
10.	штам 42/105	27±0,2**	Ч	26±0,2	Ч	27±0,4	Ч	26±0,4	Ч	25±0,2	Ч
11.	штам 56/142	18±0,2	Р	17±0,2	Р	16±0,2	Р	17±0,2	Р	14±0,2	Р
12.	штам 57/143	СР	Р	23±0,2	Ч	16±0,2	Р	17±0,2	Р	24±0,2	Ч
13.	штам 59/152	20±0,2	Р	20±0,2	Р	17±0,2	ПЧ	19±0,2	Р	13±0,2	Р
14.	штам 60/153	13±0,2	Р	23±0,2	Ч	19±0,2	Ч	19±0,2	Р	25±0,2	Ч
15.	штам 66/161	20±0,2**	Р	25±0,4	Ч	24±0,2	Ч	28±0,4	Ч	25±0,2	Ч
16.	штам 69/164	18±0,2	Р	26±0,2	Ч	22±0,2	Ч	26±0,4	Ч	24±0,2**	Ч
17.	штам 70/165	20±0,2	Р	27±0,2	Ч	27±0,2**	Ч	27±0,2	Ч	26±0,2	Ч
18.	штам 74/169	21±0,2	ПЧ	22±0,2	ПЧ	19±0,2	Ч	23±0,2	Ч	24±0,2	Ч
19.	штам 75/170	16±0,2	Р	22±0,2	Ч	20±0,2***	Ч	СР	Р	14±0,2	Р
20.	штам 77/173	14±0,2	Р	24±0,2	Ч	23±0,2	Ч	25±0,4	Ч	24±0,2	Ч
21.	штам 78/174	13±0,2	Р	28±0,4	Ч	28±0,2	Ч	25±0,4	Ч	25±0,2	Ч
22.	штам 79/176	18±0,2	Р	26±0,2	Ч	29±0,4***	Ч	26±0,2	Ч	24±0,2	Ч



23.	штам 80/187	22±0,4**	Ч	17±0,2	Р	19±0,2	Ч	18±0,2	Р	28±0,2	Ч
24.	штам 81/188	24±0,2	Ч	26±0,2	Ч	22±0,2	Ч	28±0,2	Ч	22±0,2***	ПЧ
25.	штам 82/189	18±0,2	Р	24±0,2**	Ч	25±0,2	Ч	27±0,2	Ч	СР	Р
26.	штам 83/190	15±0,2	Р	20±0,2	Р	22±0,2	Ч	23±0,2	Ч	СР	Р
27.	штам 84/191	13±0,2	Р	26±0,2	Ч	23±0,2	Ч	27±0,2	Ч	22±0,2	ПЧ
28.	штам 85/192	25±0,4	Ч	27±0,2	Ч	24±0,2	Ч	26±0,2	Ч	СР	Р
29.	штам 86/193	23±0,4	Ч	24±0,2	Ч	21±0,2	Ч	24±0,2	Ч	СР	Р
30.	штам 87/194	26±0,4	Ч	28±0,4	Ч	24±0,2	Ч	26±0,4	Ч	23±0,2	Ч
31.	штам 88/195	22±0,2	Ч	26±0,2	Ч	23±0,2	Ч	23±0,2	Ч	СР	Р
32.	штам 89/196	24±0,4	Ч	26±0,2	Ч	22±0,2	Ч	СР	Р	24±0,2	Ч
33.	штам 90/197	24±0,2	Ч	25±0,2	Ч	26±0,4	Ч	19±0,2	Р	12±0,2	Р
34.	штам 94/205	20±0,2	Ч	27±0,2	Ч	22±0,2	Ч	26±0,2	Ч	22±0,2	ПЧ
35.	штам 95/206	19±0,2	Р	25±0,2	Ч	21±0,2	Ч	23±0,2**	Ч	24±0,2	Ч
36.	штам 145/327	31±0,2	Ч	26±0,2	Ч	21±0,2	Ч	25±0,2	Ч	26±0,4	Ч
37.	штам 146/328	30±0,2	Ч	26±0,4**	Ч	22±0,2	Ч	27±0,2	Ч	26±0,4***	Ч
38.	штам 147/329	30±0,4	Ч	27±0,2	Ч	24±0,2	Ч	27±0,2	Ч	27±0,4	Ч
39.	штам 148/345	29±0,4	Ч	21±0,2	Р	20±0,2	Ч	21±0,2	Ч	24±0,2	Ч
Всього: % антибіотикорезистентних штамів серед досліджених		36,8±3,2*	Р - 7	15,8±3,2*	Р - 6	10,2±3,4*	Р - 5	26,3±3,4*	Р - 10	30,0±3,2*	Р - 9±3,2*

№ п/п	Назва досліджуваних штамів <i>S. aureus</i>	Назва антибіотиків та їхніх груп:									
		група глікопептидів		група амфеніколів		фузидієва кислота		група рифа мпіцинів		група триметопріму	
		ванкоміцин		хлорамфенікол				рифампіцин		триметопрім	
За рекомендаціями EUCAST		Діаметр зони затримки росту, мм									
		Р<12 Ч>12		Р<18 Ч>18		Р<24 Ч>24		Р<23 Ч>26		Р<14 Ч>17	
1	2...	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
1.	штам 2/15	10±0,2**	Р	19±0,2	Ч	25±0,2	Ч	15±0,2	Р	22±0,2	Ч
2.	штам 18/52	15±0,2	Ч	20±0,2	Ч	18±0,2	Р	17±0,2	Р	СР	Р

3.	штам 21/57	14±0,4	Ч	19±0,4	Ч	27±0,2	Ч	26±0,4	ПЧ	21±0,2	Ч
4.	штам 22/22/58	16±0,2	Ч	10±0,4	Р	25±0,2	Ч	20±0,2	Р	20±0,2	Ч
5.	штам 23/59	13±0,2	Ч	19±0,2	Ч	20±0,2	Р	18±0,2	Р	СР	Р
6.	штам 27/69	13±0,2	Ч	24±0,2***	Ч	24±0,4	Ч	24±0,2**	ПЧ	21±0,4	Ч
7.	штам 28/70	14±0,2	Ч	17±0,2	Р	СР	Р	10±0,2	Р	СР	Р
8.	штам 30/75	14±0,2	Ч	19±0,2	Ч	18±0,2	Р	СР	Р	СР	Р
9.	штам 37/92	15±0,2	Ч	20±0,2	Ч	21±0,2	Р	27±0,2	Ч	21±0,2	Ч
10.	штам 42/105	13±0,4**	Ч	22±0,2	Ч	27±0,2	Ч	27±0,2	Ч	20±0,2	Ч
11.	штам 56/142	12±0,2	ПЧ	20±0,4***	Ч	СР	Р	СР	Р	СР	Р
12.	штам 57/143	13±0,2	Ч	19±0,2	Ч	27±0,4	Ч	СР	Р	СР	Р
13.	штам 59/152	14±0,2	Ч	19±0,2	Ч	25±0,4	Ч	26±0,4	ПЧ	18±0,4**	Ч
14.	штам 60/153	10±0,2	Р	19±0,2	Ч	17±0,2	Р	СР	Р	СР	Р
15.	штам 66/161	12±0,2	ПЧ	23±0,2	Ч	24±0,2	ПЧ	25±0,2	ПЧ	21±0,2	Ч
16.	штам 69/164	16±0,2	Ч	24±0,2	Ч	28±0,4	Ч	16±0,2	Р	18±0,2	Ч
17.	штам 70/165	15±0,2	Ч	26±0,2	Ч	32±0,2	Ч	25±0,2	ПЧ	23±0,2	Ч
18.	штам 74/169	11±0,2	Р	22±0,2	Ч	24±0,2	ПЧ	26±0,2	ПЧ	23±0,2	Ч
19.	штам 75/170	14±0,2	Ч	24±0,2	Ч	15±0,2	Р	11±0,2	Р	17м	ПЧ
20.	штам 77/173	14±0,2**	Ч	24±0,2	Ч	21±0,2	Р	24±0,2	ПЧ	21±0,2	Ч
21.	штам 78/174	11±0,2	Р	26±0,2	Ч	25±0,2	Ч	25±0,2	ПЧ	20±0,4	Ч
22.	штам 79/176	14±0,2	Ч	25±0,2	Ч	26±0,4	Ч	26±0,2	ПЧ	20±0,2	Ч
23.	штам 80/187	17±0,2	Ч	22±0,2	Ч	26±0,4	Ч	31±0,2	Ч	СР	Р
24.	штам 81/188	15±0,4	Ч	18±0,2	Ч	17±0,2	Р	17±0,2	Р	18±0,2	Ч
25.	штам 82/189	15±0,2	Ч	27±0,2	Ч	25±0,2	Ч	26±0,2	ПЧ	20±0,2	Ч
26.	штам 83/190	14±0,2	Ч	22±0,4	Ч	18±0,2	Р	27±0,4	Ч	СР	Р
27.	штам 84/191	14±0,2	Ч	27±0,2	Ч	31±0,2***	Ч	27±0,2	Ч	18±0,2	Ч
28.	штам 85/192	14±0,2	Ч	24±0,2	Ч	28±0,2	Ч	28±0,2	Ч	18±0,2	Ч
29.	штам 86/193	14±0,2	Ч	18±0,2**	Ч	18±0,2	Р	23±0,2	ПЧ	СР	Р
30.	штам 87/194	16±0,4	Ч	19±0,2	Ч	29±0,2	Ч	30±0,2	Ч	СР	Р
31.	штам 88/195	15±0,2***	Ч	22±0,2	Ч	12±0,2	Р	27±0,2	Ч	СР	Р
32.	штам 89/196	15±0,2	Ч	20±0,2	Ч	24±0,2	ПЧ	26±0,4**	ПЧ	СР	Р

33.	штам 90/197	15±0,2	Ч	23±0,2	Ч	19±0,2	Р	32±0,2	Ч	22±0,2**	Ч
34.	штам 94/205	12±0,2	ПЧ	23±0,2	Ч	25±0,2	Ч	27±0,2	Ч	21±0,2	Ч
35.	штам 95/206	13±0,2	Ч	26±0,2**	Ч	28±0,2	Ч	28±0,2	Ч	20±0,2	Ч
36.	штам 145/327	15±0,2	Ч	22±0,2	Ч	28±0,2	Ч	26±0,2	Ч	22±0,2	Ч
37.	штам 146/328	15±0,2	Ч	22±0,2	Ч	30±0,2	Ч	17±0,2	Р	22±0,4	Ч
38.	штам 147/329	14±0,2**	Ч	24±0,2	Ч	32±0,4	Ч	27±0,2	Ч	24±0,2	Ч
39.	штам 148/345	15±0,2	Ч	21±0,2	Ч	25±0,2	Ч	25±0,2	ПЧ	20±0,2	Ч
Всього резистентних: %		11,8±3,2*	Р - 3	10,0±3,4*	Р - 2	37,8±3,4*	Р - 14	34,2±3,4*	Р-13	44,8±3,6*	Р-13

№ п/п	Назва досліджуваних штамів <i>S. aureus</i>	Назва антибіотиків та їхніх груп:						Питома вага виявлених резистентних штамів <i>Staphylococcus aureus</i> до застосованих антибіотиків різних груп, %
		група макролідів		група лінкозамідів		група оксизолідінони		
		еритроміцин		кліндаміцин		лінезолід		
За рекомендаціями EUCAST		Діаметр зони затримки росту, мм						
		Р<18 Ч>21		Р<19 Ч>22		Р<21 Ч>21		
1	2...	33	34	35	36	37	38	39
1.	штам 2/15	26±0,2	Ч	24±0,2	Ч	18±0,2	Р	77,8±0,2
2.	штам 18/52	24±0,4	Ч	СР	Р	22±0,2	Ч	56,3±0,2
3.	штам 21/57	20±0,2	ПЧ	24±0,2	Ч	26±0,4	Ч	чутливий або помірно чутливий до застосованих антибіотиків
4.	штам 22/22/58	26±0,2**	Ч	25±0,2	Ч	25±0,4	Ч	42,9±0,2
5.	штам 23/59	СР	Р	СР	Р	25±0,4**	Ч	37,5±0,2
6.	штам 27/69	СР	Р	24±0,2***	Ч	27±0,2	Ч	12,5±0,2
7.	штам 28/70	СР	Р	11±0,2	Р	25±0,4	Ч	87,5±0,2
8.	штам 30/75	21±0,2	ПЧ	СР	Р	24±0,2	Ч	56,3±0,2
9.	штам 37/92	17±0,2	Р	25±0,2	Ч	27±0,2	Ч	12,5±0,2
10.	штам 42/105	23±0,2	Ч	26±0,2	Ч	29±0,2	Ч	чутливий до всіх застосованих антибіотиків

11.	штам 56/142	17±0,2	Р	СР	Р	21	ПЧ	76,5±0,2
12.	штам 57/143	20±0,2	ПЧ	20±0,2	ПЧ	22±0,2	Ч	35,3±0,2
13.	штам 59/152	21±0,2	ПЧ	22±0,2	ПЧ	25±0,2	Ч	17,7±0,2
14.	штам 60/153	21±0,2	ПЧ	СР	Р	24±0,2	Ч	58,8±0,2
15.	штам 66/161	21±0,2	ПЧ	25±0,2	Ч	25±0,2	Ч	11,1±0,2
16.	штам 69/164	24±0,4	Ч	15±0,2	Р	25±0,2	Ч	23,5±0,2
17.	штам 70/165	21±0,2	ПЧ	23±0,4**	Ч	30±0,2	Ч	5,9±0,2
18.	штам 74/169	22±0,4	Ч	23±0,4	Ч	32±0,2	Ч	25,0±0,2
19.	штам 75/170	СР	Р	24±0,2	Ч	27±0,2***	Ч	62,5±0,2
20.	штам 77/173	21±0,2	ПЧ	24±0,2	Ч	25±0,2	Ч	12,5±0,2
21.	штам 78/174	17±0,2	Р	24±0,2	Ч	27±0,2	Ч	12,5±0,2
22.	штам 79/176	23±0,2	Ч	24±0,2	Ч	26±0,2	Ч	чутливий або помірно чутливий до застосованих антибіотиків
23.	штам 80/187	СР	Р	20±0,2	ПЧ	27±0,2	Ч	37,5±0,2
24.	штам 81/188	17±0,2	Р	СР	Р	26±0,2	Ч	37,5±0,2
25.	штам 82/189	СР	Р	СР	Р	28±0,4*	Ч	31,3±0,2
26.	штам 83/190	СР	Р	СР	Р	24±0,2	Ч	62,5±0,2
27.	штам 84/191	20±0,2	ПЧ	24±0,2	Ч	26±0,4	Ч	6,3±0,2
28.	штам 85/192	СР	Р	23±0,4	Ч	24±0,2	Ч	18,8±0,2
29.	штам 86/193	20±0,2	ПЧ	СР	Р	27±0,2	Ч	50,0±0,2
30.	штам 87/194	21±0,4	ПЧ	СР	Р	28±0,2	Ч	18,8±0,2
31.	штам 88/195	СР	Р	СР	Р	СР	Р	56,3±0,2
32.	штам 89/196	СР	Р	21±0,2	ПЧ	20±0,2***	Р	31,3±0,2
33.	штам 90/197	СР	Р	СР	Р	28±0,2	Ч	66,7±0,2
34.	штам 94/205	18±0,2	ПЧ	24±0,2	Ч	24±0,2	Ч	чутливий або помірно чутливий до застосованих антибіотиків
35.	штам 95/206	18±0,2**	ПЧ	24±0,2**	Ч	25±0,2	Ч	чутливий або помірно чутливий до застосованих антибіотиків

36.	штам 145/327	21±0,4	ПЧ	25±0,2	Ч	27±0,4	Ч	чутливий або помірно чутливий до застосованих антибіотиків
37.	штам 146/328	21±0,4	ПЧ	26±0,4	Ч	27±0,4	Ч	5,9±0,2
38.	штам 147/329	22±0,2	Ч	25±0,4	Ч	27±0,4**	Ч	чутливий або помірно чутливий до застосованих антибіотиків
39.	штам 148/345	19±0,2	ПЧ	24±0,2	Ч	24±0,2	Ч	5,9±0,2
Всього резистентних: %		38,5±3,4*	P- 15	36,8±3,6*	P-14	7,9±3,2*	P-3	

**Примітки:**

\* – різниця щодо контрольного штаму *S. aureus* NCTC 12493 вірогідна за  $p < 0,05$ ;

\*\* – різниця щодо контрольного штаму *S. aureus* NCTC 12493 вірогідна за  $p < 0,01$ ;

\*\*\* – різниця щодо контрольного штаму *S. aureus* NCTC 12493 вірогідна за  $p < 0,001$ .

## ДОДАТОК Г

## СВІДОЦТВО

про первісне депонування штаму мікроорганізму  
в Депозитарії Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів  
мікроорганізмів

Кому видано: Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики  
та ветеринарно-санітарної експертизи (Козицька Т.Г, Гаркавенко Т.О., Горбатюк  
О.І., Ординська Д.О., Щур Н.В.)

03151, м. Київ, вул. Донецька. 30

Цим підтверджується, що штам мікроорганізму

*Staphylococcus aureus* штам «22-22»

первісно депонований в Депозитарії Державного науково-контрольного інституту  
біотехнології і штамів мікроорганізмів

Рєєстраційний номер, наданий штаму мікроорганізму Депозитарієм:

Супроводжувальна документація від депозитора одержана: паспорт, методика,  
акти

Дата первісного депонування: 01.02.2019 року

Місце зберігання: ДНДІЛДВСЕ, 03151, м. Київ, вул. Донецька. 30

М.П.

18.02.2019



М.В. Бабкін



### Акт

комісійної внутрішньої перевірки паспортних даних культури збудника *Staphylococcus aureus* штам «22-22» з метою її депонування в Національному центрі штамів мікроорганізмів

#### 1. Загальні положення

Метою даного випробування є внутрішня комісійна перевірка паспортних даних культури збудника *Staphylococcus aureus* штам «22-22» за показниками: культурально-морфологічними, біохімічними, гемолітичними, чутливості до антибіотиків та контроль штаму на відсутність контамінації бактеріальною і грибною мікрофлорою. Означений штам депонується з метою його використання як перспективного для розроблення діагностикумів та в якості тест-культури.

#### 2. Прилади, матеріали, реактиви

- Термостат Heraeus зав. № 40528655, інв. № 10401088;
- Ламінарна шафа Biocyt-150 зав. № 30207155, інв. № 10400493;
- Ваги електронні ВТА - 60 2 кл. зав. № 22152, інв. № 10400786;
- Кондуктометр зав. № 633866, інв. № 10403144;
- рН метр РВ-11 зав. № 25853074 інв. № 10403058;
- піпетки згідно з ГОСТ 1770;
- пробірки згідно з ГОСТ 1770;
- чашки Петрі;
- стакани фарфорові згідно з ГОСТ 1770;
- гумова груша для піпеток;
- вата медична гігроскопічна згідно з ГОСТ 5556;
- мікроскоп біокулярний Leica зав. № 259743, інв. № 10400651;
- холодильник Snaije 245 зав. № 181985140, інв. № 10401412;
- штативи для пробірок;
- спирт етиловий ректифікований згідно з ДСТУ 4221;
- предметні скельця;
- вода дистильована згідно з ГОСТ 6709.



- фарби для фарбування за Грамом;
- Байрд-Паркер агар виробництва HiMedia;
- Молочно-солевой агар виробництва ГОСТ 10444.1, п.5.4;
- колумбійський агар виробництва Biomerieux;
- м'ясо-пептонний агар виробництва HiMedia;
- м'ясо-пептонний бульйон виробництва HiMedia;
- м'ясо-пептонна желатина виробництва HiMedia;
- тіогліколеве середовище виробництва HiMedia;
- середовища Гісса з глюкозою, фруктозою, ксилозою, гліцерином, мальтозою, манітом, сахарозою, дульцитом, саліцином, крохмалем виробництва HiMedia;
- плазма кроля цитратна суха;
- пероксид водню згідно з ГОСТ 10929;
- середовище Мюллера Хінтона виробництва HiMedia;
- диски з антибіотиками виробництва HiMedia;
- набір реагентів AmpliSens MRSA-screen-titre-FRT PCR kit виробництва ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора;

### 3. Проведення випробувань та облік результатів

**3.1. Визначення культурально-морфологічних властивостей.** Для визначення культурально-морфологічних властивостей штам висівали на МПА, МПБ, кров'яний МПА, молочно-сольовий агар, Байрд-Паркер агар.

З одержаних добових культур на щільних та рідких середовища виготовляли мазки та фарбували за методом Грама. За проведення мікроскопії полі зору спостерігалися грампозитивні бактерії кулястої форми, величиною до 1,0 мкм. Розміщені поодинокі, парами і скупченнями. Спор і капсул не виявлено. За дослідження рухливості методом «перевернутої краплі» – культур стафілокока не рухлива.

На МПА утворюють колонії середніх розмірів, круглі, непрозорі, випуклі, блискучі з золотистим відтінком. На МПБ спостерігали інтенсивне помутніння, випаданням значної кількості осаду. За посіву на МПЖ через 24 год інкубації з температури плюс  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  спостерігався ріст по уколу, через 96 год спостерігалася розрідження желатини у вигляді лійки, яке починалося з верхньої частини пробірки, що підтверджувало протеолітичні властивості бактерій штаму. Протеолітичні властивості штаму були засвідчені завдяки згортанню молока з посіву на нього культури; позитивним тестом на утворення сірководню, як одного із етапів глибокого розщеплення білків.

Тест на каталазу культури був позитивним, оскільки після нанесення на поверхню культури, що виросла на МПА, 3,0 % розчину перекису водню з'являлися бульбашки газу, що піднімалися вгору (ефект «закіпання»).



**3.2. Визначення біохімічних властивостей.** Для визначення біохімічних властивостей проводили посів культури в поживні середовища Гіса з глюкозою, фруктозою, ксилозою, гліцерином, мальтозою, манітом, сахарозою, дульцитом, саліцином, крохмалем. Культивували упродовж 24 год в термостаті за температури плюс  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ .

За вивчення біохімічних властивостей штаму встановлено, що культура ферментувала з утворенням кислоти без газу: глюкозу, мальтозу, фруктозу, сахарозу, ксилону, гліцерин, маніт. Не розщеплювала дульцит, саліцин, крохмаль.

**3.3. Визначення гемолітичних властивостей.** Гемолітичні властивості визначали шляхом культивування культури за температури  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  упродовж 24 год на колумбійському агарі.

За росту на колумбійському агарі навколо колоній спостерігалася чітка зона просвітлення (альфа-гемоліз), що підтверджувало наявність гемолітичних властивостей культури.

**3.4. Визначення плазмокоагулюючих властивостей штаму.** Плазмокоагулюючі властивості штаму визначали за постановки реакції плазмокоагуляції з кролячою цитратною плазмою, розводячи її з розрахунку 1:5 від первісного об'єму.

Після посіву культури на розведену плазму крові кроля в об'ємі  $0,5 \text{ см}^3$ , остання зверталася упродовж 30 хв інкубування в термостаті за температури  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , що засвідчувало плазмокоагулюючу активність бактерій штаму та підтверджувало їхні токсигенні властивості.

**3.5. Визначення лецитиназної активності штаму.** Визначали лецитиназну активність штаму за посіву культури на Байрд-Паркер агарі та її подальшим культивуванням за температури  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  упродовж 24 год.

На Байрд-Паркер агарі культура утворювала колонії, навколо яких було добре видно зону помутніння з райдужним вінчиком, що підтверджувало лецитиназну активність штаму.

**3.6. Визначення властивостей культури до пігментоутворення.** За посіву культури на молочно-сольовий агар спостерігався ріст непрозорих, круглих, з рівними краями колоній жовтуватого кольору, інтенсивність якого посилювалася через 48 год після витримання посівів на світлі, що засвідчувало утворення жовтого пігменту бактеріями.

**3.7. Визначення чутливості до антибіотиків.** Визначення антибіотикочутливості штаму проводили дискодифузійним методом за загальноприйнятою методикою. Використовували комерційні стандартні паперові

диски, просякнуті окремо антибіотиками 37 різновидностей. Виготовляли суспензію добової культури штаму, змитої з МПА та стандартизовану за оптичним стандартом каламутності за МакФарландом до густини  $0,5 (1,5 \times 10^8 \text{ КУО/см}^3)$ . Культуральну суспензію наносили у кількості  $0,4 \text{ см}^3$  на середовище Мюллера Хінтона. Стерильним шпателем суспензію розтирали по всій поверхні агару і залишити на 20 хв для її дифузії в агар. Далі надлишок суспензії відбирали стерильною піпеткою і знешкоджували у дезінфекційному розчині. На поверхню контамінованого культурою середовища покладали диски з антибіотичними засобами. Культивування проводили за  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  упродовж 24 год.

Ступінь активності антибіотиків оцінювали за діаметром величини зон пригнічення росту культури згідно параметрів, заданих виробником антибіотичних препаратів.

За обліком антибіотикограми штам резистентний до оксациліну, 1 мкг (11 мм); норфлуксацину, 10,0 мкг (10 мм); доксициліну, 30,0 мкг (10 мм); неомицину, 30 мкг, (12 мм); ампіциліну, 10,0 мкг (10 мм); гентаміцину 10,0 мкг, (14 мм); триметопріму, 5 мкг (11 мм); бензилпеніциліну 10,0 мкг (10 мм); хлорамфеніколу, 30,0 мкг (10 мм); стрептоміцину, 10,0 мкг (10 мм); енрофлуксацину, 10,0 мкг (10 мм); кліндаміцину, 2,0 мкг (11 мм); азитроміцину, 15,0 мкг (12 мм); амоксициліну, 10,0 мкг (10 мм); амоксіклаву, 10,0 мкг (10 мм); іміпенему, 10,0 мкг (10 мм); цефотаксиму, 30,0 мкг (10 мм); ципрофлуксацину, 5,0 мкг (10-мм); тетрацикліну, 30,0 мкг (10 мм); фосфоміцину, 200,0 мкг (10 мм); амікацину, 10,0 мкг (11 мм); тейкопланіну, 30,0 мкг (13 мм); цефтазидиму, 30,0 мкг (10 мм); цефотаксиму з клавулоновою кислотою, 30,0/10,0 мкг (12 мм); цефтазидиму з клавулоновою кислотою, 30,0/10,0 мкг (10 мм); линезолиду, 30,0 мкг (11 мм); колістину, 10 мкг (13 мм); меропенему, 10,0 мкг (10 мм); сульфаметоксазолу, 25,0 мкг (12 мм); сульфадіазину, 100,0 мкг (11 мм); флоксациліну, 5,0 мкг (10 мм); ко-триманзину, 25 мкг (10 мм).

Штам помірно чутливий (ПЧ) до ванкоміцину, 5 мкг (14 мм); цефазоліну, 30 мкг (16 мм); рифампіцину, 5 мкг (10 мм); еритроміцину, 10 мкг (11 мм).

### 3.8. Визначення відсутності бактеріальної і грибної контамінації.

Дослідження проводили згідно ДСТУ 4483:2005. За перевірки штаму на відсутність контамінації живими мікроорганізмами та грибами, після посіву на МПБ, МПА росту сторонньої мікрофлори не виявлено, оскільки після виготовлення, пофарбування за Грамом і мікроскопії препаратів у полі зору спостерігали однорідну масу грампозитивних бактерій кулястої форми, величиною до 1,0 мкм, розміщених поодинокі, парами і скупченнями.


Для перевірки штаму на відсутність контамінації мікроскопічними грибами були проведені посіви на універсальне тіогліколеве середовище (ТГС), які культивували за температури  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  упродовж 14 діб. За обліку результатів росту встановлено, що росли характерні однорідні грампозитивні бактерії

кулястої форми, розміщені поодинокі, парами і скупченнями, що було виявлено під час проведення мікроскопії виготовлених препаратів культури, що виросла.

Штам вільний від контамінації сторонньою мікрофлорою та мікроскопічними грибами.

**Голова комісії:**

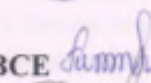
перший заступник директора ДНДІЛДВСЕ



Т. О. Гаркавенко

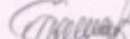
**Члени комісії:**

зав. бактеріологічною лабораторією ДНДІЛДВСЕ



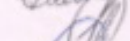
Т. Г. Козицька

науковий співробітник лабораторії



О. І. Горбатюк

молодший науковий співробітник



Д. О. Ординська

ветеринарний лікар-бактеріолог лабораторії



Н. В. Щур



## ПАСПОРТ

штаму мікроорганізму, який знаходиться в Банку штамів мікроорганізмів бактеріологічної лабораторії Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики і ветеринарно-санітарної експертизи (ДНДІЛДВСЕ)

Дата надходження: 19.01.2017р.

Номер паспорта: № 1

1. Видова назва мікроорганізму: *Staphylococcus aureus*
2. Позначення штаму: «22-22»
3. Родовід штаму: рід *Staphylococcus*, родина *Micrococcaceae*
4. Спосіб одержання штаму (де, коли, ким виділений, одержаний як мутант тощо): виділений в бактеріологічному відділі ДНДІЛДВСЕ 09.02.2017 року із зразків ковбасок для гриля охолоджених, вироблених на м'ясопереробному підприємстві міста Києва.

5. Хто і де (організація) ідентифікував штаб: Козицька Т. Г., Гаркавенко Т. О., Горбатюк О.І., Ординська Д.О., Щур Н.В.; ДНДІЛДВСЕ.

6. Морфологічно-культуральні, біохімічні та фізіолого-біологічні особливості штаму: за пофарбування за методом Грама – в полі зору спостерігалися грампозитивні «бактерії кулястої форми, величиною до 1,0 мкм. Розміщені поодинокі, парами і скупченнями. Спор і капсул не виявлено. За дослідження рухливості методом «перевернутої краплі» – культура стафілокока не рухлива.

За особливостями культурального росту і фізіологічними характеристиками – бактерії є факультативними анаеробами, добре ростуть на звичайних поживних середовищах в аеробних і анаеробних умовах.

На МПА утворюють колонії середніх розмірів, круглі, непрозорі, випуклі, блискучі з золотистим відтінком. На МПБ спостерігали інтенсивне помутніння з випаданням значної кількості осадку. За посіву на МПЖ через 24 год інкубації за температури плюс  $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$  спостерігався ріст по уколу, через 96 год – спостерігалася розрідження желатини у вигляді лійки, яке починалося з верхньої частини пробірки, що підтверджувало протеолітичні властивості бактерій штаму. Протеолітичні властивості штаму були засвідчені додатково завдяки згортанню молока за посіву на нього культури; позитивним тестом на утворення сірководню, як одного із етапів глибокого розщеплення білків. Тест на продукування культурою каталази був позитивним.

За росту на колумбійському агарі навколо колоній спостерігалася зона гемолізу, що підтверджувало наявність гемолітичних властивостей культури. За вивчення біохімічних властивостей штаму встановлено, що культура ферментувала з утворенням кислоти без газу: глюкозу, мальтозу, фруктозу, сахарозу, ксилітолу, гліцерин, маніт. Не розщеплювала дульцит, саліцин, крохмаль.

За посіву культури на молочно-сольовий агар спостерігався ріст непрозорих, круглих з рівними краями колоній жовтуватого кольору, інтенсивність якого підсилювалася через 48 год після витримування на світлі, що засвідчувало утворення пігменту бактеріями.

За посіву на Байрд-паркер агар культура утворювала колонії, навколо яких було добре видно зону помутніння з райдужним вінчиком, що підтверджувало лецитиназну активність штаму.

Після посіву культури на плазму крові кроля, остання зверталася упродовж 30 хв, що підтверджувало плазмокоагулюючу активність бактерій штаму та їх токсигенність.

7. **Відомості про патогенність штаму:** штам володіє патогенними властивостями для інбредних білих мишей за підшкірного введення суспензії добової культури, змитої з МПА, стандартизованої за оптичним стандартом каламутності по МакФарланду до концентрації  $1,0 \times 10^9$  КУО/см<sup>3</sup> (standard 1), у дозі 0,5 см<sup>3</sup>. Загибель тварин наставала упродовж 48 год.

8. **Антигенні (серологічні) властивості штаму:** не вивчали.

9. **Дата, номер останнього пасажу на чутливій системі, періодичність пасажування:** останній пасаж проведений 22.12.2018 р.; пасажування проводиться з інтервалом 3 міс. (один раз у квартал) на інбредних білих мишах.

10. **Генетичні особливості штаму (ауксотрофість, резистентність до антибіотиків, фагів тощо):** - належить до групи MRSA, оскільки штам володіє резистентністю до антибіотиків групи  $\beta$ -лактамів (оксациліну, бензилпеніциліну, ампіциліну, цефотаксиму, цефтазидиму, іміпенему, амоксициліну, цефотаксиму, цефотаксиму з клавулоновою кислотою);

- виявлений хромосомальний ген *mecA*;

- за обліком антибіотикограми штам резистентний до оксациліну (метициліну), 1 мкг (11 мм); норфлоксацину, 10,0 мкг (10 мм); доксициліну, 30,0 мкг (10 мм); неоміцину, 30 мкг, (12 мм); ампіциліну, 10,0 мкг (10 мм); гентаміцину 10,0 мкг, (14 мм); триметопріму, 5 мкг (11 мм); бензилпеніциліну 10,0 мкг (10 мм); хлорамфеніколу, 30,0 мкг (10 мм); стрептоміцину, 10,0 мкг (10 мм); еритрофлоксацину, 10,0 мкг (10 мм); кліндаміцину, 2,0 мкг (11 мм); азітроміцину, 15,0 мкг (12 мм); амоксициліну, 10,0 мкг (10 мм); амоксіклаву, 10,0 мкг (10 мм); іміпенему, 10,0 мкг (10 мм); цефотаксиму, 30,0 мкг (10 мм); ципрофлоксацину, 5,0 мкг (10 мм); тетрацикліну, 30,0 мкг (10 мм); фосфоміцину, 200,0 мкг (10 мм); амікацину, 10,0 мкг (11 мм); тейкопланіну, 30,0 мкг (13 мм); цефтазидиму, 30,0 мкг (10 мм); цефотаксиму з клавулоновою кислотою, 30,0/10,0 мкг (12 мм); цефтазидиму з клавулоновою кислотою, 30,0/10,0 мкг (10 мм); линезолиду, 30,0 мкг (11 мм); колістину, 10 мкг (13 мм); меропенему, 10,0 мкг (10 мм); сульфаметоксазолу, 25,0 мкг (12 мм); сульфадіазину, 100,0 мкг (11 мм); клоксациліну, 5,0 мкг (10 мм); ко-триманзину, 25 мкг (10 мм).

Штам помірно чутливий (ПЧ) до ванкоміцину, 5 мкг (14 мм); цефазоліну, 30 мкг (16 мм); рифампіцину, 5 мкг (10 мм); еритроміцину, 10 мкг (11 мм).

11. Спосіб, умови та склад середовища для культивування штаму: посіви штаму на МПА та МПБ; культивування в термостаті за оптимальної температури плюс  $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ;

12. Спосіб, умови та склад середовища для довгострокового зберігання штаму: штам зберігається у стані глибокої заморозки за температури мінус  $72 \pm 1^{\circ}\text{C}$  упродовж двох років;

Галузь використання штаму: мікробіологічні дослідження; для розроблення діагностикумів та використання в якості тест-культури.

13. Відомості про депозитора: Козицька Т. Г., Гаркавенко Т. О., Горбатюк, Ординська Д.О., О.І., Щур Н.В.

ДНДІЛДВСЕ

адреса:

03151 м. Київ, вул. Донецька, 30;

тел/факс: (044) 245-87-11 (ф); (044) 244-82-03



Піщанський О. В.

## ДОДАТОК Д

З А Т В Е Р Д Ж У Ю  
 Директор  
 Закарпатської регіональної державної  
 лабораторії Держпродспоживслужби,  
 Р.М. Шевчук  
 « 30 » липня 2020 року



### АКТ про впровадження

Ми, що нижче підписалися, фахівці Закарпатської регіональної державної лабораторії Держпродспоживслужби (далі ЗРДЛДПСС): директор (Шевчук Р.М.), в.о. завідувача бактеріологічного відділу (Сухар І.О.), та інші склали даний АКТ про те, що «Методичні вказівки щодо визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» авторів Т.О. Гаркавенко, О.М. Неволько, Т.Г. Козицької, Д.О. Ординської, Н.А. Меженської впроваджені у роботу бактеріологічного відділу ЗРДЛДПСС та використовуються при визначенні чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів стандартними методами (диско-дифузійний та серійних розведень). Автори при розробці методичних вказівок врахували всі основні етапи проведення досліджень:

- приготування поживних середовищ;
- приготування суспензії досліджуваних мікроорганізмів (інокулюма);
- внесення інокулюму в поживне середовище;
- інкубування посівів визначений проміжок часу при відповідних температурних параметрах;
- облік результатів та їх інтерпретація, формулювання рекомендацій щодо лікування.

Акт розглянуто та схвалено на засіданні ЗРДЛДПСС протокол № 1 від 30.07.2020 року.

Підписи:

1.  Шевчук Р.М.
2.  Сухар І.О.
3.  Риган Л.І.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор

Регіональної державної лабораторії  
Держпродспоживслужби в  
Полтавській області

Я.С. Аранчій



2020 року

### АКТ про впровадження

Ми, що нижче підписалися, фахівці Регіональної державної лабораторії Держпродспоживслужби в Полтавській області (далі РДЛДПСС в ПО): заступник директора О.О. Ісаєва, завідувач бактеріологічного відділу М. А. Семенко, лікар бактеріологічного відділу Н.О.Кришталь, склали даний АКТ про те, що «Методичні вказівки щодо визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» авторів Т.О. Гаркавенко, О.М. Неволько, Т.Г. Козицької, Д.О. Ординської, Н.А. Меженської впроваджені у роботу бактеріологічного відділу РДЛДПСС в ПО та використовуються при визначенні чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів стандартними методами (диско-дифузійний та серійних розведень). Автори при розробці методичних вказівок врахували всі основні етапи проведення досліджень:

- приготування поживних середовищ;
- приготування суспензій досліджуваних мікроорганізмів (інокулюма);
- внесення інокулюму в поживне середовище;
- інкубування посівів визначений проміжок часу при відповідних температурних параметрах;
- облік результатів та їх інтерпретація, формулювання рекомендацій щодо лікування.

Акт розглянуто та схвалено на засіданні РДЛДПСС в ПО протокол № 1 від 13 липня 2020 року.

Підписи:

1.  О.О. Ісаєва
2.  М.А. Семенко
3.  Н.О. Кришталь



**ЗАТВЕРДЖУЮ**  
 Директор  
 Херсонської регіональної державної  
 лабораторії Держпродспоживслужби,  
 В.В. Дериведміль  
 « 28 » 07 2020 року  
 АКТ

### про впровадження

Ми, що нижче підписалися, фахівці Херсонської регіональної державної лабораторії Держпродспоживслужби (далі Херсонської РДЛДПСС): завідувач бактеріологічного відділу Іваніська Н.Ю., завідувач відділу ветеринарно-санітарної експертизи Колеснік В.І., провідний лікар ветеринарної медицини бактеріологічного відділу Афанасьєва Н.О., склали даний акт про те, що «Методичні вказівки щодо визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» авторів: Т.О. Гаркавенко, О.М. Неволько, Т.Г. Козицької, Д.О. Ординської, Н.А. Меженської, впроваджені у роботу бактеріологічного відділу Херсонської РДЛДПСС та використовуються при визначенні чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів стандартними методами (диско-дифузійний та серійних розведень).

Автори при розробці методичних вказівок врахували всі основні етапи проведення досліджень:

- приготування поживних середовищ для визначення чутливості;
- приготування суспензії досліджуваних мікроорганізмів (інокулюма);
- внесення інокулюму у поживне середовище;
- інкубування посівів визначений проміжок часу при відповідних температурних параметрах;
- облік результатів та їх інтерпретація, формулювання рекомендацій щодо лікування.

Акт розглянуто та схвалено на засіданні Херсонської РДЛДПСС протокол № 7 від 28 липня 2020 року.

Підписи:

1. Н.Ю. Іваніська
2. В.І. Колеснік
3. Н.О. Афанасьєва

## ДОДАТОК Е

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор  
Закарпатської регіональної державної  
лабораторії Держпродспоживслужби,  
Р.М. Шевчук  
« 30 » липня 2020 року



### АКТ про впровадження

Ми, що нижче підписалися, фахівці Закарпатської регіональної державної лабораторії Держпродспоживслужби (далі ЗРДЛДПСС): директор (Шевчук Р.М.), в.о. завідувача бактеріологічного відділу (Сухар І.О.), та інші склали даний АКТ про те, що «Методичні вказівки. Сучасні методи визначення чутливості та виявлення набутих механізмів резистентності *Staphylococcus aureus* до антибактеріальних препаратів» авторів Гаркавенко Т. О., Козицької Т. Г., Горбатюк О. І., Андріяшук В. О., Азиркіної І. М., Дибкової С. М., Гаркавенко В. М., Мех Н. В. впроваджені у роботу бактеріологічного відділу ЗРДЛДПСС та використовуються при визначенні чутливості штамів *Staphylococcus aureus* до антибактеріальних препаратів (АБП). Автори описують методи визначення чутливості штамів *Staphylococcus aureus* до АБП (диско-дифузійний метод та метод мікророзведень (референтний) у бульйоні для визначення показника мінімальних інгібуючих концентрацій АБП).

В методичних вказівках також описані механізми резистентності *Staphylococcus spp.*, в т.ч. *Staphylococcus aureus*, до антибактеріальних препаратів. Серед ізолятів з набутою резистентністю є метицилінрезистентні штами *Staphylococcus aureus* (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* – MRSA), методи визначення яких, автори врахували при розробці методичних.

Акт розглянуто та схвалено на засіданні ЗРДЛВМ протокол № 2 від 30.07.2020 року.

Підписи:

- |    |  |             |
|----|--|-------------|
| 4. |  | Шевчук Р.М. |
| 5. |  | Сухар І.О.  |
| 6. |  | Рисан Л.І.  |

ЗАТВЕРДЖУЮ  
 Директор  
 Регіональної державної лабораторії  
 Держпродспоживслужби в  
 Полтавській області  
 Я.С. Аранчій  
 \_\_\_\_\_ 2020 року



### АКТ про впровадження

Ми, що нижче підписалися, Регіональної державної лабораторії Держпродспоживслужби в Полтавській області (далі РДЛДПСС в ПО): заступник директора О.О. Ісаєва, завідувач бактеріологічного відділу М. А. Семенко, лікар бактеріологічного відділу Н.О. Кришталь, склали даний АКТ про те, що «Методичні вказівки. Сучасні методи визначення чутливості та виявлення набутих механізмів резистентності *Staphylococcus aureus* до антибактеріальних препаратів» авторів Гаркавенко Т. О., Козицької Т. Г., Горбатюк О. І., Андріяшук В. О., Азиркіної І. М., Дибкової С. М., Гаркавенко В. М., Мех Н. В. впроваджені у роботу бактеріологічного відділу ЗРДЛДПСС та використовуються при визначенні чутливості штамів *Staphylococcus aureus* до антибактеріальних препаратів (АБП). Автори описують методи визначення чутливості штамів *Staphylococcus aureus* до АБП (диско-дифузійний метод та метод мікророзведнь (референтний) у бульйоні для визначення показника мінімальних інгібуючих концентрацій АБП).

В методичних вказівках також описані механізми резистентності *Staphylococcus spp.*, в т.ч. *Staphylococcus aureus*, до антибактеріальних препаратів. Серед ізолятів з набутою резистентністю є метицилінрезистентні штами *Staphylococcus aureus* (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* – MRSA), методи визначення яких, автори врахували при розробці методичних.

Акт розглянуто та схвалено на засіданні РДЛДПСС в ПО протокол № 1 від 13 липня 2020 року.

**Підписи:**

- |          |               |
|----------|---------------|
| 1. _____ | О.О. Ісаєва   |
| 2. _____ | М.А. Семенко  |
| 3. _____ | Н.О. Кришталь |

ЗАТВЕРДЖУЮ



Директор  
Херсонської регіональної державної  
лабораторії Держпродспоживслужби,  
В.В. Дериведмідь

«28 липня» 2020 року

АКТ

### про впровадження

Ми, що нижче підписалися, фахівці Херсонської регіональної державної лабораторії Держпродспоживслужби (далі Херсонської РДЛДПСС): завідувач бактеріологічного відділу Іванінська Н.Ю., завідувач відділу ветеринарно-санітарної експертизи Колеснік В.І., провідний лікар ветеринарної медицини бактеріологічного відділу Афанасьєва Н.О., склали даний акт про те, що «Методичні вказівки. Сучасні методи визначення чутливості та виявлення набутих механізмів резистентності *Staphylococcus aureus* до антибактеріальних препаратів» авторів: Гаркавенко Т. О., Козицької Т. Г., Горбатюк О. І., Андріяшук В. О., Азиркіної І. М., Дибкової С. М., Гаркавенко В. М., Мех Н. В., впроваджені у роботу бактеріологічного відділу Херсонської РДЛДПСС та використовуються при визначенні чутливості штамів *Staphylococcus aureus* до антибактеріальних препаратів (АБП).

Автори описують методи визначення чутливості штамів *Staphylococcus aureus* до АБП (диско-дифузійний метод та метод мікророзведень (референтний) у бульйоні для визначення показника мінімальних інгібуючих концентрацій АБП).

В методичних вказівках також описані механізми резистентності *Staphylococcus spp.*, в т.ч. *Staphylococcus aureus*, до антибактеріальних препаратів. Серед ізолятів з набутою резистентністю є метицилінрезистентні штами *Staphylococcus aureus* (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* – MRSA), методи визначення яких, автори врахували при розробці методичних вказівок.

Акт розглянуто та схвалено на засіданні Херсонської РДЛДПСС протокол № 7 від 28 липня 2020 року.

Підписи:

1. \_\_\_\_\_ Н.Ю. Іванінська
2. \_\_\_\_\_ В.І. Колеснік
3. \_\_\_\_\_ Н.О. Афанасьєва