

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Біологічний факультет

**Кафедра фізіології, імунології і біохімії з курсом
цивільного захисту та медицини**

Кваліфікаційна робота

магістра

на тему: **НОСІЙСТВО АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНИХ ШТАМІВ**

***KLEBSIELLE PNEUMONIAE* СЕРЕД ДИТЯЧОГО НАСЕЛЕННЯ**

М.ЗАПОРІЖЖЯ

Виконав: студент 2 курсу, групи 8.0912-б-дн
спеціальності 091 Біологія

освітньої програми Біологія

В. В. Омельченко

Керівник д.б.н., проф. О. Г. Куц

Рецензент к.б.н., доц. Є. Ю. Гороховський

Запоріжжя – 2024

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Факультет біологічний

Кафедра фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та
медицини

Рівень вищої освіти магістр

Спеціальність 091 Біологія

Освітня програма Біологія

ЗАТВЕРДЖУЮ

Зав. кафедри О. Г. Куш

«_____» _____ 2022 р.

**ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТУ**

Віктору Валерійовичу Омельченко

1. Тема роботи Носійство антибіотикорезистентних штамів *Klebsiella pneumoniae* серед дитячого населення м.Запоріжжя

керівник роботи Оксана Георгіївна Куш, д.б.н., професор

затверджена наказом вищого навчального закладу від «01» травня 2023 р. №644-с

2. Строк подання студентом роботи березень 2024 року

3. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) 1. Проаналізувати загальну резистентність штамів *Klebsiella pneumoniae* виділених у дітей. 2. Проаналізувати резистентність штамів *Klebsiella pneumoniae* виділених у дітей зі слизової оболонки дихальних шляхів. 3. Проаналізувати резистентність штамів *Klebsiella pneumoniae* виділених у дітей з калу.

4. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень) Табл. 3.1-3.4 Загальна антибіотикочутливість штамів *Kl. pneumoniae* виділених у 2023 році

5. Консультанти розділів роботи

Розділ	Консультант	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
4	д.б.н., проф. Куш О.Г.		

7 Дата видачі завдання _____

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Підбір та аналіз літературних джерел за темою кваліфікаційної роботи. Підбір методів дослідження	Жовтень – грудень 2022	Виконано
2	Оформлення розділу «Огляд наукової літератури».	Грудень 2022 – січень 2023	Виконано
3	Оформлення розділу «Матеріали та методи дослідження»	Січень – лютий 2023	Виконано
4	Формування розділу «Охорона праці»	Березень – квітень 2023	Виконано
5	Формування та поповнення бази даних експериментального дослідження	Квітень - травень 2023	Виконано
6	Статистичний аналіз та інтерпретація експериментальних даних	Вересень – жовтень 2023	Виконано
7	Формування розділу «Експериментальна частина»	Листопад 2023	Виконано
8	Оформлення та попередній захист кваліфікаційної роботи	Грудень 2023	Виконано

Студент _____

В.В. Омельченко

Керівник роботи _____

О.Г. Куш

Нормоконтроль пройдено

Нормоконтролер _____

Є.Ю. Гороховський

РЕФЕРАТ

Робота викладена на 45 сторінках друкованого тексту, містить 4 таблиці, 3 рисунки. Список літератури включає 49 джерел, в тому числі іноземною мовою 35 джерел.

Матеріалом дослідження були бактеріальні посіви які були отримані у дітей віком від 1 до 17 років. Протягом 2023 року були отримано 121 ізоляти від 96 дітей. Метою роботи було визначити особливості антибіотикорезистентності серед дітей м.Запоріжжя. Методи дослідження: бактеріологічні(окраска по Граму, біохімічна ідентифікація *Klebsiella pneumoniae*, диско-дифузійний метод (для визначення антибіотикорезистентності)

Аналізуючи результати антибіотикограм відмічаємо наступну тенденцію резистентність до антибіотиків групи пеніциліну(амоксицилін/ клавулонова кислота) відмічаємо в 77,5% серед виявлених випадків; резистентність до цефалоспоринів(цефтазидим, цефтріаксон, цефепім) відмічається відповідно в 31,7%, 32,4% 31.1% випадків; резистентність до аміноглікозидів (амікацин, тобраміцин) відмічається відповідно 29,6%, 34,1%; резистентність до карбопенемів (меропенем) відмічається в 17%

Новизна робота полягає у визначенні теперішнього стану антибіотикорезистентності у дітей, з подальшим можливим аналізом щодо раціонального призначення антибіотиків

Теоретичне значення: доповнені дані щодо резистентності штамів *Kl. pneumoniae* у дітей м.Запоріжжя

КЛЮЧОВІ СЛОВА: АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНІСТЬ, АНТИБІОТИКИ, KLEBSIELLA, ДИСКО-ДИФУЗІЙНИЙ МЕТОД

Abstract

The work is presented on 45 pages of printed text, contains 4 tables, 3 images. The bibliography includes 49 sources, including 35 sources in a foreign language.

The research material was bacterial cultures obtained from children aged 1 to 17 years. During 2023, 121 isolates from 96 children were obtained. The aim of the work was to determine the characteristics of antibiotic resistance among children in Zaporozhye. Research methods: bacteriological (Gram staining, biochemical identification of *Kl. pneumoniae*, disk diffusion method (to determine antibiotic resistance))

Analyzing the results of antibioticograms, we note the following trend: resistance to antibiotics of the penicillin group (amoxicillin/clavulonic acid) is noted in 77.5% of the identified cases; resistance to cephalosporins (ceftazidime, ceftriaxone, cefepime) is noted in 31.7%, 32.4% and 31.1% of cases, respectively; resistance to aminoglycosides (amikacin, tobramycin) is noted in 29.6%, 34.1%, respectively; resistance to carbopenems (meropenem) is noted in 17%

The novelty of the work consists in determining the current state of antibiotic resistance in children with a further possible analysis of the rational prescription of antibiotics

Theoretical significance: supplemented data on the resistance of *Kl.pneumoniae* strains in children of Zaporozhye

KEYWORDS: ANTIBIOTICRESISTANCE, ANTIBIOTICS, KLEBSIELLA, DISK DIFFUSION METHOD

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ	10
ВСТУП.....	11
1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	15
1.1. Вивчення <i>Klebsiella pneumoniae</i>	15
1.2. Мікробіологічна характеристика <i>Klebsiella pneumoniae</i>	15
1.3.Механізми антибіотикорезистентності.....	17
1.4. Антибіотикорезистентність <i>Klebsiella pneumoniae</i>	18
1.5. Вірулентність <i>Klebsiella pneumoniae</i>	20
1.5.1. Капсула і ліпополісахарид <i>Klebsiella pneumoniae</i>	21
1.5.2. Фактори адгезії.....	22
1.5.3.Система утилізації іонів трьохвалентного заліза(сидерофори).....	22
2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	24
2.1 Матеріали для дослідження.....	24
2.2. Методи досліджень.....	24
2.2.1. Виділення та біохімічна ідентифікація <i>Kl.pneumoniae</i>	24
2.3 Визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків.....	26
2.4. Методи статистичної обробки даних.....	28
3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	30
3.1.Аналіз чутливості штамів <i>Kl. pneumoniae</i> до антибактеріальних засобів виділених у 2023р.-загальний	31
3.2.Аналіз чутливості штамів <i>Kl. pneumoniae</i> до антибактеріальних засобів виділених зі слизової оболонки дихальних шляхів у 2023 році.....	31

3.3.Аналіз чутливості штамів <i>Kl. pneumoniae</i> до антибактеріальних засобів виділених з калу у 2023році.....	32
4.ОХОРОНА ПРАЦІ.....	34
ВИСНОВКИ.....	41
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	42
ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ.....	44

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ
І ТЕРМІНІВ

К1. - *Klebsiella*

АБ - антибіотики

КР – *Klebsiella pneumoniae*

ДІ – довірчий інтервал

ДДМ – диско-дифузійний метод

ВСТУП

Проблема антибіотикорезистентності стала одним із головних викликів, серед медичних працівників, ветеринарів та інших фахівців з інфекційного контролю в їхньому прагненні лікувати та запобігати інфекціям, спричиненим мікроорганізмами, які, як вважалося, колись були знищені антимікробними препаратами.

Ці організми або супербактерії повертаються у нових формах, стійких майже до всіх клінічно імпортованих антимікробних препаратів. На жаль, виробники нових антибактеріальних препаратів просто не мають достатньої кількості нових ліків, щоб встигати за розвитком стійких до ліків бактеріальних інфекцій.

Klebsiella pneumoniae є одним з таких клінічно значущих організмів, які викликають значну стурбованість у сфері охорони здоров'я. *Klebsiella pneumoniae* є важливою бактерією, вона вважається одним із умовно-патогенних мікроорганізмів, що викликає широкий спектр захворювань і все частіше набуває резистентності до антибіотиків[1-5].

На цей організм припадає близько третини всіх грамнегативних інфекцій, таких як інфекції сечовивідних шляхів, цистит, пневмонія, інфекції хірургічних ран, ендокардит і септицемія. Він також викликає некротичну пневмонію, абсцес печінки та ендогенний ендoftальміт [7,8].

Високий рівень смертності, тривала госпіталізація в поєднанні з високими витратами часто асоціюються з інфекціями, спричиненими цим мікроорганізмом. Різке зростання захворюваності на мультирезистентні та надзвичайно стійкі до ліків патогени, що належать до групи антибактеріальних препаратів, є серйозною економічною проблемою, оскільки ці збудники є поширеними природними мешканцями людського

організму Незважаючи на численні клінічні випадки, інформація про *Klebsiella pneumoniae* все ще залишається обмеженою.[15,18]

Мета роботи: дослідити антибіотикорезистентність *Kl. pneumoniae* серед дитячого населення м. Запоріжжя

Відповідно до мети роботи було сформульовано наступні завдання

1) Проаналізувати загальну резистентність штамів *Klebsiella pneumoniae* виділених у дітей.

2) Проаналізувати резистентність штамів *Klebsiella pneumoniae* виділених у дітей зі слизової оболонки дихальних шляхів.

3) Проаналізувати резистентність штамів *Klebsiella pneumoniae* виділених у дітей з калу.

Об'єкт дослідження: - отримані і вирощені на харчових середовищах культуральні штами *Kl. pneumoniae*

Предмет дослідження: чутливість *Kl. pneumoniae* до антибактеріальних препаратів

Методи дослідження:

-бактеріологічний(окраска по Граму, біохімічна ідентифікація *Kl. pneumoniae*, диско-дифузійний метод (для визначення антибіотикорезистентності) ;

- програмний – використовували для обробки даних кількості мікроорганізмів та визначання частки антибіотикорезистентності виділених мікроорганізмів за допомогою комп'ютерної програми.

Новизна робота полягає у визначенні теперішнього стану антибіотикорезистентності у дітей з подальшим можливим аналізом щодо раціонального призначення антибіотиків

Теоретичне значення: доповнені дані щодо резистентності штамів *Kl. pneumoniae* у дітей м. Запоріжжя

Практичне значення. Результати роботи можуть бути використані для аналізу призначень антибактеріальних препаратів у дітей з інфекціями викликаними *Kl. pneumoniae*

1. ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Вивчення *Kl.pneumoniae*

Вперше *K.pneumoniae* була вивчена К.Фріндлером при дослідженні матеріалу із легень пацієнтів які померли внаслідок пневмонії. Фріндлер в якості однієї з характерних особливостей визначив капсулу, яка в подальшому почала розглядатися як основний фактор патогенності і основою для серотипування. До 1886 року бактерія називалась паличкою Фріндлера, в подальшому вона отримала сучасну назву *Klebsiella pneumoniae*[4, 6, 7].

Kl. pneumoniae є умовно патогенним мікроорганізмом сапрофітної флори шлунково кишкового тракту людини. Деякі штами *Klebsiella pneumoniae* викликають тяжкі інфекційні захворювання такі як пневмонії, інфекції сечовивідних шляхів[3, 5].

Поява і поширення гіпервірулентних і антибіотикорезистентних штамів розширило спектр людей які можуть інфікуватись *Kl.pneumoniae*. Гіпервірулентні штами *Klebsiella pneumoniae* можуть інфікувати здорових людей і викликати менінгіт, ендoftальміт і інші інфекційні захворювання. В антибіотикорезистентних штамів КР в геном можуть бути включені гени резистентності, що робить їх стійкими до антибактеріальних препаратів[23].

1.2. Мікробіологічна характеристика КР

Klebsiella pneumoniae представляє собою еліпсоїдну грамнегативну бактерію у вигляді товстих коротких паличок розміром 0.3-0.6x1.5-6.0мкм з закругленими кінцями, не утворює спор, не має жгутиків, деякі штами мають

фібрії. Розташовуються поодинці, попарно. Оптимальною температурою росту є 35-37 С, рН 7.2. На твердих харчових середовищах утворюють SiR форми колонії. Являють собою хемоорганотрофами, оксидазо-негативними і каталазо позитивними бактеріями. Метаболізують сахарозу, мальтозу, лактозу D-манозу, саліцилін, трегалозу. КР відновлює нітрити до нітратів, утворює кислоту і газ (рис 1.1.)[17, 21, 23].

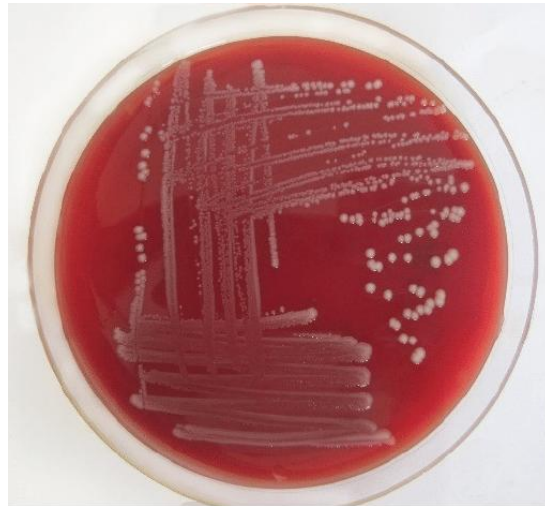


Рис 1.1.- Культура *Kl. pneumoniae* вирощена на кров'яному агарі[5]

Товщина клітинної стінки КР 14-18 нм, вона складається з двох шарів-пластичного і ригідного. Ригідний шар тонкий, він представлений одним або двома шарами пептидоглікана. Пластичний шар складається з ліпопротеїнів і ліпополісахаридів. Полісахариди клітинної стінки представлені О- і К-антигенами(капсульний полісахарид) На даний час описані біля 11 варіантів О-антигену і 82 варіанта К-антигену[14, 16, 17].

Характерною ознакою КР є здатність утворювати полісахаридну капсулу-одного із основного фактору вірулентності. Завдяки капсулі КР стійка в зовнішньому середовищі, довготривалий час може зберігатися в ґрунті, воді, предметах вжитку, фруктах, овочах, на шкірі, слизових оболонках. До факторів вірулентності КР також відносяться адгезивні структури-фібрії за допомогою яких відбувається адгезія до епітелію, сидерофори -зв'язують іони заліза в тканинах хазяїна[14, 19].

Klebsiella може виробляти термолабільний ентеротоксин, який за механізмом дії схожий на токсин ентерогенної кишкової палички. Цей токсин проявляє цитотоксичність і допомагає бактеріям потрапити в загальний кровотік. КР є умовно патогенним жителем шлунково-кишкового тракту здорової людини, але вона може переходити в категорію патогенних бактерій. Проникаючи в інші тканини, КР може викликати тяжкі інфекційні процеси-сепсис, остеомієліт, менінгіт, артрити. Найчастіше ці форми захворювання розвиваються у людей з ослабленою імунною системою[24, 25, 28.].

Крім вироблення факторів вірулентності спостерігається прогресуючий ріст числа штамів КР які стійкі до значного числа антибіотиків. В результаті цього навіть лікування легких інфекційних процесів викликаних КР потребує використання антибіотиків резерву[1,3].

1.3. Механізми антибіотикорезистентності

Резистентність мікроорганізмів до антибіотиків розділяють на природну і набуту. Природна стійкість характеризується відсутністю у мікроорганізму точки прикладання до дії антибіотика. Природна стійкість зумовлена властивістю антибіотика, або зумовлена властивостями данного виду чи роду мікроорганізмів. Для прикладу стійкість бактерій до протигрибкових засобів, грибів до антибактеріальних засобів. Набута резистентність формується в процесі відбору. Розрізняють первинну і вторинну стійкість[26, 29].

Первинна стійкість формується як результат мутації в окремих клітинах популяції до початку лікування антибактеріальними засобами.

Вторинна стійкість утворюється також внаслідок мутації але може зростати при контакті мікроорганізму з антибіотиками. Розвиток антибіотикорезистентності у всіх випадках обумовлено генетично через набуття нової генетичної інформації або внаслідок зміни регуляції експресії власних генів. Бактерії можуть передавати інформацію про резистентність до антибіотиків шляхом горизонтальної передачі генів (під час контакту однієї з другою). Одним із шляхів передачі інформації про стійкість до антибіотиків є плазмід. Плазмід представляють собою у вигляді невеликих кільцеподібних молекул ДНК, що існують окремо від хромосоми зі здатністю до реплікації. Плазмід включають в себе гени що відповідають за стійкість бактерії до чинників навколишнього середовища, а так як антибіотики є зовнішнім чинником, та гени стійкості можуть локалізуватися в плазмідах [26, 29, 32, 34].

Резистентність до певного антибіотика визначають R-плазмід. Мікроорганізми які стійкі до антибактеріальних засобів можуть відрізнятися від свої чутливих варіантів певними властивостями продукцією ферментів, швидкістю росту на харчових середовищах [29, 31, 33].

Антибіотикорезистентність до певних засобів або їх близьких груп є досить специфічною. R-плазмід можуть мати від одного і більше різних генів резистентності що робить мікроорганізм стійким до декількох лікарських засобів. Плазмід можуть бути кон'югативними, трансмісивними, можлива передача інформації не тільки в межах одного виду, але можна спостерігати щодо інших видів [28, 29].

1.4. Антибіотикорезистентність *Klebsiella pneumoniae*

Кількість антибактеріальних засобів які рекомендуються для лікування захворювань викликаних КР достатньо обширний: β -лактамі антибіотики(

пеніциліни, карбопенеми, цефалоспорини), монобактами, аміноглікозиди, фторхінолони, тетрацикліни. Існує багато факторів які сприяють розповсюдженню антибіотикорезистентних штамів, такі як нераціональне і неконтрольоване використання антибіотиків, повільна розробка нових препаратів. Клінічна штами мають високу стійкість до багатьох антибіотиків як використовуються. Набута резистентність виникає в процесі лікування і залежить від антимікробного препарату.[1, 7, 11, 15]

В-лактамі антибіотики займають провідне місце в лікуванні більшості інфекційних захворювань, викликаних КР. Наявність В-лактаміного кільця визначає антимікробну активність цих препаратів. Одним із поширених механізмів стійкості до β -лактаміних антибіотиків є вироблення ферментів β -лактамази які руйнують структуру β -лактаміного кільця. Вироблення β -лактамаз кодується на генетичному рівні. Більшість генів поширюється за допомогою плазмід між різними видами грамнегативних бактерій що сприяє швидкому поширенню резистентності[11, 15, 18].

За молекулярною структурою первинної амінокислотної послідовності і структури активного центру β -лактамази діляться на чотири молекулярні класи-А, В, С, D. Ферменти класів А,С, D являються гідролазами серинового типу(за амінокислотою, яка знаходиться в активному центрі ферменту), ферменти класа В являються металовмісними гідролазами в активному центрі якого знаходиться цинк[11, 12, 25].

Карбапенамаза класа А активно гідролізує пеніциліни, цефалоспорини, азтреонам, карбапенеми внаслідок цього терепавтичні можливості для лікування інфекцій викликаних штамми які містять цей фермент є обмеженими . Карбапенамази класа В - метало- β -лактамази вони гідролізують всі β -лактами, за виключенням азтреонама. До молекулярного класу С відносять ферменти-цефалоспоринази за їх активність по відношенню до цефалоспоринів. Клінічно значимими і широко поширеними карбапенамазами КР вважаються β -лактамази класа D сімейства ОХА(oxacilinase) В основному у ентеробактерій зустрічаються ОХА 48

подібні карбапенемази. ОХА-48 продукуючі штами гідролізують пеніциліни, цефалоспорини, карбопенеми[32, 35, 36].

1.5. Вірулентність КР

Вірулентність відображає ступінь патогенності не всіх видів в цілому а окремих його штамів. КР використовує великий набір засобів для того що вижити в організмі хазяїна. Фактори вірулентності вмикаються на основних етапах інфекційного процесу і захисту від імунної відповіді хазяїна. Вірулентність КР пов'язують з наявністю капсули, ЛПС, систими використання іонів трьохвалентного заліза (сидерофори) і синтезом фімбриальних білків адгезії. КР має ендотоксин, може синтезувати гемолізін, ентеротоксин, різного типу цитотоксини, серинові протеази[1-3, 25, 38].

1.5.1. Капсула і ліпополісахарид КР

Капсула є одним із найголовніших факторів вірулентності, характеризується антифагоцитарною активністю, захищає бактерію від взаємодії з антитілами, факторами комплементу. Безкапсульні штами КР значно менш вірулентні. Гіпервірулентні штами КР, продукують більш товсту капсулу, відносять до гіпермукоїдним. Капсула такого типу підвищує

патогенність КР. Полісахариди бактеріальної стінки КР представлені О антигенами(ЛПС) і К-антигенами(капсульний полісахарид).

ЛПС або ендотоксин є структурним компонентом грам негативних бактерій з його дією на організм пов'язують об'єктивні клінічна прояви інтоксикації. ЛПС забезпечує структурну цілісність бактеріальної клітини і захищає мембрану від агресивних впливів навколишнього середовища. Негативний заряд ЛПС підвищує загальний негативний заряд бактерії і стабілізує її мембрану. КР показує значну варіабельність в молекулярній структурі ліпіда А. Внаслідок мутацій в генах які кодують двокомпонентну сигнальну систему PmrAB/PhoPQ, відбувається модифікація ліпіда А. Оскільки дія багатьох антибіотиків направлена на пошкодження ліпіда А, поява модифікованого ліпіда А приводить до антибіотикорезистентності.

Мембрана грамнегативних бактерій містить пороутворюючі білки-порини які необхідні для пасивної дифузії гідрофільних молекул. Порини мають структуру тримерів які стабілізують гідрофобні взаємодії а також водородні і іонні зв'язки. КР містить три поринових білка на зовнішній мембрані: OmpK35, OmpK36, OmpK37. Вони грають важливу роль в проникненні антибіотика всередину клітини. При порушенні структури поринових каналів або їх повній втраті ефективність транспорту антибіотиків різко знижується, в результаті чого формується резистентність[1-7, 21-28].

1.5.2. Фактори адгезії

До адгезивних структур КР відносять фімбрії або пілі, 1 і 3 типу. Фімбрії забезпечують найбільший вклад в адгезію бактерії на тканинах людини, абіотичних поверхонь, а також сприяють формуванню біоплівки. Фімбрії 1 типу представляють собою тонкі нитевидні структури на

поверхні клітин. Фімбрії 3 типу представляють собою спіралевидні структури. Фімбрії 1 і 3 типу відіграють важливу роль в колонізації сечовивідних шляхів. Фімбрії беруть участь у формуванні біоплівки і прикріпленні до абіотичних поверхонь таким як катетери. Бактерії в біоплівках стають стійкими до антибіотиків за рахунок формування щільної тримерної структури, що дає можливість довгий час зберігатися у пацієнтів. У здорових людей фімбрії КР частково можуть взаємодіяти з клітинами імунної системи а саме з фагоцитами. В результаті цього запускається процес фагоцитозу який приводить до загибелі бактеріальної клітини[1-4, 23-27].

1.5.3. Система утилізації іонів трьохвалентного заліза(сидерофори)

Трьохвалентне залізо є обмеженим але необхідним ресурсом для метаболізму КР. Тому бактеріям необхідно виробляти структури, які можуть отримати залізо із організму хазяїна такі як сидерофори. Сидерофори мають високу спорідненість с залізом, чим білки транспортувальники хазяїна. Чим більше сидерофорів експресує бактерія, тим більш успішно пройде процес колонізації в організмі хазяїна. КР експресує такі сидерофори: ентеробактин, сальмохелін, ієрсинібактин, аеробактин. Саму високу спорідненість до заліза має ентеробактин, а саму низьку аеробактин. Ентеробактин синтезується практично всіма класичними і гіпервірулентними штамми КР. Ентеробактин нейтралізується ліпокаліном-2 це білок який синтезується багатьма клітинами в тому числі нейтрофілами, під час інфекційного процесу. Ліпокалін-2 пригнічує ріст бактерії, нейтралізуючи сидерофор і порушує можливість зв'язувати залізо. Ієрсинібактин був спочатку знайдений у представнику роду *Yersinia*, але потім був знайдений і в інших

бактерій. Ієрсинібактин експресується в основному в гіпервірулентних ізолятах КР.В поєднанні з ентеробактином він часто є при інфекціях дихальних шляхів і його активність не інгібується ліпокаліном-2. Аєробактин рідко синтезується класичними штамами КР. В основному він синтезується гіпервірулентними ізолятами, а його наявність завжди поєднується з гіперпродукцією капсули[1-5, 32-36].

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Матеріали для дослідження

З метою виконання поставлених завдань було вивчено динаміку колонізації слизових оболонок дихальних шляхів, калу

Дослідження проводилося на базі бактеріологічного відділення в КНМ «Міська дитяча лікарня№5» ЗМР. Протягом 2023 року були отримано 121 ізолят від 96 дітей. Бактеріальні посіви які були отримані у дітей віком від 1 до 17 років.

Об'єктом дослідження були отримані і вирощені на харчових середовищах культуральні штами *Kl.pneumoniae*

2.2 Методи досліджень

2.2.1 Виділення та біохімічна ідентифікація *Kl.pneumoniae*

Виділені штами від дітей були дослідженні у бактеріологічній лабораторії на базі КНП «Міська дитяча лікарня№ 5»ЗМР

Виділення та ідентифікацію *Kl.pneumoniae* проводили на основі загальних методів за культуральними, морфологічними,біохімічними властивостями.

Спочатку проводився первинний посів досліджувального матеріалу . кількісним методом на середовище Ендо. Посіви інкубували протягом 24 годин при температурі 37С.В подальшому колонії що вирости,оцінювали за морфологічними ознаками. З колоній робили препарати для мікроскопії , забарвлювали їх по методу Грама.

Далі саме для встановлення видової належності проводилося біохімічне типування а також дослідження на ферментативну активність

Тест на уреазу: принцип тесту заключається в здатності бактерії, яка має уреазу гідролізувати сечовину, утворюючи аміак та вуглекислоту, що приводе до зміни рН середовища до лужних показників. Візуально ми відмічаємо зміну кольору індикатора середовища з жовтого на малиновий. Для *Kl. Pneumoniae* характерний позитивний тест.

Тест на індол: багато видів мікроорганізмів мають властивість розщеплювати білок і пептони за допомогою ферменту триптофанази до продуктів глибокого розпаду в вигляді індолу. Індол утворюється при розщепленні триптофану. Для *Kl. pneumoniae* характерний негативний тест

Цитратний тест: для нього використовується спеціальне середовище Сімонса яка визначає властивість організму використовувати цитрат в якості єдиного джерела вуглецю і йони амонію в якості єдиного джерела азоту. Він використовується для диференціації грам негативних бактерій на основі утилізації цитрату. Візуально ми відмічаємо зміну кольору середовища з зеленого на синій. Для *Kl. pneumoniae* характерний позитивний тест.

Утилізація малонату: для проведення цього тесту використовується малонатний агар де єдиним джерелом вуглецю є малонат натрію і хлорид амонію в якості джерела амонію. Якщо організм здатний ферментувати такий субстрат то будуть вироблятися лужні продукти життєдіяльності. В середовищі є індикатор бром тимоловий синій, візуально ми бачимо зміну кольору середовища з зеленого на синій при позитивному результаті. Для *Kl. pneumoniae* характерний позитивний тест.

Тест на орнітин декарбоксилазу: використовується спеціальне середовище яке містить орнітин. Містить індикатор бромкрезол пурпуровий який змінює свій колір від фіолетового до жовтого при зміні рН. В склад середовища входить глюкоза після її ферментації утворюються кислі продукти за рахунок яких середовище змінюється на жовтий колір. В подальшому починається декарбоксилація амінокислоти в результаті реакції

утворюються лужні продукти які зміщують рН в лужну сторону що призводить до зміни забарвлення середовища на фіолетовий колір. Даний результат свідчить про позитивну реакцію на наявність ферменту. Якщо середовище залишилось жовтим кольором, значить мікроорганізм не містить ферменту для декарбоксілювання амінокислоти що входить до складу середовища. Для *Kl.pneumoniae* характерний негативний тест

Тест на декарбоксілювання лізину: принцип такий же як і на орнітин тільки в середовище додають лізин. Для *Kl.pneumoniae* характерний позитивний тест.

Тест на рухливість проводили за допомогою посіву уколом в м'ясопептононному желатину *Kl. pneumoniae* не здатна до руху тому ріст йде тільки по ходу вколу.

2.3 Визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків.

Для визначення чутливості *Kl. pneumoniae* використовувався диско дифузійний метод(рис.2.1.). Метод базується на здатності антибіотиків дифундувати з просочених ними дисків в харчове середовище і пригнічувати ріст бактерій посіяних на поверхні агару. Чутливість штамів *Kl. pneumoniae* визначали на середовищі Мюллера-Хінтона. Щільне харчове середовище готували згідно інструкції виробника, розливали в чашки Петрі, попередньо виставив на горизонтальну поверхню.

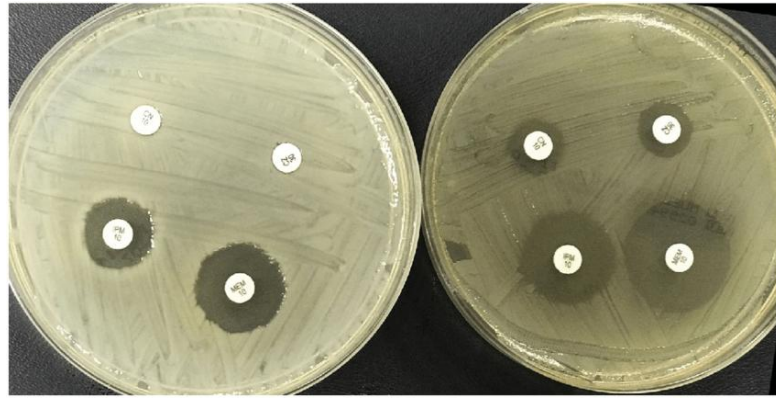


Рис.2.1 Диско-дифузійний метод[8]

Приготування бактерійної суспензії і інокуляція.

При визначенні чутливості ДДМ використовували стандартний інокулюм що відповідає 0.5 за стандартом МакФарланда. Для інокуляції чашок з агаром використовували стерильний ватний тампон який занурювали у підготовлену суспензію мікроорганізму. Інокуляцію проводили штриховими рухами у трьох напрямках.

На поверхню харчового середовища наносили диски з антибіотиком. Аплікацію диска проводили за допомогою стерильного пінцета. Відстань між диском і краєм чашки була 15-20мм. Диски повинні були рівномірно контактувати з поверхнею агару.

Відразу після аплікації чашки Петрі поміщались в термостат догори дном і інкубували при температурі 37С протягом 24год

Облік результатів.

Після інкубації чашки помішали догори дном на темну поверхню так щоб світло падало приблизно під кутом 45. Діаметри зон вимірювали за допомогою штанген циркуля.

При визначенні антибіотикорезистентності можливий ряд помилок а саме: використання іншого, не Мюллер-Хінтон, харчового середовища; погане зберігання чашок; товщина середовища завелика або замала; нерівна інокуляція.

Оцінка чутливості *Kl. pneumoniae* проводилась до таких антибактеріальних засобів: пеніциліни (амоксицилін/клавулонова кислота),

цефалоспорини (цефтазидим, цефтріаксон, цефепім), аміноглікозиди (амікацин, тобраміцин), карбопенени (меропенем)

Інтерпретація результатів чутливості проводилась згідно наказу №167 Про затвердження методичних вказівок « Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів»

Таблиця 2.1. Критерії інтерпретації результатів визначення чутливості [49]

Антибактеріальні препарати	Вміст у диску мкг	Діаметер зон пригнічення росту, мм		
		Р	П	Ч
1	2	3	4	5
Амоксицилін/клавулонова кислота	20/10	≤13	14-17	≥18
Цефтазидим	30	≤14	15-17	≥21
Цефтріаксон	30	≤13	14-20	≥21
Цефепім	30	≤14	15-17	≥18
Амікацин	30	≤14	15-16	≥17
Тобраміцин	10	≤12	13-14	≥15
Меропенем	10	≤13	14-15	≥15

2.4 Методи статистичної обробки

Результати дослідження статистично обробляли із використанням пакету прикладних програм Microsoft XP «Excel» Статистичну обробку проводили за допомогою довірчого інтервалу.

Довірчий інтервал є одним із видів інтервальної оцінки, яку вираховують за даними спостереження. Це інтервал, в межах якого з встановленою довірчою імовірністю можна очікувати значення оцінюваної величини

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

3.1. Аналіз чутливості штамів *Kl. pneumoniae* до антибактеріальних засобів виділених у 2023р.-загальний

Протягом 2023 року на базі бактеріологічного відділення було отримано 126 ізолятів *Kl. pneumoniae*. На рис (3.1) зображена оцінка антибіотикорезистентності *Kl. pneumoniae*.

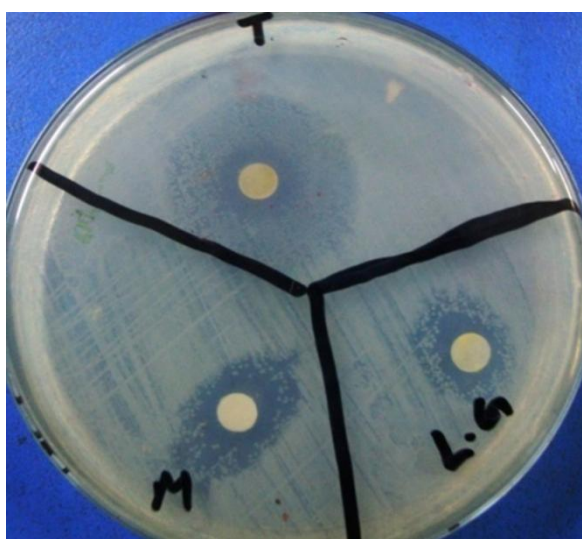


Рис.3.1 Оцінка резистентності *Kl. pneumoniae*

Таблиця 3.1-Загальна антибіотикочутливість штамів *Kl. pneumoniae* виділених у 2023 році (загальна кількість ізолятів -126)

Антибіотик	Ступінь чутливості	Чутливість,%	ДІ 95 %
1	2	3	4
Амоксицилін/клавулонова кислота	Абс. к-кість	N=40	
	Ч	22,5	11,3-34,2
	П	0	
	Р	77,5	65,8-88,7
Цефтазидим	Абс. к-кість	N=98	

Продовження таблиці 3.1

1	2	3	4
	Ч	68,3	53,1-79,8
	П	0	
	Р	31,7	21,2-46,9
Цефтріаксон	Абс. к-кість	N=68	
	Ч	64,7	52,4-75,1
	П	2,9	
	Р	32,4	25,9-47,6
Цефепім	Абс. к-кість	N=97	
	Ч	64,9	55,1-71,2
	П	4,1	
	Р	31,1	29,8-44,9
Амікацин	Абс. к-кість	N=98	
	Ч	70,4	60,2-79,4
	П	0	
	Р	29,6	21,6-39,8
Тобраміцин	Абс. к-кість	N=88	
	Ч	65,9	54,3-72,8
	П	0	
	Р	34,1	27,2-45,7
Меропенем	Абс. к-кість	N=97	
	Ч	72,1	64,5-88,1
	П	0	
	Р	17,0	11,9-35,5

Примітки:

- 1.Ч-чутливі штами;
- 2.П-помірно чутливі штами;
- 3.Р-резистентні штами
- 4.ДІ-довірчий інтервал

Аналізуючи результати данної таблиці ми відмічаємо що резистентність штамів *Kl. pneumoniae* в такій тенденції до амоксицилін/клавулонова кислота в 77,5% (ДІ 95% 65,8-88,7%) до антибіотиків групи цефалоспоринів: цефтазидим в 31,7% (ДІ 95% 21,2-46,9

%), цефтріаксон в 32,4% (ДІ 95% 25,9-47,6%), цефепім в 31,1 % (ДІ 95% 29,8-44,9%), до аміноглікозидів: амікацин в 29,6% (ДІ 95% 21,6-39,8 %), тобраміцин в 34,1% (ДІ 95% 27,2-45,7%), до карбопенемів: меропенем в 17% (ДІ 95% 11,9-35,5%)

3.2. Аналіз чутливості штамів *Kl. pneumoniae* до антибактеріальних засобів виділених зі слизової оболонки дихальних шляхів

Протягом 2023 року на базі бактеріологічного відділення було отримано 46 ізолятів *Kl. pneumoniae*

Таблиця 3.2. Антибіотикочутливість штамів *Kl. pneumoniae* виділених зі слизової оболонки дихальних шляхів (загальна кількість ізолятів - 46)

Антибіотик	Ступінь чутливості	Чутливість, %	ДІ 95%
1	2	3	4
Амоксицилін/клавулонова кислота	Абс. к-кість	N=17	
	Ч	11,8	2,1-37,7
	П	0	
	Р	88,2	62,3-97,9
Цефтазидим	Абс. к-кість	N=32	
	Ч	59,4	40,8-75,8
	П	3,1	
	Р	37,5	21,7-56,3
Цефтріаксон	Абс. к-кість	N=21	
	Ч	57,1	34,4-77,4
	П		
	Р	42,9	22,6-65,6
Цефепім	Абс. к-кість	N=32	
	Ч	56,3	37,9-73,2
	П	6,3	
	Р	37,5	21,7-56,3
Амікацин	Абс. к-кість	N=33	
	Ч	66,7	48,1-81,4
	П	0	

Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4
	Р	33,3	18,6-51,9
Тобраміцин	Абс. к-кість	N=28	
	Ч	57,1	37,4-75,0
	П	0	
	Р	42,9	25,0-62,6
Меропенем	Абс. к-кість	N=33	
	Ч	66,7	48,1-81,4
	П	0	
	Р	33,3	16,2-48,9

Аналізуючи результати данної таблиці ми відмічаємо що резистентність штамів *Kl. pneumoniae* в такій тенденції до амоксицилін/клавулонова кислота в 88,2% (ДІ 95% 62,3-97,9%) до антибіотиків групи цефалоспоринів: цефтазидим в 37,5%(ДІ 95% 21,7-56,3%), цефтріаксон в 42,9% (ДІ 95% 22,6-62,6%), цефепім в 37,5 % (ДІ 95% 21,7-56,3%), до аміноглікозидів: амікацин в 33,3% (ДІ 95% 18,6-51,9 %), тобраміцин в 42,9% (ДІ 95% 25,0-62,6%), до карбопенемів: меропенем в 33,3 %(ДІ 95% 16,2-48,9%)

3.3.Аналіз чутливості штамів *Kl. pneumoniae* до антибактеріальних засобів виділених з калу

Протягом 2023року на базі бактеріологічного відділення було отримано 75 ізолятів *Kl. pneumoniae*

Таблиця 3.3. Антибіотикочутливість штамів *Kl. pneumoniae* виділених з калу (загальна кількість ізолятів-75)

Антибіотик	Ступінь чутливості	Чутливість, %	Ді 95 %
1	2	3	4
Амоксицилін/клавулонова кислота	Абс. к-кість	N=23	
	Ч	30,4	14,1-53,0
	П	0	-
	Р	69,6	47,0-85,9
Цефтазидим	Абс. к-кість	N=66	
	Ч	72,7	60,2-82,6
	П	0	
	Р	27,3	17,4-39,8
Цефтріаксон	Абс. к-кість	N=47	
	Ч	68,1	52,7-80,5
	П	2,1	
	Р	29,8	17,8-45,1
Цефепім	Абс. к-кість	N=65	
	Ч	69,2	56,4-79,8
	П	3,1	
	Р	27,7	17,7-40,4
Амікацин	Абс. к-кість	N=65	
	Ч	72,3	59,6-82,3
	П	0	
	Р	27,7	17,7-40,4
Тобраміцин	Абс. к-кість	N=60	
	Ч	70	56,6-80,8
	П	0	
	Р	30	19,2-43,4
Меропенем	Абс. к-кість	N=64	
	Ч	75	62,3-84,6
	П	0	
	Р	25	15,4-37,7

Аналізуючи результати данної таблиці ми відмічаємо що резистентність штамів *Kl. pneumoniae* в такій тенденції до амоксицилін/клавулонова

кислота в 69,6% (ДІ 95% 47,0-85,9%) до антибіотиків групи цефалоспоринів: цефтазидим в 27,3%(ДІ 95% 17,4-39,8%), цефтріаксон в 29,8% (ДІ 95% 17,8-45,1%), цефепім в 27,7 % (ДІ 95% 17,7-40,4%), до аміноглікозидів: амікацин в 27,7% (ДІ 95% 17,7-40,4 %) тобраміцин в 30% (ДІ 95% 19,2-43,4%) до карбопенемів: меропенем в 25 % (ДІ 95% 15,4-37,7%)

ОХОРОНА ПРАЦІ

Охорона праці є одним із важливих етапів при виконанні досліджень, з яким необхідно ознайомитись перед початком роботи так як це дозволяє уникнути травм, та нещасних випадків на робочому місці. Експериментальна частина моєї кваліфікаційної роботи полягає у вивченні чутливості штамів *Kl. pneumoniae* у дітей. З даної теми можна зрозуміти що в першу чергу потрібно працювати з поживними середовищами які містять на собі культури мікроорганізмів, також несе небезпеку біологічний матеріал для розсівання на чашки, тому необхідний захист від різних біологічних рідин, над якими проводиться дослід. Також ми працюємо з електроприладами, скляним посудом, що можуть нести небезпеку для здоров'я

Дослідження проводилися на базі бактеріологічної лабораторії в КНП «Міська дитяча лікарня №5» ЗМП

Перед початком роботи зі мною був проведений інструктаж за інструкцією з охорони праці «Правила влаштування і безпеки роботи в лабораторіях мікробіологічного профілю» з реєстрацією у спеціальному журналі інструктажів при роботі в лабораторії. Інструктаж з охорони праці завершився усною перевіркою набутих знань, а також умінь і навичок безпечних прийомів роботи.

Під час проведення робіт в лабораторії на персонал можуть мати вплив різноманітні шкідливі та небезпечні виробничі фактори:

-біологічні (мікроорганізми: віруси, бактерії, найпростіші та ін., а також продукти їх метаболізму, макроорганізми: людина, тварини і продукти їх метаболізму; культури клітин і тканин, генетичні фрагменти, діагностичні засоби тощо)

-хімічні (дезінфекційні засоби, різноманітні реактиви, алергогени , сенсibiliзуючі, речовини які викликають подразнення, мають канцерогенний вплив, та інші речовини)

-механічні: обладнання яке використовується на виробництві(інструментарій , що працює під тиском, центрифуги, лабораторне скло, колючий інструментарій та ін.)

-людські (нервово-психічні, фізичні(перевантаження персоналу)

-пожежонебезпека

Приміщення мікробіологічних лабораторій, в яких проводять роботу, за рівнем небезпеки для працівників поділяється на дві зони «заразну» і «чисту». Перелік приміщень їх розташування, розташування обладнання мають забезпечувати поточність руху матеріал, над яким проводять дослідження[38,40].

Не дозволяється проводити в одному і тому ж приміщенні експериментальні і діагностичні дослідження ,а також одночасна робота з живими вакцинами і дагностичним матеріалом.

Дозволено проводити одночасну роботу з різними видами мікроорганізмів в одній бактеріологічній кімнаті, якщо є виробнича необхідність, при цьому біологічна безпека забезпечується виконанням стандартів ,які пред'являються до роботи з найбільшим небезпечним видом

На емкостях з посівами, повинно бути чітко написані назва культури, номер за яким зареєстровано, дата проведення посіву або пересіву.

По закінченню роботи з біологічним матеріалом, об'єкти з посівами переносяться у сховища(шафи,термостати,холодильники). Двері кімнати закриваються на замок. Проводяться дезінфекція робочого місця в приміщенні, проводиться обробка рук 70% етиловим спиртом. Проводиться вологе прибирання і вмикають на 60 хвилин бактерицидні лампи.

Заборонено залишати після закінчення роботи на відкритих місцях не об'єкти з посівами, незафіксовані мазки, які вміщують біологічний матеріал.

Дозволено залишати в боксах і на столах посуд надписаний але на якому не проведений посів , зробивши відповідну відмітку.

Всі заражені матеріали, зразки та культури перед видаленням з лабораторії повинно проводитися їх знезараження

Робочі приміщення в яких проводиться робота із біологічним матеріалом контролюються на наявність патогенних збудників 1 раз на місяць до початку роботи методом змивів.

Працівники лабораторії повинні вміти надавати першу допомогу працівникам при виникненні нещасного випадка або аварійних ситуацій[40, 41].

При проведенні бактеріологічних досліджень необхідно дотримуватися певний ряд правил.

Робочі приміщення в лабораторії повинні бути обладнані необхідним для роботи:газовий пальник або спиртівка, бактеріологічна петля, предметні та покривні скельця, банка з ватою, пінцет, ножиці, скальпель, склянки з дезрозчинами, склянки для відпрацьованих предметних скелець, невелика склянка з притертою кришкою для покривних скелець, фіксатори для мазків,сірники або запальничка, олівці, маркери для скла, дозатори, гумові груші зі шлангами, 70% спирт для обробки рук, пробірки з фізіологічним розчином. Стіл для мікроскопії бажано обладнати окремо.

Для фарбування мазків повинно бути обладнане спеціальне місце, на якому знаходиться спирт, набір фарб , таймер, пінцет, промивалку з дистильованою водою, кювет, та фільтрувальний папір.

Під час роботи з біологічним матеріалом та патогенними агентами необхідно дотримуватись наступних правил:

На початку роботи предмети які знаходяться на столі необхідно розмістити так, щоб середина стола була не зайнятою. Розчини для дезінфекції,для обробки рук, ємкість для піпеток, посудина для відходів мають бути справа від працівника на відстані, що робить можливим , не

встаючи з робочого місця, проводити обробку рук, занурювати в дезінфікуючий розчин піпетки й інший відпрацьований матеріал.

Спиртівка має бути в центрі стола, на відстані 30 см від його краю. Матеріал з посівами, незасіяні поживні середовища розташовують з лівого боку на одному рівні з пальником.

Культуру з поверхні агару збирають петлею, скляним, пластиковим або металевим шпателем.

Бактеріологічна петля має бути замкнута в кільце й мати плече довжиною не менше 6 см.

Знезараження бактеріологічної петлі проводиться наступним чином: повільно вводять у полум'я (починаючи з петлеутримувача), підсушують залишок матеріалу на ній, а потім вводять її в полум'я, проводячи прожарення до почервоніння по всій довжині. Необхідно контролювати, щоб не трапилось розповсюдження заразного матеріалу. Якщо петлю із залишками заразного матеріалу швидко ввести в полум'я, то він ззовні обвуглиться, може відскочити від петлі і впасти на стіл. В середині такого шматочка мікроорганізми повністю зберігаються. В таких випадках необхідно знайти цей шматочок і обробити дезінфікуючим розчином.

Засіяні чашки виймають з термостату в положенні паралельно поверхні підлоги або столу. Перевертати їх не дозволяється із-за ризику витікання конденсату.

При виникненні нещасних подій або аварій необхідно дотримуватись правил

В мікробіологічних лабораторіях повинна бути на випадок ліквідації наслідків аварії аптечка для термінової медичної допомоги. В аптеці повинні бути 70% спирт, перекис водню, йод, стерильна дистильована вода, набір антибактеріальних засобів специфічної дії, шприц для приготування розчинів антибіотиків, гумові рукавички, лейкопластир і додатковий матеріал.

В лабораторіях в яких проводиться дослідження біологічних агентів зі зміненими властивостями, повинен бути запас медикаментів для імунопрофілактики та антибактеріальних препаратів, які застосовуються при інфекційних захворюваннях, із збудниками яких працює лабораторія.

При виникненні аварії під час роботи з біологічним матеріалом (биття посуду, розприскування зі шприцу або піпетки, а також в усіх випадках, які приводять до забруднення заразним матеріалом, одягу, навколишніх предметів, або відкритих частин тіла працівників), персонал, який присутній на робочому місці, має негайно провести знезараження приміщення, обладнання і предметів, що могли бути заражені .

При виникненні поранень будь-якого ступеню, опіках, отруєнні постраждалому на місці проводять надання першої допомоги і госпіталізують його до медичної установи. При необхідності викликають лікаря на місце.[38-41]

Особливості надання першої допомоги:

При забрудненні заразним матеріалом: ділянки тіла які є відкритими обробляють за допомогою 70% етилового спирту. У випадку потрапляння інфекційного матеріалу на слизові оболонки: рот прополіскують 0.5% розчином соди.

При незначних травмах необхідно забезпечити постраждалому органу спокій і прикладати до нього холодний компрес.

При порізах заборонено доторкатися до рани руками або сторонніми предметами, шкіру навкруги рани змащують йодом, накладають стерильну пов'язку і забинтовують. Якщо рана великих розмірів потрібно направити до лікаря.

При опіках їдкими речовинами, що розчиняються у воді-швидко промивають місце опіку великою кількістю води. При потраплянні в очі кислоти або лугу- треба промити водою, осушити рушником, після цього звернутися за медичною допомогою. При потраплянні лугів або кислот на

одяг- проводиться нейтралізація ураженої ділянки водним розчином аміаку, соди, або кислоти[40].

Під час роботи в лабораторії необхідно дотримуватися правил протипожежної безпеки. У випадку виникнення пожежі, небезпеку необхідно забезпечити безпеку та евакуацію людей. Вимкнути від енергоживлення обладнання та прилади, та приступити до гасіння первинними засобами для пожежогасіння, у випадку неможливості, необхідно вийти з приміщення і щільно закрити двері для попередження притоку свіжого повітря.

По закінченню роботи повинні бути вимкнені всі прилади, та вимкнуте світло.

ВИСНОВКИ

1. Аналіз антибіотикорезистентності штамів *Kl. pneumoniae* виділених зі слизової оболонки дихальних шляхів відмічаємо в наступній тенденції: резистентність штамів *Kl. pneumoniae* в такій тенденції до амоксицилін/клавулонова кислота в 88,2% (ДІ 95% 62,3-97,9%) до антибіотиків групи цефалоспоринів: цефтазидим в 37,5%(ДІ 95% 21,7-56,3%), цефтріаксон в 42,9% (ДІ 95% 22,6-62,6%), цефепім в 37,5 % (ДІ 95% 21,7-56,3%), до аміноглікозидів: амікацин в 33,3% (ДІ 95% 18,6-51,9 %), тобраміцин в 42,9% (ДІ 95% 25,0-62,6%), до карбопенемів: меропенем в 33,3 %(ДІ 95% 16,2-48,9%)

2. Аналіз антибіотикорезистентності штамів *Kl. pneumoniae* виділених з калу відмічає що резистентність штамів *Kl. pneumoniae* склалася в такій тенденції до амоксицилін/клавулонова кислота в 69,6% (ДІ 95% 47,0-85,9%) до антибіотиків групи цефалоспоринів: цефтазидим в 27,3%(ДІ 95% 17,4-39,8%), цефтріаксон в 29,8% (ДІ 95% 17,8-45,1%), цефепім в 27,7 % (ДІ 95% 17,7-40,4%), до аміноглікозидів: амікацин в 27,7% (ДІ 95% 17,7-40,4 %) тобраміцин в 30% (ДІ 95% 19,2-43,4%) до карбопенемів: меропенем в 25 %(ДІ 95% 15,4-37,7%)

3. Узагальнюючи отримані результати резистентності виділених штамів *Kl. pneumoniae* виділених зі слизової оболонки дихальних шляхів та калу ми отримали такі показники :резистентність штамів *Kl. pneumoniae* в такій тенденції до амоксицилін/клавулонова кислота в 77,5% (ДІ 95% 65,8-88,7%) до антибіотиків групи цефалоспоринів: цефтазидим в 31,7% (ДІ 95% 21,2-46,9 %), цефтріаксон в 32,4% (ДІ 95% 25,9-47,6%), цефепім в 31,1 % (ДІ 95% 29,8-44,9%), до аміноглікозидів: амікацин в 29,6% (ДІ 95% 21,6-39,8 %), тобраміцин в 34,1% (ДІ 95% 27,2-45,7%), до карбопенемів: меропенем в 17% (ДІ 95% 11,9-35,5%)

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

На основі проведеного дослідження , можна надати наступні рекомендації, щодо запобігання поширеності резистентних штамів *Kl. pneumoniae* та доцільного вибору антибактеріальних засобів.

Для створення адекватної антибіотикотерапії необхідно проводити постійний моніторинг антибіотикочутливості *Kl. pneumoniae*

Враховуючи дані резистентності ми можемо визначити стартові антибактеріальні засоби у дітей з інфекціями викликаними *Kl. pneumoniae*. Необхідно переглядати даний перелік та змінювати в залежності від резистентності мікроорганізму, проводити так називаємий принцип ротації антибіотиків.

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. *Klebsiella pneumoniae*: an increasing threat to public health / C. Y. Effah et al. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 2020. Vol. 19, №. 1. doi.org/10.1186/s12941-019-0343-8
2. Mattos Areas A. P. *Klebsiella Pneumoniae* Infections: A Future Threat to Global Health?. *American Journal of Biomedical Science & Research*. 2022. Vol. 16, № 5. P. 551–554. doi.org/10.34297/ajbsr.2022.15.002273
3. *Klebsiella pneumoniae* and Its Antibiotic Resistance: A Bibliometric Analysis / Y. Li et al. *BioMed Research International*. 2022. Vol. 2022. P. 1–10. doi.org/10.1155/2022/1668789
4. Isolation, characterization, therapeutic potency, and genomic analysis of a novel bacteriophage vB_KshKPC-M against carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains (CRKP) isolated from Ventilator-associated pneumoniae (VAP) infection of COVID-19 patients / M. Mohammadi et al. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 2023. Vol. 22, №. 1. doi.org/10.1186/s12941-023-00567-1.
5. Samanta I., Bandyopadhyay S. *Klebsiella*. Antimicrobial Resistance in Agriculture. 2020. P. 153–169. doi.org/10.1016/b978-0-12-815770-1.00014-6.
6. Verma I., Semalty R., Gabrani R. Antibiotic-Resistant *Klebsiella pneumoniae* and Targeted Therapy. *Antimicrobial Resistance*. Singapore, 2022. P. 233–252. doi.org/10.1007/978-981-16-3120-7_9
7. Jasim S. T., Farhan A. S. Article Review : *Klebsiella pneumoniae*: Epidemiology, Virulence Factors and Treatment. *Journal of University of Anbar for Pure Science*. 2022. Vol. 14, №. 2. P. 5–10. doi.org/10.37652/juaps.2022.172338
8. Drug Resistance Genes and Molecular Epidemiological Characteristics of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* / Y. Liao et al. *Infection and Drug Resistance*. 2023. Volume 16. P. 1511–1519. doi.org/10.2147/idr.s399142.

9. Ashwini B. S., Anuradha K. Colistin Susceptibility in Drug Resistant Strains of *Klebsiella pneumoniae*. Indian Journal of Medical Microbiology. 2021. Vol. 39. P. S8. doi.org/10.1016/j.ijmmb.2021.08.027

10. Korniyuchuk O. P. Практична мікробіологія: Навчальний посібник С.І. Климнюк, І.О. Ситник, В.П. Широбоков; За заг. ред.: В.П. Широбокова, С.І. Климнюка. – Вінниця : Нова Книга, 2018. – 576 с.

11. Evolution and Epidemiology of Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* in the United Kingdom and Ireland / D. Moradigaravand et al. *mBio*. 2017. Vol. 8, №. 1. doi.org/10.1128/mbio.01976-16

12. The Characteristic of Virulence, Biofilm and Antibiotic Resistance of *Klebsiella pneumoniae* / G. Wang et al. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2020. Vol. 17, №. 17. P. 62-78. doi.org/10.3390/ijerph17176278

13. Wyres K. L., Lam M. M. C., Holt K. E. Population genomics of *Klebsiella pneumoniae*. Nature Reviews Microbiology. 2020. Vol. 18, №. 6. P. 344–359. doi.org/10.1038/s41579-019-0315-1 .

14. Antibiotic Resistance in the Environment / ed. by C. M. Manaia et al. Cham : Springer International Publishing, 2020. doi.org/10.1007/978-3-030-55065-3

15. Antibiotic Resistance and Epigenetics: More to It than Meets the Eye / D. Ghosh et al. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2019. Vol. 64, №. 2. doi.org/10.1128/aac.02225-19

16. Baquero F. Threats of antibiotic resistance: an obliged reappraisal. International Microbiology. 2021. doi.org/10.1007/s10123-021-00184-y

17. Impact factors of the accumulation, migration and spread of antibiotic resistance in the environment / Z. Lin et al. Environmental Geochemistry and Health. 2020. doi.org/10.1007/s10653-020-00759-0

18. Changes in antimicrobial resistance and demographics of UTIs in pediatric patients in a single institution over a 6-year period / B. Erol et al. Journal

of Pediatric Urology. 2018. Vol. 14, №. 2. P. 176.e1–176.e5. doi.org/10.1016/j.jpuro.2017.12.002

19. Antimicrobial resistance among children in Africa: need for paediatric clinical trials / P.-Y. Iroh Tam et al. Expert Review of Anti-infective Therapy. 2020. Vol. 18, №. 10. P. 955–956. doi.org/10.1080/14787210.2020.1782741 .

20. Wyres K. L., Holt K. E. *Klebsiella pneumoniae* as a key trafficker of drug resistance genes from environmental to clinically important bacteria. Current Opinion in Microbiology. 2018. Vol. 45. P. 131–139. doi.org/10.1016/j.mib.2018.04.004

21. Martin R. M., Bachman M. A. Colonization, Infection, and the Accessory Genome of *Klebsiella pneumoniae*. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2018. Vol. 8. doi.org/10.3389/fcimb.2018.00004

22. Lam Z., Condliffe A. M. Prekallikrein – an emerging therapeutic target for *Klebsiella pneumoniae* infection? †. The Journal of Pathology. 2020. Vol. 250, №. 4. P. 359–361. doi.org/10.1002/path.5382

23. *Klebsiella pneumoniae* infections in COVID-19 patients: a 2-month retrospective analysis in an Italian hospital / G. Arcari et al. International Journal of Antimicrobial Agents. 2021. Vol. 57, №. 1. P. 106-245. doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.106245 .

24. Sękowska A., Chudy M., Gospodarek-Komkowska E. Emergence of colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* in Poland. Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica. 2019. P. 1–5. doi.org/10.1556/030.66.2019.028 .

25. Mucoviscous characteristics of *Klebsiella pneumoniae* strains: A factor of clinical severity? / T. Fauvet et al. Médecine et Maladies Infectieuses. 2020. Vol. 50, №. 6. P. 500–506. doi.org/10.1016/j.medmal.2019.06.006 .

26. Characterization of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary hospital in Fuzhou, China / D. Chen et al. Journal of Applied Microbiology. 2020. Vol. 129, №. 5. P. 1220–1226. doi.org/10.1111/jam.14700 .

27. Rather M. A., Gupta K., Mandal M. Microbial biofilm: formation, architecture, antibiotic resistance, and control strategies. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2021. doi.org/10.1007/s42770-021-00624-x

28. Inhibitors of antibiotic resistance mechanisms: clinical applications and future perspectives / B. Parrino et al. *Future Medicinal Chemistry*. 2020. Vol. 12, №. 5. P. 357–359. doi.org/10.4155/fmc-2019-0326

29. Sharma A. K., Yadav M., Gupta G. K. *Medical Microbiology*. de Gruyter GmbH, Walter, 2022. 310 p.

30. Молекулярні аспекти виникнення резистентності бактерій до антибіотиків / Н. М. Поліщук, Т. Ю. Матильонок, Д. Л. Кирик, Ю. Л. Аліменко // *Modern scientific researches*. - 2021. - Iss. 16, Part 1. - С. 98-112. doi.org/10.30889/2523-4692.2021-16-01-001

31. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in China, 2016–20 / C. Liu et al. *The Lancet Infectious Diseases*. 2022. Vol. 22, №. 2. P. 167–168. doi.org/10.1016/s1473-3099(22)00009-3

32. Murray P. R., Pfaller M. A., Tenover F. C., Tenover J. C. *Medical Microbiology*. Elsevier, 2020. 872 p.

33. Tanner E. *Medical Microbiology*. FOSTER ACADEMICS, 2019. 227 p.

34. MD R. M. K., MD J. S. G. *Nelson Textbook of Pediatrics, 2-Volume Set*. Elsevier, 2019. P. 42-64.

35. Rebukha L. Methodology of scientific researches: methods of searching and processing of scientific information. *Academic Notes Series Pedagogical Science*. 2020. Vol. 1, №. 189. P. 59–62. doi.org/10.36550/2415-7988-2020-1-189-59-62

36. Tutchenko, T. M., Burka, O. A., Marfina, Y. A., Tarasiuk, T. Y., & Illiashenko, T. A. (2020). Antibiotic resistance markers are a necessary tool in many clinical areas. *Reproductive Endocrinology*, (56), 49–56. doi.org/10.18370/2309-4117.2020.56.49-56

37. *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Cronobacter, Serratia, Plesiomonas, and Selected Other Enterobacterales*. Color Atlas of Medical

Bacteriology. Hoboken, NJ, USA, 2020. P. 113–128.
doi.org/10.1128/9781683671077.ch12

38. Інструкція з охорони праці при користуванні електропобутовими приладами. Календар бухгалтера.
URL:<https://services.uteka.ua/ua/publication/zrazky-34-trudovi-vidnosyny-ta-oplata-pratsi-138-instrukciya-po-oxrane-truda-pri-polzovanii-elektrobytovykh-priborov>

39. Інструкція з охорони праці при роботі зі скляним лабораторним посудом та іншими виробами зі скла | Інструкції для навчальних закладів України. Інструкції для навчальних закладів України | Інструкції з охорони праці, техніки безпеки і пожежної безпеки. URL: <https://osvita-docs.com/node/286>

40. ДСП 9.9.5.-080-02. Правила влаштування і безпеки роботи в лабораторіях (відділах, відділеннях) мікробіологічного профілю (3108). ДНАОП - Нормативно-правова бібліотека інструкції документи. URL: https://dnaop.com/html/3108/doc-ДСП_9.9.5.-080-02

41. Голінько В.І. Основи охорони праці: підручник. 2-ге вид. Донецьк: НГУ, 2014. 271 с
Голінько В.І. Основи охорони праці: підручник. 2-ге вид. Донецьк: НГУ, 2014. 271 с.

42. Сучасні антибіотики та принципи раціональної антибіотикотерапії. Ч. 2 / В. С. Копча, М. А. Андрейчин, Ж. О. Ребенок [та ін.] // Інфекційні хвороби. – 2012. □ № 1 (67). – С. 64–75.

43. Антибіотикорезистентність умовно-патогенних мікроорганізмів: Актуальність, умови виникнення, шляхи подолання. L. V. Romaniuk та ін. *Інфекційні хвороби*. 2020. № 4. С. 63–71. doi.org/10.11603/1681-2727.2019.4.10965

44. Антибіотикорезистентність: проблема “тихої пандемії” / В. Петросова та ін. Науковий вісник Ужгородського університету. *Серія Біологія*. 2022. № 52. С. 59–66. doi.org/10.24144/1998-6475.2022.52.59-66

45.Гребенюк В. І. Антибіотикорезистентність. Проблеми, переспективи : thesis. 2022.

URL:<http://dspace.bsmu.edu.ua:8080/xmlui/handle/123456789/19693>

46.Гаморак Г. Антибіотикорезистентність бактерій: Вивчення причин формування та можливі шляхи їх подолання. *Vědaaperspektivy*. 2023. № 8(27). doi.org/10.52058/2695-1592-2023-8(27)-236-246

47.Гуманець К., Сухова В., Краснікова Л. Мікробіологічні особливості негоспітальної пневмонії. Стратегічні напрямки розвитку науки: Фактори впливутавзаємодії. 2020. doi.org/10.36074/22.05.2020.v2.12

48.Красій Н. І., Аналіз резистентності клінічних штамів *Klebsiellapneumoniae*, виділених у 2012 – 2015 рр. у ВАІТ Тернопільської університетської лікарні.Здобутки клінічної і експериментальної медицини: підсумкова LIX науково-практична конференція, 15 червня 2016 р.: зб. матеріалів конф., , Тернопіль. – С. 113

49.Наказ МОЗ України №167 від 05.04.2007 р. «Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів»

ДЕКЛАРАЦІЯ

про дотримання академічної доброчесності

здобувача ступеня вищої освіти ЗНУ

Я, Омельченко Віктор Валерійович, студент 2 курсу, денної форми навчання, факультету біологічного, спеціальність 091 Біологія, освітня програма Біологія, адреса електронної пошти viktor92med@ukr.net, підтверджую, що написана мною кваліфікаційна робота на тему «НОСІЙСТВО АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНИХ ШТАМІВ KLEBSIELLEPNEUMONIAE СЕРЕД ДИТЯЧОГО НАСЕЛЕННЯ М.ЗАПОРІЖЖЯ» відповідає вимогам академічної доброчесності та не містить порушень, що визначені у ст. 42 Закону України «Про освіту» зі змістом яких ознайомлений;

—заявляю, щонадана мною для перевірки електронна версія роботи є ідентичною її друкованій версії;

—згодний на перевірку моєї роботи на відповідність критеріям академічної доброчесності у будь-який спосіб, у тому числі за допомогою інтернет-системи, а також на архівування моєї роботи в базі даних цієї системи.

Дата _____ Підпис _____ ПІБ (студент) Омельченко В.В.

Дата _____ Підпис _____ ПІБ (науковий керівник) Куш О.Г.