

УДК 631: 616.2: 615.33

ЭТИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ И АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ОТДЕЛЬНЫХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ У РАБОТНИКОВ АГРОПРОМЫШЛЕННОГО КОМПЛЕКСА

Гизатуллина Л.Г.¹, Масягутова Л.М.¹, Бакиров А.Б.^{1,2}

¹ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», Уфа, Россия

²ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Уфа, Россия

Одной из актуальных проблем современной профпатологии является высокая распространенность болезней органов дыхания. Так, согласно данным ВОЗ, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), относящаяся к ведущим причинам роста заболеваемости и смертности взрослого населения во всем мире, наносит существенный экономический и социальный ущерб цивилизованному обществу. Кроме того, частые обострения ХОБЛ приводят к более быстрому прогрессированию заболевания, снижению качества жизни пациентов [1]. Одними из частых причин дестабилизации течения ХОБЛ являются вирусные и бактериальные возбудители, основным источником которых является флора верхних дыхательных путей. На микробный состав различных полостей организма влияют разнообразные факторы: чистота вдыхаемого воздуха, наличие пыли, химических и бактериальных загрязнений. Однако наибольшее воздействие оказывают заболевания, патогенез которых включает изменения физико-химических свойств эпителиальных поверхностей, и прием антимикробных препаратов. Хронический бронхит — заболевание, связанное с длительным воздействием неспецифических раздражителей (табачный дым и др.) на дыхательные пути, сопровождающееся гиперсекрецией слизи и воспалительно-дегенеративными изменениями бронхов и легочной ткани. Лишь в 1/2-2/3 случаев бактериальные и вирусные инфекции ответственны за обострения хронического бронхита [2, 3]. Другими причинами обострения заболевания могут быть аллергены, загрязнители атмосферного воздуха и т.д. В патогенезе бронхиальной астмы основная роль принадлежит аллергическому статусу микроорганизма, как и для ХОБЛ, одним из важных факторов являются инфекционные микроорганизмы.

Неблагоприятные производственные факторы у работников, занятых в условиях сельскохозяйственных предприятий, способствуют снижению естественной резистентности, размножению условно-патогенных микроорганизмов, заражению микроорганизмами, которые выделяют животные и имеют высокий риск проявления ими их патогенных свойств. Указанные факторы могут иметь важнейшее значение в развитии болезней органов дыхания у работников агропромышленного комплекса. Анализ и изучение чувствительности микроорганизмов, вызывающих болезни органов дыхания, к антибактериальным и противогрибковым препаратам находится в зоне пристального внимания специалистов практического здравоохранения и ученых [4].

Учитывая, что традиционная терапия обострений включает в себя применение широкого спектра антибиотиков, увеличивается риск формирования штаммов сапрофитных микроорганизмов, обладающих множественной лекарственной устойчивостью [5]. Так, рядом авторов установлена 100% резистентность золотистого стафилококка, выделенного из воздуха рабочей зоны животноводческих помещений, к препаратам клиндамицин, окситетрациклин, тетрациклин [6, 7].

Ключевые слова: *антибиотикорезистентность, агропромышленный комплекс, условно-патогенные бактерии, болезни органов дыхания.*

Для цитирования: Гизатуллина Л.Г., Масыгутова Л.М., Бакиров А.Б. Этиологическое значение и антибиотикочувствительность отдельных штаммов микроорганизмов, выделенных у работников агропромышленного комплекса. Медицина труда и экология человека. 2019;2:92-100

DOI: <http://dx.doi.org/10.24411/2411-3794-2019-10028>

ETIOLOGICAL SIGNIFICANCE AND ANTIBIOTIC SENSITIVITY OF CERTAIN STRAINS OF MICRO-ORGANISMS ISOLATED FROM AGRO-INDUSTRIAL WORKERS

Gizatullina L.G.¹, Masyagutova L.M.¹, Bakirov A.B.^{1,2}

1-Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, Russia

2 - FSBEI HE «Bashkir State Medical University» MZ RF, Ufa, Russia

One of the relevant problems of up-to-date occupational pathology is high prevalence of respiratory diseases. According to WHO, chronic obstructive pulmonary disease (COPD), which is one of the leading causes of increased morbidity and mortality rate in the adult population worldwide, causes significant economic and social damage to civilized society. Moreover, frequent exacerbations of COPD lead to a more rapid progression of the disease, reducing patients' quality of life. [1]. One of the common causes of destabilization of COPD course are viral and bacterial pathogens, the main source of which is the upper respiratory tract flora [2]. The microbial composition of various body cavities is influenced by diverse factors: purity of inhaled air, dust, chemical and bacterial contaminants. However, diseases whose pathogenesis includes changes in the physicochemical properties of epithelial surfaces and antimicrobial drugs have the greatest impact. Chronic bronchitis is a disease associated with prolonged exposure to nonspecific irritants (tobacco smoke, etc.) on the respiratory tract, accompanied by hypersecretion of mucus and inflammatory-degenerative changes in the bronchi and lung tissue. Only in 1/2-2/3 cases bacterial and viral infections are responsible for exacerbations of chronic bronchitis. Other causes of exacerbation of the disease may be allergens, air pollutants, etc. In the pathogenesis of bronchial asthma, the main role belongs to the allergic status of the microorganism, and as well as for COPD, infectious microorganisms are important factors.

Unfavorable occupational factors on agricultural workers contribute to a decrease in natural resistance, reproduction of opportunistic microorganisms, and infection by microorganisms that animals secrete and are at high risk of their pathogenic properties. These factors may be crucial in the development of respiratory diseases among agro-industrial workers [2,3]. Analysis and study of the sensitivity of microorganisms that cause respiratory diseases to antibacterial and antifungal drugs is the matter of concern for practitioners and scientists.

Taking into account that conventional therapy of exacerbations involves the use of a wide range of antibiotics, the risk of the formation of strains of saprophytic microorganisms with multi-drug resistance increases [4]. For example, a number of authors have established 100% resistance of Staphylococcus aureus isolated from the air of the working area of livestock buildings to clindamycin, oxytetracycline, tetracycline drugs [5,6].

Keywords: antibiotic resistance, agro-industrial complex, conditionally pathogenic bacteria, respiratory diseases.

For quotation: Gizatullina L.G., Masyagutova L.M., Bakirov A.B. Etiological significance and antibiotic sensitivity of certain strains of micro-organisms isolated from agro-industrial workers. Occupational health and human ecology. 2019;2:92-100.

DOI: <http://dx.doi.org/10.24411/2411-3794-2019-10028>

Цель.

Изучить и проанализировать видовое разнообразие микроорганизмов, выделенных у работников агропромышленного комплекса, и их антибиотикорезистентность.

Материалы и методы.

Микробиологические исследования проведены более 605 пациентам с заболеваниями органов дыхания, которые находились на стационарном лечении в клинике института, из них с хроническим бронхитом – 50,3%; с бронхиальной астмой — 25,8%; с ХОБЛ — 16,5%; с внебольничными пневмониями — 5,9%; с аллергическими ринитами — 1,5%. Средний возраст обследованных составил (56,7±1,3) лет.

Отбор и доставка проб в лабораторию проводились в соответствии с действующими нормативными документами [8]. Материалом для бактериологического исследования являлась свободно отделяемая мокрота. Исследованию подвергались только пробы мокроты, в которых при просмотре не менее 10 полей зрения при малом увеличении микроскопа выявлялось более 25 полиморфноядерных лейкоцитов и менее 10 эпителиальных клеток.

Отобранный биоматериал засеивался в каждом случае на оптимальный набор питательных сред для выделения микроорганизмов. Для выделения факультативно анаэробных и аэробных микроорганизмов посев осуществлялся на 5% кровяной агар, желточно-солевой агар, среду Эндо и Энтерококк агар количественным методом, инкубацию проводили в термостате при температурных режимах: 37°C и CO₂-инкубаторе (5% кровяной агар) и 28°C для выделения дрожжеподобных и плесневых грибов рода *Candida* (среда Сабуро) [9].

Культуры, которые были выделены, подвергались идентификации по культуральным, морфологическим и биохимическим свойствам с помощью стандартных методов (классические тесты) и с использованием коммерческих тест-систем: диагностические системы (Lachema, Чехия), наборы для идентификации, хромогенные среды (Himedia, Индия).

Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным и противогрибковым препаратам осуществлен стандартным методом исследования — диско-диффузным методом, где в качестве носителя АБП используется бумажный диск [10, 11].

Оценка чувствительности к антибактериальным и противогрибковым препаратам выполнена 360 выделенным чистым культурам микроорганизмов, с проведением контроля качества на каждом этапе исследований. Объектом изучения антибиотикорезистентности явились изолированные штаммы патогенов.

Использованы диски с антимикробными препаратами производства «HIMEDIA» (Индия) — азитромицин, кларитромицин, амикацин, цiproфлоксацин, цефотоксим, норфлоксацин, амоксициллин, левофлоксацин, цефипим, спарфлоксацин, имипенем, меронем, азтреонам, цефтазидим, амфотерицин, итраконазол, клотримазол, флюконазол и кетоконазол. Интерпретация результатов антибиотикочувствительности штаммов проведена согласно международным стандартам PSADST (Performance Standards for Antimicrobial Disc Susceptibility Test).

Результаты.

Изучение частоты высеваемости условно-патогенных бактерий у больных с заболеваниями органов дыхания профессиональной этиологии показало, что превалировала грамотрицательная флора — 40%, дрожжеподобные грибы — 36,6%, грамположительная флора составила 23,4%. Из них *Staph. aureus* — 20,6%, *St. pyogenes* — 14,1%, *Kl.pneumoniae* — 33,1%, *Ps.aeruginosa* — 11,6%, *C.albicans* — 20,6%. Было отмечено, что в период обострения и

стабильного течения ХОБЛ достоверно чаще выделялся *St.pyogenes*, а в период обострения — дрожжеподобные грибы *S.albicans*. Анализ микробиоты показал, что в возникновении заболеваний органов дыхания принимают участие как монокультуры, так и ассоциации различных микроорганизмов. Из 105 случаев выделения дрожжеподобных грибов рода *Candida* в пробах пациентов они встречались в виде монокультуры, в остальных пробах в виде микст-форм в сочетании со стафилококками, стрептококками и клебсиеллами.

Представляло определенный интерес изучить чувствительность к антибактериальным препаратам выделенных штаммов микроорганизмов.

90% выделенных стафилококков были чувствительны к цефотаксиму и спарфлоксацину; чувствительность к левофлоксацину, амикацину и цефипиму установлена у 60%. Наименьшую чувствительность стафилококк проявлял в отношении амоксициллина и цiproфлоксацина.

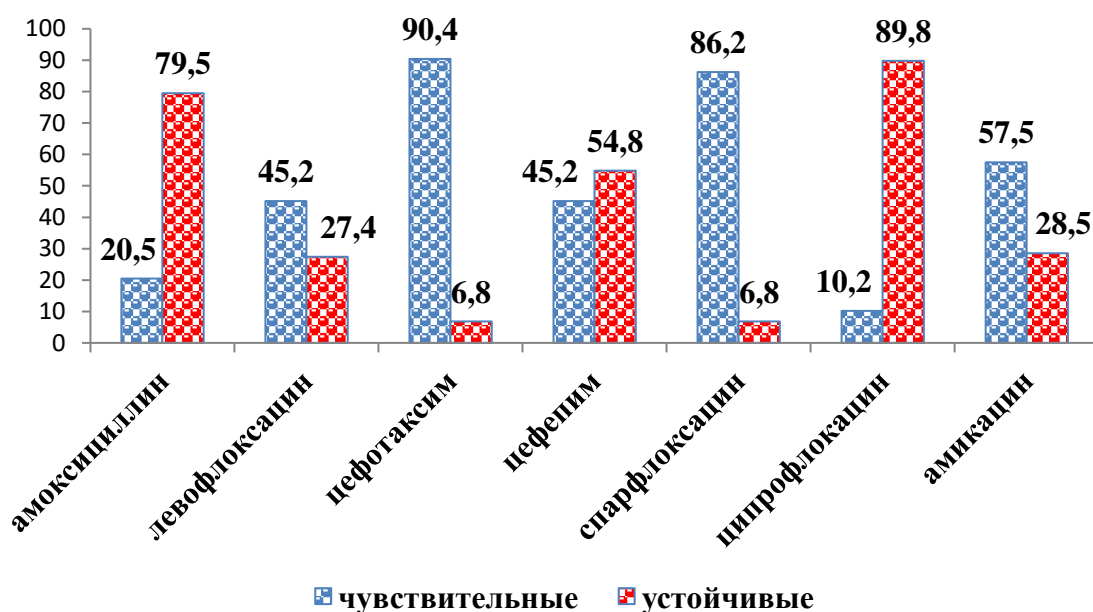
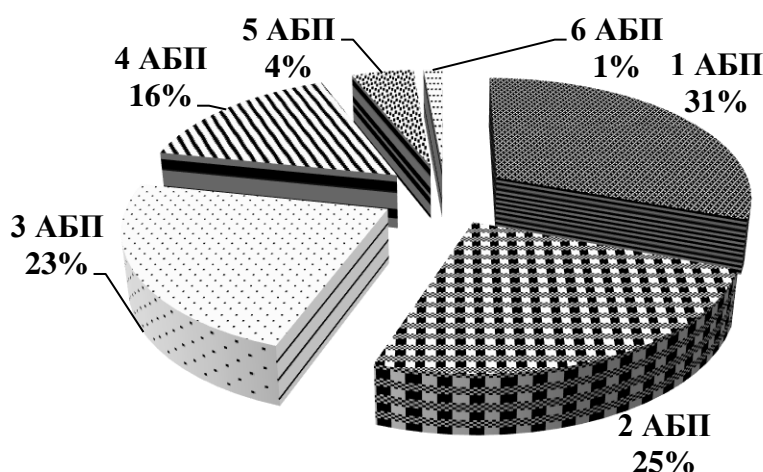


Рис. 1. Чувствительность *S. aureus* к различным антимикробным препаратам

Как видно из рисунка 1, наиболее эффективными антибактериальными препаратами в отношении штаммов золотистого стафилококка у пациентов изученной группы являются цефотаксим, спарфлоксацин, левофлоксацин. В качестве препаратов выбора можно рекомендовать цефалоспорины (цефотаксим) и фторхинолоны (спарфлоксацин и левофлоксацин), которые оказались не чувствительными к амоксициллину и цiproфлоксацину.

Дальнейший анализ продемонстрировал устойчивую динамику снижения чувствительности циркулирующих штаммов *Staph.aureus* к антибактериальным препаратам. Так, количество штаммов, резистентных к одному и более антибактериальным препаратам: 30% — к одному и двум антибактериальном препаратам, до 20% — к трем и четырем



антибактериальном препаратом, к пяти устойчивы до 5% выделенных штаммов и к шести -1,4% штаммов *Staph.aureus* (рис. 2).

Рис. 2. Количество штаммов *S.aureus*, резистентных к антибактериальным препаратам (АБП) (%)

Среди бактерий кишечной группы чувствительность определялась у штаммов *Klebsiella pneumoniae* — 29,3%. Чувствительность к цефотаксиму проявили до 90% штаммов, цефепиму и цiproфлоксацину — до 60%. Наименьшая чувствительность выделенных штаммов отмечена к амикацину (10%), меронему, азтреонаму и имипенему (3%).

Наиболее эффективными антибактериальными препаратами в отношении штаммов бактерий кишечной группы у пациентов изученной группы являются препараты цефотаксим, цефтриаксон, цiproфлоксацин и цефепим. В качестве препаратов выбора можно рекомендовать цефалоспорины третьего и четвертого поколения, резервные препараты хинолоны. Резистентность к одному препарату проявили до 25% штаммов, к трем препаратам до 20% штаммов, к пяти — до 2%, к семи — до 1% штаммов (рис. 3).

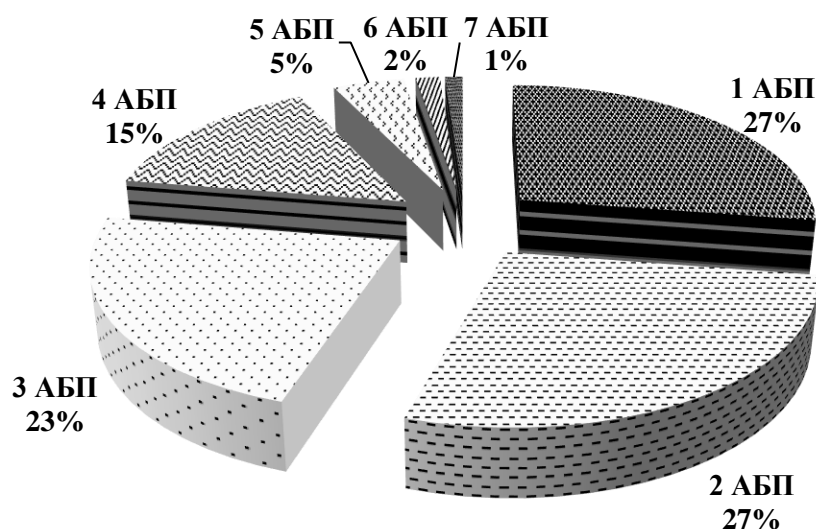


Рис. 3. Количество штаммов *Kl.pneumoniae*, резистентных к антибактериальным препаратам (АБП) (%)

В группе неферментирующих грамотрицательных микроорганизмов *Pseudomonas aeruginosa* обнаружили в 4% случаев. Штаммы *Ps. aeruginosa* в 90% обладали чувствительностью к цефепиму и цефтазидиму, в 50% — к имипенему и цiproфлоксацину. Наименьшую чувствительность штамм *Ps.aeruginosa* проявил к амикацину — менее 4% (рис. 4).

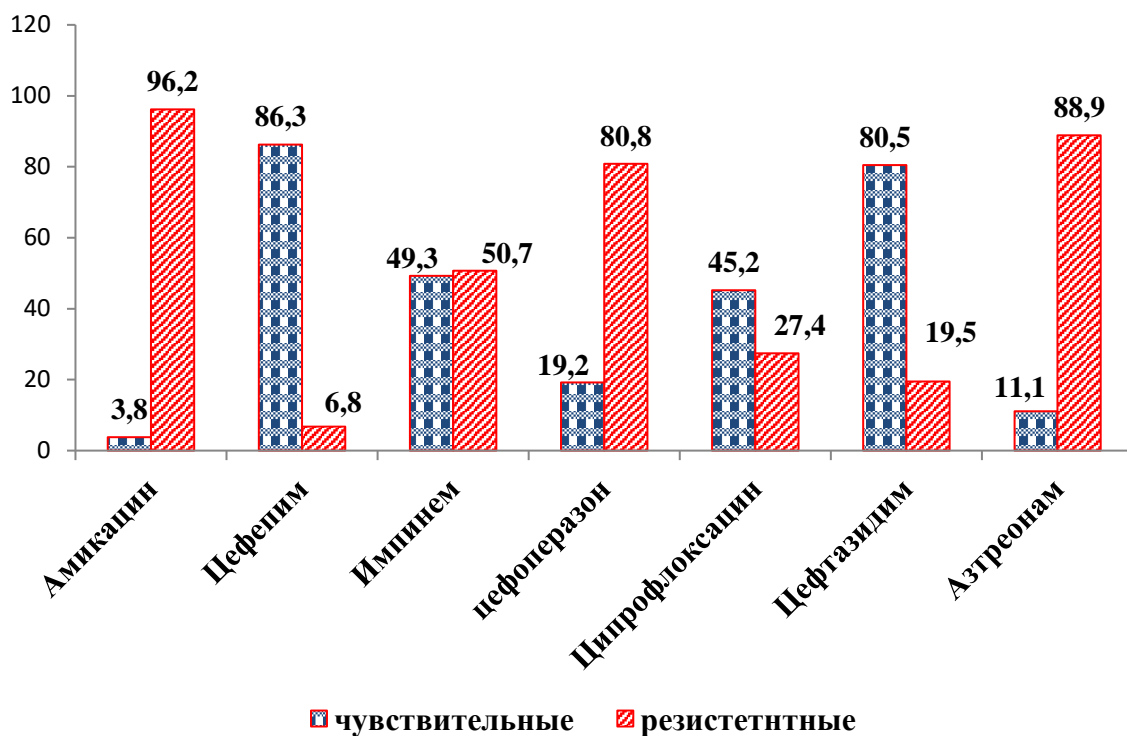


Рис. 4. Количество штаммов *Ps.aeruginosa*, чувствительных и резистентных к антибактериальным препаратам (АБП) (%)

Резистентность к одному препарату выявилась у 40% штаммов, к двум препаратам — у 20%, к трем и четырем препаратам — у 15%, к шести и семи антибактериальным препаратам — у 1,5% штаммов *Ps.aeruginosa* (рис. 5).

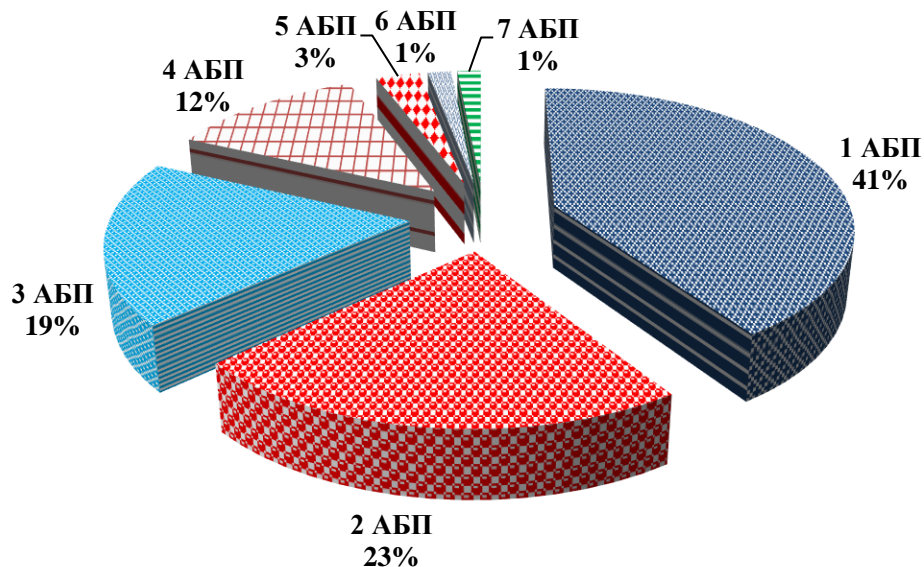


Рис. 5. Количество штаммов *Ps. aeruginosa*, резистентных к антибактериальным препаратам (АБП) (%)

Наибольшую активность проявляли антибактериальные препараты в отношении штаммов неферментирующих грамотрицательных бактерий — цефепим, цефтазидим (препараты выбора), имипенем и ципрофлоксацин (резервные препараты).

У этих же пациентов проведено исследование на предмет грибковой обсемененности. Среди грибов, колонизирующих слизистые оболочки верхних дыхательных путей, у пациентов в большинстве случаев были идентифицированы дрожжеподобные грибы рода *Candida*: 42% — *C. albicans*, 19% — *C. krusei*, в 21% проб биоматериала грибы не выявлялись. 82,6% штаммов *C. albicans* продемонстрировали чувствительность к амфотерицину, в то же время 73,2% колоний лизировались препаратом флуконазол.

Данные противогрибковые препараты показали себя как наиболее эффективные препараты в отношении грибов рода *C. albicans* (рис. 6).

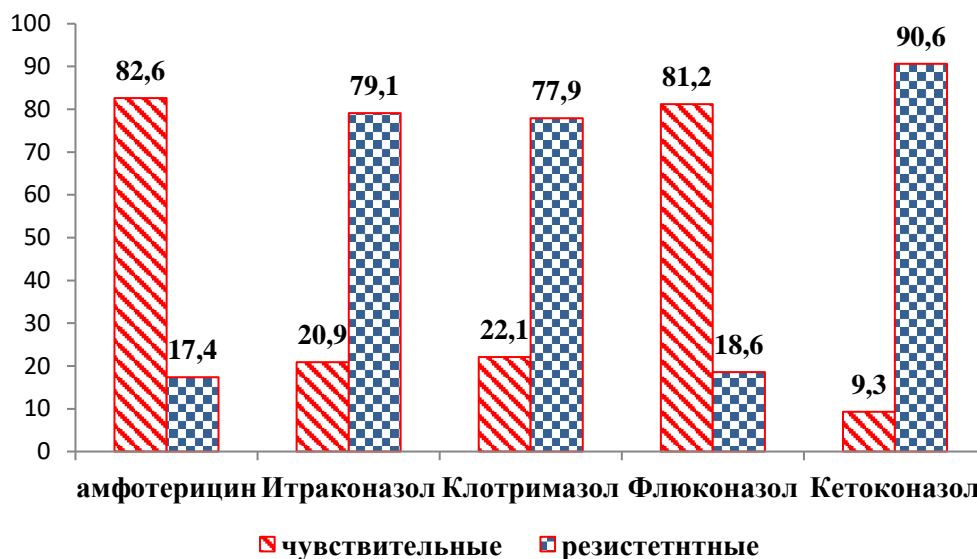


Рис. 6. Количество штаммов *C. albicans*, чувствительных и резистентных к антигрибковым препаратам (%)

Наименее чувствительными оказались клотримазол (до 20%) и кетоконазол (менее 10%). Резистентность проявилась наибольшая к четырем препаратам — 18,6%, к пяти препаратам — у 3% штаммов *C. albicans* (рис. 7).

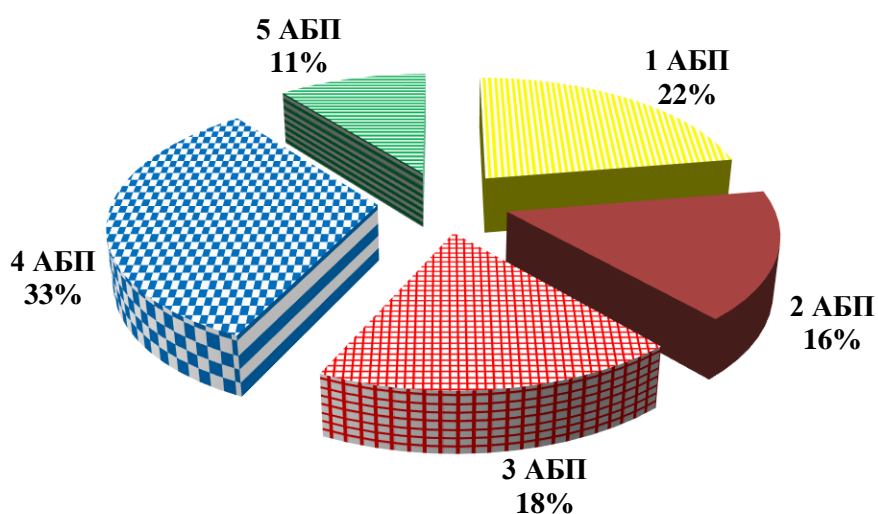


Рис. 7. Количество штаммов *C. Albicans*, резистентных к антигрибковым препаратам (%)

В качестве препаратов выбора можно рекомендовать амфотерицин и флуконазол, резервный препарат — итраконазол.

Выводы:

1. У пациентов с болезнями органов дыхания агропромышленного комплекса идентифицируется разнообразие микроорганизмов. На состав биоценоза органов дыхания влияют самые различные факторы, к числу которых можно отнести химическое, пылевое загрязнение, резкие температурные колебания, острые и хронические заболевания органов дыхания.
2. Для штаммов золотистого стафилококка активными антибактериальными агентами являются цефотаксим и спарфлоксацин.
3. Для штаммов бактерий кишечной палочки — цефотаксим, цефтриаксон. Для штаммов неферментирующих грамотрицательных бактерий — цефепим, цефтазидим.
4. Для штаммов грибов рода *C. albicans* — амфотерицин и флуконазол.
5. При планировании рациональной эмпирической стартовой антибактериальной терапии болезней органов дыхания необходимы данные об основных патогенах, вызывающих данное состояние, умение оценивать остроту и тяжесть воспалительного процесса, знание антимикробных препаратов, чувствительных к наиболее вероятным бактериальным или грибковым возбудителям.
6. Постоянные изменения микробного состава обуславливают необходимость регулярного мониторинга видового состава эпидемиологически значимых микроорганизмов.

Литература:

1. Авдеев С.Н. Современные подходы к антибактериальной терапии обострений хронической обструктивной болезни легких. Пульмонология. 2012; 3:109-114.
2. Бакиров А.Б., Мингазова С.Р., Каримова Л.К., Серебряков П.В. Клинико-гигиенические аспекты риска развития и прогрессирования пылевой бронхолегочной патологии у работников различных отраслей экономики под воздействием производственных факторов риска. Анализ риска здоровью. 2017;3: 83-91.
3. Серебряков П.В., Бакиров А.Б., Каримова Л.К., Рушкевич О.П.; соавт.: Бейгул Н.А., Вавилова В.А., Гимаева З.Ф. и др. Клинические особенности заболеваний органов дыхания и коморбидной патологии у работников промышленных предприятий, совершенствование методов профилактики и лечения: монография.М., 2016:369.
4. Хасанова Г.Ф., Мавзютов А.Р., Мирсаяпова И.А., Хасанова С.Г., Хазеева Г.Д., Магазов Р.Ш., Ворошилова Н.Н. Этиологическое значение и антибиотикочувствительность неферментирующих грамотрицательных бактерий в клинической практике. Медицинский вестник Башкортостана. 2012; 1: 63 - 65.
5. Sikkeland L., Eduard W., Stangeland A.M., Thorgersen E. B., Haug T., Aukrust P. et al. Occupational exposure to bacterial single cell protein induces inflammation in lung and blood. *InhalToxicol*. 2009; 21: 674 - 681.
6. Patchanee P., Tadee P., Arjkumpa O. [et al.] Occurrence and characterization of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig industries of northern Thailand. *J. Vet. Sci*. 2014; 15: 529 - 36.
7. Ménoret A., Svedova J., Behl B., Vella A.T. Trace levels of staphylococcal enterotoxin bioactivity are concealed in a mucosal niche during pulmonary inflammation. *PLoS One*. 2015; 10. – E0141548.

8. МУ 4.2.2039-05. Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории. М.; 2006.
9. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений: Приказ Минздрава СССР от 22.04.1985 № 535. М., 1985.
10. МУК 4.2.1890-04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотическим препаратам. М., 2004.
11. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Клинические рекомендации. 2015. <http://www.antibiotic.ru/minzdrav/clinical-recommendations>.

References:

1. Avdeev S.N. Modern approaches to antibiotic therapy of exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Pulmonology*. 2012; 3: 109-114.
2. МУ 4.2.2039-05. Technique of collecting and transporting biomaterials in microbiological laboratories. М.; 2006.
3. The unification of microbiological (bacteriological) research methods used in the clinical diagnostic laboratories of medical institutions: Order of the USSR Ministry of Health of April 22, 1985 No. 535. М. 1985.
4. МУК 4.2.1890-04. Determination of the sensitivity of microorganisms to antibiotic drugs. М., 2004.
5. Determination of the sensitivity of microorganisms to antimicrobial agents. Clinical guidelines. 2015. <http://www.antibiotic.ru/minzdrav/clinical-recommendations>.
6. Bakirov A. B., Mingazova S. R., Karimova L. K., Serebryakov P.V. Clinical and hygienic aspects of the risk of development and progression of dust bronchopulmonary pathology among workers in various economic sectors under the influence of occupational risk factors. *Health risk analysis*. 2017; 3: 83-91.
7. Serebryakov P. V., Bakirov A. B., Karimova L. K., Rushkevich O. P.; et al.: Beygul N. A., Vavilova V. A., Gimaeva Z. F. et al. Clinical features of respiratory diseases and comorbid pathology in industrial workers, improving prevention and treatment methods: monograph. М.; 2016: 369.
8. Khasanova G. F., Mavzyutov A. R., Mirsayapova I.A., Khasanova S. G., Khazeeva G. D., Magazov R. Sh., Voroshilova N. N. Etiological significance and antibiotic sensitivity of non-fermenting gram-negative bacteria in clinical practice. *Medical Bulletin of Bashkortostan*. 2012; 1: 63-65.
9. Sikkeland L., Eduard W., Stangeland A.M., Thorgersen E. B., Haug T., Aukrust P. et al. Occupational exposure to bacterial single cell protein induces inflammation in lung and blood. *Inhal Toxicol*. 2009; 21: 674 - 681.
10. Patchanee P., Tadee P., Arjkumpa O. [et al.] Occurrence and characterization of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig industries of northern Thailand. *J. Vet. Sci*. 2014; 15: 529 - 36.
11. Ménoret A., Svedova J., Behl B., Vella A.T. Trace levels of staphylococcal enterotoxin bioactivity are concealed in a mucosal niche during pulmonary inflammation. *PLoS One*. 2015; 10. – E0141548.

Поступила/Received: 28.03.2019
Принята в печать/Accepted: 29.03.2019