

УДК: 582.282.23:57.085:615.28

О.В. Римша, В.В. Сухляк

ФОРМУВАННЯ РЕЗИСТЕНТНОСТІ МІКРООРГАНІЗМІВ ДО АНТИСЕПТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

В роботі наведені результати експериментального дослідження формування резистентності до антисептичних препаратів клінічних штамів бактерій *E. coli*, *S. aureus* та *C. albicans*, які були виділені від хворих.

Ключові слова: резистентність, антисептичні препарати, досліджувані штами мікроорганізмів.

Стійкість бактерій до антисептичних препаратів слід розглядати як зміни генома мікробної клітини в процесі його мутації. Прокаріотична хромосома локалізується в ділянці нуклеоплазми, яка не містить рибосом. Хромосомна ДНК являє собою ковалентно замкнуту кільцеву двохланцюжкову молекулу, з'єднану з білками бактерії. В результаті селективної дії антимікробних препаратів настає елімінація чутливих особин популяції і переважне виживання та поширення стійких клітин збудників захворювань [1]. Стійкі до антисептиків штами є у багатьох видів бактерій: стафілокока, кишкової палички, псевдомонад, клебсієл, ентеробактера, цитробактера, акінетобактерій та інших. З високим ступенем вірогідності можна стверджувати, що поява і поширення бактерій з набутою стійкістю має місце в усіх, циркулюючих в лікувальних закладах, видів збудників хвороб [2, 3].

В залежності від того, як швидко виявляють стійкі варіанти бактерій в умовах застосування антибіотиків та антисептиків, розрізняють два типи резистентності. Первинна резистентність до антимікробних засобів притаманна більшості бактеріальних видів. Форми бактерій з набутою стійкістю відомі по відношенню до більшості антисептиків, а саме: хлоргексидину, роккалу, етонію, декаметоксину, діоксидину, цетилпіридинію хлориду, натрію лаурату, натрію лаурилсульфату, риванолу, хлораміну Б, йодопірону, первомуру, борної кислоти, фурациліну та інших. Таку стійкість виявляють в період початкового застосування антимікробного засобу. Ця стійкість є результатом комплексу або окремих властивостей бактеріальної клітини, котрі частіше всього зумовлені хромосомними генами [1].

Наступним видом резистентності є стійкість до антимікробних засобів, котра формується дуже

швидко після одного-двох пасажів в присутності препарату. Необхідно підкреслити, що рівень стійкості не залежить від концентрації препарату, в присутності якого пасували збудника. Він формується шляхом одноступеневої мутації. Мутації супроводжуються або появою нового, або заміною одного або декількох нуклеотидів. Стійкість до антисептиків може формуватись поступово, шляхом багатоступеневих мутацій. При цьому селекція резистентних варіантів в популяції проходить повільно, ступенеподібно. В таких випадках для виділення мутантів необхідно проводити багаточисельні, один за одним, пасажі на поживних середовищах із вмістом наростаючих концентрацій антимікробного препарату.

Формування стійкості штамів мікроорганізмів до різних антибактеріальних препаратів має певні особливості. Тому вивчення формування резистентних варіантів бактерій до нових антисептиків має безумовне практичне значення для визначення показів для їх застосування як з лікувальною, так і з профілактичною метою [2, 4, 5].

Мета роботи. Дослідити формування резистентності клінічних штамів *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* до антисептичних препаратів декасану, міримістину та хлоргексидину біглюканату.

Матеріали та методи

В дослідженнях використовували серійні промислові зразки лікарських засобів декасан 0,02% розчин виробництва "ЮРІЯ-ФАРМ", мірамістин розчин 0,01% виробництва ЗАТ ФФ "Дарниця" та хлоргексидин розчин 0,05% виробництва Київської фармацевтичної фабрики. Як тест-мікроорганізми використовували клінічні штами бактерій *E. coli* — 44 штами (36,7%), *S. aureus* — 26 штамів (21,3%), *C. albicans* — 2 штами (1,6%), які виділили від хворих.

Чутливість мікроорганізмів до антисептичних засобів досліджували загальноприйнятим методом послідовних серійних розведень препарату в рідкому поживному середовищі. Потім добові культури мікроорганізмів пересівали на середовища,

© О.В. Римша, В.В. Сухляк

які містили суббактеріостатичні концентрації протимікробних препаратів. Матеріалом для кожного наступного пасажу були культури, які давали ріст в присутності найвищої концентрації препарату. Культури пересівали на поживні середовища із збільшеною концентрацією препарату у 2–4 рази. Інтервали між пасажами визначали швидкістю росту культури. Всього було проведено 30 пасажів мікроорганізмів до антисептичних препаратів. В присутності декасану, мірамістину та хлоргексидину біглюканату через кожні 5 пасажів проводили дослідження морфологічних, тінкторіальних, культуральних та біохімічних ознак пасованих варіантів мікроорганізмів.

Результати та їх обговорення

Вивчення формування стійкості у *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* до антисептичних препаратів показало, що резистентність розвивалась повільно в процесі пасажування.

На підставі проведених досліджень встановлено, що в процесі утворення резистентних штамів стафілококу, кишкової палички та кандід до антисептичних препаратів (декасану, мірамістину, хлоргексидину біглюканату) спостерігали утворення поліморфних клітин. Штами *S. aureus* на щільному поживному середовищі утворювали мілкі колонії (0,5–1 мм) та втрачали здатність утворювати пігмент. Під час пасажування в присутності антисептиків штами стафілококів втрачали гемолітичну та лецитиназну активність. Спостерігали уповільнення росту резистентних до антимікробних препаратів штамів *E. coli* та *C. albicans*. У антисептикорезистентних штамів мікроорганізмів відмічали пригнічення цукоролітичної активності.

Аналізуючи дані табл., потрібно зазначити, що вихідна чутливість досліджуваних штамів стафілококу до декасану становила (0,19±0,12) мкг/мл, тобто культури мікроорганізмів мали досить високу

чутливість до антимікробного препарату. Пасування стафілококів в рідкому середовищі з декасаном супроводжувалось повільним формуванням у них резистентності. Так, встановлено, що стійкість мікроорганізмів до декасану після 10 пасажу не змінилась і становила (0,19±0,39) мкг/мл, після 20 пасажу зросла в 2 рази (0,39±0,12) мкг/мл, після 30 пасажу — в 8 разів (1,56±0,42) мкг/мл.

Формування резистентності виділених штамів стафілококу до мірамістину та хлоргексидину біглюканату проходила досить швидко. Так, стійкість стафілококів до мірамістину після 10 пасажу виросла в 4 рази, після 20 пасажу — в 8 разів та після 30 пасажу — в 16 разів і дорівнювала (125,0±16,04) мкг/мл. Резистентність мікроорганізмів до хлоргексидину біглюканату після 10 пасажу зросла в 4 рази і дорівнювала (15,6±2,65) мкг/мл, після 20 пасажу — в 16 разів і становила (62,5±8,94) мкг/мл, після 30 пасажу — в 32 рази і дорівнювала (125,0±12,2) мкг/мл. Таким чином, отримані дані показали, що формування стійких штамів стафілококу до мірамістину та хлоргексидину біглюканату відбувалася в 2 та 8 разів швидше, ніж до декасану.

В наступних дослідженнях проведено вивчення формування стійкості клінічних штамів *E. coli* до декасану, мірамістину та хлоргексидину біглюканату (рис. 1). На рис. 1 видно, що вихідна чутливість досліджуваних штамів кишкової палички до декасану складала 1,56 мкг/мл, до мірамістину — 3,13 мкг/мл, до хлоргексидину біглюканату — 3,9 мкг/мл.

Після 10 пасажу стійкість кишкової палички до усіх досліджуваних антисептиків збільшилась в 2 рази. Після 20 пасажу стійкість *E. coli* до декасану зросла в 4 рази і складала (6,25±2,29) мкг/мл, до мірамістину — в 8 разів і відповідала (25,0±12,65) мкг/мл та до хлоргексидину біглюканату — в 16 разів і дорівнювала (50,0±25,55) мкг/мл.

Таблиця. Характеристика формування стійкості у клінічних штамів стафілокок (n=26) до декасану, мірамістину та хлоргексидину біглюканату

Назва препарату	Декасан		Мірамістін		Хлоргексидин	
	Пасаж	Субстатична конц., мкг/мл	Кратність до контролю	Субстатична конц., мкг/мл	Кратність до контролю	Субстатична конц., мкг/мл
Чутливість в контролі	0,19±0,12	–	7,8±2,29	–	3,9±3,33	–
Після 10 пасажу	0,19±0,39	–	31,5±4,42	4	15,6±2,65	4
Після 20 пасажу	0,39±0,12	2	6,25±12,2	8	62,5±8,94	16
Після 30 пасажу	1,56±0,42	8	125±16,04	16	125±12,2	32

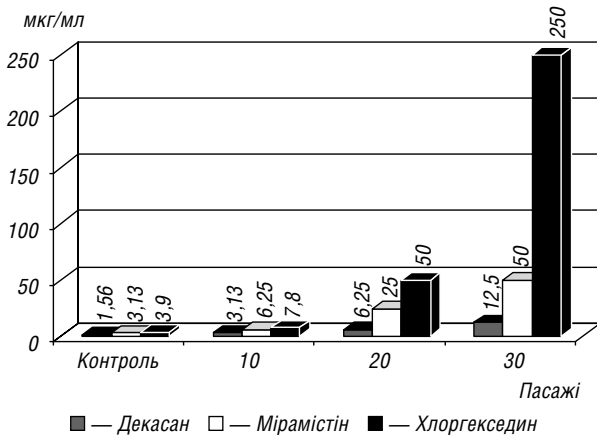


Рисунок 1. Характеристика формування резистентності у клінічних штамів *E. coli* (n=44) до декасану, мірамістину та хлоргексидину біглюканату

Після 30 пасажу швидкість формування стійкості до декасану зростає в 8 разів, до мірамістину — в 16 разів до хлоргексидину біглюканату — в 64 рази. Аналізуючи отримані дані можна стверджувати, що селекція стійких штамів кишкової палички до мірамістину та хлоргексидину біглюканату відбувалась швидше, ніж до декасану.

На рис. 2 наведені дані щодо формування резистентності *C. albicans* до різних антисептичних препаратів. Вихідна чутливість до декасану складала (1,95±0,19) мкг/мл і зберігалась такою ж після 10 пасажу, після 20 пасажу стійкість зростає в 4 рази, після 30 — в 8 разів. Показники стійкості до мірамістину були наступні вихідна чутливість — (3,1±2,1) мкг/мл, яка залишилась такою ж і після

10 пасажу, після 20 пасажу резистентність зростає в 4 рази і складала (12,5±6,8) мкг/мл, після 30 пасажу — в 16 разів і відповідала (50,0±25,9) мкг/мл. Вихідна чутливість штамів кандид до хлоргексидину дорівнювала (3,9±2,2) мкг/мл, після 10 пасажу збільшилась в 2 рази і складала (7,8±0,4) мкг/мл, після 20 пасажу — в 8 разів і дорівнювала (31,3±15,6) мкг/мл, після 30 пасажу — в 32 рази і відповідала (125,0±25,6) мкг/мл. Встановлено, що формування стійкості кандидатів до декасану відбувалось повільніше.

Отримані результати свідчать, що формування стійкості досліджуваних мікроорганізмів до антисептичних препаратів супроводжувались зміною морфологічних, культуральних та біохімічних властивостей, що необхідно враховувати в проведенні бактеріологічних досліджень.

Висновки

1. Резистентність до антисептичних препаратів у стафілококів, ешерихій та кандидатів формується повільно, тому вони мають перевагу перед антибіотиками.

2. Формування стійкості культур стафілококу, кишкової палички та кандидатів до антисептичних препаратів супроводжувалося змінами морфологічних, культуральних та біохімічних властивостей вказаних збудників.

Перспективи подальших досліджень полягають вивченні поширеності бактерій з набутою стійкістю до антисептичних препаратів.

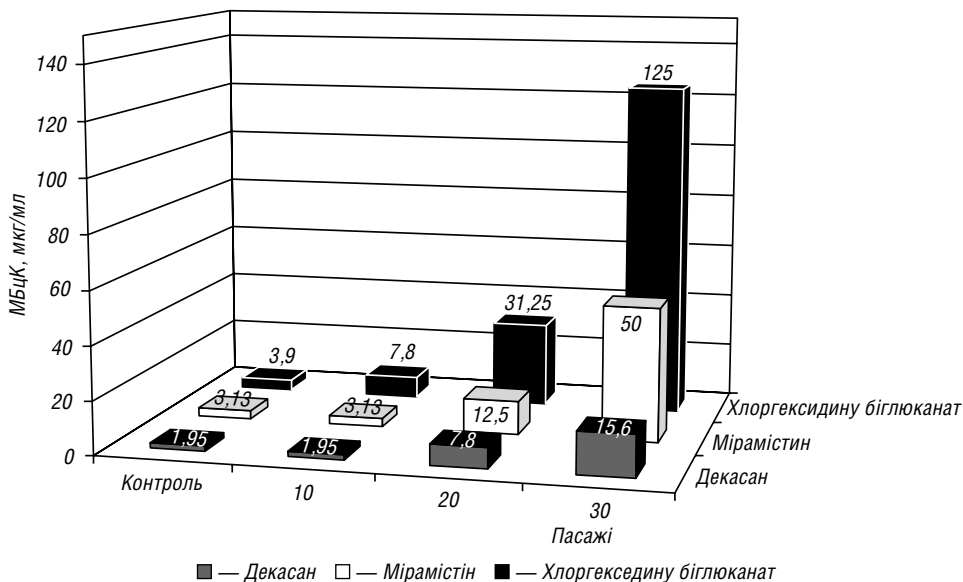


Рисунок 2. Характеристика формування резистентності у клінічних штамів *C. albicans* (n=2) до декасану, мірамістину та хлоргексидину біглюканату

ЛІТЕРАТУРА

1. Антисептики у профілактиці й лікуванні інфекцій. / Під ред. Г.К. Палія. — К.: Здоров'я, 1997. — 201 с.
2. Жорняк О.І. Вивчення формування резистентності мікроорганізмів до таблетованих антисептичних препаратів / О.І. Жорняк, В.М. Мруг, І.Ю. Кучма // Biomedical and Biosocial Anthropology. — 2010. — № 15. — С. 57–59.
3. Мороз В.М. Порівняльне дослідження протимікробних властивостей антисептиків / В.М. Мороз, Г.К. Палій, Н.М. Шевчук, А.М. Зарицький // Вісник Вінницького державного медичного університету. — 2002. — № 2. — С. 315–320.
4. Салманов А.Г. Резистентність бактерій до антисептиків та дезінфікуючих засобів. / А.Г. Салманов, В.Ф. Марієвський, М.К. Хобзей // Український медичний часопис. — 2010. — № 6(80). — С. 68–78.
5. Сорокоумова Л.К. Формування резистентності у бактерій в присутності антисептичних препаратів / Л.К. Сорокоумова // Вісник морфології. — 2008. — № 14(2). — С. 344–346.

ФОРМИРОВАНИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ К АНТИСЕПТИЧЕСКИМ ПРЕПАРАТАМ

Е.В. Римша, В.В. Сухляк

Вінницький національний медичний університет ім. Н.И. Пирогова

В работе приведены результаты экспериментального исследования формирования резистентности к антисептическим препаратам клинических штаммов бактерий *E. coli*, *S. aureus* и *C. Albicans*, выделенные от пациентов.

Ключевые слова: резистентность, антисептические препараты, исследуемые штаммы микроорганизмов.

FORMATION OF MICROBIAL RESISTANCE TO ANTISEPTICS

E.V. Rymsha, V.V. Suhlyak

M.I. Pirohov's National Medical University, Vinnitsa

The work presents the results of experimental studies of the formation of resistance to antiseptics clinical isolates of bacteria *E. coli*, *S. aureus* and *C. Albicans*, isolated from patients.

Key words: resistance, antiseptic preparations, studied strains of microorganisms.

УДК: 615.28:5–092:576.8

О.І. Жорняк

ХАРАКТЕРИСТИКА ВПЛИВУ ТАБЛЕТОВАНИХ АНТИСЕПТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ НА АДГЕЗИВНІ ВЛАСТИВОСТІ МІКРООРГАНІЗМІВ

Національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, м. Вінниця

В роботі представлені результати вивчення впливу антимікробних препаратів на адгезію грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів. Показано, що антисептичні препарати пригнічують адгезію бактерій.

Ключові слова: адгезія, антисептичні препарати.

Для проникнення крізь захисні бар'єри макроорганізму та подальшої персистенції в ньому мікроорганізми повинні мати високу здатність заселяти шкіру та слизові оболонки людини. Здатність бактерій до адгезії є одним з факторів, що забезпечують колонізацію. Не спроможні до

адгезії бактерії видаляються з організму людини механізмами природного захисту. Адгезивність мікроорганізмів до еукаріотичних клітин є початковою ланкою патогенезу при розвитку інфекційних захворювань, що викликають патогенні та умовно-патогенні штами і одним із механізмів захисної дії нормальної мікрофлори, яка безпосередньо приймає участь у формуванні пристінкових шарів слизових оболонок [1, 3].

В процесі вивчення інфекційних хвороб значну увагу приділяють адгезії мікроорганізмів. Науковці досліджують дію різних засобів на адгезивні властивості мікроорганізмів. Протимікробні препарати