

© Палій Г.К., Назарчук О.А., Гончар О.О., Назарчук Г.Г., Задерей Н.В., Олійник Д.П., Береза Б.М.

УДК: 579.86:615.015.8:615.281

Палій Г.К., Назарчук О.А., Гончар О.О., Назарчук Г.Г., Задерей Н.В., Олійник Д.П., Береза Б.М.

Вінницький національний медичний університет імені М.І.Пирогова (вул. Пирогова 56, м. Вінниця, 21018, Україна)

ФОРМУВАННЯ РЕЗИСТЕНТНОСТІ У ШТАМІВ СТАФІЛОКОКІВ ДО ЛІКАРСЬКИХ АНТИСЕПТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ

Резюме. В статті наведені результати дослідження формування резистентності у штамів *S. aureus* до антисептиків (декасан, хлоргексидин, мірамістин, антимікробна композиція декаметоксину). Доведено, що *S. aureus* повільно формують стійкість до декасану, антимікробної композиції в порівнянні з хлоргексидином, мірамістином.

Ключові слова: антисептики, декаметоксин, хлоргексидин, мірамістин, резистентність.

Вступ

Застосування протимікробних засобів для профілактики, лікування інфекційних захворювань спричинило появу та розвиток в мікроорганізмів захисних механізмів. Збереження життєдіяльності в умовах використання антибіотиків, антисептиків, що реалізується за рахунок зміни генома мікробної клітини в процесі його мутації називають резистентністю бактерій до протимікробних препаратів. Формування резистентності у мікроорганізмів до антисептиків виникає в результаті багатоступеневих мутацій, наявності R - фактора, порушення проникливості цитоплазматичної мембрани, клітинної стінки, продукції резистентними штамми мікроорганізмів ферментів здатних нейтралізувати і руйнувати антисептичні препарати. Селективна дія антимікробних препаратів призводить до елімінації чутливих особин популяції, виживання та поширення стійких клітин патогенних мікроорганізмів [Фещенко та ін., 2010; Мокієнко та ін., 2010; Широбоков, 2011; Gibbons, 2004]. Формування резистентності стафілококу до антибактеріальних препаратів має деякі особливості, тому дослідження формування стійких варіантів бактерій до антисептиків і композицій на їх основі представляє велику практичну цінність і є важливим у визначенні терапевтичних показів даних протимікробних препаратів. Результати вивчення формування резистентності до антисептиків та композицій на основі антисептичних препаратів є науковим підґрунтям стосовно визначення практичної цінності застосування протимікробних препаратів як з профілактичною так і з лікувальною метою в повсякденній лікарській практиці. Особливого значення набуває необхідність визначення формування резистентності у патогенних штамів *S. aureus* до антисептиків [Сорокоумова, 2005; Широбоков, 2011].

Мета: дослідити формування резистентності у штамів стафілококів до лікарських антисептичних препаратів.

Матеріали та методи

Для дослідження використовували антисептики декасан (ДС), хлоргексидин (ХГ),

мірамістин (МР), антимікробну композицію на основі декаметоксину (АМК). Вивчали формування стійких варіантів патогенних мікроорганізмів до ДС, ХГ, МР, АМК на *S. aureus* ATCC 25923, клінічних штаммах *S. aureus* (*S. aureus* 79, *S. aureus* 126, *S. aureus* 172, *S. aureus* 192) *in vitro* методом пасажів. Досліджувані штами *S. aureus* мали типові морфологічні, тинкторіальні, культуральні, біохімічні властивості. За загальноприйнятими методиками проводили пасажування мікроорганізмів на м'ясопептонному бульйоні зі збільшенням концентрацій ДС, ХГ, МР, АМК. Визначали мінімальну бактеріостатичну концентрацію (МБСК) кожного протимікробного препарату по відношенню до тест-штамів бактерій. Добові культури пересівали на середовища, що містили суббактеріостатичні концентрації антимікробних засобів. Інтервали між пасажами визначали відповідно до швидкості росту культури. Тест-штами, які проросли швидко, пересівали через 2-3 доби. Морфологію, тинкторіальні, культуральні,

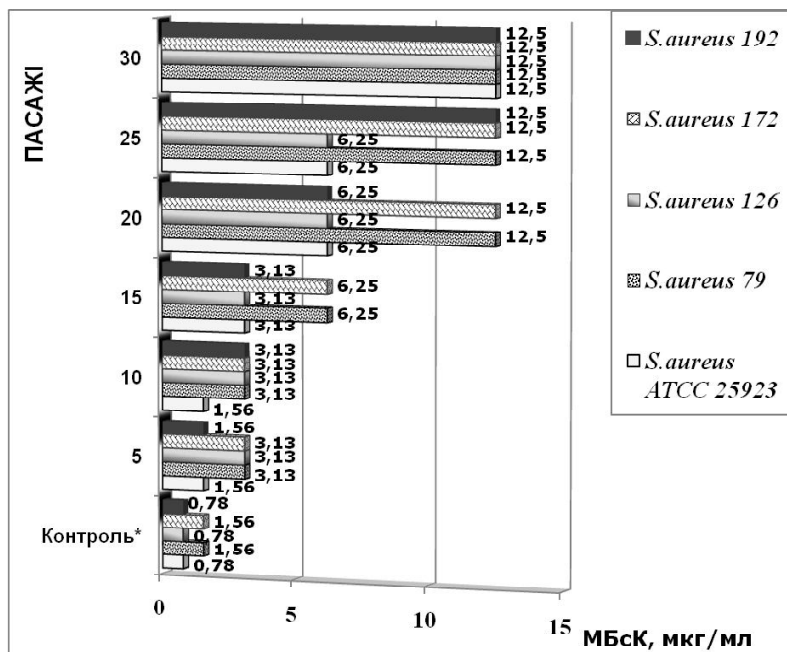


Рис. 1. Характеристика формування резистентності у *S. aureus* до ДС. Примітка. * - вихідна чутливість.

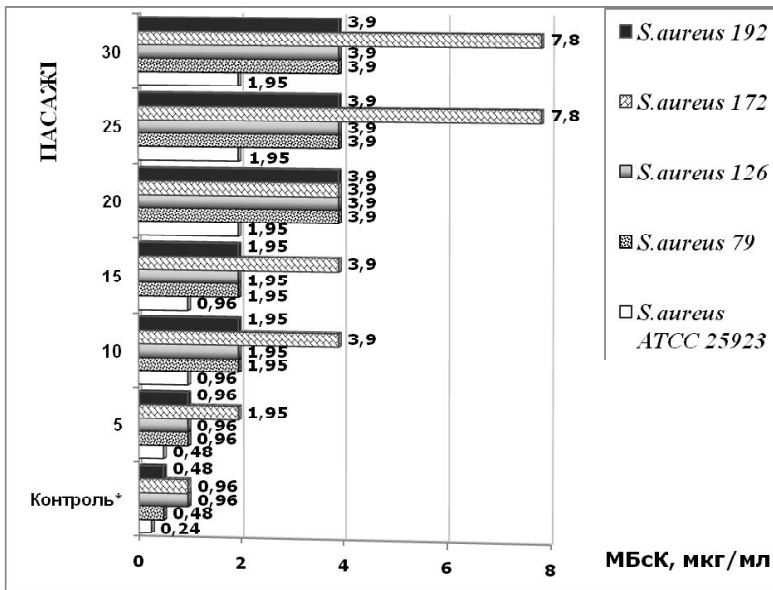


Рис. 2. Характеристика формування резистентності у *S. aureus* до АМК. Примітка. * - вихідна чутливість.

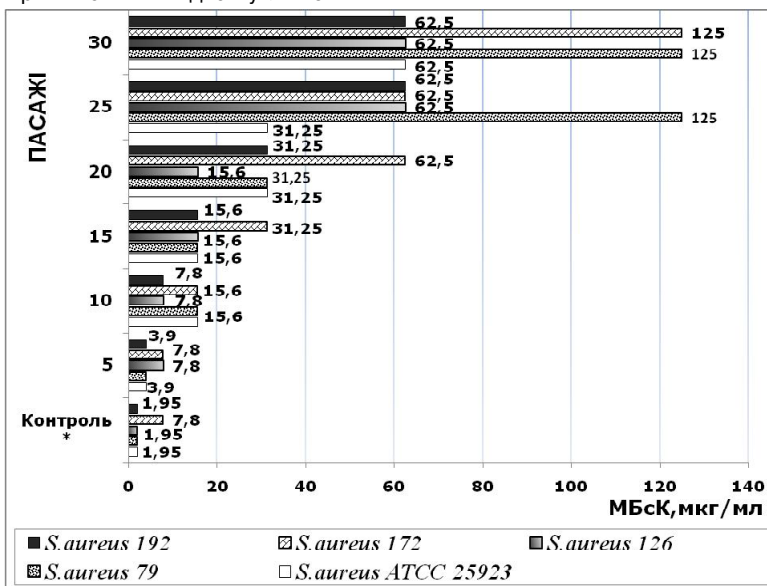


Рис. 3. Характеристика формування резистентності штамів *S. aureus* до ХГ. Примітка. * - вихідна чутливість.

біохімічні властивості мікроорганізмів і чутливість до антисептиків, АМК, досліджували після кожних п'яти пасажів бактерій. Всього провели 30 пасажів.

Результати. Обговорення

В результаті проведених досліджень встановлено поступове формування резистентності *S. aureus* до антисептичних препаратів. Повільне формування стійких варіантів стафілококу спостерігали до ДС, АМК. У процесі пасажування стійкість *S. aureus* ATCC 25923; *S. aureus* 192 до ДС на 5 пасажі зростає лише у 2 рази. У трьох клінічних штамів резистентність до ДС збільшилась у 4 рази після п'ятого пасажу. МБСК ДС до

штамів *S. aureus* при цьому не перевищувала 3,13 мкг/мл (рис. 1).

У ДС суббактеріостатичні концентрації до штамів *S. aureus* не змінювались впродовж 10 пасажів культивування. Після 15 пасажу резистентність у всіх 5 досліджуваних штамів *S. aureus* збільшилась в порівнянні із контролем у 4 рази, після 20 - у 8 разів, після 25 в 4 штамів - у 8 разів; у *S. aureus* 192 - в 16 разів. На 30 пасажі культивування, МБСК ДС не перевищували 12,5 мкг/мл по відношенню до усіх досліджуваних штамів *S. aureus*. Стійкість зростає не більше, як у 16 разів.

За результатами дослідження встановлено повільний розвиток резистентних варіантів *S. aureus* до АМК. МБСК АМК до *S. aureus* на початку дослідження знаходились в межах 0,24-0,96 мкг/мл. Подальше культивування штамів стафілококу в середовищі в присутності АМК призводило до підвищення МБСК в 2 рази на 5 пасажі. Після 10 пасажу чутливість *S. aureus* до АМК знизилась всього у 4 рази (рис. 2).

Після 15 пасажів протимікробна дія на штами *S. aureus* зберігалась на тому ж рівні, а МБСК композиції не перевищувала 3,9 мкг/мл. Тривале 20-30 кратне культивування стафілококів в середовищі зі зростаючими концентраціями АМК формувало збільшення у них стійкості до АМК у 8 разів.

В результаті дослідження спостерігали неоднакове формування стійких варіантів *S. aureus* до ХГ. Встановлено зниження чутливості штамів до даного антисептика у 2 рази на 5 пасажі. Вже після 10 пасажу стійкість золотистого стафілококу до ХГ зростає у 8 разів (рис. 3).

Послідує культивування штамів *S. aureus* із збільшенням концентрацій ХГ, відображало зниження протимікробної активності антисептичного препарату ХГ по відношенню до *S. aureus* ATCC 25923 в 16

разів, починаючи з 20 пасажу і 32 рази після 30 пасажу. Клінічні штами *S. aureus* виявили здатність до зростання резистентності в 64 рази після 30 проведених пасажів культивування. Варто відмітити, що вихідна МБСК ХГ до усіх досліджуваних штамів *S. aureus* становила 1,95 мкг/мл, в той час як після 30 пасажів культивування *S. aureus* її значення досягали 62,5 і 125 мкг/мл.

За даними дослідження встановлено, що усі досліджувані штами *S. aureus*, швидше формували резистентність до МР, ніж до ДС, АМК (рис. 4).

Зростання значень МБСК МР до *S. aureus* спостерігали від вихідних - 3,9 мкг/мл до 250 мкг/мл після 30 пасажу культивування мікроорганізмів. Так, на 5 па-

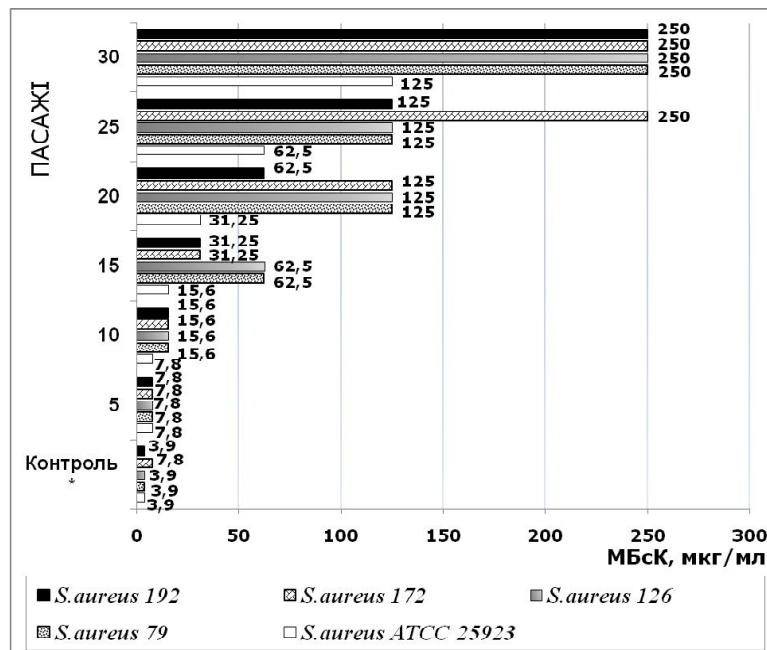


Рис. 4. Характеристика формування резистентності *S. aureus* ATCC до МР. Примітка. * - вихідна чутливість.

сажі три клінічних штами *S. aureus* виявляли меншу в 2 рази чутливість до МР (МБсК - 7,8 мкг/мл). Після 10 пасажів стійкість до МР усіх клінічних штамів зростала у 4 рази порівняно з вихідними рівнем чутливості. У *S. aureus* 79, *S. aureus* 126 спостерігали збільшення резистентності до МР в 16 разів. Після 20 пасажу резистентність *S. aureus* ATCC 25923 зростає в 8 разів, а клінічних штамів *S. aureus* у 16-32 рази. 30 кратне куль-

Список літератури

Медицина мікробіологія, вірусологія та імунологія: підручник для студ. вищ. мед. навч. заклад. [Текст] / за ред. В.П. Широкова / Вид. 2-е. - Вінниця: Нова Книга, 2011. - 952с.
Мокієнко А.В. Стійкість бактерій як міждисциплінарна проблема / А.В. Мокієнко, Н.Ф.Петренко, А.І.Гоженко

//Вісник НАН України.- 2010.- №8.- С.49-56.

Сорокоумова Л.К. Вивчення чутливості та формування резистентності бактерій в присутності антисептичних крапель /Л.К.Сорокоумова //Вісник морфології.- 2005.- Т.11, №2.- С.247-249.Фещенко Ю.І. Антибіотикорези-

стентність мікроорганізмів. Стан проблеми та шляхи її вирішення / Ю.І.Фещенко, Н.І.Гуменюк, А.С.Денисов //Укр. хіміотерапевтичний журнал.- 2010.- №1-2 (23).- С.4-10.
Gibbons S. Anti-staphylococcal plant natural products /Gibbons S. //Nat. Prod. Rep.- 2004.- Vol.21, №2.- P.263-277.

Палий Г.К., Назарчук А.А., Гончар О.О., Назарчук Г.Г., Задерей Н.В., Олейник Д.П., Береза Б.М. ФОРМУВАННЯ РЕЗИСТЕНТНОСТІ У ШТАММОВ СТАФИЛОКОКОВ К ЛЕКАРСТВЕННЫМ АНТИСЕПТИЧЕСКИМ ПРЕПАРАТАМ

Резюме. В статье приведены результаты исследования формирования резистентности у штаммов *S. aureus* к антисептикам (декасан, хлоргексидин, мирамистин), антимикробной композиции декаметоксина с модифицированными полисахаридами. Установлено, что штаммы *S. aureus* медленнее формируют устойчивость к декасану, антимикробной композиции, чем к хлоргексидину, мирамистину.

Ключевые слова: антисептики, декаметоксин, хлоргексидин, мирамистин, резистентность.

Paliy G. K., Nazarchuk A. A., Gonchar O. O., Nazarchuk G. G., Zaderей N. V., Oliynyk D. P., Bereza B. N. FORMING THE RESISTANCE IN STRAINS OF STAPHYLOCOCCUS TO ANTISEPTIC MEDICINES

Summary. The results of the study of forming the resistance to antiseptics (decasan, chlorhexidine, miramistin), antimicrobial composition based on decamethoxine in strains of *S. aureus* are presented in the research. *S. aureus* strains were found to form the resistance to decasan, antimicrobial composition slower than to chlorhexidine, miramistin.

Key words: antiseptics, decamethoxine, chlorhexidine, miramistin, resistance.

тивування мікроорганізмів показало збільшення стійкості *S. aureus* до МР у 32-64 рази, у порівнянні з вихідними значеннями чутливості мікроорганізмів.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Резистентність штамів *S. aureus* до ДС формується повільно. Після 30 пасажів суб-бактеріостатичні концентрації зростають не більше, ніж у 16 разів порівняно з вихідними значеннями ($p < 0,001$).

2. Після 30 пасажів штами *S. aureus* виявляють високу чутливість до суббактеріостатичних концентрацій нової антимікробної композиції на основі декаметоксину, які лише у 8 разів перевищують вихідні значення ($p < 0,001$).

3. Стійкість *S. aureus* у присутності антисептичних препаратів ХГ, МР зростає у 64 рази після 30-кратного культивування мікроорганізмів. МБсК ХГ зростає до 125 мкг/мл, у МР збільшується до 250 мкг/мл порівняно з вихідними значеннями ($p < 0,001$).

Одержані дані доклінічного дослідження сучасної перспективної АМК на основі ДКМ дозволяють рекомендувати її для промислового виробництва текстильних матеріалів медичного призначення з пролонгованими антимікробними властивостями після завершення клінічного дослідження та застосування з метою профілактики інфекційних гнійно-запальних ускладнень, оптимізації методів їх лікування.

Палій Гордій Кіндратович - д.мед.н., професор, заслужений діяч науки і техніки України, зав. кафедри мікробіології, вірусології та імунології Вінницького національного медичного університету імені М.І.Пирогова; g_paliy@ukr.net;
Назарчук Олександр Адамович - аспірант кафедри мікробіології, вірусології та імунології Вінницького національного медичного університету імені М.І.Пирогова; (097) 729-37-61; nazarchukoa@gmail.com;
Гончар Оксана Олегівна - асистент кафедри мікробіології, вірусології та імунології Вінницького національного медичного університету імені М.І.Пирогова;
Назарчук Галина Григорівна - аспірант кафедри очних хвороб Вінницького національного медичного університету імені М.І.Пирогова;
Задерей Наталія Василівна - лікар-офтальмолог;
Олійник Дмитро Петрович - лаборант кафедри мікробіології, вірусології та імунології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова;
Берега Богдан Миколайович - асистент курсу стоматології кафедри хірургії факультету післядипломної освіти Вінницького національного медичного університету імені М.І.Пирогова.

© Шухтин В.В., Насибуллин Б.А.

УДК: 616.98:616.5]-085

Шухтин В.В., Насибуллин Б.А.

ГП "Укр НИИ медицины транспорта МЗ Украины" (ул. Канатная, 92, Одесса, 65039, Украина); ГУ "Укр НИИ медицинской реабилитации и курортологии МЗ Украины" (Лермонтовский пер., 6, г.Одесса, 65014, Украина)

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ КОЖИ И СЛИЗИСТЫХ, ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ AVR-ТЕРАПИИ

Резюме. Авторы изучили структурно-функциональные изменения в биоптатах слизистых и кожи 36 больных СПИДом. В состав исследуемого контингента входили 19 больных СПИДом, не получавших ARV-терапию и 17 больных СПИДом, которым ARV-терапию проводили. Проведение сравнительного анализа полученных данных показало, что у больных получавших ARV-терапию снижаются проявления воспалительных изменений в коже и слизистых. Специфические для ВИЧ-инфекции периваскулярные муфты из лимфоидных элементов под влиянием ARV-терапии претерпевали редукцию, что, по мнению авторов, способствовало восстановлению функциональных возможностей кожи и слизистых. Наблюдалось так же восстановление процессов дифференциации в исследуемых тканях.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, кожа, слизистая, ARV-терапия.

Введение

Проблема ВИЧ/СПИДа в силу чрезвычайной распространенности этого заболевания, тяжелого исхода его, слабой эффективности лечения, остается весьма актуальной для современной теоретической и практической медицины [Покровский и др., 2000; Пархоменко и др., 2003; Kwará et al., 2004]. Многочисленные исследования в этом направлении, приведшие к созданию ARV-терапии позволили существенно увеличить продолжительность жизни ВИЧ/СПИД-больных, однако радикального изменения ситуации все же не произошло. Кроме того, системный характер поражения вирусом иммунодефицита, проявляющийся в изменениях во всех органах и системах больного: коже, легких, головном мозге, печени, почках, органах иммунной системе не изменился при применении современной терапии [Коэн, 2002; Зимина и др., 2010; Леви, 2010; Kwará et al., 2004]. Более того, возникли вопросы о том, что происходит в различных органах и системах ВИЧ инфицированного при проведении ARV-терапии [Тишкевич и др., 2004; Calzavara-Pinton, 1992; Fawzi et al., 2004].

Исходя из вышесказанного, целью нашего исследования было выявление особенностей структурных изменений кожи и слизистых у больных СПИДом при проведении AVR-терапии.

Материалы и методы

Материалом для данной работы послужили результаты исследований, полученные при изучении биоптатов кожи 36 больных СПИДом, находящихся на лечении в Одесском областном центре профилактики и борьбы с ВИЧ/СПИДом. В соответствии с задачами работы больные были ранжированы на две группы. I группа - 19 больных ВИЧ/СПИД находившиеся в клинике и не получавшие ARV-терапию. II группа - 17 больных, находившихся в клинике, которым проводили ARV-терапию. У больных, вошедших в исследование, по информированному согласию при помощи склеротома с диаметром режущей кромки 2,0 мм, из скуловой области брали биоптат кожи, а с внутренней поверхности щеки - слизистой. Полученный образец помещали в 4% раствор парформальдегида на 30 суток. После этого ткань проводили через спирты возрастающей концентрации и заливали в целлоидин по общепринятой методике [Ромейс, 1954]. Из полученных блоков изготавливали гистологические срезы толщиной 7 мкм, которые окрашивали гематоксилином и по Ван-Гизон с докраской фукселином. Полученные препараты изучали при помощи светового микроскопа фирмы Zeiss (модель Prima Star). Оценивали изменения эпидермиса и покровного эпителия, сосудов, собственно кожи и подслизистой пластины.