

## INFLUENCE OF NITROGEN FEED SOURCES ON BIOMASS ACCUMULATION AND FUNGISTATIC ACTIVITY OF *TRICHODERMA LIGNORUM* KMB-F-14

Zhelezniak M. Y., Drehval O. A., Cherevach N. V., Sklyar T. V.

**Abstract.** The widespread use of chemical pesticides in agriculture has led to the pollution of environmental systems and has caused various health disorders in animals and humans. Biological pest control is one of the most environmentally friendly methods in modern agriscience. Such methods protect crops from pests and do not pollute the environment.

Some terrestrial *Trichoderma sp.* strains are already used as biological control agents. They all produce peptaibols, small antimicrobial peptides which are supposed to play a role in the anti-phytopathogenic activity of *Trichoderma sp.*

The aim of the study was to determine the influence of various sources of nitrogen on the accumulation of biomass of *Trichoderma lignorum* KMB-F-14 and its antagonistic properties against phytopathogenic fungi of the genus *Fusarium*.

The object of the study was the accumulation of biomass in conditions of deep cultivation and the fungistatic action of strain *T. lignorum* KMB-F-14, isolated from ordinary black earth.

Various nitrogen-containing compounds were introduced in an amount of 0.5% to a nutrient medium containing 0.5% potassium phosphorus, 0.2% magnesium sulfate and 2% glucose. Sowing was carried out by a suspension of conidia with a titre of  $1 \times 10^6$  in an amount of 5% of the volume of the medium. Cultivated for 72 hours on a microbiological rocker (200 rpm) at 27-28°C. The influence of nitrogen sources on the growth of the fungus was estimated at the exit of dry biomass by weight method. Fungistatic activity of micromycetes-antagonists in relation to test cultures *F. culmorum* IMB-F-50716 and *F. monileforme* KMB-F-23 were determined by the method of agar blocks in the modification.

As a result of the studies, it was found that *T. lignorum* fungus is capable of absorbing various sources of nitrogen. As can be seen from the data presented, the fungus is capable of absorbing inorganic nitrogen sources in the form of nitrate and ammonia nitrogen.

It is known that the synthesis of fungistatic and fungicidal substances by antagonists may depend on the composition of the nutrient medium and the conditions for their cultivation, therefore, in the next stage of our work, the effect of different sources of nitrogen feed on the antagonistic activity of *Trichoderma lignorum* KMB-F-14 against fungi was performed of *Fusarium spp.*

Selection of sources of nitrogen feed for cultivating strain of *Trichoderma lignorum* KMB-F-14. The influence of nitrogen compounds on the accumulation of biomass and the fungistatic effect of *Trichoderma lignorum* KMB-F-14 against phytopathogenic fungi of the genus *Fusarium* when grown on media with different sources of nitrogen nutrition have been investigated. It is shown that the most favorable for the accumulation of biomass are organic sources of nitrogen: corn extract and yeast autolysate. The greatest amount of biomass was obtained on medium with yeast autolysate – 40.01 g/l dry biomass.

The fungistatic activity of the strain *Trichoderma lignorum* KMB-F-14 depends on the source of nitrogen in the culture medium. A high percentage of fungal growth inhibitors of the genus *Fusarium* was found *F. monileforme* KMB-F-23 (58-64%) and *F. culmorum* IMB-F-50716 (63-73%) with arginine, ammonium sulfate, sodium nitroxide and ammonium chloride as a source of nitrogen.

**Key words:** micromycetes, *Trichoderma*, antagonism, phytopathogens, accumulation of biomass.

Рецензент – проф. Лобань Г. А.

Стаття надійшла 15.12.2018 року

DOI 10.29254/2077-4214-2019-1-1-148-254-257

УДК 579.61

Надвернюк Р. А., Воронкова О. С., Франкенберг А. А., Шевченко Т. М.

## ЧУТЛИВІСТЬ ДО АНТИБІОТИКІВ КЛІНІЧНИХ ІЗОЛЯТІВ СТАФІЛОКОКІВ

Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара (м. Дніпро)

voronkova\_olga@i.ua

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Дослідження виконані у рамках наукової теми «Моніторинг стану здоров'я населення Дніпропетровської області з аналізом клініко-лабораторних показників» (затверджена рішенням Вченої ради факультету медичних технологій діагностики та реабілітації, протокол №3 від 26.11.2018 р.).

**Вступ.** Стафілококова інфекція за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я продовжує повсюдно поширюватися з наростаючою динамікою. Захворювання зустрічаються у всіх вікових групах населення, починаючи з дитячого віку. Унікальність цих уражень полягає в тому, що вони здатні вражати всі органи і системи у вигляді локалізованих або генералізованих форм. Виділяють наступні нозоло-

гічні форми: хвороби шкіри та підшкірної клітковини, органів дихання, нервової системи та органів чуття, органів травлення, кістково-м'язової системи та сполучної тканини, кровообігу, сечостатевої системи, а також сепсис [1,2]. Ці особливості надають стафілококовій інфекції загальноклінічний характер, оскільки актуальні для фахівців різних напрямків: інфекціоністів, терапевтів, хірургів, педіатрів, дерматологів, неврологів і інших спеціалістів [3,4,5].

Особливо значення у проблемі стафілококових інфекцій набуває питання поширення стійкості до антибіотиків серед клінічних ізолятів, що опосередковує виникнення проблем при вживанні терапевтичних заходів. Стафілококи сьогодні визнані однією з найбільш значущих груп мікроорганізмів, які володі-

ють значною кількістю детермінант резистентності [6,7,8].

Базою для раціональних лікувально-профілактичних заходів служить своєчасна діагностика стафілококових захворювань та індивідуальне визначення чутливості штамів до антибіотиків [7,8].

**Метою дослідження** було визначення видового спектру та чутливості до антибіотиків виділених штамів стафілококів.

**Об'єкт і методи досліджень.** Дослідження виконували на базі бактеріологічної лабораторії КЗ «Царичанська міська клінічна лікарня».

Об'єктом дослідження була частота виявлення та біологічні властивості клінічних ізолятів стафілококів.

Предметом дослідження були ізоляти грампозитивних коків, виділенні від осіб з різними типами уражень.

Біологічний матеріал для аналізу було отримано від 23 пацієнтів.

Для ідентифікації мікроорганізмів до роду *Staphylococcus* використовували наступні ознаки: визначення ферментації глюкози в анаеробних умовах; виявлення гемолітичної активності; виявлення лецитинази; реакція на каталазу на склі; реакція плазмокоагуляції; визначення фосфатази, що виконували за стандартними методиками [9].

Визначення стійкості до антибіотичних препаратів проводили за допомогою стандартних паперових дисків з антибіотиками (HiMedia, Індія) методом диск-дифузії [10]. Використовували наступні антибіотики: амоксицилін, цефепім, імipенем, рифампіцин, гентаміцин, азитроміцин, еритроміцин та гатіфлоксацин.

Математичну обробку даних здійснювали з використанням програми MS Exell.

**Результати дослідження та їх обговорення.** При дослідженні 23 зразків біологічного матеріалу з підозрою на наявність стафілококу визначено, що він був присутній у 16 (69,6%) зразках. Ідентифікація до виду показала, що у 11 випадках (68,8%) мало місце носійство *S. aureus* (рис. 1).

У 4 (25,0%) випадків виявлено представників виду *S. epidermidis* і у 1 (6,2%) випадку було виділено штам, ідентифікований як *Staphylococcus spp.*

Отриманий розподіл співпадає з відомими даними про те, що у патології людини провідна роль на-

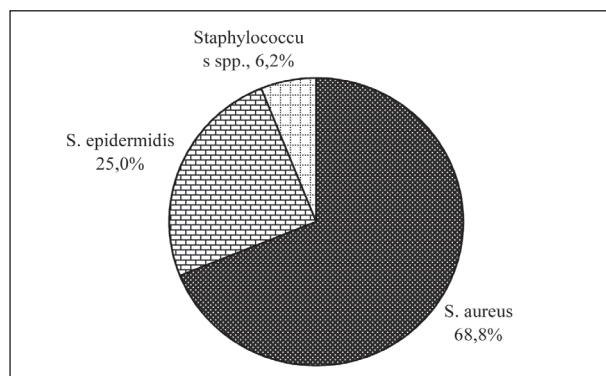


Рис. 1. Видовий спектр виділених штамів стафілококів.

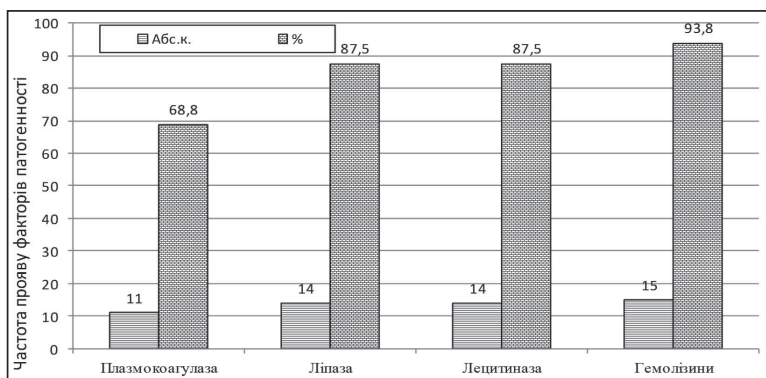


Рис. 2. Прояв факторів патогенності виділеними ізолятами.

лежить золотистому стафілококу, що здатний легко колонізувати організм та зумовлювати патогенетичні прояви [1].

Клінічні прояви уражень реалізуються завдяки продукції стафілококами цілого ряду факторів патогенності, тому дослідження останніх має переважне клініко-діагностичне значення [2,4]. Для всіх виділених штамів було досліджено прояв плазмокоагуляційної, ліпазної, лецитиназної та гемолітичної активності (рис. 2).

Отже, встановлено, що з усіх виділених штамів стафілококів проявом плазмокоагуляційної активності володіли лише штами золотистого стафілококу, частка яких серед усіх стафілококів склала 68,8%. До продукції ліпази та лецитинази були здатні 14 (87,5%) штамів з усіх виділених стафілококів, причому у всіх випадках прояв цих активностей був одночасним. 2 (12,5%) штами не мали прояву цих ознак. Гемолізину продукували 15 (93,8%) штамів, причому продукція їх була доволі активною, що характеризувалося великими зонами гемолізу навколо штрихів росту культури (від 3 до 12 мм).

Типовим для клінічних штамів, що викликають хронічні ураження, є саме такий високий рівень активності продукції факторів патогенності, що дозволяє їм циркулювати у організмі носія і маскуватися на певних біотопах, уникаючи нагляді імунної системи або блокуючи активну реалізацію її механізмів [1,2]. Звичайно, що значний прояв активності продукції факторів патогенності вказує на необхідність обов'язкового їх видалення з організму носія, що може бути досягнуто за рахунок використання антибіотиків.

Для всіх виділених штамів *S. aureus* визначали чутливість до антибіотиків. Встановлено, що більшість штамів були чутливі до застосованих антибіотиків (рис. 3).

Найбільш активним антибіотиком з групи препаратів, що діють на синтез клітинної стінки, проти всіх досліджуваних штамів *S. aureus* виявився імipенем (клас карбапенем), до якого чутливими були всі 11 (100%) штамів. На відміну від амоксициліну він був значно більш ефективним. Зокрема, до останнього чутливими були 18,2% штамів. Це може бути пов'язано зі значними поширенням серед стафілококів генів, відповідних за синтез пеніцилінзв'язуючих білків або специфічних ферментів –  $\beta$ -лактамаз, що руйнують молекулу антибіотика, тому без антибіотикограми застосування пеніцилінів може мати суттєві обмеження [5,6].

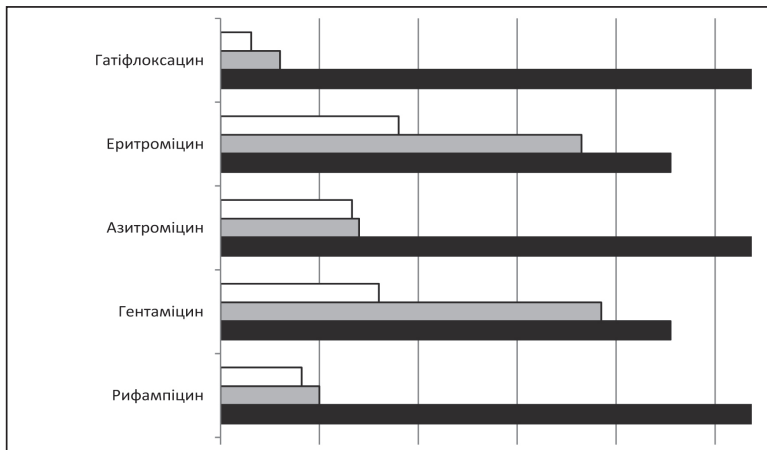


Рис. 3. Чутливість до антибіотиків ізолятів *S. aureus*.

Недостатня активність визначена для цефепіму: чутливими були лише 4 штами (36,4%), що може бути пов'язане зі здатністю досліджених штамів до продукції ферментів для руйнації цефалоспоринів [3,8].

Високу чутливість виділених штамів *S. aureus* визначено до рифампіцину – чутливі 9 штамів (81,8%).

Антибіотики групи тетрациклінів і аміноглікозидів характеризувалися низькою ефективністю щодо виділених штамів *S. aureus* – приблизно 60% штамів були резистентні. Найвищу чутливість у цій групі антибактеріальних препаратів визначено до гентаміцину – 45,5% (5 штамів). До азитроміцину чутливими були 8 (72,7%) штамів, а до еритроміцину – лише 5 (45,5%).

Виявили низький рівень резистентності клінічних штамів *S. aureus* до препаратів фторхінолонового ряду. Чутливими до гатіфлоксацину були 10 (90,9%) досліджених штамів, а 1 (9,1%) мав помірну резистентність.

Антибіотикорезистентність – глобальна проблема, для розв'язання якої потрібен комплекс заходів по раціоналізації застосування антимікроб-

них препаратів з метою підвищення їх ефективності та стримування антибіотикорезистентності [7]. Раціональний вибір антибіотика забезпечує успішне лікування інфекційно-запальних процесів різної локалізації в найкоротші терміни, тоді як нераціональний вибір антибіотика підвищує ризик несприятливого результату, призводить до розвитку ускладнень і підвищує вартість лікування, тому нами було проведено дослідження чутливості до антибіотиків штамів золотистого стафілокока, що виділені від осіб з носійством [7,8].

**Висновки**

1. Показано, що серед досліджених осіб у 69,6% (16) мало місце носійство стафілокока. 68,8% штамів ідентифікували як *S. aureus*, 25% – як *S. epidermidis* і 6,2% – як *Staphylococcus spp.*

2. Встановлено, що плазмокоагулазна активність проявилася у 68,8%, ліпазна та лецитиназна – у 87,5%, гемолітична – у 93,8% штамів стафілококів.

3. Виявили, що найбільш активним антибіотиком проти штамів *S. aureus* був іміпенем (100% чутливі), найменш ефективним – амоксицилін (18,2% чутливі).

**Перспективи подальших досліджень.** Поширення стійкості до антибіотиків серед клінічних штамів дедалі стає все більш значущою проблемою. Тому необхідним елементом діагностичних процедур слід вважати виконання антибіотикограми для встановлення спектру чутливості до антибіотиків задля розробки схеми раціональної антибіотикотерапії стафілококових уражень. Системний моніторинг чутливості клінічних ізолятів стафілококів до антибіотиків може бути використаний для розробки схем запобігання поширенню детермінант стійкості серед мікроорганізмів.

**Література**

1. Aleshukina AV. Medicinskaya mikrobiologiya. Rostov-na-Donu: Feniks; 2003. 473 s. [in Russian].
2. Vorob'ev AA, Krivoshein YuS, Shirobokov VP. Medicinskaya i sanitarnaya mikrobiologiya. Moskva: Academia; 2003. 462 s. [in Russian].
3. Makushenko RS, Avdeeva LV, Macheret YaYu. Vydovyy sklad ta chutlyvist' do antybiotykyv oksatsylinrezystentnykh shtamiv stafilokokiv. AML. 2008;1-2:14-9. [in Ukrainian].
4. Usvyacov BYa, Chernova OL, Matyushina SB, Buharin OV. Rezidentnoe stafilokokkovoe bakterionositel'stvo v populyacii cheloveka kak pokazatel' mikroekologicheskogo monitoringa srede ego obitaniya. Zhurnal mikrobiologii, ehpidemiologii i immunobiologii. 1996;3:71-4. [in Russian].
5. Zvereva NN. Etiotropnaya terapiya ostryyh respiratornykh infekcij bakterial'noj ehtologii. RMZH. 2015;22:1322-7. [in Russian].
6. Chervinec YuV, Belyaeva EA, Charkova AR, Chervinec VM. Analiz chuvstvitel'nosti mikroorganizmov, vydelennyh ot bol'nyh s hronicheskimi zabolevaniyami verhnih dyhatel'nyh putej, k protivomikrobnym preparatam. Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya. 2015;1-1:12-8. [in Russian].
7. Dotsenko NYa, Sapa YuS, Kraydashenko OV, Latsinskaya SA. Ratsionalnaya antimikrobnaya terapiya. Zaporozhye: Lana; 2003. 160 s. [in Russian].
8. Tkachyk I, Dyma O. Ratsionalna antybiotykoterapiya infektsiy, sprychynenykh problemnyimi hrampozytyvnymy zbudnykamy. Liky Ukrainy. 2004;3:52-5. [in Ukrainian].
9. Ob unifikacii mikrobiologicheskikh (bakteriologicheskikh) metodov issledovaniya, primenyaemyh v kliniko-diagnosticheskikh laboratoriyah lechebno-profilakticheskikh uchrezhdenij: prikaz № 535 ot 22.04.1985. Moskva: MOZ SSSR; 1985. 65 s. [in Russian].
10. Pro zatverdzhennya metodychnyh vkazivok «Vyznachennya chutlyvosti mikroorganizmiv do antybakterialnyh preparativ»: nakaz № 167 vid 05.04.2007. Kyiv: MOZ Ukrainy; 2007. 47 s. [in Ukrainian].

**ЧУТЛИВІСТЬ ДО АНТИБІОТИКІВ КЛІНІЧНИХ ІЗОЛЯТІВ СТАФІЛОКОКІВ**

**Надвернюк Р. А., Воронкова О. С., Франкенберг А. А., Шевченко Т. М.**

**Резюме.** Визначено, що серед усього обстеженого контингенту з різними типами патології виявлення стафілокока мало місце у 16 (69,6%) випадків. У 11 випадках (68,8%) мало місце носійство *S. aureus*, у 4 (25,0%) – *S. epidermidis* і в 1 (6,2%) – *Staphylococcus spp.* Встановлено, що серед усіх виділених штамів стафілококів плазмокоагулазну активність мали 68,8% ізолятів. До продукції ліпази та лецитинази були здатні 14 (87,5%) штамів з усіх виділених, причому у всіх випадках прояв цих активностей був одночасним. 2 (12,5%) штами не

мали прояву цих ознак. Гемолізину продукували 15 (93,8%) штамів. До імпіпенему чутливими були всі ізоляти *S. aureus*, до амоксициліну – лише 18,2% штамів.

**Ключові слова:** стафілококи, клінічний ізолят, видовий спектр, чутливість до антибіотиків.

### ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ СТАФИЛОКОККОВ

**Надвернюк Р. А., Воронкова О. С., Франкенберг А. А., Шевченко Т. Н.**

**Резюме.** Установлено, что среди всего обследованного контингента с различными типами патологии выявление стафилококка имело место в 16 (69,6%) случаях. В 11 случаях (68,8%) имело место носительство *S. aureus*, в 4 (25,0%) – *S. epidermidis* и в 1 (6,2%) – *Staphylococcus spp.* Установлено, что среди всех выделенных штаммов стафилококков плазмокоагулазной активностью обладали 68,8% изолятов. К продукции липазы и лецитиназы были способны 14 (87,5%) штаммов из всех выделенных, причем во всех случаях проявление этих активностей был одновременным. 2 (12,5%) штамма не имели проявления этих признаков. Гемолизины продуцировали 15 (93,8%) штаммов. К имипенему чувствительными были все изоляты *S. aureus*, к амоксициллину – только 18,2% штаммов.

**Ключевые слова:** стафилококки, клинический изолят, видовой спектр, чувствительность к антибиотикам.

### SENSITIVITY TO ANTIBIOTICS OF CLINICAL ISOLATES OF STAPHYLOCOCCI

**Nadverniuk R. A., Voronkova O. S., Frankenberg A. A., Shevchenko T. M.**

**Abstract.** Staphylococcal infection, according to the World Health Organization, continues to spread everywhere with the growing dynamics. Diseases are found in all age groups of the population, starting with childhood. The uniqueness of these lesions is that they are able to affect all organs and systems in the form of localized or generalized infection. Priority in the problem of staphylococcal infections have the question of the spread of resistance to antibiotics among clinical isolates, which mediates the emergence of problems in the use of therapeutic measures. Staphylococci today are recognized as one of the most significant groups of microorganisms, which have a significant carriage of resistance determinants. The timely diagnosis of staphylococcal disease and the individual determination of the susceptibility of strains to antibiotics is the basis for rational therapeutic and prophylactic measures.

The aim of the research was to determine the species spectrum and antibiotic susceptibility of isolated staphylococcal strains. The research was carried out on the basis of the bacteriological laboratory of the Tsarichanka Town Clinical Hospital. The object of the study was the frequency of detection and biological properties of clinical isolates of staphylococci. The subject of the study was the isolation of gram-positive cocci, a distinction from individuals with different types of lesions. Standard methods were used to isolate, identify and study of antibiotic susceptibility of isolates. In the study of 23 samples of biological material suspected on staphylococcal carriage, it was determined that it was present in 16 (69.6%) specimens. Species identification showed that in 11 cases (68.8%) *S. aureus* was present. Representatives of the *S. epidermidis* species were found in 4 (25.0%) cases and in 1 (6.2%) cases isolated strains was identified as *Staphylococcus spp.* The obtained range coincides with the known data that the leading role in human pathology belongs to the *S. aureus*, which can easily colonize the body and cause pathogenetic manifestations. For all isolated strains, the manifestation of plasmocoagulase, lipase, lecithinase and hemolytic activity was investigated. Thus, it was found that among of all isolated strains of staphylococci only 68.8% produced plasmocoagulase, 87.5% – were able to produce lipase and lecithinase, 93,8% – hemolysins. The most active antibiotic from the group of drugs acting on the synthesis of the cell wall, against all the examined strains of *S. aureus* was imipenem (carbapenem), to which all 11 (100%) strains were susceptible. Unlike amoxicillin, it was significantly more effective. In particular to the latter were sensitive to 18.2% of strains. Inadequate activity is determined for cefepime: only 4 strains (36.4%) were susceptible. The high sensitivity of the isolated *S. aureus* strains is determined by rifampicin – 9 strains are susceptible (81.8%) and gatifloxacin (90.9%). Antibiotics of the tetracycline and aminoglycoside groups were characterized by low efficacy against the isolated *S. aureus* strains – more over 60% of the strains were resistant. The spreading of antibiotic resistance among clinical strains is becoming increasingly significant. Therefore, an essential element of the diagnostic procedures is the performance of the antibioticogram to determine the range of sensitivity to antibiotics in order to develop a scheme of rational antibiotic therapy of staphylococcal lesions. Systemic monitoring of the sensitivity of clinical isolates of staphylococci to antibiotics can be used to develop of schemes to prevent the spread of determinants of resistance among microorganisms.

**Key words:** staphylococci, clinical isolate, species spectrum, sensitivity to antibiotics.

*Рецензент – проф. Лобань Г. А.*

*Стаття надійшла 06.01.2019 року*