

УДК 57.083.1

ВИВЧЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ ДО АНТИБІОТИКІВ МІКРООРГАНІЗМІВ, КУЛЬТИВОВАНИХ НА ПОЖИВНОМУ СЕРЕДОВИЩІ, ОТРИМАНОМУ ІЗ ЕРИТРОЦИТАРНОЇ МАСИ КРОВІ**Батрак О.А., Завада Н.П., Рябова І.С., Штикер Л.Г.****Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України, Харків****Вступ**

Аналіз даних літератури свідчить про те, що необхідність пошуку нових джерел живильних основ для конструювання поживних середовищ продовжує залишатися актуальною проблемою. Поряд з тим великого значення набуває питання здешевлення живильних основ.

Доцільність застосування повноцінного м'яса для приготування поживних середовищ в теперішній час має сумнів для великої кількості мікробіологів. Одним із шляхів вирішення цієї проблеми є заміна харчової сировини на нехарчову. В зв'язку з цим запропонован ряд замінників, які по вмісту білка, необхідного для азотистого харчування мікроорганізмів, не поступається високоякісному м'ясу.

Широко застосовується при виготовленні поживних середовищ боєська кров тварин [1, 2, 3, 4, 5], відходи виробництва крові людини [6,7], дріжджові екстракти [8], відходи пушного виробництва [9], курячі ембріони [10,11], екстракти рослин [8] та інші.

В проведених дослідженнях застосовувалась еритроцитарна маса крові людини, яка втратила термін зберігання. Еритроцитарну масу брали в центрі станції переливання крові міста Харкова, з якої, методом кислотного гідролізу, були одержані живильні основи, необхідні для конструювання поживного середовища.

В зв'язку з цим, метою нашої роботи була поставлена задача вивчити чутливість до антибактеріальних препаратів мікроорганізмів, культивованих на стандартному поживному середовищі (типа АГВ) та експериментально розробленому із еритроцитарної маси крові людини середовищі.

Матеріали та методи дослідження

Об'єктами дослідження були еталонні штами мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 4636.

Чутливість визначали диско-дифузійним методом за допомогою стандартних дисків. Була вивчена чутливість мікроорганізмів до антимікробних препаратів таких, як: амікаїн, ампіцилін, левоміцетин, цефтриаксон, ципрофлоксін, еритроміцин, гентаміцин, норфлуксацин, тетрациклін, бензілпеніцилін, оксацилін, цефуоксим, кліндаміцин. Концентрація антибіотиків складала (в перерахунку на один диск): амікаїн – 30 мкг, ампіцилін – 10 мкг, левоміцетин – 30 мкг, цефтриаксон – 30 мкг, ципрофлоксін – 100 мкг, еритроміцин – 15 мкг, гентаміцин – 10 мкг, норфлуксацин – 10 мкг, тетрациклін – 30 мкг, бензілпеніцилін – 10 МОД, оксацилін – 1 мкг, цефуоксим – 30 мкг, кліндаміцин – 2 мкг. Зони затримки росту і розмноження мікроорганізмів вимірювали за допомогою трафарету для дослідження мікроорганізмів згідно з методикою [12]. Експериментальне живильне середовище з еритроцитарної маси крові отримували методом кислотного гідролізу. Придатність серій живильних середовищ для тест-штамів оцінювали за методикою, яка розроблена для оцінки якості живильних середовищ лабораторним регламентом [12]. Готували поживне середовище типу АГВ у відповідності до вимог виробника за прописом. Експериментальне середовище із еритроцитарної маси крові готували з урахуванням усіх вимог, які вказані в методиці [13].

На поживне середовище засівали контрольний штам із стандартним розведенням – 10^7 КУО/мл. Через 24 год. визначали діаметри затримки росту навкруги дисків.

В інших дослідженнях в експериментальне середовище додавали 40 % розчин глюкози для стимуляції росту мікроорганізмів.

Статистичну обробку результатів проводили за Стъдентом-Фішером.

Результаті проведених досліджень представлені в таблицях 1, 2,3.

Таблиця 1 Діаметри зон затримки росту мікроорганізмів при культивуванні на стандартному середовищі АГВ

Антибіотики	Діаметри зон затримки росту (мм)			
	Staphylococcus aureus ATCC 25923 n*=5	Escherichia coli ATCC 25922 n*=5	Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 n*=5	Proteus vulgaris ATCC 4636 n*=5
1	2	3	4	5
Ампіцилін	29,1±5,1	17,1±3,5	-	-
Бензілпеніцилін	27,3±4,1	-	-	-
Оксацилін	20,2±4,4	-	-	-
Цефуроксим	25,1±2,4	22,5±4,2	-	-
Цефтриаксон	23,4±3,2	30,7±3,8	20,7±3,4	20,6±3,3
Амікаїн	22,2±1,4	20,2±2,2	20,4±4,4	20,3±3,0
Гентаміцин	20,2±3,1	22,4±4,2	18,3±3,4	18,3±3,7
Ципрофлоксін	25,2±3,1	35,3±5,3	27,2±5,1	27,5±5,3
Норфлоксацин	19,1±5,3	27,5±4,2	24,4±5,6	24,4±5,2
Левоміцетин	20,1±3,3	20,3±4,3	-	-
Клиндамицин	26,4±4,4	-	-	-
Еритроміцин	23,5±5,1	20,1±4,2	-	-
Тетрациклін	20,1±3,4	20,7±3,4	-	-

Примітка: n* - кількість постановок дослідів

- відсутність зон затримки росту.

Таблиця 2. Діаметри зон затримки росту мікроорганізмів при культивуванні на розробленому середовищі, отриманому з еритроцитарної маси крові

Антибіотики	Діаметри зон затримки росту (мм)			
	Staphylococcus aureus ATCC 25923 n*=5	Escherichia coli ATCC 25922 n*=5	Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 n*=5	Proteus vulgaris ATCC 4636 n*=5
1	2	3	4	5
Ампіцилін	23,2±5,2	15,3±3,3	-	-
Бензілпеніцилін	22,1±4,4	-	-	-
Оксацилін	17,5±4,2	-	-	-
Цефуроксим	20,5±1,4	20,4±5,3	-	-
Цефтриаксон	18,3±3,0	19,7±3,3	19,3±2,2	19,2±2,2
Амікаїн	19,2±1,5	19,6±1,5	19,2±2,2	18,2±2,3

1	2	3	4	5
Гентаміцин	19,5±1,2	18,4±4,1	17,1±2,3	16,2±3,2
Ципрофлоксін	21,2±2,2	25,4±4,2	23,5±5,6	23,1±4,1
Норфлоксацин	17,0±5,1	20,3±4,2	19,3±5,2	18,2±4,1
Левоміцетин	19,0±2,5	21,6±3,5	-	-
Клиндамицин	21,2±3,1	-	-	-
Еритроміцин	20,1±4,2	16,3±2,3	-	-
Тетрациклін	17,6±3,3	17,4±3,0	-	-

Примітка: n* - кількість постанов дослідів

- відсутність зон затримки росту.

Таблиця 3. Діаметри зон затримки росту мікроорганізмів при культивуванні на розробленому середовищі, отриманому з еритроцитарної маси крові, з додаванням 40% глюкози

Антибіотики	Діаметри зон затримки росту (мм)			
	Staphylococcus aureus ATCC 25923 n*=5	Escherichia coli ATCC 25922 n*=5	Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 n*=5	Proteus vulgaris ATCC 4636 n*=5

1	2	3	4	5
Ампіцилін	25,2±5,2	16,3±3,3	-	-
Бензілпеніцилін	23,1±4,4	-	-	-
Оксацилін	18,5±4,2	-	-	-
Цефуроксим	22,5±1,4	21,4±5,3	-	-
Цефтриаксон	20,3±3,0	20,7±3,3	20,3±2,2	20,2±2,2
Амікаїн	20,2±1,5	20,6±1,5	20,2±2,2	20,2±2,3
Гентаміцин	20,5±1,2	20,4±4,1	18,1±2,3	18,2±3,2
Ципрофлоксін	22,2±2,2	30,4±4,2	25,5±5,6	25,1±4,1
Норфлоксацин	18,0±5,1	22,3±4,2	20,3±5,2	20,2±4,1
Левоміцетин	18,0±2,5	20,6±3,5	-	-
Клиндамицин	24,2±3,1	-	-	-
Еритроміцин	21,1±4,2	18,3±2,3	-	-
Тетрациклін	19,6±3,3	18,4±3,0	-	-

Примітка: n* - кількість постанов дослідів

- відсутність зон затримки росту.

При дослідженні антибактеріальної активності протимікробних засобів (антибіотиків) по відношенні до контрольних тест-штамів (таблиці 1, 2, 3) на стандартному середовищі АГВ було встановлено, що діаметри зон затримки росту для групи пеніцилінів складає 20,4-29,1 мм, для стафілокока і кишкової палички що відповідає регламенту перевірки штамів та антибіотиків. Діаметри зон затримки росту для групи цефалоспоринів (цефтриаксон, цефуроксим) складає 18,3-25,1 мм для стафілокока, кишкової та синьогнійної паличок та протею. Цефуроксим не діє на паличку синього гною та протей. Для тетрацикліну діаметри зон коливаються в залежності від середовища. Якщо на стандартному середовищі АГВ діаметр дорівнює 20,1-20,7, то на середовищі з еритроцитарної маси крові – 17,4-17,6 мм для стафілокока та кишкової палички, а на протей та паличку синього гною він взагалі не діє.

Діаметри зон затримки росту мікроорганізмів при дії гентаміцином відрізняються в залежності від середовища. Так на АГВ діаметр для стафілококу дорівнює 20,2 мм і 18,3 для протей, а на середовищі, отриманому з еритроцитарної маси крові, діаметр 19,5 мм для стафілокока і 16,2 мм для протей. Клиндамицин діє на стафілокок, діаметр зони затримки росту складає 20,2 мм на середовищі, отриманому з еритроцитарної маси крові, і 26,4 мм на АГВ; на інші тестові штами він взагалі не діє.

Можна відмітити, що вивчені культури аеробних бактерій характеризувалися значною варіабельністю чутливості по відношенню до антибіотиків.

Стандартне середовище АГВ і експериментально розроблене з еритроцитарної маси крові, посилене глюкозою, мають подібні властивості, а середовище без глюкози має гірші властивості для росту мікроорганізмів, що впливає на чутливість мікроорганізмів до антибіотиків.

Література

1. Пиотрович В.А. Разработка питательной среды для культивирования культур клеток: Автореф. дис. ...канд. вет. наук. – Київ, Нац. аграр. університет, 2002. – 18 с.
2. Альсате Лус Энид. Этиологическая структура лептоспирозной инфекции в Колумбии : Автореф. дис. канд. ...биол.наук. – М., 1999.
3. Голшмид В.К., Илidgeв А.К., Ландсман Н.М., Богославская Л.Н., Токинова Т.Н. Гидролизаты крови для микробиологических питательных сред//Лаб.дело. – 1990. - №10. – С.68-70
4. Иванкин А.Н. Биологически активные вещества из животной ткани и микроорганизмов. Методы получения и структурно-функциональные взаимосвязи: Автореф. дис. ...докт.хим.наук. - М., 1998. - 39 с.
5. Журбанко Р.С., Барростабения Маркес Ф., Родригес Мартинес К., Варела Янес А.Е. Изучение возможности использования бактериологического пептона из цельной крови как питательные основы для выращивания микроорганизмов//Микробиология, эпидемиология и иммунология. – 1993. - №2. – С.23-27
6. Патент 2068265. Россия, МПК А61К35/14. Способ получения тромбоцитов/ Лифановский В.А.(Россия) - №92008994/14;Заявл.27.10.93; Опубл. 27.10.96.
7. Щетиніна В.М., Ніколаєнко В.М., Руденко С.С., Божко М.Г., Пугач Н.Б.Деякі характеристики фізіологічного стану *Escherichia coli*, культивованої на середовищах із відходів виробництва//Анали Мечниківського інституту – 2003. - № 4-5. – С. 73-75
8. Сорокулова И.Б., Хилько Т.В., Осадчая А.И. Разработка питательной среды для культивирования *Lactobacillus Plantarum* 8R-A3// Микробиолог.журн. – 2003. – т.65, №3. – С. 39-45
9. Блинкова Л.П., Зотина М.Ю., Щербатих В.Н. Микробиологические питательные среды на основе отходов пушного звероводства//ЖМЭИ. – 1994. - №6. – С.22-23
10. Орел Л.И., Дубанская Л.Д. Обзор патентных документов по применению питательных сред для выращивания бактерий//ЖМЭИ. – 1983. - №12. – С.22-26
11. Адлова Г.П., Денисова С.В., Илidgeв А.К., Смирнова Г.А. Разработка стимуляторов роста бактерий из растений // ЖМЭИ. – 1998, №1.
- С.13-17
12. Определение чувствительности к антимикробным средствам: Основные методы лабораторных исследований в клинической бактериологии/ Всемирная организация здравоохранения. – Женева, 1994. – 132 с.

13. Осолодченко Т.П., Щетиніна В.М., Ніколаєнко В.М., Лучків В.І., Батрак О.А., Завада Н.П., Рябова І.С., Штикер Л.Г. Одержання живильної основи з активного мулу для культивування мікроорганізмів //Анали Мечниківського Інституту. – 2003. - №4-5. – С.76-78

УДК 57.083.1

ВИВЧЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ ДО АНТИБІОТИКІВ МІКРООРГАНІЗМІВ, КУЛЬТИВОВАНИХ НА ПОЖИВНОМУ СЕРЕДОВИЩІ, ОТРИМАНОМУ ІЗ ЕРИТРОЦИТАРНОЇ МАСИ КРОВІ

Батрак О.А., Завада Н.П., Рябова І.С., Штикер Л.Г.

Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України, Харків

Вивчена антимікробна активність антибіотиків на стандартному середовищі АГВ та експериментально розробленому поживному середовищі з еритроцитарної маси крові людини, яка втратила термін зберігання. Антимікробна активність препаратів на середовищі, отриманому методом кислотного гідролізу з еритроцитарної маси крові менш, ніж на стандартному середовищі АГВ. Додавая в середовище, яке розробляється, інгредієнти росту (глюкозу, пептон, сироватку), ми плануємо досягнути покращення ростових якостей мікроорганізмів.

Ключові слова: антибіотики, мікроорганізми, поживне середовище, еритроцитарна маса крові.

УДК 57.083.1

ИЗУЧЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АНТИБИОТИКАМ МИКРООРГАНИЗМОВ, КУЛЬТИВИРОВАННЫХ НА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ, ПОЛУЧЕННОЙ ИЗ ЭРИТРОЦИТАРНОЙ МАССЫ КРОВИ

Батрак Е.А., Завада Н.П., Рябова И.С., Штыкер Л.Г.

Институт микробиологии и иммунологии им. И.И. Мечникова АМН Украины, Харьков

Изучена антимикробная активность антибиотиков на стандартной среде АГВ и экспериментально разработанной питательной среде из эритроцитарной массы крови человека, утратившей срок годности. Антимикробная активность препаратов на среде, полученной методом кислотного гидролиза из эритроцитарной массы крови меньше, чем на стандартной среде АГВ. Добавляя в разрабатываемую среду ингредиенты роста (глюкозу, пептон, сыворотку) мы планируем достичь улучшения ростовых качеств микроорганизмов.

Ключевые слова: антибиотики, микроорганизмы, питательная среда, эритроцитарная масса крови.

UDK 57.083.1

STUDY OF MICROORGANISMS SENSITIVITY TO ANTIBIOTICS, THAT WAS CULTIVATED ON MEDIUMS ON BASE OF ERYTHROCYTES MASS

Batrak E. A., Zavada N. P., Rjabova I.S., Shtiker L.G.

Institute of microbiology and immunology of Mechnikov, AMS Ukraine, Kharkov

There was studied an antimicrobial activity of antibiotics on a standard nutrient medium AGB in comparison with experimentally developed medium which contained packed red blood cells of overdued working life. The antimicrobial activity of the medications under circumstances of the medium obtained by the method of acid hydrolysis of packed red blood cells was lower than under circumstances of the standard nutrient medium AGB. By means of addition of the growth ingredients (glucose, peptone, serum) it is planned to achieve an improvement of growth properties of microorganisms.

Key words: antibiotics, microorganisms, medium, erythrocytes mass (from donor's blood)