

*Торопін В.М., Бурмістров К.С., Кременчуцький Г.М., Торопін Н.В.*

### ОТРИМАННЯ ДЕЗІНФІКУЮЧИХ ТА АСЕПТИЧНИХ РОЗЧИНІВ З ВИКОРИСТАННЯМ МОДИФІКОВАНИХ ПОЛІМЕРІВ

**Резюме.** Вивчена емісія активного хлору з іммобілізованих *N*-хлорсульфонамідів натрію при дії активаторів амінного типу. Встановлено, що концентрація активного хлору в розчині визначається стабільністю хлорованих форм активатора.

**Ключові слова:** *N*-хлорсульфонамід, полімери, гіпохлорит, активація.

*Toropin V.N., Burmistrov K.S., Kremenchutskiy G.N., Toropin N.V.*

### THE OBTAINING OF THE DISINFECTANT AND ASEPTIC SOLUTION WITH USING OF THE MODIFIED POLYMERS

**Summary.** The emission of the active chlorine from immobilized sodium *N*-chlorosulfonamides under the action of amine type activators has been studied. It has been found that the concentration of active chlorine in the solution is determined by the stability of chlorinated activator forms.

**Key words:** *N*-chlorosulfonamide, polymers, hypochlorite, activation.

Стаття надійшла до редакції 7.10.2013 р.

*Бурмістров Константин Сергеевич* - профессор кафедры технологии органических веществ и фармацевтических препаратов ГБУЗ "УГХТУ", доктор химических наук, профессор; +38 0562 47-36-27; kksburm@yandex.ru

*Торопін Владимир Николаевич* - соискатель ученой степени кандидата химических наук кафедры технологии органических веществ и фармацевтических препаратов ГБУЗ "УГХТУ"; +38 0562 47-36-27; tvn87@yandex.ru

*Торопін Николай Владимирович* - ведущий инженер НИИ Гальванохимии ГБУЗ "УГХТУ"; +38 0562 47-36-27; tvn87@yandex.ru.

*Кременчуцький Геннадий Николаевич* - заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии и эпидемиологии ГУ "Днепропетровская медицинская академия" МЗ Украины, доктор медицинских наук, профессор; +38 056 713-51-88

© Ковальчук В.П., Кондратюк В.М., Трофіменко Ю.Ю.

УДК: 615.281:579.84

*Ковальчук В.П.<sup>1</sup>, Кондратюк В.М.<sup>2</sup>, Трофіменко Ю.Ю.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018);

<sup>2</sup>Військово-медичний клінічний центр Центрального Регіону (вул. Свердлова, 185, м. Вінниця, Україна, 21018)

## РЕЗУЛЬТАТИ ПОРІВНЯЛЬНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ ДО АНТИСЕПТИКІВ ПЛІВКОВИХ ТА ПЛАНКТОННИХ ФОРМ БАКТЕРІЙ

**Резюме.** В роботі досліджено видовий склад мікрофлори, що колонізує у вигляді біоплівки поверхню ендотрахеальних інтубаційних трубок в процесі надання дихальної підтримки пацієнтам відділень реанімації. Наведені дані щодо чутливості виділених мікроорганізмів до антибіотиків. Визначено значення мінімальних бактерицидних концентрацій перекису водню, повідон-йоду та ряду поверхнево-активних антисептиків для плівкових та планктонних форм виділених штамів бактерій.

**Ключові слова:** бактеріальні плівки, чутливість до антисептиків.

### Вступ

Протягом понад 150 років мікробіологія ґрунтувалась на дослідженні чистих культур мікроорганізмів. В останні роки більшістю фахівців визнано, що у природних умовах мікроорганізми існують у вигляді структурованих, закріплених до різноманітних поверхонь, співтовариств - біоплівок, і їх властивості у такому стані відрізняються від властивостей окремих клітин, завішених у рідкому середовищі.

Біоплівка є багатошаровою мікробною структурою, у якій бактеріальні клітини прикріплені до поверхні розділу фаз і одна до одної і вкриті біополімерним матриксом. Виникнення спільнот мікроорганізмів, що мають плівчасту структуру, є одним із способів виживання бактерій у мікробіоценозі. Вважається, що 90 % вивчених видів таксономічного домену *Bacteria* здатні до плівкоутворення. Встановлено, що бактеріальні біоплівки є патогенетичним чинником хронічних інфекційних процесів у людей. В першу чергу це стосується процесів, пов'язаних з наданням медичної допомоги, особливо із застосуванням імплантатів (кате-

терів, ендопротезів, ендотрахеальних інкубаційних трубок) [Балко та ін., 2013].

Взаємостосунки окремих субпопуляцій мікроорганізмів у складі біоплівки регулюються недавно відкритим механізмом міжклітинних комунікацій, що одержав назву "quorum sensing". Механізм діє шляхом продукції бактеріальними клітинами сигнальних молекул, які забезпечують колективну координацію експресії і репресії генів в популяції бактерій. Завдяки наявності цього механізму забезпечується внутрішньопопуляційне диференціювання клітин, регулюються ростові процеси, напрямок руху клітин, апоптоз [Афіногенова, Даровська, 2011].

Бактеріальні клітини, вкарбовані у матрикс, захищені від зовнішніх впливів і відрізняються високим рівнем толерантності до дії факторів імунітету, антибіотиків, антисептиків, дезінфектантів. Полімери матриксу виконують роль молекулярного фільтру, що запобігає хімічним впливам на клітини. Окремі елементи матриксу (гліцерол-фосфорильовані бета-глюкани

*P. aeruginosa*) не просто уповільнюють дифузію, а активно сорбують дрібні молекули протимікробних засобів. У полімікробних плівках антибіотикорезистентні клітини виділяють ензими чи антибіотикзв'язуючі протеїни, що активно захищають інших членів мікробної спільноти від дії антибіотиків. Висока щільність мікробної популяції у біоплівці стимулює обмін генетичною інформацією, у т.ч. детермінантами антибіотикорезистентності [Тодосійчук та ін., 2011, Sing et al., 2010].

Обмеження поживних речовин і простору у біоплівці обумовлюють формування у її складі субпопуляції метаболічно неактивних клітин-персистерів. Відсутність у таких клітинах процесів транскрипції, трансляції реплікації і будь-якого біосинтезу, робить їх невразливими до дії антибіотиків і хіміопрепаратів, що блокують у звичайних бактеріальних клітинах ці процеси. Таким чином, можливості впливу на патогени, що знаходяться у складі біоплівок, істотно обмежені [Чоботар и др., 2012; Kaplan, 2011].

*Метою* нашої роботи було порівняльне визначення чутливості мікроорганізмів, що утворили біоплівку на ендотрахеальних трубках важкохворих відділення реанімації та інтенсивної терапії та їх планктонних форм, до використовуваних у медичній практиці антисептиків.

### Матеріали та методи

В роботі використані штами мікроорганізмів, виділені з поверхні ендотрахеальних інкубаційних та трахеостомічних трубок, що використовувались протягом не менше 4-х днів для дихальної підтримки важкохворих відділення інтенсивної терапії військово-медичного центру Центрального Регіону МО України.

Чутливість досліджених культур мікроорганізмів до антибіотиків вивчали методом стандартних паперових індикаторних дисків. Мінімальні бактеріостатичні та бактерицидні концентрації хлоргексидину біглюконату, бензалконію хлориду, декаметоксину, повідон-йоду та перекису водню для планктонних форм досліджених штамів бактерій визначали методом серійних послідовних двократних розведень препаратів у рідкому поживному середовищі.

З метою утворення біоплівок на поверхні ендотрахеальних трубок стерильні фрагменти останніх довжиною 1 см поміщали у м'ясо-пептонний бульйон, інкулювали однією з досліджуваних культур, термостатували протягом 4-х днів. Наявність біоплівки на поверхні зразка контролювали мікроскопічно. Для визначення впливу антисептиків на бактеріальні плівки, одержані таким чином зразки занурювали у пробірки з двократно послідовно розведеними антисептиками на 1 добу, після чого переносили у звичайний МПБ, термостатували протягом 24 год. Максимальне розведення антисептика, після обробки яким зразка не спостерігалось росту, вважали мінімальною бактерицидною концентрацією (МБЦК) для бактеріальної біоплівки.

### Результати. Обговорення

З поверхонь досліджених дихальних трубок були виділені штами мікроорганізмів, що і за даними чисельних літературних джерел найчастіше колонізують дихальну апаратуру і приймають участь у розвитку вентилятор-асоційованих пневмоній [Белобородов, 2012]. У 63,6 % випадків виділені представники роду *Acinetobacter*, при цьому у 27,3 % випадків акінетобактерії виділені у монокультурі. З однаковою частотою 18,2 % з біоплівкових асоціацій виділялись клебсієли та псевдомонади. Привертає увагу висока частота участі у формуванні біоплівок дріжджоподібних грибів роду *Candida* (36,4 %), *Enterococcus* spp. (25 %), та *Corynebacterium non diphtheriae* (25 %). Рідше у асоціаціях у складі біоплівок зустрічались бактерії родів *Enterobacter*, *Coccuria*, *Stenotrophomonas*.

Усі виділені штами мікроорганізмів характеризувались полірезистентністю до антибіотиків. Найвищим рівнем резистентності до антибіотиків характеризувались стенотрофомонади і акінетобактерії, які були стійкими до амінопеніцилінів, у т.ч. захищених, аміноглікозидів, амфеніколів, цефалоспоринів III та IV поколінь, ципрофлоксацину і респіраторних фторхінолонів, рифампіцину, тетрациклінів. Лише окремі з виділених штамів цих родів бактерій виявляли чутливість до карбапенемів та захищеного сульбактамом цефоперазону.

Виділені штами псевдомонад були чутливими до захищених і незахищених цефалоспоринів III покоління, аміноглікозидів, ципрофлоксацину і респіраторних фторхінолонів, карбапенемів.

Представники родини *Enterobacteriaceae*, виділені із складу біоплівок, були гетерогенними за профілями антибіотикорезистентності, що не дозволяє зробити будь-які узагальнення. Лише до карбапенемів виявили чутливість усі виділені штами.

Досліджені штами ентерококів виявились резистентними до цефалоспоринів, у т.ч. захищених, респіраторних фторхінолонів, амфеніколів, тетрациклінів, карбапенемів; виявляли чутливість до ванкоміцину, лінезоліду і у більшості випадків зберігали чутливість до звичайних амінопеніцилінів.

До більшості досліджених антисептиків виділені штами мікроорганізмів у планктонній формі виявляли високий рівень чутливості. Порівняльне дослідження чутливості планктонних та плівкових форм до антисептиків проведено у відношенні виділених штамів акінетобактерій, псевдомонад та клебсієл. Одержані результати ілюструє табл. 1.

Аналіз наведених у табл. 1 даних свідчить про істотні відмінності у чутливості до антисептиків у планктонних форм мікроорганізмів і тих же видів мікроорганізмів у складі біоплівки. Так, бактерицидна дія декаметоксину на планктонну форму псевдомонад досягала в концентрації  $109,4 \pm 15,6$  мкг/мл, що відповідає даним раніше виконаних досліджень [Палій та

**Таблиця 1.** Характеристика протимікробної активності антисептиків у відношенні планктонних та плівкових форм бактерій.

Досліджувана культура	Досліджуваний препарат				
	Декаметоксин	Бензалконій хлорид	Хлоргексидин біглюконат	Перекис водню	Повідонйод
	МБцК(М±м) мкг/мл				
<i>P.aeruginosae</i> A n = 4	109,4±15,6	343,8±65,6	50,0±7,5	1640,7±235,0	7500±1250
<i>P.aeruginosae</i> B n = 4	312,5±62,5	712,4±110,5	200,0±32,4	13125±1875	17500±3500
<i>A.baumannii</i> A n = 6	14,8±5,2	24,7±7,6	57,3±8,8	329,2±82,2	6250±0,0
<i>A.baumannii</i> B n = 6	53,1±9,4	54,2±8,1	72,9±11,4	4500±1125	12500±0,0
<i>Klebsiella</i> spp. A n = 4	37,5±6,2	42,1±7,6	54,7±8,3	204,8±30,1	12500±0,0
<i>Klebsiella</i> spp. B n = 4	57,8±7,2	69,4±10,2	109,4±15,6	587,0±1090	25000±0,0

**Примітки:** А - планктон ; В - плівка.

ін., 2012]. Повної загибелі цього виду мікроорганізмів у складі біоплівки на поверхні ендотрахеальної трубки досягали, занурюючи зразок у розчин препарату з майже у тричі вищою концентрацією. Схожі відмінності спостерігали в усіх досліджених випадках з різницею лише у ступені зростання МБцК.

Найменше відрізнялись МБцК повідон-йоду для планктонних і плівкових форм вивчених видів мікроорганізмів. Для усіх досліджених штамів акінетобактерій і клебсієл ця різниця була лише двократною. Для псевдомонад ступінь відмінності становив 2,3 рази.

Відносно поверхнево-активних антисептиків значення МБцК для планктонних і плівкових форм мікроорганізмів у окремих штамів акінетобактерій і клебсієл співпадали, у інших - були для плівкових форм у 2-3 рази більшими. У псевдомонад тенденція зниження чутливості плівкових форм до антисептиків цієї групи була найбільш вираженою. Різниця значень МБцК хлоргексидину біглюконату для планктонних і плівкових форм представників роду *Pseudomonas* сягала 8-кратної величини.

Найбільшою була різниця у МБцК перекису водню для планктонних і плівкових форм неферментуючих грамнегативних бактерій. Для знищення паличок синезеленого гною у біоплівці необхідна була у 8 разів більша концентрація перекису, ніж для знищення планктонних форм тих же штамів бактерій. Для акінетобактерій різниця була ще більшою і сягала 13,6 разів.

Порівнюючи видові відмінності у чутливості плівкових і планктонних форм мікроорганізмів до антисептиків, можна говорити про тенденцію значної різниці цих характеристик для неферментуючих грамнегативних бактерій і у меншій вираженості різниці для ентеробактерій. Це може бути обумовлено різницею у швидкості плівко утворення і особливостями структури біоплівок. Однак для обґрунтування остаточних

висновків потрібний значно більший обсяг досліджень.

Слід зазначити, що представлені вище результати досліджень ілюструють різницю у властивостях планктонних і плівкових форм мікроорганізмів і показують одну з тенденцій, що має важливе практичне значення. У біоплівках на поверхні дихальних трубок та інших імплантацій них виробів медичного призначення мікроорганізми знаходяться у багатокомпонентних асоціаціях і у такому складі можуть виявляти ще вищу толерантність до зовнішніх впливів. Широкомасштабні дослідження морфології біоплівок, механізмів утворення, особливостей формування за різних умов та впливу різних факторів знаходяться лише на етапі становлення. З метою об'єктивної оцінки ефективності антисептичних та дезінфікуючих засобів необхідна розробка універсальних методик визначення тих концентрацій препаратів, які здатні знищувати бактерій, інкорпорованих у біоплівку.

### Висновки та перспективи подальших розробок

1. На поверхні інтубаційних ендотрахеальних трубок в процесі використання у пацієнтів відділень реанімації та інтенсивної терапії формуються біоплівки, утворені полірезистентними до антибіотиків штамми бактерій.

2. Для знищення бактерій, інкорпорованих у біоплівку, необхідні вищі концентрації антисептиків, ніж для знищення планктонних клітин тих же біологічних видів.

Необхідно розробити універсальну методику оцінки ефективності протимікробного впливу на плівкові форми бактерій робочих лікарських форм антисептиків і дезінфектантів, що випускаються фармацевтичною промисловістю і використовуються у медичній практиці.

### Список літератури

- Афиногенова Л.Г. Микробные биопленки ран : состояние вопроса / Л.Г. Афиногенова, Е.Н. Даровская // Травматология и Ортопедия России. - 2011. - № 3 (61). - С. 119-125.
- Балко О. Етапи біоплівкоутворення *Pseudomonas aeruginosa* / О. Балко, Л. Авдеева, О. Балко // Ukrainian Food Journal. - 2013. - Vol. 2, № 1. - Р. 23-26.
- Белобородов В.Б. Проблемы антибактериальной терапии тяжелых инфекций на примере нозокомиальной пневмонии, связанной с проведенни-

- ем искусственной вентиляции легких, и сепсиса / В.Б. Белобородов // Болезни дыхательных путей. - 2012. - № 6. - С. 289-293.
- Тодосійчук Т.С. Підвищення стійкості мікробних патогенів як фактор розробки нових антисептиків / Т.С. Тодосійчук, Т.І. Стрелець, С.В. Конопацька // Наукові вісті НТУУ "КПІ". - 2011. - №3. - С. 90-97.
- Палій В.Г. Протимікробна активність антисептиків дека сану та фурациліну у пацієнтів з урологічною інфекцією / В.Г. Палій, В.П. Ковальчук, О.В. Римша // Biomedical and Biosocial Anthropology. - 2012. - № 18. - С. 41-44.
- Антибиотикорезистентность биопленочных бактерий / И.В. Чеботарь, А.Н. Маянский, Е.Д. Кончакова [и др.] // Клини. микробиол. антимикроб. химиотер. - 2012. - Т. 14, № 1. - С. 51-58.
- Kaplan J.B. Antibiotic-induced biofilm formation / J.B. Kaplan // Int J. Artif. Organs. - 2011. - № 34. - P. 737-751.
- Penetration of antibiotics through Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis biofilms / R. Singh, P. Ray, A. Das [et al.] // J. Antimicrob. Chemother. - 2010. - № 65. - P. 1955-1958.

**Ковальчук В.П., Кондратюк В.Н., Трофименко Ю.Ю.**

#### РЕЗУЛЬТАТЫ СРАВНИТЕЛЬНОГО ИЗУЧЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АНТИСЕПТИКАМ ПЛЕНОЧНЫХ И ПЛАНКТОННЫХ ФОРМ БАКТЕРИЙ

**Резюме.** В работе изучен видовой состав микрофлоры, колонизирующей в виде биопленок поверхность эндотрахеальных интубационных трубок в процессе дыхательной поддержки пациентов отделений реанимации. Приведены данные относительно чувствительности выделенных микроорганизмов к антибиотикам. Определены значения минимальных бактерицидных концентраций перекиси водорода, повидон-йода и ряда поверхностно-активных антисептиков для пленочных и планктонных форм выделенных штаммов бактерий.

**Ключевые слова:** бактериальные пленки, чувствительность к антисептикам.

**Kovalchuk V.P., Kondratyuk V.N., Trofimenko Yu.Yu.**

#### THE RESULTS OF THE COMPARATIVE STUDY OF THE SENSITIVITY TO ANTISEPTICS OF THE FILM AND PLANKTONIC FORMS OF THE BACTERIAS

**Summary.** In this work was studied the species composition of the microflora that colonizes in the biofilm form endotracheal intubation tube surface while providing respiratory support to the patients of the intensive care departments. Were showed the data of the sensitivity of the microorganisms to antibiotics. Were determined value of minimum bactericidal concentrations of hydrogen peroxide, povidone-iodine and of the others surface-active antiseptics for film and planktonic forms of selected strains of bacteria.

**Key words:** bacterial biofilms, sensitivity to antiseptics.

Стаття надійшла до редакції 25.11.2013р.

Ковальчук Валентин Петрович - д.мед.н., професор кафедри мікробіології, вірусології та імунології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова +38 0432 53-03-79

Кондратюк Вячеслав Миколайович - к.мед.н., лікар військово-медичного центру Центрального Регіону МО України +38 098 277-16-18

Трофименко Ю.Ю. - лікар анестезіолог відділення анестезіології та реанімації "Центр матері та дитини", 0432 530379.

© Мінухін В.В., Мозгова Ю.А., Габишева Л.С., Мішина М.М., Дубовик О.С., Кузьменко А.М., Мішин Ю.М., Мінухіна Д.В.

УДК: 579.862.1:615.33:615.37:616-022.7-076-092.9

**Мінухін В.В., Мозгова Ю.А., Габишева Л.С., Мішина М.М., Дубовик О.С., Кузьменко А.М., Мішин Ю.М., Мінухіна Д.В.**

Харківський національний медичний університет (пр. Леніна, 4, м. Харків, Україна)

#### ВПЛИВ КОМПЛЕКСНОЇ ТЕРАПІЇ НА АКТИВНІСТЬ ІНДИКАТОРНИХ ФЕРМЕНТІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ГЕНЕРАЛІЗОВАНІЙ ЕНТЕРОКОКОВІЙ ІНФЕКЦІЇ

**Резюме.** У результаті проведених досліджень було встановлено, що у сироватці крові інфікованих тварин спостерігалось статистично достовірне підвищення активності загальної лактатдегідрогенази й підвищення активності індикаторних ферментів печінки: аспартатамінотрансферази, аланінамінотрансферази, лужної фосфатази,  $\gamma$ -глутамілтранспептидази. Спостерігалось збільшення активності лужної фосфатази - на 225 %,  $\gamma$ -ГТП - на 73 %. Підвищення активності АСТ і АлТ у сироватці крові (відповідно на 95% і 195 %) корелювало з підвищенням активності у печінці інфікованих тварин (відповідно на 61 % і 94 %), порівняно з контролем. При визначенні впливу комплексної терапії на активність ключових ферментів в організмі інфікованих тварин, яким вводили різні комбінації антибактеріальних та імунокорегуючих препаратів було встановлено, що застосування у комплексній терапії генералізованої ентерококової інфекції комбінацій амоксиклав + цефепім + поліоксидоній й амоксиклав + цефепім + тималін призводить до нормалізації активності індикаторних ферментів.

**Ключові слова:** індикаторні ферменти, експериментальне дослідження, ентерокок.

#### Вступ

Упродовж останніх двох десятиріч ентерококи посідають третє місце серед найбільш поширених збуд-

ників внутрішньолікарняних інфекцій. До факторів ризику у розвитку ентерококових інфекцій належать