

© Коротких О.О., Калініченко С.В., Антушева Т.І.

УДК: 576.851.252:579.61:616-078:616.9-02

Коротких О.О., Калініченко С.В., Антушева Т.І.

Державна установа "Інститут мікробіології та імунології ім.І.І.Мечникова Національної академії медичних наук України" (вул. Пушкінська, 14-16, м.Харків, Україна, 61057)

ВПЛИВ ГАЗОВОГО СКЛАДУ АТМОСФЕРИ КУЛЬТИВУВАННЯ НА ЧУТЛИВІСТЬ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ДО АНТИБІОТИКІВ

Резюме. Вивчено чутливість *S.aureus* до антибіотиків за умов різного газового складу атмосфери інкубації. Встановлено, що зниження парціального вмісту кисню та підвищення вмісту вуглекислого газу різнопланово впливає на антибіотико-чутливість золотистих стафілококів. Це може відігравати певну патогенетичну роль у розвитку збудників інфекцій в більш глибоких прошарках тканин, де утворюються умови низьких концентрацій кисню.

Ключові слова: *S.aureus*, мікроаерація, антибіотикочутливість.

Вступ

Однією з найсерйозніших проблем сучасної медицини є нозокоміальні інфекції, оскільки вони досить важко піддаються лікуванню та зумовлюють високу частоту ускладнень, інвалідизації і смертності [4, 7, 8]. Так, шпитальні інфекції стафілококового генезу ускладнюють майже 30 % всіх хірургічних втручань, що збільшує тривалість перебування пацієнта в лікувальній установі у середньому на 12-16 днів, та відіграють суттєву роль у летальних випадках в стаціонарах хірургічного й акушерсько-гінекологічного профілю [8].

Відомо, що ступінь прояву біологічних властивостей бактерій змінюється в залежності від умов оточуючого середовища [1, 2, 10, 11]. Насамперед, це стосується поверхні слизових оболонок та підслизових прошарків, які суттєво відрізняються за концентрацією кисню [10, 11]. Вивчення впливу знижених концентрацій кисню на мікроорганізми, які здатні викликати різноманітні патологічні стани у людини, обумовлено ще й тим фактом, що лімітована дифузія та прискорений метаболізм кисню у сформованих біоплівках, підтримуючих життєдіяльність широкого кола аеробних, факультативно анаеробних та облигатно анаеробних бактерій, призводить до зниження тиску кисню та низького окисно-відновного потенціалу у вказаних біотопах [11].

На сьогоднішній день біологічні властивості *S.aureus* найбільш вивчено за умов достатньої кількості кисню (аеробні умови культивування) [4, 7, 8]. Існують лише окремі повідомлення щодо характеристики біологічних властивостей "тканинних" та "поверхневих" стафілококів з урахуванням різної концентрації кисню [10].

Метою роботи стало вивчення чутливості штамів *S.aureus* до протимікробних препаратів за різних умов газового складу атмосфери інкубації.

Матеріали та методи

Робота виконана в лабораторії профілактики краплинних інфекцій ДУ "ІМІ НАМН" у рамках планової НДР "Біологічні основи розробки синбіотичних комплексів за умов застосування електромагнітних й ультразвукових хвиль", держ. реєстрація за № 0113U1517.

Об'єктом дослідження була антибіотикочутливість стафілококів, ізольованих зі слизових оболонок зіву й

носа при хронічних тонзилітах і риносинуситах та від медичного персоналу однієї з лікарень м.Харкова (n=23) та референс-штаму *S.aureus* ATCC №25923. Для визначення впливу газового складу атмосфери культивування було досліджено чутливість *S.aureus* до протимікробних препаратів протягом 10 пасажів.

Мікроаерофільні умови культивування створювали в анаеростатах типу GENbox за допомогою газогенеруючих пакетів Generator GENbox microaer (bioMerieux, Франція).

Чутливість золотистих стафілококів вивчали методом серійних розведень (метод послідовних двократних розведень антибактеріальних препаратів (АБП)), з визначенням мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) препарату. З основного розчину АБП готували ряд послідовних розведень препарату до кінцевих концентрацій, що перевищували необхідні у 10 разів. Потім готували чашки, змішуючи 2 мл відповідного розведення АБП та 18 мл придатного для тест-культури готового розплавленого та охолодженого до 48-50°C поживного агару. Добову культуру наносили на поверхню підсушеного агару, що містив різні концентрації протимікробного препарату диспенсером-реплікатором типу Семеніхіної, що дозволило на одній чашці дослідити до 25 тест-штамів [9]. Після інокуляції чашки підсушували при кімнатній температурі та інкубували при температурі 35°C упродовж 18-24 годин за аеробних умов. Мінімальною інгібуючою концентрацією (МІК) для штаму, котрий досліджували, вважали кількість протимікробного препарату, що викликала повну інгібіцію видимого росту [5].

Результати дослідження антибіотикочутливості тест-культур оцінювали у відповідності з Наказом МОЗ України №167 [4]. Оцінку результатів проводили за таблицями, що містять граничні значення МІК антибіотиків для стійких, помірно стійких і чутливих штамів. Отримані значення МІК порівнювали з граничними значеннями таблиць і відносили досліджувані штами до однієї з трьох категорій чутливості.

Статистичну обробку даних здійснювали у відповідності з правилами варіаційної статистики, як викладено у посібниках [3, 6]. Достовірність різниці середніх значень визначали за допомогою критерія t-Стьюдента, з обчисленням середньої величини M, середньок-

вадратичного відхилення S , середньої похибки величини m , значення достовірності p . Для аналізу одержаного матеріалу проводили його групування за атрибутивними та варіаційними ознаками. У результаті зведення матеріалу при підрахунках одиниць спостережень були отримані абсолютні числа, які виражали описові й кількісні ознаки. Для аналізу якісних ознак, що, в основному, були виражені у відсотках, застосовували непараметричні методи статистики [6]. Наведені дані достовірні при $p \leq 0,05$ у разі, якщо не вказано інше.

Результати. Обговорення

Були використані антимікробні засоби, що рекомендовані для лікування стафілококових інфекцій в першу чергу: бензилпеніцилін та оксацилін (?-лактамі), еритроміцин (макроліди) і гатіфлораксацин (фторхінолони) [5].

За аеробних умов культивування референс-штаму *S.aureus* ATCC №25923 МІК бензилпеніциліну склала 2 мкг/мл, оксациліну - 0,25 мкг/мл, гатіфлораксацину - 0,12 мкг/мл, еритроміцину - 0,5 мкг/мл. Чутливість до цих антибактеріальних препаратів була в межах показників, визначених для контрольного штаму [5].

МІК клінічних ізолятів *S.aureus*, за аеробних умов вирощування, коливались для бензилпеніциліну у межах 0,06-0,25 мкг/мл. Для 66,6% культур золотистих стафілококів вона склала 0,06 мкг/мл, для 16,7% - 0,12 мкг/мл та для 16,7% - 0,25 мкг/мл. Таким чином, за критеріями оцінки антибіотикочутливості стафілококів 83,3% досліджених клінічних штамів належало до групи чутливих, а 16,7% - резистентних до бензилпеніциліну.

До оксациліну клінічні штами *S.aureus* були чутливими у 86,6%, їх МІК коливались у межах 0,25-0,5 мкг/мл. Концентрація антибіотика 0,25 мкг/мл пригнічувала ріст 66,6% штамів, 0,5 мкг/мл - 33,4%. Стійкими до оксациліну виявилися 13,4% культур, причому 93,6% з них були ізольовані від медперсоналу.

Гатіфлораксацин пригнічував ріст усіх культур *S.aureus* у концентрації 0,12 мкг/мл, що вказує на їх чутливість до дії препаратів, які пригнічують синтез ДНК бактеріальних клітин. Мінімальні інгібуючі концентрації еритроміцину для клінічних ізолятів золотистих стафілококів не виходили за значення, встановлені для чутливих представників цього роду, і коливались у межах 0,25-0,5 мкг/мл. Для 83,3% штамів МІК становила 0,25 мкг/мл, для 16,7% - 0,5 мкг/мл.

Для контрольного штаму *S.aureus* ATCC №25923 та клінічних ізолятів золотистих стафілококів характер змін МІК бензилпеніциліну за мікроаерофільних умов культивування був різним (табл. 1, 2). МІК препарату після пасажів за умов зниженого парціального тиску кисню знижувалась на 2-8 двократних розведень у порівнянні з вихідними показниками. Тобто, чутливість референс-штаму до дії бензилпеніциліну підвищувалась. Що стосується клінічних культур *S.aureus*, то достовірної зміни МІК під час культивування за мікроаерофільних умов визначено не було (табл. 2).

Таблиця 1. Мінімальні інгібуючі концентрації антибіотиків для *S.aureus* ATCC № 25923 за аеробних та мікроаерофільних умов культивування, мкг/мл.

Умови культивування	Мінімальні інгібуючі концентрації				
	бензилпеніциліну	оксациліну	гатіфлораксацину	еритроміцину	
аеробні (контроль)	2	0,25	0,12	0,5	
мікроаерофільні (кількість пасажів)	1	0,25	0,05	0,12	0,25
	2	0,12	0,05	0,12	0,12
	3	0,06	0,05	0,12	0,12
	4	0,03	0,05	0,06	0,12
	5	0,03	0,05	0,06	0,12
	6	0,12	0,05	0,06	0,25
	7	0,12	0,05	0,06	0,25
	8	0,12	0,05	0,06	0,25
	9	0,06	0,05	0,06	0,5
	10	0,06	0,05	0,06	0,5

Таблиця 2. Мінімальні інгібуючі концентрації антибіотиків для клінічних ізолятів *S.aureus* (n=23) за аеробних та мікроаерофільних умов культивування, мкг/мл ($M \pm m$).

Умови культивування	Мінімальні інгібуючі концентрації				
	бензилпеніциліну	оксациліну	гатіфлораксацину	еритроміцину	
аеробні (контроль)	0,1±0,03	0,33±0,05	0,12±0	0,29±0,04	
мікроаерофільні (кількість пасажів)	1	0,1±0,03	0,46±0,04*	0,12±0	0,25±0
	2	0,07±0,01	0,46±0,04*	0,12±0	0,12±0**
	3	0,06±0	0,5±0*	0,12±0	0,12±0**
	4	0,06±0	0,5±0*	0,11±0,01	0,14±0,02**
	5	0,06±0	0,5±0*	0,12±0	0,14±0,02**
	6	0,06±0	0,5±0*	0,12±0	0,16±0,03*
	7	0,06±0	0,46±0,04*	0,12±0	0,16±0,03*
	8	0,11±0,01	0,5±0*	0,12±0	0,21±0,03
	9	0,06±0	0,5±0*	0,1±0,01	0,29±0,04
	10	0,06±0	0,33±0,05	0,1±0,01	0,29±0,04

Примітки: 1. * - достовірна різниця між зазначеними показниками за аеробних та мікроаерофільних умов постановки дослідів ($p < 0,05$); 2. ** - достовірна різниця між зазначеними показниками за аеробних та мікроаерофільних умов постановки дослідів ($p < 0,05$).

У контрольного та клінічних штамів золотистих стафілококів спостерігали схожі зміни мінімальних інгібуючих концентрацій для оксациліну. Так, для *S.aureus* ATCC №25923 МІК антибактеріального препарату підвищувалась вдвічі після першого пасажу за умов зниженої концентрації кисню та залишалась на такому рівні до десятого пасажу. Зовсім не реагували на вплив мікроаерації 33,4% клінічних ізолятів *S.aureus*, а у 66,6% - МІК підвищувались вдвічі, переважно з першого по дев'ятий пасажі.

За умов мікроаерації зміна чутливості *S.aureus* ATCC №25923 та клінічних ізолятів золотистих стафілококів до гатіфлораксацину була подібною до бензилпеніцилі-

ну. Так, для референс-штаму, за умов дефіциту кисню, МІК знижувались вдвічі, починаючи з четвертого пасажу та тримались на вказаному рівні до десятого пасажу. Для клінічних ізолятів *S.aureus* було відмічено незначні коливання у показниках МІК гатіфлорксацину. Проте, кореляційний аналіз не встановив достовірних змін середніх значень впродовж усього терміну культивування.

Мікроаерація однаково впливала на мінімальні інгібуєчі концентрації еритроміцину для всіх взятих у досліді культур. Показники МІК для референс-штаму зменшувались на 1-2 двократних розведень препарату з першого по восьмий пасаж та з другого по сьомий - для клінічних ізолятів *S.aureus*.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Після вирощування референс-штаму за умов мікроаерації МІК бензилпеніциліну знизилась на 3-4 роз-

ведення, гатіфлорксацину та еритроміцину - на 1-2 розведення.

2. МІК оксациліну щодо *S.aureus* ATCC №25923 підвищувалась вдвічі у порівнянні з контролем після першого та залишалась на зазначеному рівні до десятого пасажу за мікроаерофільних умов.

3. Клінічні ізоляти *S.aureus* за мікроаерофільних умов культивування достовірно не змінювали своєї чутливості до бензилпеніциліну та гатіфлорксацину, проте МІК оксациліну підвищувалась в 1,4-1,5 рази ($p < 0,05$) з першого по дев'ятий пасаж, а еритроміцину - знижувалась відповідно після другого-сьомого пасажів на 1-2 розведень препарату.

У подальшому планується провести дослідження щодо вивчення впливу мікроаерації на колонізаційну здатність золотистих стафілококів, що надасть можливість визначити нові патогенетичні складові при носійстві стафілококів.

Список літератури

- Баснакьян И.А. Кислотный стресс у бактерий //И.А.Баснакьян //Журн. микробиол., эпидемиол., иммунобиол.- 2003.- №5.- С.121-126.
- Баснакьян И.А. Стресс у бактерий / И.А. Баснакьян.- М. : Медицина, 2003.- 136 с.
- Боровиков, В.П. Statistica. Статистический анализ и обработка данных в среде Windows /В.П.Боровиков, И.П.Боровиков.- М.: Филінь, 1998.- 592с.
- Видова диференціація та епідеміологічне маркування штамів *Staphylococcus aureus* у лікувальних закладах Південної залізниці / І.В.Коробкова, І.М.Косарев, Л.О.Кузік [та ін.] //Санітарно-епідемічний нагляд.- 2011.- №3.- С.85-88.
- Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів: Наказ.- [Чинний від 2007-04-05].- К.: МОЗ України, 2007.- 78 с.- (Нормативний документ МОЗ України. Вказівки, Наказ).
- Гельман В.Я. Медицинская информатика: практикум /В.Я.Гельман.- СПб.: Питер, 2002.- 480с.
- Диагностическое значение персистенных характеристик стафилококков при бактерионосительстве /О.Л.Карташова, С.Б.Киргизова, Л.П.Потехина [и др.] //Журнал микробиол., эпидемиол., иммунобиол.- 2007.- №5.- С.13-15.
- Пономаренко С.В. Біологічні властивості *Staphylococcus aureus*, ізольованих із різних очагів вегетування і оптимізація лабораторної діагностики стафілокової інфекції: автореф. дис. ... к. мед. н.: 03.00.07 /Пономаренко Світлана Володимирівна; ДУ "Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова Національної академії медичних наук України".- Харків, 2015.- 24с.
- Похил С.И. Определение объема (веса) инокулята, наносимого с использованием репликатора конструкции Семенихиной /С.И.Похил, В.В.Красовский, Е.Н.Тимченко //Клин. лабор. диагностика.- 1998.- №7.- С.34-36.
- Рижкова Т.А. Мікробіологічна характеристика мікрофлори мигдаликів, *Corynebacterium diphtheriae* та особливості між бактеріальних взаємовідносин за аеробних і мікроаерофільних умов: автореф. дис. ... к. мед. н.: 03.00.07 /Рижкова Тетяна Анатоліївна; ДУ "ІМІ ім.І.І.Мечникова АМНУ".- Харків, 2009.- 24с.
- Ahn S.J. Effects of Oxygen on Virulence Traits of *Streptococcus mutans* /Sang-Joon Ahn, Zezhang T.Wen, Robert A.Burne //J. of Bacteriology.- 2007.- Vol.189, №23.- P.8519-8527.

Коротких Е.О., Калиниченко С.В., Антушева Т.И.

ВЛИЯНИЕ ГАЗОВОГО СОСТАВА АТМОСФЕРЫ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ STAPHYLOCOCCUS AUREUS К АНТИБИОТИКАМ

Резюме. Изучена чувствительность *S.aureus* к антибиотикам в условиях различного газового состава атмосферы инкубации. Установлено, что снижение парциального содержания кислорода и повышение содержания углекислого газа разнопланово влияет на антибиотикочувствительность золотистых стафилококков. Это может играть определенную патогенетическую роль в развитии возбудителей инфекций в более глубоких слоях тканей, где отмечается более низкая концентрация кислорода.

Ключевые слова: *S.aureus*, микроаерація, антибиотикочувствительность.

Korotkykh O.O., Kalinichenko S.V., Antusheva T.I.

INFLUENCE OF ATMOSPHERIC GAS COMPOSITION CULTIVATION ON A STAPHYLOCOCCUS AUREUS SENSITIVITY TO ANTIBIOTICS

Summary. The sensitivity of *S. aureus* to antibiotics in an incubation with the different gas composition of the atmosphere has been studied. It was established that the decrease in the partial oxygen and increase carbon dioxide in different ways effect on antibiotic sensitivity of *Staphylococcus aureus*. It could play a certain pathogenetic role in the development of infectious agents in the deeper layers of tissue, where it is noted a lower concentration of oxygen.

Key words: *S. aureus*, micro-aeration, antibiotic sensitivity.

Рецензент - д. мед. н., проф. Філімонова Н.І.

Стаття надійшла до редакції 3.05.2016 р.

Коротких Олена Олегівна - аспірант лабораторії краплинних інфекцій ДУ "ІМІ НАМН"; +38 057 731-31-51; lelik@ukr.net
Калініченко Світлана Вікторівна - к. мед. н., ст.н.с., завідувача лабораторії вірусних інфекцій; +38 057 731-31-51; kalinichenko_sv@ukr.net
Антушева Тетяна Іванівна - к. біол. н., наук. співроб. лабораторії краплинних інфекцій ДУ "ІМІ НАМН"; +38 057 731-31-51; antuchevati@rambler.ru

© Черкасова Л.А.

УДК: 100.42:621.90.02.001.5:612.627:612.621:575.191:613.954

Черкасова Л.А.

Національний медичний університет імені О.О.Богомольця (просп. Перемоги, 34, м. Київ, Україна, 02000)

РЕГРЕСІЙНІ МОДЕЛІ СОНОГРАФІЧНИХ РОЗМІРІВ МАТКИ ТА ЯЄЧНИКІВ У РІЗНІ ФАЗИ МЕНСТРУАЛЬНОГО ЦИКЛУ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ОСОБЛИВОСТЕЙ БУДОВИ ТІЛА ПРАКТИЧНО ЗДОРОВИХ ДІВЧАТ МЕЗОМОРФНОГО СОМАТОТИПУ

Резюме. У дівчат з мезоморфним соматотипом в кожну фазу менструального циклу із 13 можливих регресійних моделей (з коефіцієнтом детермінації R^2 більшим 0,5) сонографічних параметрів матки та яєчників (6 матки, 6 яєчників та яєчничково-маткового індексу) в залежності від сумарного комплексу антропо-соматотипологічних ознак побудовано: у фолікулярну фазу - 9 (5 матки, 3 яєчників і яєчничково-маткового індексу, R^2 від 0,547 до 0,832); в фазу овуляції - 8 (5 матки, 2 яєчників і яєчничково-маткового індексу, R^2 від 0,598 до 0,807); в лютеїнову фазу - усі 13 (R^2 від 0,528 до 0,862). Незалежно від фази менструального циклу найбільш часто до моделей входять обхватні розміри (від 29,8 до 34,4%), товщина шкірно-жирових складок (від 14,9 до 22,2%), діаметри тіла (від 16,7 до 17,2%), поздовжні розміри (від 12,5 до 16,7%) та лише у фолікулярну фазу компоненти соматотипу (14,9%).

Ключові слова: регресійні моделі, матка, яєчники, сонографічне дослідження, дівчата, розміри тіла, соматотип.

Вступ

Зростаючий рівень техніки оперативного втручання при патології жіночих внутрішніх статевих органів має на увазі отримання чітких знань про їх розміри в залежності від фази менструального циклу (МЦ) та особливостей конституції дівчат та жінок [4, 6, 7]. Саме тому, слід вирішити методичну задачу вибору оптимальних прогностично-діагностичних ознак, адекватних особливостям аналізованих морфометричних сонографічних показників і в той же час репрезентативно інформативних по відношенню до певної нозології у порівнянні з нормою [2]. На основі побудови та аналізу регресійних моделей індивідуальних нормативних сонографічних розмірів матки та яєчників у різні фази МЦ в залежності від конституціональних особливостей у практично здорових досліджуваних стає можливим визначення критеріїв важкості перебігу захворювання, ефективності лікування, а також визначення прогнозу для одужання і відновлення втрачених функцій [5].

Мета роботи - побудувати та провести аналіз регресійних моделей індивідуальних нормативних сонографічних розмірів матки та яєчників у різні фази МЦ в залежності від особливостей антропо-соматометричних параметрів практично здорових дівчат мезоморфного соматотипу.

Матеріали та методи

Відповідно до мети дослідження (у рамках договору про наукове співробітництво про виконання планової роботи "Розробити моделі прогнозування пубертатних маткових кровотеч та альгодисменореї у дівчат в за-

лежності від конституціональних особливостей організму") первинні показники сонографічних розмірів матки та яєчників, а також антропометричні та соматотипологічні параметри 108 практично здорових міських дівчат Поділля отримано із банку даних матеріалів науково-дослідного центру Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова.

Ультразвукове дослідження яєчників і матки проводили за допомогою апаратів Voluson 730 Pro (конвексний датчик 4-10 МГц) і "Toshiba SSA-220A" (конвексний датчик 3.75 МГц) та на 7, 14 та 21 день МЦ, які відповідали його фолікулярній, овуляторній та лютеїновій фазі.

При сонографічному дослідженні у різні фази МЦ оцінювали [3]: довжину тіла та довжину шийки матки за її найбільшим розміром, що орієнтований за довжиною, яка проходить через М-ехо. У цій же площині визначали товщину ендометрію і міометрію. При скануванні у поперечному напрямку визначали ширину тіла матки (максимальна відстань на рівні вічок маткових труб), передньо-задній розмір матки (товщина), перпендикулярний попередньому. Вимірювання яєчників проводили в трьох взаємно перпендикулярних площинах. Спочатку кожен з яєчників виводився по довжині, на цьому ж зрізі вимірювалась товщина. Після цього площину сканування змінювали на 90 градусів і вимірювали ширину. Об'єм яєчників обраховували за формулою F.Sample:

$$V=d1 \times d2 \times d3 \times 0,523,$$

де d1 - довжина, d2 - ширина, d3 - товщина яєчника.