

УДК 001.2:54-171:576.8.06:615.28:615.015

О. І. Жорняк

## ДОСЛІДЖЕННЯ ФОРМУВАННЯ РЕЗИСТЕНТНОСТІ МІКРООРГАНІЗМІВ ДО ТАБЛЕТОВАНИХ АНТИСЕПТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ СЕПТЕФРИЛУ, СЕПТОЛЕТЕ ТА АДЖИСЕПТУ

Кафедра мікробіології, вірусології та імунології (зав. – проф. Г. К. Палій)  
Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова

**Резюме.** У роботі представлено результати експериментального дослідження формування резистентності штамів золотистого стафілокока та *Candida albicans* до таблетованих анти-

септичних препаратів септефрилу, септолете та аджисепту.

**Ключові слова:** резистентність, таблетовані антисептичні препарати.

**Вступ.** У даний час для лікування запальних захворювань ротової порожнини та горла широко використовуються таблетовані антисептичні препарати. Але одним із недоліків під час тривалого їх застосування є формування резистентності мікроорганізмів. Це значно ускладнює проведення етіотропної терапії [3].

Поширенню резистентності також сприяють демографічні зміни в суспільстві, широке застосування інструментальних методів діагностики, часте використання терапевтичних засобів, що впливають на функцію імунної системи. У науковій літературі постійно друкуються повідомлення про обсяги фінансових витрат на усунення наслідків інфекцій, викликаних резистентними до антибіотиків та антисептиків збудниками [2,4]. Тому важливо в лабораторних умовах вивчити закономірності формування резистентності до таблетованих антисептичних препаратів у збудників інфекційних захворювань ротової порожнини та горла.

Бактерії та гриби набувають стійкості до антисептиків внаслідок зміни геному клітини в процесі його мутації [1]. Відомо, що бактеріальна клітина не містить чітко сформованого ядра, її нуклеоїд не оточений мембраною. Прокаріотична хромосома локалізується в ділянці нуклеоплазми, яка не містить рибосом. Клітини грибів містять чітко сформоване ядро і є еукаріотами. Хромосомна ДНК бактерій та грибів являє собою ковалентно замкнуту кільцеву дволанцюжкову молекулу. Селективна дія антимікробних препаратів призводить до загибелі чутливих клітин популяції і виживанню та поширенню стійких клітин збудників захворювань. Резистентні до антисептиків варіанти описано в багатьох видів бактерій: стафілокока, кишкової палички, псевдомонад, клебсієл, ентеробактерій та інших. Можна впевнено стверджувати, що у всіх циркулюючих у лікувальних закладах видів збудників інфекційних хвороб спостерігається поява і поширення форм з набутою стійкістю.

Залежно від того, як мікроорганізми швидко виявляють стійкість до антибіотиків та антисептиків, розрізняють декілька типів резистентності. Для більшості бактеріальних видів характерна первинна ре-

зистентність. Такий тип стійкості можна спостерігати на початку застосування антимікробного засобу. Первинна резистентність зумовлена результатом окремих або взаємодії комплексу властивостей бактеріальної клітини, які частіше всього зумовлені хромосомними генами.

Наступною формою резистентності є стійкість до антимікробних засобів, що формується дуже швидко після одного - двох пасажів за наявності препарату. Необхідно підкреслити, що рівень стійкості не залежить від концентрації препарату, за наявності якого пасажували збудника. Він формується шляхом одноступеневої мутації. Мутації супроводжуються або появою нового, або заміною одного або декількох нуклеотидів. Вперше такий розвиток стійкості виявлено при застосуванні стрептоміцину, тому він отримав назву стрептоміцинового.

Стійкість до антисептиків може формуватись і поступово, внаслідок багатоступневих мутацій. При цьому селекція резистентних варіантів у популяції проходить повільно, ступенеподібно. У таких випадках для виділення мутантів необхідно проводити чисельні, один за одним, пасажі на поживних середовищах із вмістом наростаючих концентрацій антимікробного препарату. Такий тип стійкості назвали пеніциліновим [5,6].

Формування стійкості стафілокока та *Candida albicans* до різних антимікробних препаратів має певні особливості. Тому вивчення формування резистентних варіантів бактерій та грибів до антисептичних засобів має практичне значення для визначення показів для призначення препаратів як з лікувальною, так і з профілактичною метою. На підставі результатів досліджень щодо формування стійкості мікроорганізмів до таблетованих антисептиків можна дійти висновку про перспективність застосування їх у медичній практиці.

**Мета дослідження.** Вивчити формування резистентності двох клінічних штамів стафілокока (*Staphylococcus aureus* 2531, *Staphylococcus aureus* 2261) та двох клінічних штамів *Candida albicans* (*Candida albicans* 12, *Candida albicans* 25) до таблетованих антисептичних препаратів септефрилу (де-

каметоксин), септолете (бензалконію хлорид) та аджисепту (амілметакрезол).

**Матеріал і методи.** Чисті культури мікроорганізмів отримані в бактеріологічній лабораторії Вінницької обласної клінічної лікарні імені М. І. Пирогова. Вони характеризувалися типовими морфологічними, тинкторіальними, культуральними та біохімічними властивостями.

Чутливість чистих культур до таблетованих антисептичних препаратів визначали методом послідовних двократних серійних розведень за загально прийнятою методикою. Активність антисептиків виражали в мікрограмах на 1 мл (мкг/мл). Бактерії пасивували на м'ясопептонному бульйоні, а культури *Candida albicans* – на рідкому середовищі Сабуро зі зростаючими концентраціями препаратів септефрилу, септолете та аджисепту. Швидкість формування резистентності визначали шляхом послідовних пасажів культур мікроорганізмів у наростаючій концентрації препаратів з останньої суббактерицидної концентрації. Через кожні 10 пасажів вивчали морфологічні, тинкторіальні, культуральні та біохімічні властивості досліджувальних штамів мікроорганізмів.

**Результати дослідження та їх обговорення.** На підставі проведених досліджень встановлено, що в процесі утворення резистентних варіантів стафілокока та *Candida albicans* до таблетованих антисептичних препаратів септефрилу, септолете та аджисепту спостерігалось утворення поліморфних клітин. Також спостерігалось уповільнення росту мікроорганізмів. Штами стафілокока, порівняно з контролем, на щільному поживному середовищі утворювали дрібні колонії (0,5-1,0 мм) та втрачали здатність утворювати пігмент. Під час пасивування за наявності антимікробних препаратів штами стафілокока втрачали гемолітичну та лецитовітелазну активність. Таким чином, можна визначити, що формування стійкості культур стафілокока та *Candida albicans* до септефрилу, септолете та аджисепту супроводжувалось зміною морфологічних, культуральних та біохімічних властивостей, що необхідно враховувати в процесі проведення бактеріологічних досліджень.

Результати проведених досліджень дозволили виявити збільшення стійкості штамів мікроорганізмів до таблетованих антисептичних препаратів упродовж 30 пасажів. Доведено, що вихідна чутливість дослідних штамів стафілокока та *Candida albicans* до септефрилу становила 5 та 10 мкг/мл відповідно, тобто, культури мікроорганізмів мали досить високу чутливість до антимікробного препарату. Після п'яти пасажів стійкість стафілококів не змінилася порівняно з контролем і становила 5 мкг/мл, після 10 пасажу зросла у 2-4 рази (20-40 мкг/мл) відповідно до штаму, після 15 пасажу – у 16 раз (80 мкг/мл), а після 20, 25, 30 пасажів – у 32 рази (160 мкг/мл). Стійкість кандид після 5-го пасажу порівняно з контролем не змінилася і становила 10 мкг/мл, після 10-го пасажу збільшилася у 2-4 рази і дорівнювала 20-

40 мкг/мл відповідно, після 20-го пасажу збільшилася у 8 разів (80 мкг/мл), а після 25-го пасажу – у 16 разів і дорівнювала 160 мкг/мл.

Вихідна чутливість дослідних штамів стафілокока до препарату септолете дорівнювала 3,125-6,2 мкг/мл залежно від штаму. Після 5-го пасажу стійкість мікроорганізмів збільшилася у 2 рази (6,25-12,5 мкг/мл), після 10,15,20-го пасажів – у 4-8 разів (25 мкг/мл), після 25-го пасажу – у 8-16 разів (50 мкг/мл), після 30-го пасажу – у 16-32 рази і дорівнювала 100 мкг/мл. Вихідна чутливість штамів *Candida albicans* до препарату септолете дорівнювала 12,5 мкг/мл. Після 5-го пасажу стійкість збільшилася у 2 рази і дорівнювала 25 мкг/мл, після 15-го пасажу – у 4 рази (50 мкг/мл), після 20-го – у 8 разів (100 мкг/мл), а після 30-го пасажу – у 16 разів і становила 200 мкг/мл.

Вихідна чутливість дослідних штамів стафілокока до аджисепту становила 30 мкг/мл. Встановлено, що стійкість бактерій до аджисепту після п'яти пасажів змінилася порівняно з контролем у 2-4 рази (60-120 мкг/мл) відповідно до штаму, після 15-го пасажу – у 4-8 разів (120-240 мкг/мл), а після 30 пасажів – у 16 разів (480 мкг/мл). Вихідна чутливість дослідних штамів кандид до аджисепту становила 15 мкг/мл. Після п'яти пасажів стійкість змінилася порівняно з контролем у 2 рази (30 мкг/мл), після 10, 15 пасажів – у 4 рази (60 мкг/мл), після 20 та 25 пасажів – у 8 разів (120 мкг/мл), а після 30-го пасажу – у 16 разів і становила 240 мкг/мл. Аналізуючи отримані дані можна стверджувати, що селекція стійких штамів стафілокока та кандид відбувалася до препаратів септефрилу, септолете та аджисепту практично з однаковою швидкістю.

Необхідно зазначити, що діючі концентрації таблетованих антисептиків, що застосовуються в медичній практиці, перевищують концентрації антисептиків, до яких бактерії набули резистентності в процесі проведення 30 пасажів за їх наявності. При порівняльному дослідженні формування резистентності клінічних штамів золотистого стафілокока та *Candida albicans* до септефрилу, септолете та аджисепту встановлено, що резистентність до них формується повільно. У цьому відношенні антисептичні препарати мають переваги перед антибіотиками, до яких стійкість високого рівня формується після перших 5-10 пасажів.

Отже, таблетовані антисептичні препарати септефрил, септолете та аджисепт можна з успіхом застосовувати для лікування та профілактики інфекційних захворювань ротової порожнини та горла, викликаних антибіотикорезистентними штамми стафілокока та *Candida albicans*.

#### Висновки

1. Використання антисептиків потенціює дію антибіотиків та запобігає розвитку резистентності до них у бактерій та грибів.

2. Формування резистентності культур стафілокока та *Candida albicans* до септефрилу, септолете та аджисепту супроводжується зміною морфологічних, культуральних, біохімічних властивостей, що необхідно враховувати під час проведення бактеріологічних досліджень.

3. Селекція стійких варіантів стафілокока до септефрилу, септолете та аджисепту відбувається практично з однаковою швидкістю.

**Перспективи подальшого дослідження.** На подальшу увагу заслуговує вивчення впливу таблетованих антисептичних препаратів на адгезивну здатність бактерій з метою створення високоєфективних схем лікування запальних захворювань ротової порожнини та горла.

#### Література

1. Граб'юк І. М. Біологічні властивості мікробних контамінантів готових лікарських форм біглоконату хлоргексидину / І. М. Граб'юк, З. М. Прокопчук, О. І. Горносталь // *Biomedical and Biosocial Anthropology*. – 2008. - № 11. – С. 46-51.

2. Спроба застосування мірамістину для корекції мікробіоценозу шкіри / С. І. Климяк, І. М. Герасимів, О. В. Покришко // *Biomedical and Biosocial Anthropology*. – 2008. - № 11. – С. 73-77.
3. Экспериментальное изучение нового антисептического состава для полости рта / Н. В. Мозговая, Т. П. Тершина, Н. О. Вареньева [и др.] // *Вісн. стоматол.* – 2007. - № 4. – С. 142–143.
4. Амосепт – лікарський антисептичний препарат широкого спектра дії на мікроорганізми / В. Г. Палій, Ю. Л. Волянський, В. П. Ковальчук [та ін.] // *Biomedical and Biosocial Anthropology*. – 2008. - № 11. – С. 6-11.
5. Попов Н. Н. Микробные ассоциации гортаноглотки пациентов с острыми эпиглоттитамми / Н. Н. Попов, А. В. Савченко, И. П. Высеканцев // *Анали Мечниковського інституту*. – 2007. - № 1. – С. 25–29.
6. Effect of Quaternary-Ammonium-Based Formulations on Bacterial Community Dynamics and Antimicrobial Susceptibility / A. J. McBain, R. G. Ledder, L. F. Morre [et al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2004. - № 70 (6). – P. 3449 – 3456.

### ИЗУЧЕНИЕ ФОРМИРОВАНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ К ТАБЛЕТИРОВАННЫМ АНТИСЕПТИЧЕСКИМ ПРЕПАРАТАМ

*Е. И. Жорняк*

**Резюме.** В работе представлены результаты экспериментального исследования формирования резистентности штаммов золотистого стафилококка и штаммов *Candida albicans* к таблетированным антисептическим препаратам септефрилу, септолете и аджисепту.

**Ключевые слова:** резистентность, таблетированные антисептические препараты.

### A STUDY OF RESISTANCE FORMING OF MICROORGANISMS TO TABLOID ANTISEPTIC DRUGS SEPTEFRIL, SEPTOLETTE AND ADZHYSEPT

*O. I. Zhorniak*

**Abstract.** The paper presents the results of an experimental study of forming resistance of the strains of staphylococcus aureus and the strains of *Candida* to tabloid antiseptic preparations septefril, septolette and adzhysept.

**Key words:** resistance, tabloid antiseptic preparations.

Рецензент – проф. С. С. Дейнека

М. І. Пирогов National Medical University (Vinnytsia)  
*Buk. Med. Herald.* – 2010. – Vol. 14, №3 (55). – P.103-105.

Надійшла до редакції 25.05.2010 року