

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ АНТИБИОТИКО- И ХЛОРАМИНОРЕЗИСТЕНТНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ К БАКТЕРИЦИДИНУ «HONGO»

Ж.Р. БАБАЯН*, Г.Г. ШАКАРЯН**, Л.Т. ДАНИЕЛЯН*, Ю.Т. АЛЕКСАНИЯН*

*НИИ эпидемиологии, вирусологии и медицинской паразитологии
имени А.Б. Алексаняна МЗ РА, 375009, Ереван
**ООО «Сантос», 375082, Ереван

Выявлено выраженное бактерицидное действие биологически активного стимулятора бактерицидина «Hongo», разработанного на основе культуральной жидкости чайного гриба, в отношении антибиотико- и хлораминорезистентных грамположительных, грамотрицательных микроорганизмов. Показано, что бактерицидная активность бактерицидина зависит от плотности микробной суспензии, степени разбавления препарата, значения pH среды.

Բացահայտվել է թեյի սնկի կուլտուրալ հեղուկի հիման վրա մշակված կենսաբանական ակտիվ խթանիչ բակտերիցիդինի «Hongo» արտահայտված մանրէասպան ազդեցությունը հակաբիոտիկ- և ըլորամինակայուն գրամդրական, գրամբացասական միկրոօրգանիզմների նկատմամբ: Ցույց է տրվել, որ բակտերիցիդինի մանրէասպան ակտիվությունը կախված է մանրէային կախույթի խտությունից, պրեպարատի նորացման աստիճանից, միջավայրի pH-ի նշանակությունից:

A pronounced bactericidal effect of the biological stimulator bactericidin "Hongo" has been found out, which was worked out on the basis of cultural liquid of tea fungus, in relation with antibiotics and chloramine resistant Gram-positive and Gram-negative microorganisms. It has been shown that bactericidal activity of bactericidin depends on the density of microbe suspension, degree of dilution of the preparation and value of medium pH.

Бактерицидная активность - антибиотико- и хлораминорезистентность-грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы

Несмотря на значительные успехи, достигнутые органами здравоохранения, профилактика инфекционных болезней представляет одну из наиболее серьезных проблем [2, 10].

За последнее десятилетие в республике сохраняется стабильно высокий уровень заболеваемости внутрибольничными инфекциями (ВБИ), вызываемыми патогенными и условно патогенными микроорганизмами [1,3].

В настоящее время даже в высокоразвитых странах в результате широкого и часто бесконтрольного использования антибиотиков ежегодно десятки тысяч людей погибают от ВБИ, вызываемых, в частности, антибиотикоустойчивыми микроорганизмами [9,11]. Одной из причин распространения ВБИ является высокая резистентность возбудителей инфекционных заболеваний к применяемым в практике некоторым дезинфицирующим средствам, вследствие чего снижается эффективность проводимых дезинфекционных мероприятий [6,7].

Это обстоятельство указывает на то, что проблема разработки более совершенных средств, обладающих бактерицидной активностью, чрезвычайно актуальна.

Целью настоящей работы явилось изучение бактерицидного действия биологически активного стимулятора бактерицидина «Hongo» в отношении антибиотико- и хлораминорезистентных грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов.

Материал и методика. Бактерицидную активность бактерицидина «Hongo» [4] изучали методом обеззараживания батистовых тест-объектов, обсемененных микробной суспензией грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, содержащей в 1 мл 100 тыс., 1 млн, 10 млн, 100 млн, 500 млн, 1 млрд и 2 млрд микробных клеток, согласно общепринятой методике [5]. Бактерицидное действие изучено в отношении эталонных штаммов *Escherichia coli* (штамм 1257), *Staphylococcus aureus* (штамм 906), *Klebsiella pneumoniae* (штамм 12) и выделенных от больных хлорамино- и антибиотикорезистентных штаммов *Salmonella typhimurium* (штамм 1474), *Yersinia enterocolitica* (штамм 33), *Shigella flexneri* 2a (штамм 5422), *Proteus vulgaris* (штамм 745), *Proteus mirabilis* (штамм 3669), при экспозициях от 5 до 60 мин, а также после 6- и 24-часовой выдержки тест-объектов в бактерицидине. Изучали также влияние pH среды (в диапазоне 3,0-8,0) на бактерицидную активность препарата в отношении эталонных культур *E. coli* (штамм 1257), *S. aureus* (штамм 906) и *K. pneumoniae* (штамм 12) при экспозициях от 5 до 120 мин. В экспериментах использованы растворы бактерицидина в разведениях 1:2, 1:5 и без разведений.

Для культивирования изученных микроорганизмов использовали мясо-пептонный агар (МПА) и бульон (МПБ). Посевы с культурами выращивали в термостате при 37° в течение 7 суток МПБ и 48 ч МПА. О росте судили по помутнению бульона и типичным колониям на соответствующей твердой питательной среде. Окончательные результаты учитывали после микроскопирования мазков, приготовленных из проросших колоний.

Влияние изменений среды на активность исследуемого препарата изучали при значениях pH 3,0, 6,5, 7,0, 8,0. Для подкисления растворов использовали лециномальный раствор соляной кислоты, а для подщелачивания - 10%-ный раствор едкого калия. Концентрацию водородных ионов в растворах определяли потенциометрическим методом.

Контролем во всех экспериментах служили соответствующие растворы хлораминина, с содержанием 28% активного хлора в сухом хлорамине.

Антибиотикоустойчивость выделенных от больных штаммов *S. typhimurium*, *Y. enterocolitica*, *S. flexneri* 2a, *P. vulgaris*, *P. mirabilis* изучали в отношении 14 антибиотиков (амикацин, ампициллин, гентамицин, канамицин, карбенициллин, левомицетин, невидграмон, полимиксин, рифамицин, неомицин, стрептомицин, тетрациклин, тобромицин, цефалотин) по общепринятому методу [8]. Перечисленные микроорганизмы проявляют резистентность к 5 и более антибиотикам.

Результаты и обсуждение. Данные по изучению чувствительности устойчивых бактерий к неразбавленному бактерицидину в зависимости от экспозиций и плотности микробной суспензии, представленные в табл. 1, свидетельствуют о том, что бактерицидин при плотностях микробной суспензии 100 тыс., 1 млн и 10 млн микробных тел в 1 мл (м.т./мл), при значении pH 6,5, обладает бактерицидным действием в отношении всех изученных штаммов в течение 10-60 мин. При микробной нагрузке 100 млн и 500 млн препарат оказывает бактерицидное действие только в отношении эталонных штаммов *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* в течение 35-60 мин.

Согласно данным табл. 1, с повышением плотности микробной нагрузки удлиняются сроки экспозиции бактерицидного действия препарата. Так, при микробной нагрузке 100 тыс. м.т./мл бактерицидное действие препарата проявляется от 10 до 40 мин, при 1 млн - от 20 до 50 мин, при 10 млн от 25 до 60 мин, а при 100- и 500 млн м.т./мл бактерицидному действию подвергаются лишь *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*.

Таблица 1. Чувствительность хлорамино- и антибиотикорезистентных микроорганизмов к неразбавленному бактерицидину, в зависимости от экспозиции и плотности микробной суспензии при рН=6,5

Микроорганизмы	Плотность микробной суспензии, м.т./мл				
	100.000	1 млн.	10 млн.	100 млн.	500 млн.
	Время гибели микроорганизмов, мин.				
<i>E. coli</i>	20	30	40	55	60
<i>S. aureus</i>	15	25	30	45	55
<i>K. pneumoniae</i>	10	20	25	35	45
<i>S. typhimurium</i>	40	50	60	>60	>60
<i>Y. enterocolitica</i>	35	45	55	>60	>60
<i>S. flexneri 2a</i>	20	35	45	>60	>60
<i>P. vulgaris</i>	15	25	40	>60	>60
<i>P. mirabilis</i>	15	25	35	>60	>60

Примечание: >60 - бактерицидин не оказывает губительного воздействия на микроорганизмы в течение 60 мин.

При более длительной экспозиции, в частности, 6- и 24-часовой выдержке тест-объектов в бактерицидине препарат действует губительно на изученные микроорганизмы не только при вышеуказанных плотностях микробной суспензии, но и при 1 и 2 млрд. микробной нагрузке (табл. 2).

Таблица 2. Зависимость бактерицидной активности бактерицидина при высокой плотности микробной суспензии и экспозиций 6 и 24 часа

Микроорганизмы	Плотность микробной суспензии, м.т./мл			
	100 млн	500 млн	1 млрд	2 млрд
	Время гибели микроорганизмов, ч			
<i>E. coli</i>	*	*	24	24
<i>S. aureus</i>	*	*	24	24
<i>K. pneumoniae</i>	*	*	6	6
<i>S. typhimurium</i>	6	24	24	
<i>P. mirabilis</i>	6	24	24	24
<i>P. vulgaris</i>	6	24	24	24
<i>S. flexneri 2a</i>	6	24	24	24
<i>Y. enterocolitica</i>	6	6	6	24

Примечание: * - не испытывали.

Нами было установлено также, что при микробной нагрузке 100 тыс. м.т./мл разбавленный водой бактерицидин в разведении 1:2 оказывает бактерицидное действие в отношении всех испытанных микроорганизмов (кроме *S. typhimurium*) в более поздние сроки экспозиции (45-60 мин), которые удлиняются в 1,5-4,5 раза (табл. 3).

Следует отметить, что наиболее чувствительными к бактерицидину являются *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *P. vulgaris*, которые под воздействием неразбавленного препарата погибают в течение 10-20 мин.

При изучении влияний изменений рН среды (в диапазоне рН 3.0-8.0) на бактерицидную активность бактерицидина в отношении эталонных культур *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, проведенных при микробной нагрузке 100 тыс. м.т./мл, выявлено, что бактерицидное действие как неразбавленного,

так и разбавленного (1:2, 1:5) препарата зависит от степени разбавления и различных значений рН среды (табл. 4).

Таблица 3. Сравнительные показатели чувствительности бактерий к разведенному и неразбавленному бактерицидину при микробной нагрузке 100 тыс. м.т./мл

Микроорганизмы	разведение 1:2	неразбавленный
	Время гибели микроорганизмов, мин	
<i>E. coli</i>	60	20
<i>S. aureus</i>	50	15
<i>K. pneumoniae</i>	45	10
<i>S. typhimurium</i>	>60	40
<i>P. mirabilis</i>	55	35
<i>P. vulgaris</i>	50	20
<i>S. flexneri 2a</i>	45	15
<i>Y. enterocolitica</i>	45	15

Примечание: >60 - бактерицидин не оказывает губительного воздействия на микроорганизмы в течение 60 мин.

Таблица 4. Бактерицидная активность бактерицидина при различных значениях рН среды

Микроорганизмы	рН среды											
	3.0			6.5			7.0			8.0		
	Разведения и время гибели микроорганизмов, мин											
	н/р*	1:2	1:5	н/р	1:2	1:5	н/р	1:2	1:5	н/р	1:2	1:5
<i>E. coli</i>	30	70	90	15	55	70	20	60	100	35	80	120
<i>S. aureus</i>	25	55	85	10	45	60	15	50	90	30	65	100
<i>K. pneumoniae</i>	20	35	60	5	30	45	10	45	70	25	50	80

Примечание: *н/р - неразбавленный бактерицидин

Наилучшее бактерицидное действие бактерицидина как неразбавленного, так и разведенного (1:2, 1:5), проявляется при значениях рН 6.5 и 7.0.

Таким образом, результаты исследований показали, что биологически активный стимулятор бактерицидин («Нонго»), разработанный на основе культуральной жидкости чайного гриба, обладает выраженным бактерицидным действием в отношении антибиотико- и хлораминорезистентных грамположительных, грамотрицательных микроорганизмов. Он может быть применен в качестве эффективного средства для профилактики и лечения больных кишечными инфекциями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексанян Ю.Т., Гукасян Г.Б., Мкртчян А.Е., Арутюнян Н.М., Бабаян Ж.Е., Хачатрян Т.С., Мамиконян К.Л., Лалаян А.А., Цаканян А.В., Ханджян Г.Ж., Аракелян Р.С., Маргарян А.В., Аветисян А.Р., Казарян А.Э., Погосян К.П. Мат. научн. конф. НИИ ЭВ и МП им. А.Б. Алексаняна, 55-57, Ереван, 1996.
2. Генчиков Л.А., Бусуек Г.П., Володина Н.И. ЖМЭИ, 3, 103-105, 1996.
3. Гукасян Г.Б., Саркисян А.С., Кушкян А.М., Алексанян Ю.Т. Тез. Докл. 2

- Российской научно-практической конф. «Внутрибольничные инфекции - проблемы эпидемиологии, клиники, диагностики, лечения и профилактики», 79-80, М., 1999.
4. Даниелян Л.Т. В кн.: Чайный гриб, 135, изд-во «Айастан», Ереван, 1993.
 5. Инструкция по определению бактерицидных свойств новых дезинфицирующих средств № 739-68. МЗ СССР, 1968.
 6. Красильников А.Н., Гудкова Е.И. ЖМЭИ, 5, 22-28, 1993.
 7. Пхакадзе Т.А., Богомолова Н.С., Большаков Л.В. Эпидемиология и инф. болезни, 1, 26-30, 1998.
 8. Рожнова С.Ш. Метод. указ. по микробиологической диагностике заболеваний, вызываемых энтеробактериями. М., 1984.
 9. Шандала М.Г. Эпидемиология и инфекционные болезни, 1, 12-14, 1996.
 10. Altekhruse S.T., Cohen M.L., Swerdlow P.L. Emerg. Infect. Dis., 3, 285-293, 1997.
 11. Garmer J., William R., Emori G., Horan T. Hughes J. Определения внутрибольничных инфекций, разработанных ЦКЗ (под ред. Бурганской Е.А.) основы инфекционного контроля. Атланта, Джоржия, 17-21, 1997.

Поступила 10.VI.2000