

ՀՏԴ 579.61

Բժշկական մանրէաբանություն

Հասցիկ ԳԱԼՍՅԱՆ,

կ.գ.դ., ԱրՊՀ կենս. ամբիոնի դոցենտ

e-mail: ghg77@mail.ru

Իվետա ՍՏԵՓԱՆՅԱՆ

ԱՀ ԱՆ ՀԲԿ բակտերիոլոգիական լաբորատորիայի վարիչ

e-mail: iveta.stepanyan.1976@mail.ru

Արփինե ՅԱՐԱՄԻՇՅԱՆ

ԱրՊՀ մագ.2-րդ կուրսի ուսանողուհի

e-mail: yaramishyan.arpine@mail.ru

ԱՂԻՔԱՅԻՆ ՑՈՒՊԻԿԻ ԶԳԱՅՈՒՆՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇՈՒՄԸ ՀԱԿԱԲԻՈՏԻԿՆԵՐԻ ՆԿԱՏՄԱՄԲ

Հակաբիոտիկներն օժտված են բակտերիաների տարբեր տեսակների աճն ու բազմացումն ընկճող կամ դրանք ոչնչացնող հատկություններով: Սակայն ժամանակի ընթացքում նրանք ձեռք են բերել կայունություն որոշակի հակաբիոտիկների նկատմամբ և նույնիսկ ի հայտ են եկել այնպիսի շտամներ, որոնց վրա հակաբիոտիկներն այլևս ազդեցություն չեն ունենում: Սույն աշխատանքում նկարագրվում է լաբորատոր պայմաններում հակաբիոտիկների հանդեպ ադիքային ցուպիկի զգայունության որոշման մեթոդը:

Բանալի բառեր` հակաբիոտիկներ, ադիքային ցուպիկ, զգայունություն, միկրոօրգանիզմներ, մուտացիա, բակտերիաներ, սկավառակադիֆուզիոն մեթոդ:

А.Галстян

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ К АНТИБИОТИКАМ

Антибиотики обладают способностью подавления роста и размножения различных видов бактерий или их уничтожения. Однако со временем бактерии приобрели устойчивость к определенным антибиотикам и даже появились штаммы, на которых антибиотики уже не действуют. В данной работе описывается метод определения восприимчивости кишечной палочки к антибиотикам в лабораторных условиях.

Ключевые слова: антибиотики, кишечная палочка, чувствительность, микроорганизмы, мутация, бактерии, диско-диффузионный метод.

H. Galstyan**SUSCEPTIBILITY DETERMINATION OF THE E. COLI TO THE ANTIBIOTICS**

Antibiotics have the ability to suppress different bacteria's growth and development or just kill them. But over time, they have become resistant to certain antibiotics and emerged even some type of strains which haven't been exposed by the antibiotic's influence. In this work have been described the method of determining the susceptibility of E. coli to antibiotics in laboratory conditions.

Keywords: antibiotics, E.coli, intestinal tract, susceptibility, microorganisms, mutation, bacteria, disk diffusion method.

Մասնագետները նկատել են, որ վերջին տարիներին ամբողջ աշխարհում, այդ թվում՝ Հայաստանում և Արցախում, մեծ տարածում են գտել բակտերիաների կողմից առաջացած հիվանդությունները, ուստի մարդկանց առողջության պահպանման և կյանքի որակի բարելավման տեսակետից չափազանց կարևոր է կանխարգելել դրանք կամ գտնել բուժման արդյունավետ միջոցներ: Բակտերիաների կողմից հարուցված հիվանդությունների դեմ պայքարի եղանակները սակավ են, և առայսօր սահմանափակվում են միայն հակաբիոտիկների կիրառմամբ: Աղիքային ցուպիկի զգայունության աստիճանի որոշումը կիրառվող հակաբիոտիկների նկատմամբ խիստ կարևոր և արդիական է բժշկության ոլորտում, քանի որ ունենալով այդ տվյալները, հնարավոր կլինի հակաբիոտիկների մեծ բազմազանության մեջ ընտրել նրանց այն խմբերը, որոնք բարձր արդյունավետությամբ կներազդեն աղիքային ցուպիկի վրա՝ դրանով իսկ հնարավորություն տալով բարձր էֆեկտիվությամբ բուժելու նրա կողմից հարուցված հիվանդությունները և բարելավելու առողջության վիճակը:

Աղիքային ցուպիկը բակտերիաների ընդարձակ խումբ է, որոնք իրարից տարբերվում են անտիգենային, կենսաքիմիական հատկանիշներով և կազմում են մարդու աղիների նորմալ միկրոֆլորան: Աղիքային ցուպիկ (լատ. *Excherichia coli*, *E. coli*) ցեղային անվանումը կապված է հայտնաբերողի՝ Էշերիխի անվան հետ: Նորմալ պայմաններում ախտածին չէ, մորֆոլոգիապես նման է դիզենթերիայի հարուցիչին, սակայն պրոտեոլիտիկ ֆերմենտ չի արտադրում և աղիքի պատի մեջ չի թափանցում, իսկ այլ կլանված էրիթրոցիտները նրա պրոտոպլազմայում երբեք չեն նկատվում: Աղիքային ցուպիկի թունավոր շտամները կարող են առաջացնել տարբեր հիվանդություններ, ինչպիսին են՝ գաստրոէնտերիտ, միզուղիների վարակներ, մենինգիտ, դիզբակտերիոզ, աղիքային վարակներ և այլն: Ավելի հազվադեպ առաջացնում են հեմոլիտիկ-ուրեմիկ համախտանիշ, պերիտոնիտ, մաստիտ և գրամ-բացասական թոքաբորբ [1]: Աղիքային ցուպիկը շարժուն, գրամ բացասական, ուղիղ ցուպիկանման բակտերիա է, որը տեղակայվում է գույգերով: Աղիքային ցուպիկի կենսաքիմիական ակտիվությունն արտահայտված է ցայտուն, քայքայում է

գլյուկոզը, լակտոզը, մաննիտն ու մալթոզը՝ առաջացնելով թթու և գազ, ախտորոշիչ-տարբերակիչ միջավայրերում, լակտոզը քայքայելու պատճառով, առաջացնում գունավոր գաղութներ, սպիտակուցների քայքայումից՝ ինդոլ և ծծմբաջրածին: Աղիքային ցուպիկի նշանակությունը և դերը մեծ է, այն ունի անտագոնիստական հատկություններ աղիքային խմբի ախտածին տեսակների հանդեպ:

Աղիքային ցուպիկով հարուցված հիվանդությունները բուժվում են հակաբիոտիկներով: Վերջիններս միկրոօրգանիզմների կենսագործունեությունից առաջացած, ինչպես նաև բուսական և կենդանական բջիջներից ստացված օրգանական նյութեր են, որոնք օժտված են մանրէների տարբեր տեսակների աճն ու բազմացումն ընկճող կամ դրանց ոչնչացնող հատկություններով: Դեռևս 15-16-րդ դդ. ժողովրդական բժշկության մեջ թարախային վերքերի բուժման համար օգտագործվել է կանաչ բոբրոսը: Հակաբիոտիկների ստացման հիմնական աղբյուրներն են մանրադիտակային սնկիկների և մանրէների որոշ տեսակներ, որոնցից անջատվել են մի քանի հազար հակաբիոտիկային նյութեր: Սակայն մեծ մասամբ դրանք թունավոր ազդեցություն էին թողնում ոչ միայն հիվանդությունների հարուցիչների, այլև մարդու օրգանիզմի վրա: Ուստի որպես դեղանյութ օգտագործում են միայն այն հակաբիոտիկները, որոնք ունեն հակամանրէային բարձր ակտիվություն, կենսաբանական միջավայրում կայուն են և մարդու օրգանիզմի համար՝ քիչ թունավոր: Դրանք պենիցիլինի, ստրեպտոմիցինի, տետրացիկլինի, լևոմիցետինի, օլետանդոմիցինի և այլ խմբի պատրաստուկներն են [2]: Աղիքային ցուպիկի նկատմամբ առավել ակտիվ են հետևյալ հակաբիոտիկների տեսակները՝ ամոկսիցիլին, լեոֆլոկսացին, նիֆուրետալ, ֆուրազոլիդոն, դոկսիցիլին (զգայուն են ոչ բոլոր շտամները) և այլն [3]:

Ժամանակի ընթացքում բակտերիաների կազմությունը մշտապես փոփոխվում է, դրանց վերարտադրման ժամանակ առաջանում են տարբեր մուտացիաներ, այդ թվում նաև այն, ինչի շնորհիվ միկրոօրգանիզմները դիմադրողական են դառնում հակաբիոտիկների նկատմամբ: Հակաբիոտիկների հանդեպ դիմադրություն ապահովող մուտացիաների հաճախականությունը բավականաչափ բարձր է, վերապրածները, այսինքն՝ դիմացկուն ձևերը, փոխհատուցում են բակտերիալ կուլտուրայի կորուստի համար: Այսպիսով «ծնվում» են դիմացկուն պաթոգենների նոր ձևեր: Եթե մարդը վարակվում է նոր պաթոգենային ձևերով, ապա այն անիմաստ է բուժել նախկինում օգտագործվող հակաբիոտիկներով: Ներկա ժամանակներում բակտերիաների մուտացիաները դուրս են եկել վերահսկողությունից:

Աղիքային ցուպիկի զգայունության որոշումը հակաբիոտիկների նկատմամբ մեր կողմից իրականացվել է լաբորատոր պայմաններում՝ փորձելով պարզել, թե որ հակաբիոտիկների նկատմամբ է այն առավել

զգայուն: Հետազոտության փորձարարական մասն իրականացվել է ԱՀ ԱՆ ՀԲԿ ՓԲԸ բակտերիոլոգիական լաբորատորիայում: Աշխատանքի ընթացքում կիրառվում են հետևյալ պարագաները՝ հետազոտվող նյութ, քարշիչ պահարաններ, ավտոկլավ, թերմոստատ, մանրադիտակ, մինի շեյկեր, բակտերիոցիդ լամպեր, վառարաններ, սառնարաններ, Պետրիի թասիկներ, որոշիչ թեստեր, ունելի, հակաբիոտիկներ: Անհրաժեշտ է նշել, որ աղիքային վարակների լաբորատոր ախտորոշման հիմնական ձևը կղանքի բակտերիոլոգիական ուսումնասիրությունն է, որի ժամանակ աղիներում բնակվող աղիքային ցուպիկներից անջատում են պաթոգեն ձևերը:

Պաթոգեն աղիքային ցուպիկը լաբորատոր պայմաններում ախտորոշելու նպատակով հետազոտության համար ընդունված կեղտը նոսրացումից հետո ցանվում է համապատասխան սնուցող միջավայրում (Էնդո, Լևինի, Սաբուրո, արյունային, դեղնուցադային միջավայրեր): Եթե արյունային միջավայրում կա հեմոլիզի առկայություն, ապա աշխատանքները տարվելու են այդ գաղութների հետ: Այնուհետև պատրաստի ցանքս կատարված Պետրիի թասիկները տեղափոխվում են թերմոստատ 24 ժամ 37°C պայմաններում: Հաջորդ օրն արդեն դիֆերենցվում է զուտ պաթոգեն աղիքային ցուպիկը: Դիֆերենցումը կատարվում է հետևյալ ձևով՝

1. գաղութների աճի ուսումնասիրումը միջավայրի վրա՝ ըստ ձևի, կառուցվածքի, հեմոլիտիկ հատկության: Աղիքային ցուպիկի հիմնական բնութագրիչ հատկությունը նրա մետաղական փայլն է Էնդո ազարի վրա:

2. քսուքի ներկում Գրամի եղանակով և դրա ուսումնասիրումը:

3. շաքար քայքայելու հատկության ստուգում համապատասխան միջավայրում (Օրկինիցկի միջավայր), պահելով այն 24 ժամ:

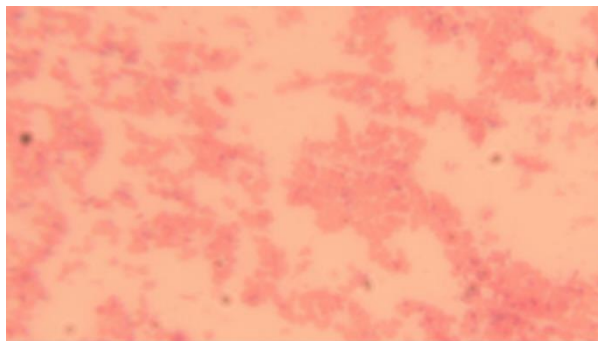
4. բիոքիմիական շարքի ուսումնասիրությունը [4]:

Հակաբիոտիկների նկատմամբ աղիքային ցուպիկի զգայունությունը որոշվում է ոչ թե հետազոտվող նյութով, այլ հենց հարուցիչով, որը աճեցվել է հետազոտվող նյութից վերցված կուլտուրայից: Այդ իսկ պատճառով նյութը պետք է վերցնել մինչ հակաբակտերիալ թերապիան:

Աղիքային ցուպիկի հակաբիոտիկների նկատմամբ զգայունության որոշումը կատարվում է հիմնականում սկավառակադիֆուզիոն մեթոդով, որի էությունը կայանում է նրանում, որ բակտերիաների մաքուր կուլտուրաներից կատարվում է ցանքս համապատասխան միջավայրերում, որից հետո տեղադրվում են հակաբիոտիկներով ներծծված սկավառակները: Ընդ որում՝ սկավառակների միջև հեռավորությունը չպետք է փոքր լինի 1,5-2սմ: Այնուհետև թասիկները տեղափոխվում են թերմոստատ 24 ժամ 37°C պայմաններում: 24 ժամից հետո արդեն որոշվում է բակտերիաների զգայունությունը համապատասխան հակաբիոտիկների նկատմամբ առաջացրած ստերիլ

զոնաների տրամագծի, որը չափվում է հատուկ սանդղակի և քանոնի միջոցով [5]:

Զգայունության որոշումից հետո աղիքային ցուպիկի պատրաստած քսուքի հետագա ուսումնասիրությունները կատարվել են ԱրՊՀ լաբորատորիայում՝ թվային մանրադիտակի օգնությամբ (նկար):



Նկ. Աղիքային ցուպիկի տեսքը մանրադիտակի տակ

Գաղութներից քսուք պատրաստելիս որոշ դեպքերում, երբ պարզ չէ, թե ստացված գաղութները միայն աղիքային ցուպիկի են, թե ոչ, կատարում են աղիքային ցուպիկի համար որոշիչ թեստեր: Ստացված գաղութներից վերցնում են փոքր չափաբաժին և տեղադրում համապատասխան թեստերում: Առաջինը Ինդոլ թեստն է. եթե այն փոխում է իր գույնը, ապա դա աղիքային ցուպիկ է: Հաջորդ նմանատիպ թեստը Սիմենսի բիոքիմիական շարքի թեստն է, երբ կուլտուրայից վերցված նմուշը հատուկ միջավայրում տեղադրվելուց հետո որոշ ժամանակ անց (24 ժամ) վերջինս փոխում է իր գույնը՝ նարնջագույնից կանաչի: Կա նաև մի այլ թեստ՝ CarTest, որը օգնությամբ շատ կարճ ժամանակահատվածում կարելի է որոշել աղիքային ցուպիկի կուլտուրան: Թեստը որոշում է աղիքային ցուպիկի խիստ պաթոգեն *E.coli* 0157:H7 շտամը, որի ախտորոշման ժամանակ հակաբիոտիկների օգտագործումը խստիվ արգելվում է:

Հարկ է նշել նաև, որ բակտերիոլոգիական հիվանդությունները կրում են հիմնականում սեզոնային բնույթ և յուրաքանչյուր հիվանդություն ունի իր «ծաղկման» շրջանը [6]: Ըստ կատարած ուսումնասիրությունների՝ աղիքային ցուպիկի այդ շրջանն ընդգրկում է գարնան վերջից մինչև ամռան վերջն ընկած ժամանակահատվածը: Աղիքային ցուպիկի ամենասուր շրջանը բաժին է ընկել 2018թ: Հուլիսին լաբորատորիա դիմած 28 հիվանդներից 20-ի մոտ հայտնաբերվել է աղիքային ցուպիկ, օգոստոսին՝ 50-ից 37-ի մոտ: 2015թ հունիսին 36 հիվանդից 20-ի մոտ է արձանագրվել, իսկ 2017թ մայիսին՝ 35-ից 24-ի մոտ:

Գրականություն

1. Դանիելյան Լ.Թ., Ընդհանուր և մասնավոր մանրէաբանություն, Երևան, 2002.
2. Մարտիկյան Հ.Ռ., Ընդհանուր մանրէաբանության հիմունքներ, Երևան, 2015.
3. Сизенцов А.Н., Мисетов И.А., Каримов И.Ф., Антибиотики и химиотерапевтические препараты, Оренбург, 2012.
4. Свойчаков В.Б., Микробиология с основами эпидемиологии и методами микробиологических исследований, Санкт-Петербург.
5. Այվազյան Հ.Մ., Աստվածատրյան Վ.Ա., Աբրահամյան Ռ.Ա., Հանրամատչելի Բժշկական Հանրագիտարան, Երևան, 2001.
6. <https://life.panorama.am/hy/news/2014/02/26/bacteria/103534>

Հոդվածը տպագրված է «Կենսաբանության արդիականացումն Արցախում» դրամաշնորհային ծրագրի շրջանակներում

Հոդվածը տպագրության է նրաշխարհելի խմբագրական կոլեգիայի անդամ, կ.գ.դ. Հ.Գ.Գալստյանը: