

Т.Д. Примак, Е.А. Шевчук, С.Л. Мельникова

ИЗМЕНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ УСЛОВНО-ПАТОГЕННОГО СТАФИЛОКОККА ПОД ВЛИЯНИЕМ ОТРИЦАТЕЛЬНЫХ АЭРОИОНОВ

ГБОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия (Чита)

С целью изучения изменений биологических свойств стафилококков под влиянием чистого потока отрицательных аэроионов и лактобактерий была исследована чувствительность условно-патогенных стафилококков к антибактериальным средствам классическим диско-диффузионным методом и определением МПК с применением бактериологического анализатора. Воздействие чистого потока отрицательных аэроионов на культуру стафилококков выполнено изолированно и в смеси с лактобациллярными бактериями. Поток отрицательных аэроионов подавляет рост стафилококков, снижает показатели антибиотикочувствительности стафилококков *in vitro* изолированно и в присутствии лактобациллярных бактерий. Сочетанное применение пробиотических средств и аэроионов может быть оценено как новый подход в изменении антибиотикочувствительности микроорганизмов.

Ключевые слова: стафилококки, антибиотикочувствительность, аэроионы

VARIANCE OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF OPPORTUNISTIC STAPHYLOCOCCUS UNDER NEGATIVE AERO IONS INFLUENCE

T.D. Primak, E.A. Shevchuk, S.L. Melnikova

Chita State Medical Academy, Chita

The aim of this research was to study some changes of staphylococcus biological properties under negative aero ions influence and lactobacillus. We applied a disco-diffuse method for detection of bacterial sensitivity to antimicrobials and evaluated of the minimal inhibitory concentration by bacteriologic analyzer. Then we studied impact of negative aeroions flow on both isolated staphylococcus culture and mixed with lactobacilli. Aeroions flow inhibits staphylococcal growth, decrease its sensitivity to antibiotics *in vitro* both in isolated culture, and mixed with lactobacilli. Combined application of probiotics and negative aeroions could be a new approach for changes of antimicrobial sensitivity.

Key words: Staphylococci, antimicrobial sensitivity, aeroions

В условиях экологического и социального неблагополучия, изменившейся иммунологической резистентности организма человека, нерационального использования значительного арсенала антибактериальных препаратов и антисептических средств наблюдается изменение этиологической структуры возбудителей современных гнойно-септических инфекций (ГСИ) [7]. В этиологической структуре госпитальной инфекции новорожденных грамположительная флора составляет от 17 до 40 % и представлена стафилококками и стрептококками, преобладают коагулазоотрицательные стафилококки (КОС) — *S. epidermidis*, *S. warneri* [6, 10]. Профилактика ГСИ включает комплекс дезинфекционных мероприятий, направленных на уничтожение патогенных и условно-патогенных микроорганизмов на объектах в окружении пациента, при этом недостаточно учитывается специфика, закономерности бактериальной контаминации и перманентного реинфицирования различных биотопов организма человека, включая новорожденных [8].

В свою очередь, представители нормальной микрофлоры составляют систему биологической защиты организма. Условно-патогенные микроорганизмы (УПМ) и, главным образом, облигатная микрофлора в составе различных биотопов в форме нормобиоценоза являются основополагающими

компонентами саморегуляции, иммунологических реакций и неспецифической защиты организма [3].

В большинстве лечебных учреждений общее количество микроорганизмов в 1 м³ воздуха превышает существующие нормы. Воздух оздоравливается атмосферным электричеством, точнее его носителями — аэроионами [1, 5, 9, 11]. Метод аэроионификации может быть применен в операционных, перевязочных, палатах (инфекционных, родильных и др.), боксах микробиологических лабораторий [2, 4, 12].

Целью данного исследования явились оценка антибиотикочувствительности госпитальных условно-патогенных стафилококков и ее изменение под влиянием отрицательно заряженных аэроионов в присутствии лактобактерий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнялась в период с 2006 по 2010 гг. на базе лаборатории клинической микробиологии перинатального центра ГУЗ «Краевая клиническая больница» Забайкальского края (г. Чита). В условиях стационара проведено бактериологическое обследование 120 новорожденных (из них 70 находились в ОРИТ, 50 — в детском отделении — контрольная группа) и 124 женщин, в т.ч. 60 беременных и 64 родильницы. Посев биологического материала от пациентов проводили классическим

бактериологическим методом. Выделенные штаммы тестировали на чувствительность к антибиотикам на основании МУ 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам диско-диффузионным методом в соответствии со стандартами Национального комитета по клиническим лабораторным стандартам (NCCLS, США). Дополнительно идентификацию микроорганизмов и определение минимальных подавляющих концентраций (МПК) проводили с применением автоматического микробиологического анализатора VITEC 2 Compact 30 (bio Merieux Inc., США). Использовали показатель МПК₉₀ – МПК антибиотика эффективного для 90 % исследуемых штаммов в единицах мг/л. 17 штаммов *S. warneri*, выделенных от новорожденных и женщин и обладающих антибиотикорезистентными свойствами, выращивали на питательной среде, приготовленной с добавлением бактерий рода *Lactobacillus*, а также эти культуры подвергали воздействию чистого потока отрицательно заряженных аэроионов.

Опыт 1: КОС + лактобактерии. В 100 мл свежеприготовленной среды Мюллера-Хинтона для определения антибиотикорезистентности добавляли 12 мл биологически активной добавки «Наринэ» (БАД ТУ-9224-004-45448778-02), содержащей живые ацидофильные бактерии *Lactobacillus acidophilus* штамма N.V.Ер. 317/402, и разливали в чашки Петри. Готовили взвеси суточных культур *S. warneri* в физиологическом растворе по стандарту мутности 5×10^8 . На питательную среду засеивали взвесь, затем на одну партию чашек накладывали диски с антибиотиками. Инкубировали при 37 °С 24 часа. Контролем служили две партии чашек: первая со средой Мюллера-Хинтона без добавок с нанесенной взвесью культуры *S. warneri* и дисками с антибиотиками, вторая – с этой же средой без добавок с нанесенной взвесью культуры *S. warneri*. Использовали следующий набор антибиотиков: оксациллин, амикацин, ванкомицин, цефтазидим, эритромицин и меропенем, как наиболее часто применяемый в условиях ОРИТ новорожденных.

Опыт 2: КОС + аэроионы. Готовили взвеси культур аналогично опыту № 1. Взвеси в количестве 1 мл засеивали на питательный агар. Одну часть взвеси засеивали по методу Голда (микробиологической петлей диаметром 2 мм на четыре сектора, после каждого сектора петлю прожигали) и помещали под поток отрицательно заряженных аэроионов (ОАИ) прибора «Сферион» (ООО «Сьютиби», г. Новосибирск), который производит не менее 5×10^3 отрицательных ионов в 1 см³ воздуха. Время воздействия составило 60, 90 и 120 минут. Затем чашки инкубировали при 37 °С 24 часа, после чего определяли антибиотикорезистентность культур. Контролем служили чашки с посевом штаммов *S. warneri* без воздействия аэроионов. Другую часть взвеси разливали в стерильные чашки Петри по 1,0 мл и растирали шпателем, затем также помещали под поток отрицательно заряженных аэроионов на то же время. Контрольная чашка со взвесью воздей-

ствием аэроионов не подвергалась и выдерживалась с такой же экспозицией и температурой.

Опыт 3: КОС + лактобактерии + аэроионы. Готовили питательную среду и взвеси аналогично опыту № 1. Одну партию чашек с культурой и дисками и вторую партию с культурой без дисков помещали под чистый поток ОАИ. Время воздействия составило 90, 120 и 180 минут. Контролем служили чашки со средой Мюллера – Хинтона без добавок с нанесенной взвесью культур *S. warneri* и дисками с антибиотиками, вторая – без добавок с нанесенной взвесью культуры *S. warneri*, не подвергавшихся воздействию аэроионов.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета программы «Statistica-5» и «Exel». Использовались следующие методы статистического анализа: проверка нормальности распределения количественных признаков при малом числе наблюдений с использованием W-критерия Шапиро-Уилка, основанная на регрессии порядковых статистик. Для оценки значимости различий при нормальном распределении количественных признаков использовали t-критерий Стьюдента, двусторонние доверительные интервалы; при ненормальном распределении количественных признаков использовали непараметрический критерий W-Вилкоксона.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведено сравнение антибиотикограмм микроорганизмов, выделенных от новорожденных и от женщин. В структуре КОС, выделенных из различных биотопов, чаще резистентностью отличались штаммы родильниц (73,4 %). В микробиоценозах биотопов новорожденных и женщин преобладали грамположительные кокки – *S. warneri* и *E. faecalis*. Во всех группах высевались штаммы *S. warneri*, обладавшие полирезистентностью, 17 из которых были применены в серии экспериментов.

Опыт 1. Зоны подавления роста с использованием ДДМ к ванкомицину увеличились с $18,3 \pm 2,6$ мм на контрольных чашках до $19,0 \pm 1,6$ мм на чашках с добавкой. К меропенему чувствительность выросла с $14,5 \pm 7,5$ мм до $20,8 \pm 3,6$ мм ($p < 0,05$), к амикацину – с $21,9 \pm 8,7$ мм до $27,6 \pm 4,4$ мм ($p < 0,01$). Зоны подавления роста для оксациллина, эритромицина и цефтазидима остались без особых изменений. Обнаружены изменения МПК₉₀ ванкомицина с 2 мг/л до 1 мг/л, меропенема с 16 до 8 мг/л, амикацина с 2 до 0,5 мг/л. МПК оксациллина, эритромицина и цефтазидима составили 8, 16 и 16 мг/л соответственно и в этой серии экспериментов не изменялись.

Опыт 2. В результате данного эксперимента через 60 и 90 минут воздействия аэроионами на засеянные культуры *S. warneri* изменений антибиотикорезистентности не выявлено. Микробное число на экспериментальных и на контрольных чашках при этих экспозициях было одинаково и составляло 9 lg (10⁹) КОЕ. Через 120 минут воздействия аэроионами микробное число снизилось до 6 lg (10⁶) КОЕ в 89 % случаев. В течение эксперимента

чувствительность к одним и тем же препаратам не отличалась в контроле и в результате воздействия потоком аэроионов.

Опыт 3. Добавление в среду Мюллера-Хинтона взвеси лактобактерий с воздействием потока ОАИ в течение 90 и 120 минут вызывало незначительное снижение антибиотикорезистентности *S. warneri*. Однако наиболее существенные изменения антибиотикочувствительности штаммов *S. warneri* были получены при обработке потоком аэроионов в течение 180 мин. При данных условиях штаммы изменяли свою чувствительность к ряду антибиотиков: зона подавления роста вокруг диска с ванкомицином увеличилась с $18,3 \pm 2,6$ мм до $22,7 \pm 3,0$ мм ($p < 0,01$), к меропенему с $14,5 \pm 7,5$ мм до $27,0 \pm 3,3$ мм ($p < 0,01$), к амикацину с $21,9 \pm 8,7$ до $27,1 \pm 6,4$ мм ($p < 0,01$), к оксацилину с $16,5 \pm 2,5$ до $19,5 \pm 5,1$ мм ($p < 0,05$). Обнаружены изменения МПК₉₀ ванкомицина с 2 мг/л до 0,5 мг/л; меропенема с 16 до 4 мг/л; амикацина — с 2 до 0,5 мг/л; оксацилина — с 8 до 4 мг/л; МПК₉₀ эритромицина и цефтазидима осталась без изменений. Вероятно, свойство антибиотикорезистентности, связанное большей частью с внехромосомными генами бактерий, снижается вследствие возникновения изменений в структурных единицах бактериальных плазмид или кодируемых ими ферментативных групп. Поэтому увеличение зон подавления роста выделенных штаммов *S. warneri* антибактериальными средствами под влиянием потока аэроионов отрицательной полярности при участии лактобактерий, возможно, происходит по механизму квантовой реакции на фоне воздействия продуктов жизнедеятельности молочнокислых бактерий, обладающих природным антагонизмом в отношении стафилококков.

ВЫВОДЫ

1. В различных биотопах новорожденных, беременных, родильниц преобладают грамположительные кокки — *S. warneri*, *E. faecalis*, устойчивые к большинству применяемых в ОРИТ антибактериальных средств, наибольшее количество которых выделено из биотопов родильниц (73,4 %).

2. Антибиотикорезистентность штаммов *S. warneri* в присутствии лактобактерий *Lactobacillus acidophilus N.V.Ep. 317/402* к ряду антибиотиков (ванкомицин, меропенем, амикацин) снижается в среднем в два раза, чувствительность *S. warneri* к оксацилину, эритромицину, цефотаксиму остается без изменений.

Сведения об авторах

Примак Татьяна Дмитриевна — д.м.н., профессор, зав. кафедрой микробиологии ГБОУ ВПО ЧГМА (Чита-90, ул. Горького, 39 а; тел. (302) 235-28-60)

Шевчук Евгения Александровна — зав. лабораторией клинической микробиологии ГУЗ ККБ (Чита-38, ул. Гаюсана, 2/54; тел. (302) 231-42-78)

Мельникова Светлана Леонидовна — д.м.н., профессор, профессор кафедры нормальной анатомии ГБОУ ВПО ЧГМА (Чита-90, ул. Горького, 39 а; тел. (302) 235-43-24).

3. Воздействие потока отрицательных аэроионов при экспозиции 120 минут приводит к снижению плотности популяции *S. warneri* с $8 \lg (5 \times 10^8)$ КОЕ до $6 \lg (5 \times 10^6)$ в 89 % проб. Антибиотикорезистентность штаммов *S. warneri* при обработке потоком аэроионов с течение 180 минут в смеси с лактобактериями *Lactobacillus acidophilus N.V.Ep. 317/402* снижается в среднем в четыре раза в 92,2 % проб.

ЛИТЕРАТУРА

1. Air ions: physiological aspects / H. Nakane [et al.] // Int. J. Psychophysiol. — 2002. — Vol. 46. — P. 85.
2. Bactericidal action of positive and negative ions in air / L.A. Fletcher [et al.] // BMC Microbiology. — 2007. — Vol. 7, N1. — P. 32.
3. Community-acquired methicillin-resistance *S. aureus* / M.H. Kaibni [et al.] // J. Med. Microbiol. — 2009. — Vol. 58. — P. 644–647.
4. Dudley C.A., Moss R.L. Stress and physiological, behavioral and performance pattern under varied air ion levels // Neuroscience. — 1999. — Vol. 91. — P. 1549–1556.
5. Ryushi T. The effect of exposure to negative air ions on the recovery of physiological responses after moderate endurance exercise // Int. J. Biometeorol. — 1998. — Vol. 41. — P. 1332–1336.
6. Внутрибольничные инфекции в родовспомогательных учреждениях: этиология, эпидемиология и профилактика / С.Д. Егоричева [и др.] // Эфферентная терапия. — 2005. — № 1. — С. 63–69.
7. Володин Н.Н., Касихина С.А. Актуальность проблемы нозокомиальных инфекций в неонатологии // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. — 2004. — Т. 3, № 1. — С. 74–79.
8. Донских Е.Е. Молекулярный и микробиологический мониторинг становления микрофлоры кишечника новорожденных : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Е.Е. Донских; РГМУ. — М., 2010. — 29 с.
9. Норман Г.Э. Активные формы кислорода и люстра Чижевского // Биохимия. — 2001. — Т. 66, № 1. — С. 123–126.
10. Основные компоненты контроля в отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных / А.В. Любимова [и др.] // Эфферентная терапия. — 2010. — Т. 16, № 3. — С. 91–97.
11. Санитарно-гигиенические нормы допустимых уровней ионизации производственных и общественных помещений / СанПин 2.2.4.1294-03. — М., 2004. — 10 с.
12. Скипетров В.П. Аэроионы и жизнь. — Саранск: Красный Октябрь, 2005. — 136 с.