

14. Приказ МЗ СССР от 22.04.85 г. № 535 “ Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений”. — Москва. — 1985. — 126 с.
15. Сагалова О.И. Характеристика этиологической структуры острых кишечных инфекций у взрослых по данным инфекционного стационара / О.И. Сагалова, О.А. Пищулова, В.А. Нечет [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. — 2007. — № 5. — С. 7–12.

ОСТРЫЕ КИШЕЧНЫЕ ИНФЕКЦИИ: ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ, ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА, БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ

Н.Д. Чемич¹, Н.Г. Малыш¹, С.И. Доан², И.Н. Фетисова³, Ю.М. Гавриленко³

¹Сумский государственный университет, г. Сумы

²ГУ “Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В. Громашевского АМН Украины”, г. Киев

³Сумская клиническая больница № 4, г. Сумы

Установлен рост заболеваемости острыми кишечными инфекциями, вызванных условно-патогенными микроорганизмами и вирусами в Северо-Восточном регионе Украины. Наиболее часто этиологическими факторами были бактерии семейства Enterobacteriaceae, которые характеризовались множественной антибиотикорезистентностью и имели выраженную способность к температурной адаптации.

Ключевые слова: острые кишечные инфекции, заболеваемость, условно- патогенные микроорганизмы, антибиотикорезистентность, температурная адаптация.

ACUTE INTESTINAL INFECTIONS: MORBIDITY, ETIOLOGICAL STRUCTURE, BIOLOGICAL PROPERTIES OF EXCITERS

M.D. Chemych¹, N.G. Malysh¹, S.I. Doan², I.M. Fetisova³, Yu.M. Gavrilenko³

¹Sumy state university, Sumy

²SI “L.V. Gromashevsky Institute of epidemiology and infectious diseases of NAMS Ukraine”, Kiev

³Sumy Clinical Hospital N 4, Sumy

Growth of incident is set on acute intestinal infections, caused by conditionally pathogenic microorganisms and viruses of the North-Eastern region of Ukraine. Most often etiologic factors it was been the bacterium of family Enterobacteriaceae, which was characterized plural stability to antibiotics and had the expressed capacity to temperature adaptation.

Key words: acute intestinal infections, incidence of disease, conditionally pathogenic flora, antibiotic resistance, temperature adaptation.

УДК 579.842.14:579.24:57.017.22

В.О. Бубало, А.М. Зарицкий

ЗДАТНІСТЬ ДО ФОРМУВАННЯ БІОПЛІВКИ САЛЬМОНЕЛАМИ, ЯКІ БУЛИ ВИДІЛЕНІ В РІЗНІ РОКИ

ДУ “Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України”, м. Київ

В роботі представлені матеріали вивчення здатності формування біоплівки у штучних умовах штамми сальмонел (*S. enteritidis* та *S. typhimurium*). Встановлено, що більшість штамів утворює біоплівки у штучних умовах.

Ключові слова: *Salmonella*, *enteritidis*, *typhimurium*, біоплівки.

Дослідження останніх часів довели, що більшість бактерій в природних екосистемах співіснують у складно організованих і прикріплених до субстрата біоплівках. Розвиток симбіозу в біоплівкових структурах є одним з основних механізмів виживання мікробів не тільки у зовнішньому середовищі, а і в організмі хазяїна [3]. Біоплівки — це високоорганізовані “співтовариства”, утворені бактеріями одного або декількох видів, що складаються

© В.О. Бубало, А.М. Зарицкий

з активно функціонуючих клітин та некультивованих форм [6].

У складі біоплівки клітини, об'єднавшись складними міжклітинними зв'язками, виконують регуляцію експресії генів в різних частинах біоплівки, в результаті чого можна розглядати популяцію бактерій, як функціонуючий аналог багатоклітинного організму [2]. Відомо, що збудники в біоплівках значно більш стійкі до дії антибактеріальних препаратів, факторів імунного захисту організму, несприятливої температури, осмолярності, pH [4], що ускладнює проблеми лікування та профілактики поширення інфекційних агентів.

Мета роботи: встановити здатність до утворення біоплівки штамми сальмонел, що циркулюють в Україні.

Матеріали і методи

В досліджах були використані 62 штами, з них *S. enteritidis* — 39 штамів, *S. typhimurium* — 23 штами, які були ізолювані від хворих і носіїв збудника при спалахах і спорадичних захворюваннях в різних регіонах України у 1996–2012 рр., та зберігалися, у Музеї патогенних для людини мікроорганізмів ІЕІХ НАМНУ. Вибір культур пов'язаний з ведучою роллю цих сероварів в етіологічній структурі захворювань на сальмонельози в Україні в останні роки.

Здатність до формування біоплівки штамми сальмонел проводили згідно з методикою Ю.М. Романової [5]. Добові культури сальмонел вирощували в поживному м'ясо-пептонному бульйоні (МПБ) при температурі 37°C 24 год. Культури розводили МПБ до концентрації 10⁷ КУО/мл. Отримані суспензії вносили по 150 мкл в лунки 96 луночної планшети (по 6 лунок для кожного штаму). Для контролю у 8 вільних лунок вносили по 150 мкл МПБ. Планшети інкубували при 28°C 24 години. Після інкубації вміст планшетів видаляли і вносили по 150 мкл дистильованої води та 15 мкл 1% спиртового розчину кристал віолету.

Планшет витримували протягом 45 хвилин при кімнатній температурі. Після експозиції барвник відсмоктували і триразово промивали дистильованою водою. В кожну лунку планшети додавали по 250 мкл 96% етилового спирту і залишали на 45 хвилин при кімнатній температурі. Формування біоплівки оцінювали по інтенсивності забарвлення спиртового розчину на фотометрі Microplate reader RT-2100c RAYTO (Німеччина) за довжини хвилі 630 нм. Кількісним визначенням ступеня утворення біоплівки слугували значення одиниць оптичної густини (ОД ОГ).

В паралельних дослідах формування біоплівки підтверджували мікроскопією. Вирощували плівку на покривному скельці, за методикою, наведеною вище. Після внесення в суспензію МПБ з мікроорганізмами покривні скельця інкубували при температурі +28°C протягом 24 і 48 годин. Після чого покривні скельця відмивали дистильованою водою, фіксували 96% етиловим спиртом протягом 10 хвилин і забарвлювали розчином кристал віолету. Наявність сформованої на скельці біоплівки оцінювали за допомогою світової мікроскопії на мікроскопі Axioskop 40 з відеокамерою Pixera Pro-150 ESM при 1000-кратному збільшенні з подальшим фотографуванням.

При проведенні досліджень визначали середні значення та стандартні квадратичні відхилення ОД ОГ. Для оцінки статистичної значимості отриманих даних було застосовано критерій Стьюдента; для обробки даних — програмне середовище "Microsoft Office Excel 2003"[1].

Результати та їх обговорення

За результатами проведених досліджень встановлено, що із 22 штамів *S. enteritidis*, виділених в період 1996–2006 рр., 14 (54,5%) мають здатність до біоплівкоутворення. Штами, виділені протягом 2012 року, утворюють біоплівку в 100% випадків (табл. 1).

Таблиця 1. Здатність до формування біоплівки штамми *S. enteritidis*

Штам, №	Показники одиниць ОГ біоплівки штамів <i>S. enteritidis</i>	Достовірність показника
<i>Виділених в 1996–2006 рр</i>		
1042	0,28±0,01 *	p<0,05
1043	0,28±0,01 *	p<0,05
1055	0,19±0,01	p>0,05
1062	0,29±0,03 *	p<0,05
1064	0,21±0,01 *	p<0,05
1044	0,18±0,01	p>0,05

Штам, №	Показники одиниць ОГ біоплівков штамів <i>S. enteritidis</i>	Достовірність показника
1045	0,20±0,01 *	p<0,05
1052	0,27±0,02 *	p<0,05
1060	0,16±0,01	p>0,05
1053	0,21±0,01 *	p<0,05
1047	0,24±0,01 *	p>0,05
1046	0,34±0,01 *	p<0,05
1057	0,20±0,01 *	p>0,05
1050	0,09±0,01	p<0,05
1051	0,15±0,01	p>0,05
1054	0,17±0,01	p<0,05
1056	0,19±0,01	p>0,05
1058	0,30±0,03 *	p<0,05
1048	0,23±0,01 *	p<0,05
1091	0,28±0,02 *	p<0,05
1094	0,19±0,01 *	p<0,05
<i>Виділених в 2012 р</i>		
1102	0,47±0,01 **	p<0,05
1103	0,34±0,02 **	p<0,05
1104	0,49±0,03 **	p<0,05
1105	0,5±0,02 **	p<0,05
1106	0,33±0,03 **	p<0,05
1107	0,35±0,01 **	p<0,05
1108	0,34±0,03 **	p<0,05
1109	0,44±0,04 **	p<0,05
1110	0,33±0,03 **	p<0,05
1111	0,5±0,02 **	p<0,05
1112	0,43±0,02 **	p<0,05;
1113	0,26±0,02 **	p<0,05;
1114	0,33±0,03 **	p<0,05;
1124	0,33±0,02 **	p<0,05;
1125	0,56±0,02 **	p<0,05;
1126	0,37±0,02 **	p<0,05;
1127	0,29±0,04 **	p<0,05;

Примітка: * — різниця з контролем (0,154±0,02) у одиницях ОГ вірогідна; ** — різниця з контролем (0,19±0,01) у одиницях ОГ вірогідна.

Як видно із таблиці 1, показник оптичної густини в середньому був 0,22±0,01 для штамів виділених період 1996–2006 рр., для штамів виділених в 2012 році цей показник був у межах 0,39±0,02 (рис. 1).

Всі досліджені штами *S. typhimurium*, які були виділені в 2012 році мали здатність формувати біоплівку в штучному середовищі у 100% випадків.

У 20 штамів, які були виділені в 1996–2006 рр. така здатність виявлена лише у 4 (20%) (табл. 2).

Показники оптичної густини в середньому варіювала в межах 0,17±0,01 для штамів, виділених у період 1996–2006 рр., для штамів, виділених в 2012 році, цей показник був у межах 0,55±0,05 (рис. 1).

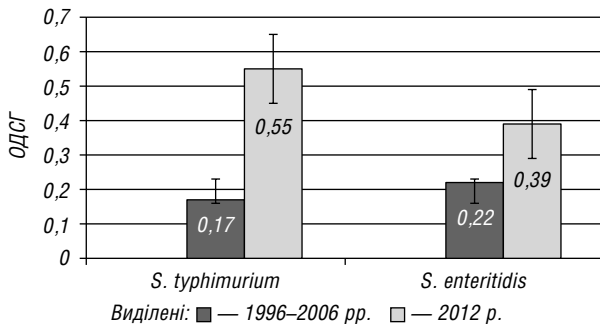


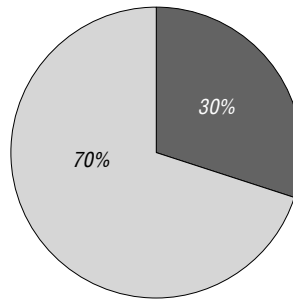
Рисунок 1. Середні показники ОД ОГ серед здатних до формування біоплівки штамів сальмонел

Відмічається різниця між здатністю утворення біоплівки серед *S. enteritidis* та *S. typhimurium*. Від загальної кількості *S. enteritidis* біоплівку утворюють 77%, тоді як серед *S. typhimurium* лише 30% (рис. 2).

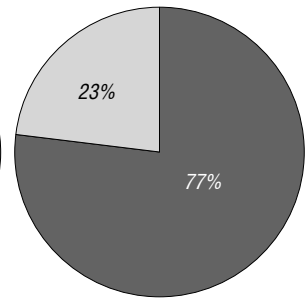
Висновок

1. Всі досліджувані штами *S. enteritidis* та *S. typhimurium*, які були виділені в 2012 р., мали

Утворення біоплівки штамми *S. typhimurium* виділеними у 1996–2012 рр.



Утворення біоплівки штамми *S. enteritidis* виділеними у 1996–2012 рр.



■ — утворюють біоплівку □ — не утворюють біоплівку

Рисунок 2. Утворення біоплівки штамми сальмонел

здатність формувати біоплівку в штучному середовищі. Серед досліджених штамів, виділених у 1996–2006 рр., така здатність виявлена у 44%.

2. У 77% досліджуваних штамів *S. enteritidis* була виявлена здатність формувати біоплівку в

Таблиця 2. Здатність до формування біоплівок штамми бактерій *S. typhimurium*

Штам, №	Показники одиниць ОГ біоплівок штамів <i>S. typhimurium</i>	Достовірність показника
<i>Виділених в 1996–2006 рр</i>		
1089	0,16±0,01	p>0,05
1075	0,2±0,01*	p<0,05
1084	0,14±0,01	p>0,05
1074	0,16±0,01	p>0,05
1066	0,20±0,01*	p<0,05
1079	0,14±0,01	p>0,05
1080	0,15±0,01	p>0,05
1078	0,16±0,01	p>0,05
1088	0,16±0,01	p>0,05
1090	0,15±0,01	p>0,05
1087	0,19±0,01*	p<0,05
1070	0,19±0,01	p>0,05
1085	0,19±0,01	p>0,05
1083	0,13±0,01	p>0,05
1082	0,12±0,01	p>0,05
1071	0,13±0,01	p>0,05
1086	0,22±0,01*	p<0,05
1081	0,19±0,01	p>0,05
1068	0,17±0,01	p>0,05
1073	0,17±0,01	p>0,05
<i>Виділених в 2012 р</i>		
1121	0,53±0,06**	p<0,05
1122	0,38±0,03**	p<0,05
1123	0,73±0,07**	p<0,05

Примітка: * — різниця з контролем (0,154±0,02) у одиницях ОГ вірогідна; ** — різниця з контролем (0,18±0,01) у одиницях ОГ вірогідна.

штучному середовищі. Серед досліджених штамів *S. typhimurium*, така здатність виявлена у 30% досліджених штамів. Біоплівкоутворення, як біологічна властивість, серед сальмонел має штамспецифічний характер.

3. Можливо, розбіжності по здатності формування біоплівок в штучному середовищі серед досліджених штамів сальмонел пов'язані з три-

валим зберіганням раніше виділених культур у ліофілізованому стані, або є результатом еволюції популяцій збудників під впливом соціальних і екологічних чинників.

Перспективи подальших досліджень полягають у комплексному вивченні біологічних характеристик сальмонел для більш детального встановлення еволюційних змін збудника.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ашмарин И.П. Статистические методы в микробиологических исследованиях / И.П. Ашмарин, А.А. Воробьев — Л. — 1962. — 359 с.
2. Николаев Ю.А. Биопленка — “город микробов” или аналог многоклеточного организма / Николаев Ю.А., Плакунов В.К. // Микробиология. — 2007. — Т. 76. — № 2. — С. 149–163.
3. Поліщук О.І. Методолгічні підходи до визначення *in vitro* здатності утворювати біоплівку мікроорганізмами виду *Pseudomonas Aeruginosa* / О.І. Поліщук, О.В. Покас // Журн. Лабораторна діагностика. — 2009. — № 3 (49). — С. 30–34.
4. Покас О.В. Дія ферментного препарату “Циторецифен-М” на здатність до утворення біоплівок штамми *Pseudomonas Aeruginosa* / О.В. Покас, О.І. Поліщук, Т.С. Тодосійчук // Журн. Профілактична медицина. — 2011. — № 2(14). — С. 81–85.
5. Романова Ю.М. Способность к формированию биопленок в искусственных системах у различных штаммов *Salmonella typhimurium* / Ю.М. Романова, Н.В. Алексеева, Т.А. Смирнова [и др.] // Журн. микробиол. — 2006. — № 4. — С. 38–42.
6. Романова Ю.М. Бактериальные биопленки как естественная форма существования бактерий в окружающей среде и организме / Ю.М. Романова, А.Л. Гинсбург // Журн. микробиол. — 2011. — № 3. — С. 99–109.

СПОСОБНОСТЬ К ФОРМИРОВАНИЮ БИОПЛЕНОК СРЕДИ САЛЬМОНЕЛЛ, ВЫДЕЛЕННЫХ В РАЗНЫЕ ГОДЫ

В.А. Бубало, А.М. Зарицкий

ГУ “Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В. Громашевского НАМН Украины”, Киев

В работе представлены материалы изучения способности к формированию биопленки в искусственных условиях штаммами сальмонелл (*S. enteritidis* и *S. typhimurium*). Установлено, что большинство штаммов образуют биопленку в искусственных условиях.

Ключевые слова: *Salmonella*, *enteritidis*, *typhimurium*, биопленки.

ABILITY OF SALMONELLA TO FORM A BIOFILM, ISOLATED IN DIFFERENT YEARS

V.O. Bubalo, A.M. Zaritsky

State Institution “LV Gromashevsky Institute of Epidemiology and Infectious Diseases of NAMS of Ukraine”, Kiev

The article presents the studying of ability to form biofilms in artificial conditions of *Salmonella* (*S. enteritidis* and *S. typhimurium*). Found that most strains form a biofilm in artificial conditions.

Key words: *Salmonella*, *enteritidis*, *typhimurium*, the biofilm.

УДК: 613.14/15:62:593.1

С.В. Козуля, А.Л. Павленко, А.В. Новиков

ПРОСТЕЙШИЕ В ИСКУССТВЕННОЙ СРЕДЕ СПЛИТ-СИСТЕМ

Государственное учреждение “Крымский медицинский университет им. С.И. Георгиевского”, г. Симферополь, Украина

При исследовании биопленок, отобранных из 36 сплит-систем г. Джанкой (АР Крым), в 16 пробах (44,4%) выявлены свободноживущие простейшие. Простейшие

сплит-систем могут иметь эпидемическую значимость, способствуя сохранению возбудителей инфекционных заболеваний.

Ключевые слова: гигиена, простейшие, системы кондиционирования воздуха.

© С.В. Козуля, А.Л. Павленко, А.В. Новиков