



УДК : 616.995.122.22:612.111.45:616.981.25

НАГАЙЧУК В.В.

ВПЛИВ БІОАКТИВАЦІЇ НА КУЛЬТУРУ E.COLI ТА ГЕМОЛІТИЧНОГО СТАФІЛОКОКУ

(ІНФОРМАЦІЯ 3)

Доктор філософії (Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, Україна)

У статті викладені результати вивчення впливу струму малої інтенсивності без зовнішніх джерел на культуру E.coli та гемолітичного стафілококу. Доведено, що використання біоактивації в комплексній терапії є ефективним і доступним безмедикаментозним методом впливу на мікрофлору опікових ран.

Ключові слова: опіки, біоактивація, ксеношкіра.

The article contains the research results of the influence of the currents of minor intensity without external sources of power on E. coli bacteria and hemolytic staphylococcus. It has been proved that the use of bioactivation in complex therapy is effective and available non-pharmacological method of influence on the micro flora of thermal wounds

Key words: burns, bioactivation, xenoskin.

В статье изложены результаты изучения влияния токов малой интенсивности без внешних источников на культуру E.coli и гемолитического стафилококка. Показано, что использование биоактивации в комплексной терапии есть эффективным и доступным без медикаментозным методом влияния на микрофлору ожоговых ран.

Ключевые слова: ожоги, биоактивация, ксенокожа.

Вступ

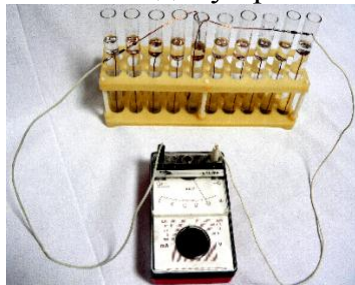
Нозокоміальна інфекція була і залишається однією з невирішених проблем комбустіології [1]. Існуючі антибактеріальні препарати покращують результати лікування опікової травми [4], але інфекція була, є і залишається головною причиною її ускладнень та смертельних наслідків [3]. Тому пошук безмедикаментозних, ефективних і доступних засобів та методів впливу на мікрофлору опікової рани залишається важливим завданням сучасної комбустіології [2].

Матеріали і методи. Антимікробну дію біоактивації (БА) вивчали в серії досліджень із 12 дослідів в кожній. З дотриманням методичних вимог мікробіологічного дослідження, визначали характер її впливу на розвиток колоній E.coli на м'ясо-пептонному агарі та порівнювали з уже відомим впливом біоактивації на культуру гемолітичного стафілококу. Для цього, на висіяний із стандартизованої за оптичним стандартом мутності (500 тисяч мікробних тіл в 1 мл) суспензії мікробної культури E.coli, на агарі чашок Петрі розміщали стандартизовані диски з антибіотиками (зокрема цефтриаксоном) та стандартизовані диски електродів донорів (ДЕ) та акцепторів (АЕ) електронів, моделюючи при цьому різні умови впливу БА на мікробні тест-об'єкти. У якості електрода ДЕ використовували мідну пластину високої ступені чистоти, а електрода АЕ – специфічний алюміній-магній-цинковий сплав (АМЦ).

Дію БА на культуру E.Coli вивчали в умовах як замкнутого і розірваного електричного контуру. Контролем антимікробної ефективності БА на культуру E.Coli служила антимікробна ефективність стандартного диску з цефтриаксоном та культура гемолітичного стафілококу. З метою оцінки чутливості E.Coli до антибіотиків під час тривалого впливу БА, нами був виготовлений та запатентований пристрій (мал.1; патент України № 43358).

Сутність дослідження. Культура E.coli знаходилася в пробірках з фізіологічним розчином між електродною парою ДЕ-АЕ, яка на протязі доби обумовлювала

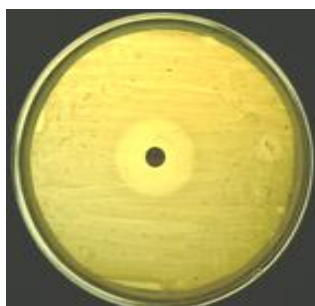
вплив БА силою до 40 мкА, та напругою 0,03В в умовах термостату при температурі 36⁰С. Контролем слугували аналогічні штами E.coli без біоактивації. Через 24 години з кожної серії пробірок брали по 0,1 мл культури E.coli, розводили фізіологічним розчином у 1000 разів, висівали в чашках Петрі на м'ясо-пептонний агар, на якому розміщували стандартизовані диски з антибіотиками і знову ставили в термостат на добу при температурі 36⁰С.



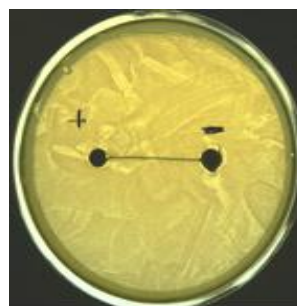
Мал.1. Пристрій для дослідження впливу біоактивації на культури мікроорганізмів: штатив 1, пробірки з культурою мікроорганізмів 2, електрод – донор електронів 3, електрод – акцептор електронів 4, вимірювальний пристрій 5, провідник 6.

В кінці спостереження підраховували кількість виращених колоній в дослідних та контрольних пробірках і їх чутливість до антибіотиків за діаметром затримки росту культури.

Обговорення. В результаті дослідження встановлено, що діаметр затримки росту культури E.coli під стандартними дисками з цефтриаксоном становив $25,3 \pm 0,1$ мм ($P < 0,05$), що на 12,6% перевищувало діаметр затримки росту гемолітичного стафілококу під аналогічними дисками (мал.2). Антимікробна вплив БА на E.coli в умовах замкнутого контуру був незначним і практично не залежав від функціональної активності електродної пари.



Мал. 2. Діаметр затримки росту E.Coli (1) та гемолітичного стафілококу (2) на агарі під стандартними дисками з цефтриаксоном.



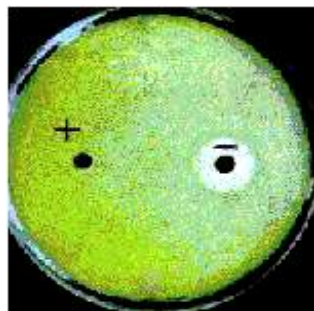
Мал.3. Діаметр затримки росту E.coli (1) та гемолітичного стафілококу (2) на агарі під електродами ДЕ та АЕ в умовах замкнутого контуру.

За цих умов діаметр затримки росту $9,3 \pm 0,4$ мм під електродом ДЕ та $10,2 \pm 0,6$ мм під електродом АЕ був в 2,7-2,5 рази слабкішим, в порівнянні з антимікробним впливом стандартного диска з цефтриаксоном (мал.3).

Аналогічний вплив на культуру гемолітичного стафілококу указує на залежність лізигенного феномену БА від природи формуючих її електродів ДЕ та АЕ. Встановлено, що зона затримки росту на м'ясо-пептонному агарі під електродом АЕ була у 3,2 рази меншою, ніж під електродом ДЕ ($8,5 \pm 0,7$ мм проти $27,2 \pm 2,4$ мм; ($P < 0,001$)). Бактерицидний вплив під електродом ДЕ був у 1,2 рази сильнішим, порівняно із стандартним диском з цефтриаксоном і у 2,9 рази сильнішим, у порівнянні з антимікробним впливом на E.coli. Під електродом АЕ антимікробний вплив на E.coli був на 16,7% сильнішим, у порівнянні з антимікробним впливом на гемолітичний стафілокок.

Антимікробний вплив БА на E.coli в умовах розімкнутого контуру (мал.4) був незначним, не залежав від природи біоактиваційних електродів ($8,1 \pm 0,1$ і $9,2 \pm 0,3$ мм) і в 3,1–2,8 разів нижчим, у порівнянні з антимікробним впливом стандартного диску з цефтриаксоном. Іншу картину спостерігали при вивченні антимікробного впливу на гемолітичний стафілокок електродної пари ДЕ-АЕ в умовах розімкнутого контуру. Якщо під електродом ДЕ антимікробний вплив на E.Coli була сильнішим лише в 1,1 рази у порівнянні з культурою гемолітичного стафілококу, то під

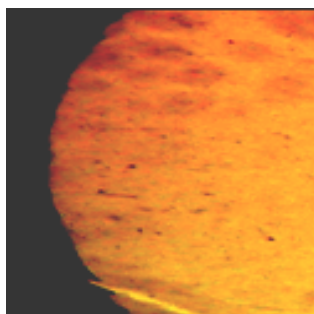
електродом АЕ він був слабшим в 2,2 рази ($P < 0,05$). Для оцінки вірогідності отриманих результатів ми розмістили електродну пару ДЕ-АЕ на різних чашках Петрі (мал.5).



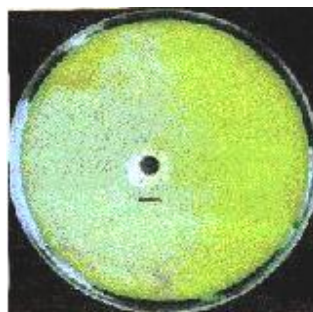
Мал.4. Діаметр затримки росту E.Coli (1) та гемолітичного стафілококу (2) на агарі під електродами ДЕ і АЕ в умовах розімкнутого контуру.



Антимікробний вплив БА на культуру E.Coli ($7,4 \pm 0,9$ мм) в різних чашках Петрі під електродом ДЕ був аналогічним його впливу на культуру гемолітичного стафілококу (мал.6).

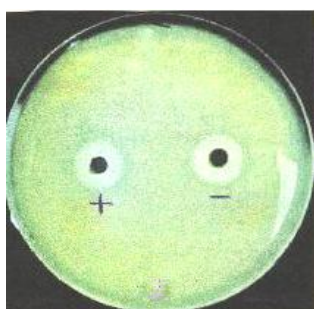


Мал. 5. Діаметр затримки росту E.Coli на агарі під електродами в різних чашках Петрі.



Мал. 6. Діаметр затримки росту гемолітичного стафілококу на агарі під електродами ДЕ і АЕ в різних чашках Петрі.

Під електродом АЕ антимікробна дія БА була на 27,5% сильнішою, у порівнянні з електродом ДЕ ($10,2 \pm 1,3$ мм проти $7,4 \pm 0,9$ мм; $P > 0,05$) і в 3,4 рази слабшою у порівнянні з цефтриаксоном ($7,4 \pm 0,9$ мм проти $25,3 \pm 0,1$ мм; $P < 0,001$). Антимікробний вплив на культуру гемолітичного стафілококу під електродом ДЕ не змінився і становив $7,4 \pm 0,6$ мм, а під електродом АЕ зменшився на 41,0% ($12,1 \pm 1,4$ мм проти $20,5 \pm 3,1$ мм; $P < 0,05$). Зміна бактерицидної ефективності під електродом АЕ в умовах перебування електродів при розімкнутому контурі в одній чашці Петрі, свідчить про можливість утворення специфічних відокремлених контурів через агар. Паралельно проведена серія досліджень по вивченню бактерицидної ефективності ксеношкіри на культуру E.coli в умовах розімкнутого контуру. Для цього окремі ділянки засіяної на м'ясо-пептонному агарі культури E.Coli накривали стандартними дисками ксеношкіри з розташованими на них стандартними дисками електродів ДЕ та АЕ (мал.7).



Мал.7 Діаметр затримки росту E.Coli (1) та гемолітичного стафілококу (2) на агарі під ксеношкірою в умовах розімкнутого контуру.



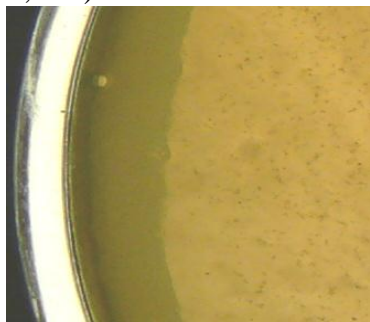
Бактерицидний вплив ксеношкіри на культуру E.Coli в умовах розімкнутого контуру був незначним. Так, зона впливу під електродом ДЕ складала $12,3 \pm 1,7$ мм, що в 1,2 рази сильніше, у порівняння з електродом АЕ ($12,3 \pm 1,7$ мм проти $10,0 \pm 0,7$

мм; $P > 0,05$), але на 28,5% слабкішою у порівнянні з антимікробною дією на гемолітичний стафілокок під електродом ДЕ ($12,3 \pm 1,7$ мм проти $15,8 \pm 1,9$ мм; $P > 0,05$). Під електродом АЕ бактерицидний вплив на культуру *E.coli* був в 1,7 рази слабкішим, у порівнянні з бактерицидним впливом на культуру гемолітичного стафілококу ($10,0 \pm 0,7$ мм проти $16,6 \pm 1,5$ мм; $P < 0,01$).

Разом з тим, антимікробна дія ксеношкіри на *E.Coli* зростала під позитивним потенціалом ДЕ на 34,1%, у порівнянні з антимікробною дією електрода ДЕ в умовах розімкнутого контуру ($12,3 \pm 1,7$ мм проти $8,1 \pm 0,1$ мм; $P > 0,05$), тоді як антимікробна дія ксеношкіри на *E.coli* під негативним потенціалом АЕ зростає лише на 8,0%, у порівнянні з антимікробним впливом електрода АЕ в умовах розімкнутого контуру ($10,0 \pm 0,7$ мм проти $9,2 \pm 0,3$ мм; $P > 0,05$).

В умовах розімкнутого контуру антимікробний вплив на культуру гемолітичного стафілококу спостерігався під обома дисками ксеношкіри, був значним і приблизно рівноцінним ($15,8 \pm 1,9$ мм під електродом ДЕ і $16,6 \pm 1,5$ мм під електродом АЕ). Проте, антимікробний вплив на гемолітичний стафілокок під ксеношкірою з ДЕ був в 2,1 рази сильнішим, у порівнянні з електродом ДЕ ($15,8 \pm 1,9$ мм проти $7,4 \pm 1,2$ мм; $P < 0,01$) в умовах розімкнутого контуру. Під ксеношкірою з негативним потенціалом АЕ він зменшився у порівнянні з електродом АЕ в 1,3 рази і складав $16,6 \pm 1,5$ мм проти $20,5 \pm 3,1$ мм; ($P > 0,05$).

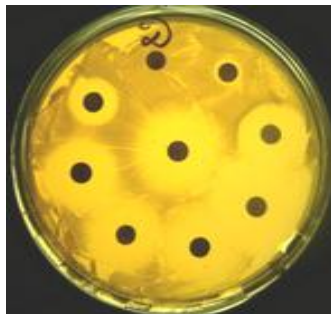
Результати вивчення антимікробної дії ксеношкіри на культуру *E.coli* в умовах замкнутого контуру (мал.8) у порівнянні з гемолітичним стафілококом під електродом ДЕ засвідчать, що вона в 1,9 рази менша ($11,8 \pm 1,3$ мм проти $22,5 \pm 1,3$ мм; $P < 0,001$), а під електродом АЕ в 1,7 рази ($10,9 \pm 1,1$ мм проти $18,7 \pm 0,8$ мм; $P < 0,001$).



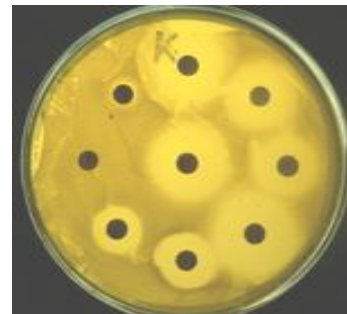
Мал.8 Діаметр затримки росту *E.coli* (1) та гемолітичного стафілококу (2) на агарі під ксеношкірою в умовах замкнутого контуру.

Високий антимікробний вплив ксеношкіри на гемолітичний стафілокок під електродом АЕ ($18,7 \pm 0,8$ мм) наближається до впливу стандартного диска з цефтриаксоном ($22,1 \pm 0,2$ мм), а під електродом ДЕ ($22,5 \pm 1,3$ мм) рівноцінний їй, що обумовлює доцільність БА опікових ран. Серія з 12 дослідів показала, що кількість колоній

E.coli в досліді і контролі була аналогічна, але після БА чутливість культури *E.coli* до антибіотиків зростала (мал.9) від 0 до 31,6%. Так, після добового впливу БА, чутливість *E.coli* до амікацину зростає на 8,7%, цефуроксіму на 13,3%, гентаміцину та норфлоксацину на 20,0%, цефтриаксону на 24,0%, рифампіцину на 25,0%, цефазоліну на 27,8% і цефоперазону на 31,6%. Лише до кліндоміцину зміни чутливості *E.coli* після БА виявлено не було.



Мал.9 Чутливість *E.coli* до антибіотиків в досліді (1) та контролі (2).



Висновки та перспективи подальших розробок

1. Антимікробна ефективність електродної пари ДЕ-АЕ і ксеношкіри на *E.coli* в умовах замкнутого та розімкнутого контурів мало вираженим, що указує на природну стійкість ешеріхій до струмів малої інтенсивності.

2. Лізогенний вплив БА на культуру *E.coli* не залежить від природи біоактиваційних електродів. 3. Тривала вплив БА на 8,7-31,6% підвищує чутливість *E.coli* до антибіотиків, тому метод може бути рекомендованим до використання в комплексній терапії гнійно-запальних захворювань. Для повного вивчення антимікробної ефективності БА необхідні дослідження її впливу на грам негативну мікрофлору опікових ран.

Список використаної літератури

1. Беликов Ю.Н., Иашвили Б.П., Цуцкиридзе Н., Санашвили К.И. Проблема нозокомиальной инфекции у тяжело обожжённых. Подходы к антибактериальной терапии // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2005. – Т.6, №2. – С. 253-257.
2. Мацац В.Г. Биогальванизация в физио – и рефлексотерапии // Винница – 1992 – 236С.
3. Нагайчук В.И., Мацац В.Г., Повстяной Н.Е. Биогальванизация в комбустиологии // Винница – 1993 – 330С.
4. Теория и практика местного лечения гнойных ран / Безугла О.П., Белов С.Г., Гулько В.Г. и др.; Под ред. Б.М. Даценка. – К.: Здоров'я, 1995. – 384 с.
5. Усенко Л.В. Современные подходы к рациональной антибактериальной терапии в условиях ОРИТ. – Днепрпетровск, 2002. – 34 с.
6. Функціональна біоенергодіагностика стійкості вегетативної нервової системи і її біоактиваційна корекція (по В. Мацацу) / В. Мацац, Д. Мацац, Ю. Ладуба, Є. Мацац, А. Власюк. Вінниця : УНІВЕРСУМ-Вінниця, [1997]. – 100 с. ISBN 966-7199-06-1
7. De Jonge E., Schultz M., Spanjaard L. et al. Effects of selective decontamination of digestive tract on mortality and acquisition of resistant bacteria in intensive care: a randomized controlled trial // Lancet. – 2003. – Vol. 362. – P. 1011-1016.