

DOI 10.31718/2077-1096.20.2.182
 УДК: 615.33/28:615.281:582.282.23

Фаустова М.О.

ЧУТЛИВІСТЬ КЛІНІЧНОГО ІЗОЛЯТУ *STREPTOCOCCUS PLURANIMALIUM* ДО АНТИСЕПТИКІВ

Українська медична стоматологічна академія, Полтава

Останнім часом у світі реєструють підвищення ідентифікації нових збудників, не характерних для мікробіоти людини, та суттєві зміни мікробного складу різних біотопів її організму. Метою даного дослідження було вивчити чутливість клінічного ізоляту *S. pluranimalium* до антисептиків. Матеріали та методи. Клінічний ізолят *S. pluranimalium* був виділений з ротової порожнини пацієнта. Виділення та культивування мікроорганізму здійснювали за загальноприйнятими методами. Заключну ідентифікацію проводили за допомогою автоматичного бактеріологічного аналізатора. Чутливість досліджуваного ізоляту *S. pluranimalium* до антисептиків визначали методом двократних серійних розведень у рідкому поживному середовищі, відповідно до наказу Міністерства охорони здоров'я України №167 від 05.04.2007 «Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів». Чутливість оцінювали за мінімальною інгібуючою та мінімальною бактерицидною концентраціями у мкг/мл. Чутливість досліджуваного клінічного ізоляту визначали до хлоргексидину біглюконату 0,05%, декасану 0,02%, екстракту хлорофіліпту 2,0%. Результати та їх обговорення. За результатами досліджень клінічний ізолят *S. pluranimalium* виявився чутливим до дії антисептиків в різній мірі. Антисептики групи четвертинних амонієвих сполук мали більш виражену протимікробну дію щодо досліджуваного мікроорганізму, у порівнянні з екстрактом хлорофіліпту. Висновки. Серед означених антисептиків досліджуваний штам стрептококу був найбільш чутливим до декасану, порівняно з хлоргексидином та природним екстрактом хлорофіліпту, мінімальні інгібуючі та мінімальні бактерицидні концентрації яких перевищували дані показники декасану.

Ключові слова: *S. pluranimalium*, антисептик, хлоргексидин, декасан, хлорофіліпт

Робота виконана в рамках НДР кафедри мікробіології, вірусології та імунології УМСА «Вивчення ролі умовно-патогенних та патогенних інфекційних агентів з різною чутливістю до антимікробних і противірусних препаратів у патології людини», № ДР 0118и004456

Рід *Streptococcus* нараховує понад 60 видів мікроорганізмів, при чому таксономічне положення деяких з них до сьогодні залишається невизначеним [1]. Поряд зі значною філогенетичною диверсифікацією, стрептококи заселяють велику кількість екологічних ніш, складаючи основу номофлори багатьох біотопів організму людини. Проте, деякі представники цього роду відомі як провідні патогени людей чи тварин [2,3,4]. Останнім часом у світі реєструють підвищення ідентифікації нових збудників, не характерних для мікробіоти людини, та суттєві зміни мікробного складу різних біотопів її організму [5, 6]. Підтвердженням цьому є випадки тяжких інфекційних процесів у людей, етіологічним чинником яких були патогенні для риб, курей та великої рогатої худоби стрептококи [7].

Так, *Streptococcus pluranimalium* – нетиповий для людини мікроорганізм, що колонізує сечостатеву систему, вим'я та мигдалики ссавців, пір'я, дихальні шляхи птахів [8]. *S. pluranimalium* викликає мастити у дійних корів, септицемії та ендокардити у курей та вагініти та аборти у великої рогатої худоби [9]. Проте, останні 7 років у світі щорічно реєструють один-два клінічні випадки захворювань у людей, розвиток яких викликав саме цей представник стрептококів [10]. *S. pluranimalium* був виділений як збудник абсцесів головного мозку, септицемій і ендокардитів як у імуноскомпрометованих, так і здорових пацієнтів [9,10,11,12].

Незначна кількість описаних клінічних випад-

ків у світі та обмежений обсяг інформації не розкривають повністю біологічні властивості нового для людини патогена, його фактори патогенності та чутливість до хіміотерапевтичних препаратів, що суттєво ускладнює діагностику та лікування хвороб, викликаних *S. pluranimalium*.

Мета дослідження

Вивчити чутливість клінічного ізоляту *S. pluranimalium* до антисептиків.

Матеріали та методи

Клінічний ізолят *S. pluranimalium* був виділений з пародонтальної кишені пацієнта з гострим гнійним перикоронитом. Матеріал засівали на 5% кров'яний агар з додаванням дріжджового гідролізату, як стимулятор росту мікроорганізмів, та наступним виділенням чистої культури. Мікроорганізми культивували 24 години при 37°C в присутності 8-10% CO₂. Заключну ідентифікацію проводили за допомогою автоматичного бактеріологічного аналізатора Vitec – 2compact bioMérieux (Франція), згідно інструкції виробника.

Чутливість досліджуваного ізоляту *S. pluranimalium* до антисептиків визначали методом двократних серійних розведень у рідкому поживному середовищі, відповідно до наказу МОЗ України №167 від 05.04.2007 «Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» [13]. За допомогою мікропіпетки зі стерильним кінцевиком 1,0 мл антисептика вно-

сили в першу пробірку з 1,0 мл поживного бульйону. Після ретельного змішування перенесли 1,0 мл розчину, що утворився, в наступну пробірку, в якій містилося 1,0 мл поживного бульйону. Дану процедуру повторювали доки не був приготований необхідний ряд розведень, але не менше 10 пробірок. Із останньої пробірки кінцевиком 1,0 мл розчину видаляли. Таким чином, отримували ряд пробірок з розчинами антисептика, концентрації яких відрізнялися в сусідніх пробірках у 2 рази.

В якості інокулюма використовували мікробну суспензію *S. pluranimalium* еквівалентну 1,0 за стандартом МакФарланда, розведену в 100 разів у фізіологічному розчині, після чого концентрація мікроорганізмів в ній становила 3×10^{10} КУО/см³. В кожну пробірку з готовим подвійним розведенням розчину антисептика і в одну пробірку з 1,0 мл поживного бульйону («негативний» контроль) кінцевиком вносили по 1,0 мл інокулюма, приготованого *ex tempore*. Всі пробірки, окрім «негативного» контролю, інкубували у звичайній атмосфері при температурі 35°C протягом однієї доби. Пробірку з «негативним» контролем зберігали при температурі 4°C до обліку результатів.

Мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК) визначали в мкг/мл за найменшою концентрацією розчину антисептика, що була здатна пригнічувати видимий ріст досліджуваної культури мікроорганізму, наявність якого оцінювали шляхом огляду пробірки у прохідному світлі, порівнюючи з «негативним» контролем. Мінімальну бактеріцидну концентрацію (МБЦК) антисептиків визначали в мкг/мл за найменшою концентрацією антисептика, що повністю знищував культуру бак-

терій, шляхом посіву мікроорганізмів з поживного бульйону, де відбулася затримка росту мікроорганізму, на поживний агар.

Визначали чутливість досліджуваного клінічного ізоляту до хлоргексидину біглюконату 0,05% (Хлоргексидин-Віола, Віола ФФ ЗАТ, Запоріжжя, Україна, р/н UA/14616/01/01), декасану 0,02% (Юрія-Фарм ТОВ, Київ, Україна, р/н UA/5364/01/01), екстракту хлорофіліпту 2,0% (Хлорофіліпт, Галичфарм АТ, Львів, Україна, р/н UA/4551/01/01).

Статистичний аналіз отриманих результатів здійснювали за допомогою стандартних пакетів програм «STATISTICA+» та «Microsoft Excel 2010». Наявність відмінностей між досліджуваними показниками оцінювали за t-критерієм Стьюдента. Результати вважали достовірними при значеннях $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

За результатами досліджень клінічний ізолят *S. pluranimalium* виявився чутливим до дії антисептиків в різній мірі (Рис.1). Досить закономірно, що антисептики групи четвертинних амонієвих сполук мали більш виражену бактеріостатичну дію щодо досліджуваного мікроорганізму, у порівнянні з екстрактом хлорофіліпту. Так, МІК останнього у 2,4 рази достовірно перевищувала даний показник декасану та у 1,2 рази - хлоргексидину ($p < 0,05$). Варто зауважити, що повне знищення *S. pluranimalium* спостерігали в середньому у присутності однакових МБЦК хлорофіліпту та хлоргексидину, що, імовірно, могло бути наслідком частого використання останнього при лікуванні інфекційних захворювань різної локалізації.

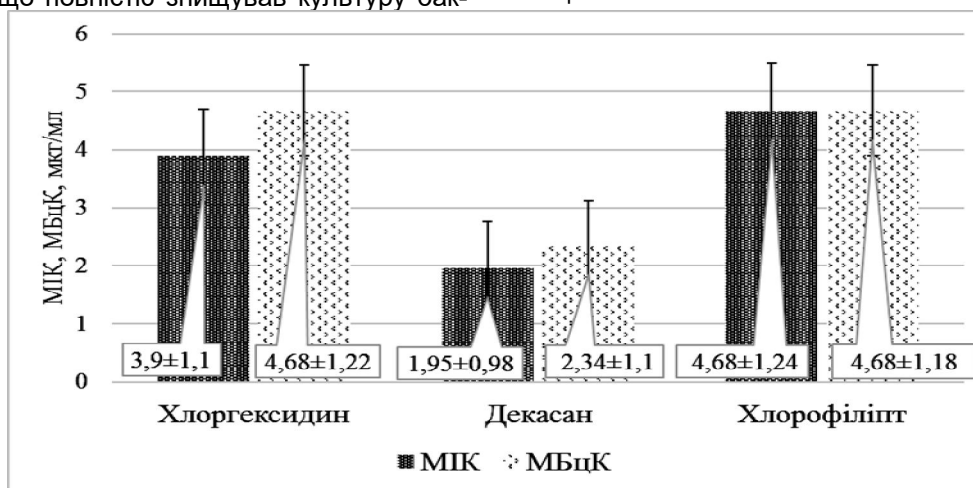


Рис. 1. Чутливість клінічного ізоляту *S. pluranimalium* до антисептиків, n=5, M±m.

Однак, найбільшу чутливість серед означених антисептиків клінічний ізолят *S. pluranimalium* виявляв до декасану. Його МБЦК щодо досліджуваної чистої культури стрептококу була нижчою у 2,0 рази, порівняно з МБЦК хлоргексидину та екстракту хлорофіліпту ($p < 0,05$).

Екстракт хлорофіліпту відомий потужною протимікробною дією щодо грампозитивних мік-

роорганізмів, включаючи представників роду *Staphylococcus* та дріжджоподібних грибів *Candida spp.* Його широко використовують при лікуванні запальних захворювань слизових оболонок порожнини рота, обробки хірургічних ран для профілактики контамінації золотистим стафілококом. Проте, науково обґрунтований механізм впливу екстракту хлорофіліпту на бактеріальну

клітину та його протимікробної дії до сьогодні не описаний. Поряд з цим, антисептики групи четвертинних амонієвих сполук (хлоргексидин та декасан) давно зарекомендували себе на фармацевтичному ринку та клініці як потужні антисептики, що володіють вираженою активністю щодо широкого спектру патогенів. Вони порушують цілісність клітинних оболонок мікроорганізмів шляхом зменшення їх поверхневого натягу, з наступним осмотичним лізісом. Імовірно, саме тому, досліджуваний клінічний ізолят *S. pluranimalium* виявляв більшу чутливість до хлоргексидину та декасану.

Однак, хлоргексидин використовують в медичній практиці вже понад 40 років, при чому останнім часом це першочерговий препарат вибору для антисептичної обробки інфекційних уражень різної локалізації. Тому, закономірним може бути зниження чутливості мікроорганізмів до його дії. Однак, механізм розвитку резистентності бактерій до хлоргексидину остаточно не з'ясований і потребує подальшого вивчення.

Висновки

Отже, клінічний ізолят *S. pluranimalium* виявився чутливим до дії декасану, хлоргексидину та екстракту хлорофіліпту. Серед означених антисептиків досліджуваний штам стрептококу найбільш чутливий до декасану, порівняно з хлоргексидином та природним екстрактом хлорофіліпту, МІК та МБЦК яких перевищують дані показники декасану.

Література

1. Dhotre S, Suryawanshi N, Nagoba B, Selkar S. Rare and unusual isolates of viridans streptococci from the human oral cavity. *Indian J Pathol Microbiol* 2016;59:47-9

2. Póntigo F, Moraga M, Flores SV. Molecular phylogeny and a taxonomic proposal for the genus *Streptococcus*. *Genet Mol Res*. 2015 Sep 21;14(3):10905-18.

3. Faustova MO, Ananieva MM, Basarab YO, Dobrobolska OV, Vovk IM. Bacterial factors of cariogenicity (literature review). *Wiadomosci lekarskie (Warsaw, Poland: 1960)*. 2018; 71(2 pt 2): 378-382.

4. Faustova MO, Ananieva MM, Basarab YO, Loban GA. Neutrophil bactericidal activity through the stages of placement of different dental implants depending on their chemical composition. *Wiadomosci lekarskie (Warsaw, Poland: 1960)*. 2017; 70(5): 921.

5. Ananieva MM, Faustova MO, Basarab IO, Loban GA. *Kocuria rosea*, *kocuria kristinae*, *leuconostoc mesenteroides* as caries-causing representatives of oral microflora. *Wiadomosci lekarskie (Warsaw, Poland: 1960)*. 2017; 70(2 pt 2): 296.

6. Ananieva MM, Nazarchuk OA, Faustova MO, Basarab YaO, Loban GA. Pathogenicity Factors of *Kocuria kristinae* Contributing to the Development of Peri-Implant Mucositis. *Mal J Med Health Sci*. 2018; 14(3): 34-38.

7. Kamelia M, Osman, Khalid S, Al-Maary, Aymen S, Mubarak, Turki M, Dawoud, Ihab M, I. Moussa, Mai D. S. Ibrahim, Ashgan M, Hessain, Ahmed Orabi, Nehal M. Fawzy. Characterization and susceptibility of streptococci and enterococci isolated from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) showing septicemia in aquaculture and wild sites in Egypt. *BMC Vet Res*. 2017; 13: 357.

8. Devriese LA, Vandamme P, Collins MD, et al. *Streptococcus pluranimalium* sp. nov., from cattle and other animals. *Int J Syst Evol Microbiol*. 1999; 49(3): 1221 - 1226.

9. Aryasinghe L, Sabbar S, Kazim Y, Awan LM, Khan HK. *Streptococcus pluranimalium*: a novel human pathogen? *Inter J Surg Case Rep*. 2014;5:1242-1246. doi: 10.1016/j.ijscr.2014.11.029.

10. Ghazvini K, Karbalaie M, Kianifar H, Keikha M. The first report of *Streptococcus pluranimalium* infection from Iran: A case report and literature review. *Clin Case Rep*. 2019;7(10):1858-1862. doi:10.1002/ccr3.2374

11. Maher G, Beniwal M, Bahubali V, Biswas S, Bevinahalli N, Srinivas D, Siddaiah N. *Streptococcus pluranimalium*: Emerging Animal Streptococcal Species as Causative Agent of Human Brain Abscess. *World Neurosurg*. 2018 Jul;115:208-212. doi: 10.1016/j.wneu.2018.04.099.

12. Vardhana J, Mohanraj K. Brain abscess caused by an unusual organism, *Streptococcus pluranimalium* in a child with congenital cyanotic heart disease. *University Journal of Medicine and Medical Specialities*. 2015;1(1):39-45.

13. Nakaz Ministerstva okhorony zdorovia Ukrayiny «Pro zatverdzhennia metodichnykh vkazivok «Vyznachennia chutlivosti mikroorganizmiv do antybakterialnykh preparativ» vid 05.04.2007 r. №167 [Order №167 of the Ministry of Public Health of Ukraine on "On Approval of Training Guidance" Assessment of the sensitivity of microorganisms to antibiotics", April, 5, 2007]. Retrieved from: <http://www.moz.gov.ua>. [Ukrainian].

Реферат

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КЛИНИЧЕСКОГО ИЗОЛЯТА *STREPTOCOCCUS PLURANIMALIUM* К АНТИСЕПТИКАМ
Фаустова М.А.

Ключевые слова: *S. pluranimalium*, антисептик, хлоргексидин, декасан, хлорофиллипт

В последнее время в мире регистрируют повышение идентификации новых возбудителей, не характерных для микробиоты человека, и существенные изменения микробного состава различных биотопов ее организма. Целью данного исследования было изучить чувствительность клинического изолята *S. pluranimalium* к антисептикам. Материалы и методы. Клинический изолят *S. pluranimalium* был выделен из ротовой полости пациента. Выделение и культивирование микроорганизма осуществляли согласно общепринятым методам. Заключительную идентификацию проводили с помощью автоматического бактериологического анализатора. Чувствительность исследуемого изолята *S. pluranimalium* к антисептикам определяли методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде, в соответствии с приказом Министерства охраны здоровья Украины №167 от 05.04.2007 «Об утверждении методических указаний «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам». Чувствительность оценивали по минимальной ингибирующей и минимальной бактерицидной концентрациям в мкг / мл. Чувствительность исследуемого клинического изолята определяли к хлоргексидину биглюконату 0,05%, декасану 0,02%, экстракту хлорофиллипта 2,0%. Результаты и их обсуждение. По результатам исследований клинический изолят *S. pluranimalium* оказался чувствительным к действию антисептиков в разной степени. Антисептики группы четвертичных аммониевых соединений имели более выраженное противомикробное действие в отношении исследуемого микроорганизма, по сравнению с экстрактом хлорофиллипта. Выводы. Среди указанных антисептиков исследуемый штамм стрептококка был наиболее чувствительным к декасану по сравнению с хлоргексидином и природным экстрактом хлорофиллипта, минимальные ингибирующие и минимальные бактерицидные концентрации которых превышали данные показатели декасана.

Summary

SENSITIVITY OF STREPTOCOCCUS PLURANIMALIUM CLINICAL ISOLATE TO ANTISEPTICS

Faustova M.O.

Key words: S. pluranimalium, antiseptic, chlorhexidine, decasan, chlorophyllipt

Recent reports have stressed out a global increase in the identification of new pathogens, which are not characteristic for the human microbiota, as well as significant changes in the microbial composition of different biotopes of its body. The purpose of this study was to investigate the sensitivity of S. pluranimalium clinical isolate to antiseptics. Materials and methods. The clinical isolate of S. pluranimalium was taken from the patient's mouth. The isolation and cultivation of the microorganism was carried out by standard techniques. Final identification was performed using an automatic bacteriological analyzer. The sensitivity of the studied S. pluranimalium isolate to antiseptics was determined by the method of double serial dilutions in liquid nutrient medium, in accordance with the Order №167 of the Ministry of Public Health of Ukraine on "On Approval of Training Guidance" Assessment of the sensitivity of microorganisms to antibiotics". The sensitivity was assessed by the minimum inhibitory and minimum bactericidal concentrations in $\mu\text{g} / \text{ml}$. The sensitivity of the clinical isolate under the study was determined to 0.05% for chlorhexidine, 0.05% for decasan, and 2.0% for chlorophyllipt extract. According to the results obtained, the clinical isolate of S. pluranimalium was sensitive to the action of antiseptics in varying degrees. The antiseptics of the Quaternary ammonium compound group had a more pronounced antimicrobial effect on the test organism compared to the chlorophyllipt extract. Conclusions. Among these antiseptics, the tested strain of streptococcus was the most sensitive to decasan, compared with chlorhexidine and natural extract of chlorophyllipt, the minimum inhibitory and minimum bactericidal concentrations of which exceeded these indicators of decasan.

DOI 10.31718/2077-1096.20.2.185

УДК 616.65-006

Мед В.В., Бабенко В.І., Филенко Б.М.

ДЕЯКІ МОРФОЛОГІЧНІ ПРОГНОСТИЧНІ КРИТЕРІЇ РАКУ ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ

Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава

Найбільш розповсюдженою гістологічною формою раку передміхурової залози є ацинарна аденокарцинома різного ступеня диференціювання. Основним діагностичним критерієм, що враховується при виборі методу лікування раку передміхурової залози, є морфологічний атипізм залоз, який відображається у шкалі Гліссона, а також ступінь експресії імуногістохімічних маркерів, одним з яких є альфа-метилацил-КоА-рацеміаза. Проте, залишається не повністю зрозумілою залежність вираженості експресії p504S від ступеня градації пухлини за системою Гліссона. Метою дослідження було встановлення взаємозв'язку між ступенем диференціювання аденокарциноми передміхурової залози за шкалою Гліссона та ступенем експресії ІГХ маркеру p504s. Було досліджено біопсійний матеріал, отриманий від 37 пацієнтів з раком передміхурової залози. За шкалою Гліссона матеріал розподілили на три групи: перша відповідала оцінці 1-4 бали, друга – 5-7 балів та третя – 8-10 балів. ІГХ дослідження з визначення експресії антигену p504s проводили за допомогою моноклональних анти-AMACR/P504s. Аналіз залежності між ступенем диференціювання аденокарциноми передміхурової залози за шкалою Гліссона та ступенем експресії ІГХ маркеру p504s, було виявлено чітку закономірність та встановлено наявність сильного кореляційного зв'язку ($r=0,69$) між даними морфологічними характеристиками пухлини. Виявлена нами закономірність при виконанні дослідження говорить про специфічність даного маркеру при злоякісних пухлинних процесах у передміхуровій залозі, що узгоджується з даними інших досліджень, та дає змогу більш точно диференціювати стабільність процесу за шкалою Гліссона. Це певною мірою дає підґрунтя для вибору адекватних методів лікування пацієнтів та удосконалити прогностичні критерії.

Ключові слова: рак передміхурової залози, атипізм, шкала Гліссона, AMACR, прогноз.

Робота є фрагментом НДР: «Закономірності морфогенезу органів, тканин та нервово-судинних утворів у нормі, при патології та під впливом екзогенних чинників», № державної реєстрації 0118U004457.

Вступ

За даними ВООЗ рак передміхурової залози (РПЗ) займає 4 місце серед злоякісних пухлин у чоловіків, а смертність від карциноми даної локалізації посідає 2 місце. В Україні спостерігається тенденція до постійного зростання захворюваності на рак передміхурової залози. За даними Національного Канцер Реєстру, відзначається в середньому 40 випадків смерті на сто

тисяч населення у рік [1]. Захворюваність на РПЗ зростає з віком пацієнта, а пік припадає на 70 років.

Найбільш розповсюдженою гістологічною формою РПЗ є ацинарна аденокарцинома різного ступеня диференціювання [2, 3]. Основним діагностичним критерієм, що враховується при виборі методу лікування раку передміхурової залози, є морфологічний атипізм залоз, який ві-