

Д. В. Турцевич

**ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ СУББИОЦИДНЫХ ДОЗ
ПОЛИГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНИДИНА НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ
БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТОК *P. AERUGINOSA***

Научный руководитель ст. преп. И. А. Гаврилова

Кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии,

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Резюме. *Приведены результаты выживаемости и изменений ультраструктуры бактериальных клеток *Pseudomonas aeruginosa* после воздействия рекомендованных и субоптимальных концентраций полигексаметиленгуанидина.*

Ключевые слова: *синегнойная палочка, дезинфектант, электронная микроскопия.*

Resume. *The results of survival and changes in the ultrastructure of bacterial cells *Pseudomonas aeruginosa* after exposure to the guideline concentration and suboptimal concentrations of polyhexamethyleneguanidine are presented.*

Keywords: *pseudomonas aeruginosa, disinfectant, electron microscopy.*

Актуальность. Выбранный в качестве объекта исследования микроорганизм *P. aeruginosa* является одним из доминирующих патогенов в этиологической структуре внутрибольничных пневмоний, катетерассоциированных уроинфекций и инфекций кровотока [1]. В условиях стационара синегнойная палочка контаминирует медицинский инструментарий и оборудование, систему водопровода, вентиляции и кондиционирования, места для обработки рук хирурга, мыло, антисептические и дезинфицирующие растворы. [2]. Повсеместное использование дезинфицирующих средств, с целью предотвращения возникновения и распространения инфекций внутрибольничной этиологии, способствует селекции устойчивых вариантов бактерий [3]. В связи с этим, представляет интерес разработка критериев оценки жизнеспособности бактерий и получение новых данных о структурно-функциональных изменениях бактериальных клеток под воздействием различных концентраций ДС с помощью ультрамикроскопических методов исследования [4].

Цель: оценить выживаемость и изучить изменения ультраструктуры *Pseudomonas aeruginosa* после воздействия различных концентраций дезинфектанта на основе полигексаметиленгуанидина.

Материал и методы. Методом просвечивающей электронной микроскопии изучены изменения ультраструктуры типовой культуры *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15412 при воздействии различных концентраций дезинфектанта на основе полигексаметиленгуанидин. Контрольный образец (без воздействия дезинфектанта) помещали на время действия биоцида в стерильную водопроводную воду (СВВ). Препараты бактерий просматривали в трансмиссионном электронном микроскопе JEM-1011 (Jeol, Япония). Изображения получены и проанализированы с помощью программы для анализа изображений – iTEM (Olympus, Германия). Трансмиссионная электронная микроскопия проведена на базе лаборатории диагностики сочетанных бактериально- вирусных инфекций ГУ «РНЦ

эпидемиологии и микробиологии». Для оценки выживаемости проведен подсчет количества выживших после воздействия дезинфектанта бактерий при отсеве на мясопептонный агар (МПА). Основные этапы постановки опыта представлены на схеме (рисунок 1).

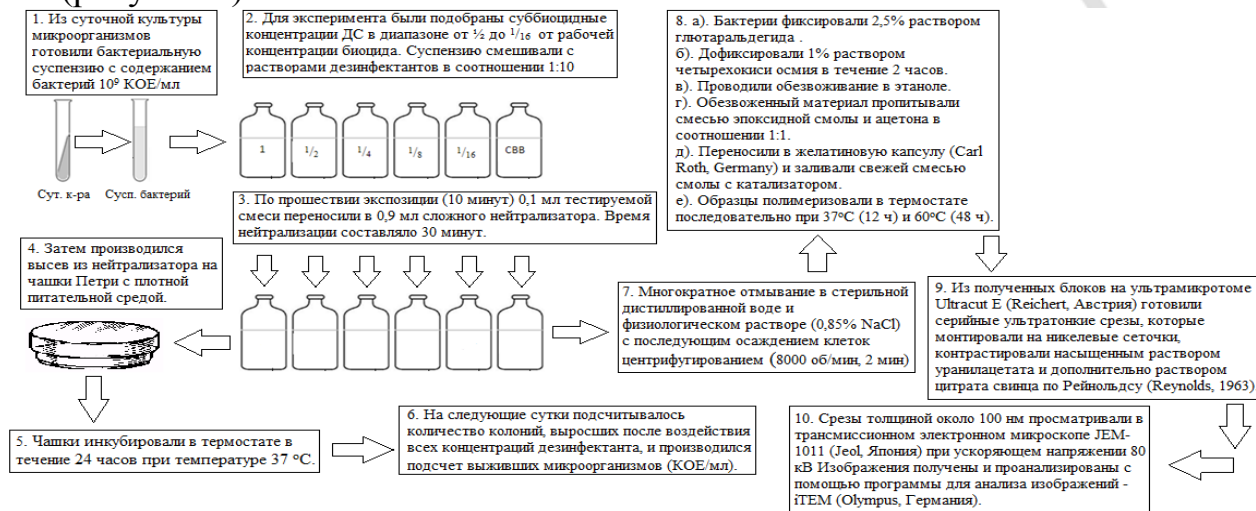


Рисунок 1 – Схема постановки эксперимента по оценке выживаемости и изменений ультраструктуры бактерий при воздействии различных концентраций дезинфектанта

Результаты и их обсуждение. При оценке выживаемости тест-культуры в 3-х сериях опытов установлено, что после воздействия опытных разведений $1/8$ и $1/16$ применяемого в исследовании дезинфектанта отдельные клетки синегнойной палочки сохраняют жизнеспособность и способность к культивированию на мясопептонном агаре.

При этом количество выживших клеток было обратно пропорционально концентрации дезинфектанта. Если при воздействии разведения $1/8$ от рабочей при отсеве на питательные среды в среднем выросло 3 – 6 колоний, то при разведении $1/16$ количество колоний было 26 и больше (рисунок 2).

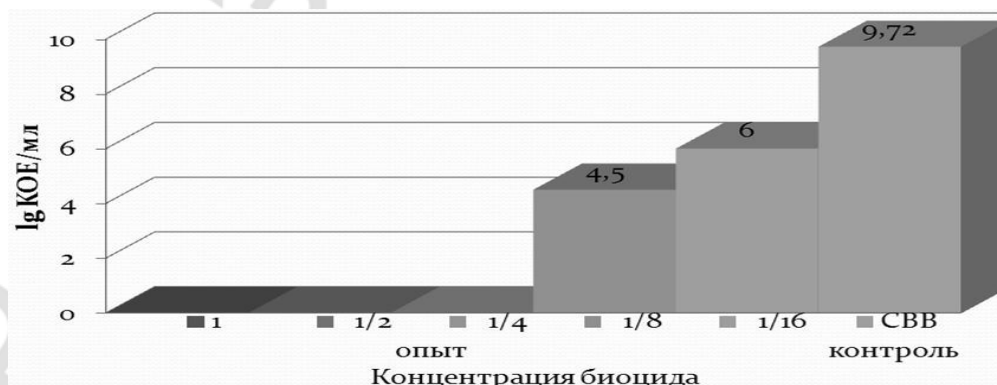


Рисунок 2 – Выживаемость бактерий при воздействии различных Концентраций биоцида в контрольном и опытных образцах

При действии суббицидных концентраций на контрольный образец (рисунок 3А) можно выявить критическую и субкритическую степень действия дезинфектанта на бактериальную клетку. Критическое действие биоцида

характеризуется полной деструкцией генетического аппарата (рисунок 3Б-Г) и, как следствие, утратой бактерией жизнеспособности (в эксперименте – при действии ДС в рабочей концентрации и разведениях $1/2$ и $1/4$). При субкритическом воздействии наблюдается частичное разрушение или сохранение нуклеоида и сохранение функциональной активности клеточной стенки (концентрации $1/8$ и $1/16$ (рисунок 3Д-Е)).

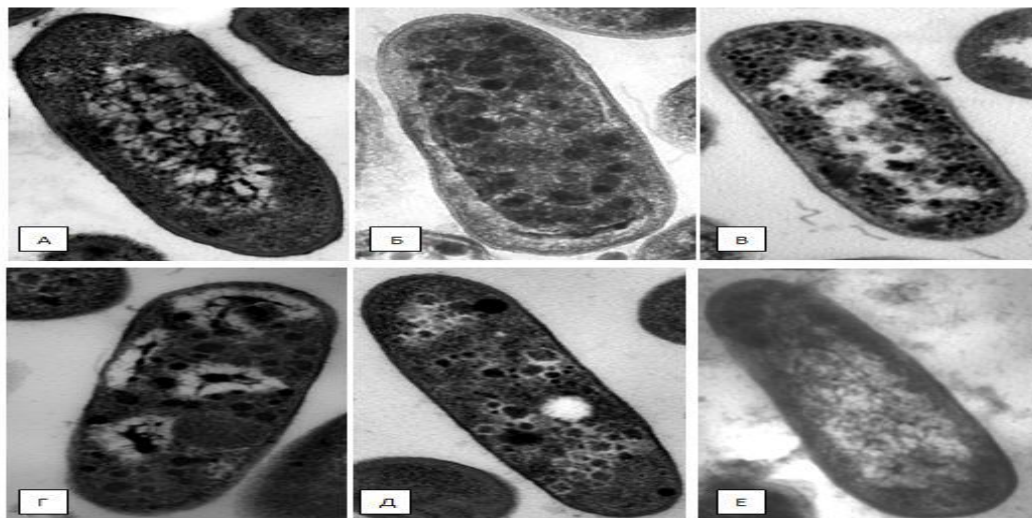


Рисунок 3 – Ультратонкие срезы бактерий *Pseudomonas aeruginosa* в контрольном (А) и опытных образцах (Б-Е)

Заключение. Установлено, что при воздействии сублетальных концентраций дезинфицирующих средств, часть клеток бактериальной популяции сохраняет способность к росту и размножению на питательных средах. При действии суббицидных концентраций можно выявить критическую (полная деструкция генетического аппарата) и субкритическую степень действия дезинфектанта (частичное/полное сохранение нуклеоида с возможной репарацией генома).

Информация о внедрении результатов исследования. По результатам настоящего исследования опубликована 2 статьи в сборниках материалов, 1 тезис докладов, получен 1 акт внедрения в образовательный процесс (кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии, белорусский государственный медицинский университет, г. Минск).

D. V. Turtsevich

**ASSESSMENT OF INFLUENCE OF SUBBIOCIDAL DOSES OF
POLIGEKSAMETILENGUANIDIN ON ULTRASTRUCTURE
OF BACTERIAL CELLS *P. AERUGINOSA***

Tutor senior teacher I. A. Havrilova

*Department of microbiology, virology, immunology,
Belarusian State Medical University, Minsk*

Литература

1. Hidron Alicia I. Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated With Healthcare-Associated Infections: Annual Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006–2007 / Alicia I. Hidron, MD; Jonathan R. Edwards, MS; Jean Patel, PhD et al. // Infection control and hospital epidemiology. – 2008 – vol. 29, no. 11. – P. 996-1011.

«Студенты и молодые учёные Белорусского государственного медицинского университета –
медицинской науке и здравоохранению Республики Беларусь»

2. Bertrand X, Thouverez M, Talon D, et al. Endemicity, molecular diversity and colonisation routes of *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care units. *Intensive Care Med* 2001; 27(8):1263–1268.

3. Гудкова, Е. И. Формирование устойчивости к антисептикам и дезинфектантам возбудителей внутрибольничных инфекций и ее микробиологический мониторинг / Е. И. Гудкова, А. А. Адарченко, И. Н. Слабко и др. // Белорусский мед журн. – 2003. – № 3. – С. 57 – 60.

4. Афиногенов Г.Е., Доморад А.А., Краснова М.В. Оценка методов изучения эффективности дезинфектантов и антисептиков // Актуальные проблемы дезинфектологии в профилактике инфекционных и паразитарных заболеваний: материалы Всерос. науч. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения В.И.Вашкова. – М.: ИТАР-ТАСС, 2002. – С.104-105.