

Г. А. Скороход¹, Е. И. Гудкова¹, Ж. Ф. Циркунова¹,
В. В. Буткевич¹, Т. А. Канашкова¹, Т. Г. Адамович¹,
И. А. Гаврилова¹, М. П. Королевич²

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ НОЗОКОМИАЛЬНЫХ ПАТОГЕНОВ К АНТИСЕПТИЧЕСКИМ ЛЕКАРСТВЕННЫМ СРЕДСТВАМ

УО «Белорусский государственный медицинский университет»¹,
УЗ «Минская центральная районная больница»²

Изучена чувствительность клинических изолятов *S. aureus* и грамотрицательных бактерий – *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *A. baumannii* к 7 различным антисептическим лекарственным средствам: хлоргексидину, мукосанину, септомирину, бетадину, фукоцину, бриллиантовому зеленому и диоксидину. Определение чувствительности исследуемых бактериальных культур выполняли в 96-луночных планшетах методом разведений антисептических средств в триптиказо-соевом бульоне (ТСБ) с применением редоксиндикатора 2,3,5-трифенил-тетразолий-хлорида (ТТХ). Для оценки антимикробной активности антисептиков вместо МИК (минимальная ингибирующая концентрация) использовали основной универсальный показатель МИР (максимальное ингибирующее разведение), а для оценки чувствительности популяции в целом – МИР среднее (МИР_{ср.}) и МИР₁₀₀. Величины МИР₁₀₀ зависели от типа антисептика и вида бактерий и находились в диапазоне значений 2–256. Наибольшую активность в отношении как *S. aureus*, так и грамотрицательных бактерий проявляли фукоцин (МИР₁₀₀ = 32–128), бриллиантовый зелёный (МИР₁₀₀ = 16–256), хлоргексидин (МИР₁₀₀ = 16–64); хиндиокс был высокоактивен в отношении всех грамотрицательных бактерий (МИР₁₀₀ = 64–128), за исключением *P. aeruginosa* (МИР₁₀₀ = 8).

Ключевые слова: антисептики, *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, показатели чувствительности.

**G. A. Skorokhod, E. I. Gudkova, Zh.F. Tsyrukunova,
V. V. Butkevich, T. A. Kanashkova, T. G. Adamovich,
I. A. Gavrilova, M. P. Korolevich**

SUSCEPTIBILITY OF CLINICAL ISOLATES OF NOSOCOMIAL PATHOGENS TO ANTISEPTICS

The study represents results on susceptibility detection to antiseptics of clinical isolates of *S. aureus* and gram-negative bacteria (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*). Susceptibility to seven different antiseptics (chlorhexidine, mucosanin, septomyrin, betadin, fucorcin, brilliant green, dioxidine) was studied by dilution method in 96-wells plates. Two-fold dilutions of antiseptics were performed in trypticase-soy broth (TSB) containing 2,3,5-triphenyl-tetrazolium chloride (TTX) as redox indicator to determine maximum inhibitory dilution (MID) – maximal antiseptics' dilution inhibiting bacterial growth that may be revealed by color change of redox indicator. The susceptibility of the bacterial population was assessed using the average of antiseptic's MID (MID_{av.}) and MID₁₀₀. The values of MID₁₀₀ depended on the antiseptic type and ranged from 2 to 256 folds. The highest activity against both *S. aureus* and gram-negative bacteria was displayed by fucorcin (MID₁₀₀ = 32–128), brilliant green (MID₁₀₀ = 16–256), and chlorhexidine (MID₁₀₀ = 16–64). Dioxidine was highly active against all gram-negative bacteria (MID₁₀₀ = 64–128), except *P. aeruginosa* (MID₁₀₀ = 8).

Key words: antiseptics, *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, susceptibility indicators.

Особую роль среди факторов, влияющих на эффективность лечения послеоперационных, ожоговых, посттравматических и других местных инфек-

ций играет резистентность возбудителей к антимикробным средствам, формирование проблемных, в плане высокой степени мультирезистентности к антибиоти-

кам нозокомиальных патогенов, таких как *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* и др. [1–3].

В связи с высоким уровнем резистентности возбудителей гнойно-септических инфекций (ГСИ) к антибиотикам, приоритет в лечении и профилактике местных инфекций должен принадлежать антисептическим лекарственным средствам. К ним реже формируются устойчивые варианты микроорганизмов. Низкая растворимость большинства антисептиков в тканевых жидкостях, слабая и медленная резорбция позволяют создать на необходимое время стабильную и достаточную для подавления микроорганизмов концентрацию в местном очаге. Кроме того, антисептические лекарственные средства можно использовать в различных галеновых формах, создавать на их основе многоцелевые и комплексные лекарственные средства [4, 5].

Однако, в литературе приводятся многочисленные данные о выделении устойчивых к антисептикам вариантов бактерий от пациентов с различными нозологическими формами ГСИ, из объектов больницы среды, включая рабочие растворы антисептиков, а также наблюдения о снижении терапевтического эффекта или его полном отсутствии в ряде случаев применения антисептиков [6–8].

Цель настоящего исследования: оценить чувствительность *S. aureus* и грамотрицательных бактерий (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*), выделенных от пациентов с ГСИ, к антисептическим лекарственным средствам и, соответственно – степень активности антисептиков в отношении основных возбудителей нозокомиальных инфекций.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили клинические изоляты *S. aureus* (50 изолятов) и грамотрицательных бактерий – *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* (по 10 изолятов каждого вида), а также антисептические лекарственные средства: хлоргексидина биглюконат, мукосанин, септомирин, бетадин, фукоцин, бриллиантовый зеленый, диоксидин (хиндиокс).

Оценку чувствительности-устойчивости бактерий выполняли в 96-луночных пластиковых планшетах методом разведений антисептиков в триптиказо-соевом бульоне (ТСБ) с применением редоксиндикатора 2,3,5-трифенил-тетразолий-хлорида (ТТХ) [9].

Для оценки чувствительности бактерий к антисептическим лекарственным средствам, в том числе имеющим сложный состав (содержащих несколько АДВ), вместо МИК (минимальной ингибирующей концентрации) предложено использовать основной универсальный показатель МИР (максимальное ингибирующее разведение) – максимальное разведение антисептического средства от его рабочей концентрации, при котором отмечается задержка роста тест-культуры,

для оценки чувствительности популяции в целом – МИР₁₀₀ и МИР среднее (МИР_{ср.}).

Расчет среднегеометрической МИР_{ср.} и ошибки средней геометрической МИР_{ср.} производили по стандартным формулам с помощью программы Microsoft Excel 2016. Среднее значение МИР в абсолютных числах получали путем антилогарифмирования значения с основанием 2.

Результаты и обсуждение

В таблицах 1–5 с применением ряда показателей представлены результаты определения чувствительности к антисептикам основных возбудителей нозокомиальных инфекций. Как следует из полученных результатов, значения МИР каждого из исследуемых антисептиков в отношении клинических изолятов бактерий всех видов варьировали в определенной степени, что связано с неоднородностью популяций по признаку чувствительности-устойчивости. Наименьшие значения МИР антисептиков соответствовали МИР₁₀₀ для данной популяции бактерий. Величины МИР₁₀₀ зависели от типа антисептика и исследуемого вида бактерий и находились в диапазоне значений 2–256.

Исходя из значений МИР₁₀₀, наибольшую активность в отношении *S. aureus* проявляли фукоцин и бриллиантовый зеленый (МИР₁₀₀ = 128), а также хлоргексидин и мукосанин (МИР₁₀₀ = 64 и 32, соответственно) и значительно меньшую – септомирин, бетадин (МИР₁₀₀ = 8) и диоксидин (МИР₁₀₀ = 4) (таблица 1).

Результаты чувствительности других видов стафилококков (*S. epidermidis* и *S. haemolyticus*) в сравнении с *S. aureus* нами были представлены ранее [10]. Согласно значениям МИР₁₀₀, изоляты *S. aureus* были в 2–4 раза более устойчивы к хлоргексидину, септомирину, бриллиантовому зеленому, мукосанину по сравнению с изолятами коагулазонегативных стафилококков *S. epidermidis* и *S. haemolyticus*, в то время как по чувствительности к бетадину, фукоцину и диоксидину не различались.

В отношении *E. coli* высокой активностью обладали те же антисептики: бриллиантовый зеленый, фукоцин, мукосанин, хлоргексидин (МИР₁₀₀ = 256, 64, 32, 32, соответственно), а также малоактивный в отношении *S. aureus* хиндиокс (МИР₁₀₀ = 128), в то время как септомирин был практически не активен (МИР₁₀₀ = 2, таблица 2).

Другие грамотрицательные бактерии (*K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*) обладали большей или меньшей, но достаточно высокой степенью чувствительности к фукоцину (МИР₁₀₀ = 32–64), бриллиантовому зеленому (МИР₁₀₀ = 16–64), хлоргексидину (МИР₁₀₀ = 16), хиндиоксу (МИР₁₀₀ = 8–64), мукосанину (МИР₁₀₀ = 8–16), однако были устойчивы к септомирину (МИР₁₀₀ = < 2–2), за исключением *A. baumannii* (МИР₁₀₀ = 4) (таблицы 3–5).

Таблица 1. Чувствительность-устойчивость клинических изолятов *Staphylococcus aureus* (n = 50) к антисептикам

Антисептик	Показатели чувствительности-устойчивости:				
	МИР	чувствительные изоляты		МИР ₁₀₀	МИР _{ср}
		абсолютное число	%		
Хлоргексидин	64	9	18,0 ± 5,43	64	113,0 ± 3,51
	128	41	82,0 ± 5,43		
Мукосанин	32	4	8,0 ± 3,84	32	79,9 ± 4,07
	64	36	72,0 ± 6,35		
	128	10	20,0 ± 5,66		
Септомирин	8	3	6,0 ± 3,36	8	29,4 ± 0,82
	32	47	94,0 ± 3,36		
Бетадин	8	21	42,0 ± 6,98	8	17,1 ± 1,73
	16	3	6,0 ± 3,36		
	32	26	52,0 ± 7,07		
Фуорцин	128	16	32,0 ± 6,60	128	205,1 ± 8,56
	256	34	68,0 ± 6,60		
Бриллиантовый зеленый	128	5	10,0 ± 4,24	128	278,2 ± 17,1
	256	34	68,0 ± 6,60		
	512	11	22,0 ± 5,86		
Диоксидин (хиндиокс)	4	10	20,0 ± 5,66	4	8,7 ± 0,66
	8	24	48,0 ± 7,07		
	16	16	32,0 ± 6,60		

Таблица 2. Чувствительность-устойчивость клинических изолятов *Escherichia coli* (n = 10) к антисептикам терапевтического назначения

Антисептик	Показатели чувствительности-устойчивости:				
	МИР	чувствительные изоляты		МИР ₁₀₀	МИР _{ср}
		абсолютное число	%		
Хлоргексидин	32	2	20,0 ± 12,6	32	73,5 ± 12,52
	64	4	40,0 ± 15,5		
	128	4	40,0 ± 15,5		
Мукосанин	32	2	20,0 ± 12,6	32	78,8 ± 13,9
	64	3	30,0 ± 14,5		
	128	5	50,0 ± 15,8		
Септомирин	2	6	60,0 ± 15,5	2	2,6 ± 0,33
	4	4	40,0 ± 15,5		
Бетадин	8	5	50,0 ± 15,8	8	11,3 ± 2,44
	16	5	50,0 ± 15,8		
Фуорцин	64	4	40,0 ± 15,5	64	97,0 ± 10,6
	128	6	60,0 ± 15,5		
Бриллиантовый зеленый	256	3	30,0 ± 14,5	256	477,7 ± 86,61
	512	5	50,0 ± 15,8		
	1024	2	20,0 ± 12,6		
Хиндиокс	128	1	10,0	128	238,9 ± 12,88
	256	9	90,0		

Отмечена однородность степени чувствительности популяций *E. coli*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* к бетадину. При этом он обладал одинаковой степенью активности в отношении всех видов бактерий (МИР₁₀₀ = 8), за исключением *A. baumannii* (МИР₁₀₀ = 16).

При увеличении изучаемых выборок изолятов грамотрицательных бактерий различных видов показатель МИР_{ср} может изменяться.

Представленные в таблицах 1–5 значения МИР_{ср} позволяют сравнить степень активности различных антисептиков в отношении популяций исследованных видов бактерий при равных значениях МИР₁₀₀. Так, в отношении *S. aureus* (см. таблицу 1) при одинаковых значениях МИР₁₀₀ фуорцина и бриллиантового зелено-

го (128 и 128), септомирина и бетадина (8 и 8) МИР_{ср} бриллиантового зеленого было значительно выше, чем фуорцина (278,2 ± 17,1 против 205,1 ± 8,56), а септомирина – выше, чем бетадина (29,4 ± 0,82 против 17,1 ± 1,73), следовательно, и выше степень активности. В обоих случаях различия статистически значимы.

Подобные различия значений МИР_{ср} отмечаются и при сравнении степени активности хлоргексидина и бриллиантового зеленого в отношении *P. aeruginosa* (МИР₁₀₀ = 16 и 16; МИР_{ср} – 18,4 ± 2,15 против 26,0 ± 4,49) (таблица 4), хлоргексидина и мукосанина – в отношении *A. baumannii* (МИР₁₀₀ = 16 и 16; МИР_{ср} – 19,7 ± 2,47 против 34,3 ± 5,77) (таблица 5).

Таблица 3. Чувствительность-устойчивость клинических изолятов *Klebsiella pneumoniae* (n = 10) к антисептикам терапевтического назначения

Антисептик	Показатели чувствительности-устойчивости				
	МИР	чувствительные изоляты		МИР ₁₀₀	МИР _{ср}
		абсолютное число	%		
Хлоргексидин	16	4	40,0 ± 15,5	16	24,3 ± 2,52
	32	6	60,0 ± 15,5		
Мукосанин	8	3	30,0 ± 14,5	8	14,9 ± 2,69
	16	5	50,0 ± 15,8		
	32	2	20,0 ± 12,6		
Септомирин	2	4	40,0 ± 15,5	2	3,03 ± 0,31
	4	6	60,0 ± 15,5		
Бетадин	8	10	100,0	8	-
Фукорцин	32	9	90,0 ± 9,5	32	34,3 ± 3,21
	64	1	10,0 ± 9,5		
Бриллиантовый зеленый	64	8	80,0 ± 12,6	64	73,5 ± 8,6
	128	2	20,0 ± 12,6		
Хиндиокс	64	5	50,0 ± 15,8	64	90,0 ± 10,8
	128	5	50,0 ± 15,8		

Таблица 4. Чувствительность-устойчивость клинических изолятов *Pseudomonas aeruginosa* (n = 10) к антисептикам терапевтического назначения

Антисептик	Показатели чувствительности-устойчивости				
	МИР	чувствительные изоляты		МИР ₁₀₀	МИР _{ср}
		абсолютное число	%		
Хлоргексидин	16	8	80,0 ± 12,6	16	18,4 ± 2,15
	32	2	20,0 ± 12,6		
Мукосанин	8	8	80,0 ± 12,6	8	9,2 ± 1,08
	16	2	20,0 ± 12,6		
Септомирин	-2	10	100,0	<2	-
Бетадин	8	10	100,0	8	-
Фукорцин	32	5	50,0 ± 15,8	32	45,3 ± 5,41
	64	5	50,0 ± 15,8		
Бриллиантовый зеленый	16	4	40,0 ± 15,5	16	26,0 ± 4,49
	32	5	50,0 ± 15,8		
	64	1	10,0 ± 9,5		
Хиндиокс	8	3	30,0 ± 14,5	8	16,0 ± 3,08
	16	4	40,0 ± 15,5		
	32	3	30,0 ± 14,5		

Таблица 5. Чувствительность-устойчивость клинических изолятов *Acinetobacter baumannii* (n = 10) к антисептикам терапевтического назначения

Антисептик	Показатели чувствительности-устойчивости				
	МИР	чувствительные изоляты		МИР ₁₀₀	МИР _{ср}
		абсолютное число.	%		
Хлоргексидин	16	7	70,0 ± 14,5	16	19,7 ± 2,47
	32	3	30,0 ± 14,5		
Мукосанин	16	2	20,0 ± 12,6	16	34,3 ± 5,77
	32	5	50,0 ± 15,8		
	64	3	30,0 ± 14,5		
Септомирин	4	10	100,0	4	-
Бетадин	16	10	100,0	16	-
Фукорцин	64	2	20,0 ± 12,6	64	111,3 ± 8,63
	128	8	80,0 ± 12,6		
Бриллиантовый зелёный	64	5	50,0 ± 15,8	64	90,5 ± 10,8
	128	5	50,0 ± 15,8		
Хиндиокс	64	3	30,0 ± 14,5	64	104,0 ± 9,9
	128	7	70,0 ± 14,5		

Вывод

1. Среди изученных клинических изолятов золотистого стафилококка не выявлено вариантов, устойчивых к исследованным антисептическим лекарственным средствам, применяемым в клинической практике.

2. Большинство изученных клинических изолятов грамотрицательных бактерий были чувствительны ко всем исследованным антисептикам, за исключением септомира.

3. Степень чувствительности возбудителей оппортунистических инфекций зависела от вида возбудителя и типа антисептического средства; диапазон значений МИР₁₀₀ для бактерий различных видов составил 2–256.

4. Наибольшую активность в отношении как *S. aureus*, так и грамотрицательных бактерий проявляли фуорцин (МИР₁₀₀ = 32–128), бриллиантовый зелёный (МИР₁₀₀ = 16–256), хлоргексидин (МИР₁₀₀ = 16–64); хиндиокс был высокоактивен в отношении всех грамотрицательных бактерий (МИР₁₀₀ = 64–128), за исключением *P. aeruginosa* (МИР₁₀₀ = 8).

5. Значительно меньшей чувствительностью к большинству антисептиков по сравнению с другими видами бактерий обладали *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae*.

6. Применение показателей МИР_{ср.} позволяет сравнить степень активности различных антисептиков в отношении исследованных популяций при равных значениях МИР₁₀₀.

Литература

1. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Staphylococcus aureus* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» в 2013–2014 / А. В. Романов [и др.] // Клиническая микро-

биология и антимикробная химиотерапия. – 2017. – Т. 19, № 1. – С. 57–62.

2. Современные тенденции антибиотикорезистентности грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в Ростовской области / О. Ю. Куцепалова [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. – 2018. – Т. 63. – С. 25–29.

3. Металло-β-лактамазы и карбапенемазы экстремально-антибиотикорезистентных энтеробактерий: распространение в Беларуси / Д. В. Тапальский [и др.] // Здравоохранение. – 2017. – № 3. – С. 40–47.

4. Некоторые антисептики в лечении гнойных ран / А. Ю. Григорьян [и др.] // Междунар. академ. вест. – 2014. – № 4. – С. 6–8.

5. Привольнев, В. В. Выбор препарата для местного лечения инфицированных ран / В. В. Привольнев // Раны и раневые инфекции. – 2015. – № 1. – С. 13–19.

6. Основные механизмы резистентности микроорганизмов к антисептикам и дезинфектантам / Д. Н. Лучинин [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2012. – № 2. – С. 13–15.

7. Федянин, С. Д. Определение минимальной подавляющей концентрации диоксида для ведущих возбудителей хирургических инфекций / С. Д. Федянин, В. Е. Шилин // Вестник ВГМУ. – 2015. – Т. 14, № 5. – С. 73–77.

8. Чувствительность нозокомиальных штаммов *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* и *P. mirabilis* к антисептику на основе хлоргексидина / Е. В. Детушева [и др.] // Клиническая микробиол. антимикроб. химиотер. – 2015. – Т. 17, № 1. – С. 57–66.

9. Методы оценки чувствительности-устойчивости бактерий оппортунистов к антисептическим средствам / Г. А. Скороход, Е. И. Гудкова, Ж. Ф. Циркунова, И. Н. Слабко, В. В. Буткевич, Т. А. Канашкова, Н. Н. Бердник, И. А. Гаврилова // Достижение медицинской науки Беларуси. – 2019. – Режим доступа: http://med.by/dmn/book.php?book=19-14_8.

10. Чувствительность клинических изолятов стафилококков к антисептическим средствам / Г. А. Скороход, Е. И. Гудкова, Ж. Ф. Циркунова, В. В. Слизень, Т. А. Канашкова, М. П. Королевич, А. Г. Чистый // Медицинский журнал. – 2019. – № 4. – С. 104–109.

Поступила 9.07.2020 г.