

Дюсеғалиев М.Ж., ауылшаруашылық ғылымдарының докторы, негізгі автор, ORCHID ID 0000-0003-3507-7625

Х.Досмұхамедов атындағы Атырау университеті, 060011, Студенттер даңғылы 1, Атырау қ, Қазақстан Республикасы, mukhit-65@mail.ru

Әжігерей А.Б., магистрант, ORCHID ID 0000-0003-3507-7625

Х.Досмұхамедов атындағы Атырау университеті, 060011, Студенттер даңғылы 1, Атырау қ, Қазақстан Республикасы, mukhit-65@mail.ru

Dyusegaliev M.Zh., Doctor of Agricultural Sciences, the main author

Kh. Dosmukhamedov Atyrau University, 060011, Studenchesky ave.1, Atyrau, Republic of Kazakhstan

Äjigerei A.B., Postgraduate

Kh. Dosmukhamedov Atyrau University, 060011, Studenchesky ave.1, Atyrau, Republic of Kazakhstan

**ГРАМТЕРІС БАКТЕРИЯЛАРДА В-ЛАКТАММЕН ИНДУКЦИЯЛАНҒАН ЖІПШЕЛЕРДІҢ ТҮЗІЛУІНЕ КОНЦЕНТРАЦИЯЛЫҚ ТӘУЕЛДІЛІКТІ АНЫҚТАУ
DETERMINATION OF CONCENTRATION DEPENDENCE ON THE FORMATION OF FIBERS INDUCED BY B-LACTAM IN GRAM-NEGATIVE BACTERIA**

Аннотация

Бұл мақалада *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp, *Pseudomonas aeruginosa* және *Acinetobacter* spp. 37 изоляттары 4 сағаттық инкубациялық кезеңде пенициллинді байланыстыратын акуызға PBP-3 және PBP-1 тәуелді β-лактамы антибиотиктер цефтазидим немесе цефотаксимнің 5 концентрациясы жағдайында зерттелді. Грам-теріс бактериялардың төзімділігі клиникалық тәжірибеде жаңа проблема болғандықтан, кеңейтілген спектрлі β-лактамазаларын (ESBLs) шығаратын 14 *E.coli* және *Klebsiella pneumoniae* изоляттары зерттелді. Лактамы антибиотиктердің әсерінен кейінгі морфологиялық өзгерістер әртүрлі бактериялық топтар мен изоляттарда белгілі заңдылықтарды анықтады. Жалпы алғанда, *Enterobacteriaceae* барлық изоляттары жіпшелерді салыстырмалы түрде аз концентрация диапазонында шығарды. *Pseudomonas* және *Acinetobacter* spp. филаменттер екі антибиотиктің клиникалық маңызды концентрациясы болған кезде шығарылды, олар 50 мг/л жетеді. Цефтазидим цефотаксимге қарағанда көбірек изоляттарда және кең концентрацияларда жіпшелердің пайда болуын қоздырды. Ең маңыздысы ESBL шығаратын изоляттар қыздыру индукциясынан қорғалған жоқ. Жіпшелер өндірісін индукциялау ауыр инфекцияларды емдеуде қосымша қауіптерге әкелуі мүмкін екендігі анықталды. Жоғары клиникалық тиімділігі мен төмен уыттылығын ескере отырып β-лактамы антибиотиктер қазіргі кезеңдегі микробқа қарсы химиотерапияның негізін құрайды, көптеген инфекцияларды емдеуде жетекші орын алады. β-лактамы антибиотиктер грамтеріс бактериялардың цитоплазмалық жарғақшасында бекітілген пенициллинді байланыстыратын акуыздарды (PBPs) тежеу жолымен әрекет етеді.

Әрбір PBP бактериалар пролиферациясын және морфологиясын сақтауда маңызды рөл атқарады. PBP-1 блокталуы салыстырмалы түрде аз мөлшерде эндотоксинді тез шығаратын бактериалды лизиске әкеледі. β-лактамы агенттерді PBP-3-пен байланыстыру бактериялардың жасуша массасын екі есе арттырғаннан кейін септикалық қабілетсіздігінен туындаған жіпшелердің пайда болуына әкеледі.

Мақалада тәжірибе барысында жиналған грам теріс бактериялардың 37 изоляты Витек 2 жүйесін қолдану арқылы және минималды ингибирлеуші концентрациясына (MIC) Etests арқылы анықталғаны айтылған. *E.coli*, *S.pneumoniae* және *Klebsiella oxytoca*, *P.aeruginosa* жасушалары, *Acinetobacter baumannii* тудырған инфекциялар және *Acinetobacter* spp. тудырған басқа да инфекцияларцефотаксим мен цефтазидимге төзімділігі әр түрлі дәрежесі сынақтан өткен.

ANNOTATION

In this article, isolates of gram-negative bacteria producing extended-spectrum β-lactamases (ESBLs) were studied in a 4-hour incubation period under conditions of 5 concentrations of PBP-3 and PBP-1 dependent β-lactam antibiotics ceftazidime or cefotaxime.

In the course of the study, modern research methods were used. It can be concluded that the relative degree of PBP binding, expressed in changes in bacterial morphology, may differ for each combination of an antibiotic and a bacterial species, group, or isolate.

Since the resistance of gram-negative bacteria is a new problem in clinical practice, 14 isolates of *E.coli* and *Klebsiella pneumoniae*, which produce extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs), were studied. Morphological changes after exposure to lactam antibiotics revealed certain patterns in various bacterial groups and isolators. In general, all *Enterobacteriaceae* isolates produced filaments in a relatively small concentration range. Filaments of *Pseudomonas* and *Acinetobacter* spp. they were produced in the presence of a clinically significant concentration of two antibiotics, which reaches 50 mg/l. Ceftazidime provoked the formation of filaments in a larger number of isolates and in greater concentrations than Cefotaxime.

The number of bacteria the relationship between the formation of filaments and colony-forming units at concentrations of 0, 0.1, 5, 20, 30 mg/l in the presence of ceftazidime or cefotaxime *E. coli* was detected in an experiment using ATCC 25922. After incubation for 4 hours, the samples were sprinkled with blood agar.

The article shows that 37 isolates of gram-negative bacteria collected during the experiment were detected using the Vitek 2 system and using Etests with a minimum inhibitory concentration (MIC). *E.coli*, *C. pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca*, *P. aeruginosa* cells, infections caused by *Acinetobacter baumannii*, and *Acinetobacter* spp. other infections caused by cefotaxime and ceftazidime were tested to varying degrees resistance.

Түйін сөздер: *Acinetobacter* spp, цефтазидим, цефотаксим, филамент, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, концентрация, антибиотик, эндотоксин, изолят, төзімділік.

Keywords: *Acinetobacter* spp, ceftazidime, cefotaxime, filament, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, concentration, antibiotic, endotoxin, isolate, tolerance.

Кіріспе. Грам теріс бактериялардың жасуша қабырғасының құрамына липопротеин арқылы пептидогликан қабатымен байланысқан сыртқы мембрана кіреді. Сыртқы мембрана-бұл цитоплазмаға ұқсас толқын тәрізді үш қабатты құрылым. Сыртқы мембрананың сыртқы жағында липополисахарид (LPS) орналасқан, ол үш компоненттен тұрады: липид, өзек (негіз) бөлігі немесе ядро және қайталанатын олигосахаридтер тізбегінен құралған полисахаридтің О-спецификалық тізбегі (детерминантты топ). Сыртқы және цитоплазмалық мембраналардың арасында периплазмалық кеңістік немесе гидролитикалық ферменттер, рибонуклеаза 1, фосфатаза, бета-лактомаза және т.б. бар периплазмалар бар. Грам-оң бактерияларда бұл ферменттер қоршаған ортаға тікелей шығарылады.

Грамм теріс бактериялардың жасушалық қабырғасы көп қабатты, қалыңдығы 14-17 нм. Жасуша қабырғасының ішкі қабаты муреинмен ұсынылған. Ол құрғақ массасының 1-ден 10%-на дейін құрайды. Грам-теріс бактериялардың пептидогликан құрылымдық микрофибриллалары аз тығыздалған. Пептидогликан қабатындағы тесіктер грамм-позитивті бактериялардың молекулалық жақтауына қарағанда әлдеқайда кең [1].

Грамм теріс бактериялардың жасуша қабырғасының сыртқы қабаты (сыртқы мембрана) фосфолипидтер, липопроteidтер және ақуыздар түзеді. Құрылымы бойынша сыртқы мембрана элементар мембраналарға тән типтік ұйыммен сипатталады. Сыртқы мембрананың негізгі бөлігі-липидтер. Олар жасуша қабырғасының құрғақ массасының орташа есеппен 22% құрайды. Сыртқы мембранада мембрана арқылы өтетін трансмембраналық ақуыздар бар. Олар липофильді мембранадағы сумен толтырылған каналдар мен гидрофильді тесіктер және приондар деп аталады. Гидрофильді төмен молекулалы заттардың мембранасы арқылы тасымалданатын пориндердің бірнеше түрлері бар. Грамм-теріс бактериялардың бір ерекшелігі-жасуша қабырғасында тейхой қышқылдарының болмауы. Грамм теріс бактериялардың жасуша қабырғасының компоненттері электронды мөлдір қабатпен бөлініп, цитоплазмалық мембранадан нақты бөлінеді. Цитоплазмалық және сыртқы мембрана арасындағы кеңістік периплазмалық кеңістік деп аталды. Периплазмалық кеңістікте протеиназалар, нуклеазалар,

цитоплазмалық мембрананың перифериялық ақуыздары, рестриктазалар, пермеазалар (кейбір субстраттарды цитоплазмаға өткізуге қатысатын байланыстырушы ақуыздар) сияқты ақуыздар бар.

Цефтазидим - бұл III буын цефалоспориндер тобының бактерияға қарсы препараты. Ол кең спектрге ие және бактерицидтік әсер етеді, микроорганизмдердің жасуша қабырғасының синтезін бұзады. Көптеген бета-лактамазаларға төзімді. Плазма ақуыздарымен байланысуы - 15% - дан кем. Цефтазидим концентрациясына сүйек тінінде, жүрек тіндерінде, өт, қақырық, синовиальды, көзішілік, плевра және перитонеальды сұйықтықтарда қол жеткізуге болады. Плацентарлы тосқауыл арқылы оңай өтеді және омырау сүтімен шығарылады. Қабыну процесі болмаған кезде ол ГЭБ арқылы нашар өтеді. Менингит кезінде жұлын сұйықтығындағы концентрация емдік деңгейге жетеді (4-20 мг/л және одан жоғары).

Цефотаксим - парентеральді қолдануға арналған III буынды цефалоспоринді антибиотик. Бактерицидтік әсер етеді. Микробқа қарсы кең спектрге ие. Басқа антибиотиктерге төзімді грам-теріс микроорганизмдерге қатысты өте белсенді: *E. coli*, *Citrobacter spp.*, *Proteus mirabilis*, *Proteus indole*, *Providencia spp.*, *Klebsiella spp.*, *Serratia spp.* кейбір *Pseudomonas spp* штамдары. Грам-оң кокктерге, негізінен стафилококктарға қатысты аз белсенді. Препарат грам-оң және грам-теріс бактериялардың бета-лактамазаларына жоғары қарсылыққа ие.

Цефтазидим және цефотаксим - бұл пенициллинді байланыстыратын ақуызға RBP-3 және RBP-1 дозаға тәуелді β -лактамды антибиотиктер. Төмен концентрацияда бұл антибиотиктер RBP-3-ті тежейді, нәтижесінде жіпшелер пайда болады. Филаменттер-бұл эндотоксин молекулаларының көп мөлшері бар бөлінбейтін бактериялардың ұзын жіпшелері. Цефтазидим немесе цефотаксимнің жоғары концентрациясы RBP-1 ингибируін тудырады, нәтижесінде эндотоксиннің төмен шығарылуымен байланысты тез бактериялық лизис пайда болады [2].

β -лактамдық сақина құрылымында болуын біріктіретін β -лактамдық антибиотиктерге (β -лактамдарға) бактерицидтік әсері бар пенициллиндер, цефалоспориндер, карбапенемдер және монобактамдар жатады. Химиялық құрылымның ұқсастығы барлық β -лактамдардың бірдей әсер ету механизмін (бактериялардың жасуша қабырғасының синтезінің бұзылуы), сондай-ақ кейбір пациенттерде оларға кросс-аллергияны анықтайды. Пенициллиндер, цефалоспориндер және монобактамдар бірқатар бактериялар шығаратын β - лактамазалардың арнайы ферменттерінің гидролиздік әсеріне сезімтал. Карбапенемдер β -лактамазаларға едәуір жоғары төзімділікпен сипатталады [3]. Прокариоттық микроорганизмдердің сыртқы мембранасының міндетті компоненті (микоплазмалардан басқа) - параллель полисахарид тізбектерінен тұратын биологиялық полимер болып табылатын пептидогликан. Көлденең тігістер амин қышқылы көпірлері арқылы түзіледі, тігістерді жабуды карбокси және транспептидаза ферменттері жүзеге асырады [4].

Пенициллин G (бензилпенициллин) – *Penicillium chrysogenum* зең саңырауқұлақтарын өнеркәсіптік ашыту арқылы алынған кең спектрлі табиғи антибиотик. Бензилпенициллин бактериялардың жасуша қабырғасы компоненттерінің синтезін тежейді, бұл микроорганизмдердің бұзылуына әкеледі. Ол грам-оң бактерияларға (стафилококктар мен стрептококктардың көптеген штамдары), актиномицетке, сондай-ақ дифтерия коринебактерияларына, күйдіргі таяқшаларына, гонококктарға, бозғылт трепонемаға және басқа да спирохеттерге қарсы белсенді. Пенициллин және басқа β -лактамдық антибиотиктердің әсеріне пеницилиназа ферментін өндіретін бактериялар, грам-теріс бактериялардың көпшілігі, риккетсиялар, қарапайымдар, вирустар мен саңырауқұлақтар төзімді. Бензилпенициллин сезімтал қоздырғыштардан туындаған бактериялық инфекцияларға қатаң түрде тағайындалады, мысалы пневмония, плевра эмпиемасы, бронхит, септикалық эндокардит, жара инфекциясы, терінің іріңді инфекциясы, жұмсақ тіндер мен шырышты қабаттар (соның ішінде. (ангина), менингит, дифтерия, газ гангрены, скарлатина, гонорея, лептоспироз, мерез, күйдіргі, өкпе актиномикозы, зәр және өт жолдарының инфекциясы, акушерлік - гинекологиялық тәжірибеде іріңді-қабыну ауруларын емдеу, көз аурулары.

Пенициллиндер бірқатар антибиотиктерде ең төмен уыттылыққа ие және емдік әсерінің кеңдігі (әсіресе табиғи) дененің тіндері мен сұйықтықтарына (синовиальды, плевра, перикардальды, өт) жақсы енеді, онда олар тез терапиялық концентрацияға жетеді. Ерекшелік - бұл цереброспинальды сұйықтық, көздің ішкі ортасы және простата безінің құпиясы. Эндотоксин құрамын жоғарылату механизмі әлі күнге дейін түсініксіз. Эндотоксин немесе липополисахарид грам-теріс бактериялық инфекциялардың негізгі медиаторы болып табылатыны белгілі, ал филаменттердегі эндотоксиннің жоғары мөлшері антибиотиктермен инфекцияны үздіксіз емдеуде эндотоксиннің баяу, бірақ көп мөлшерде шығарылу қаупі бар екенін білдіреді [5].

Пенициллин антибиотиктері 1940 жылдардан бастап қолданыла бастады және олардың аллергиялық реакциялар тудыруы мүмкін екендігі бірден белгілі болды. Пенициллин молекулалары тым кішкентай және иммундық реакцияны өздігінен жасай алмайды. Алайда, пенициллиндердің β -лактамдық сақинасы қан сарысуы мен жасуша қабырғасының ақуыздарымен ковалентті байланысып, аллергиялық қасиеттерге ие болуы мүмкін тасымалдаушымен гаптен конъюгатын құрайды.

β -лактамдарда грам-оң және грам-теріс микроорганизмдерді қамтитын микробқа қарсы әрекеттің кең спектрі бар. Микоплазмалар β -лактамдарға табиғи төзімділікке ие. β -лактамдар препараттар нашар енетін (хламидиоз, риккетсия, легионелла, бруцеллалар және т.б.) жасушалардың ішінде локализацияланған микроорганизмдерге әсер етпейді. β -лактамдардың көпшілігі анаэробтарға әсер етпейді. Сондай-ақ барлық β -лактамдарға төзімді метициллинге төзімді стафилококктар. Әрбір β -лактама агенті әртүрлі RBP-с үшін белгілі бір байланыстырушы жақындыққа ие. Құрамында оксимині бар цефалоспориндер болып табылатын цефтазидим және цефотаксим салыстырмалы түрде төмен концентрацияларда RBP-3-пен және жоғары концентрацияларда RBP-1-мен байланысады. RBP-ның белгілі бір байланысы болатын концентрациялар туралы мәліметтер өте аз [6].

Пенициллиндер - микроорганизмдер шығаратын биологиялық белсенді заттар негізінде жасалған алғашқы микробқа қарсы препараттар. Барлық пенициллиндердің ашылуы бензилпенициллин XX ғасырдың 40-жылдарының басында алынған. Қазіргі уақытта пенициллиндер тобына оннан астам антибиотиктер кіреді, олар өндіріс көздеріне, құрылымдық ерекшеліктеріне және микробқа қарсы белсенділігіне байланысты бірнеше кіші топтарға бөлінеді. Табиғи пенициллиндерге тек бензилпенициллин жатады алайда, белсенділік спектріне сүйене отырып, ұзартылған (бензилпенициллин прокаині, бензатин бензилпенициллин) және ауызша (феноксиметилпенициллин, бензатин, феноксиметилпенициллин) туындыларды да осы топқа жатқызуға болады. Олардың барлығы β -лактамазалармен жойылады, сондықтан оларды стафилококк инфекциясын емдеу үшін қолдануға болмайды, өйткені көп жағдайда стафилококктар β -лактамазаларды шығарады. Бұған дейінгі зерттеулер көрсеткендей, цефтазидимнің филамент тудыратын концентрациясы *E.coli* үшін айналасындағы концентрациядан *Pseudomonas aeruginosa* үшін >50 минималды ингибиторлық концентрациясына (MIC) дейін өзгереді [7].

β -лактамдық антибиотиктер (бета-лактамдық антибиотиктер) - бұл молекулалық құрылымында β -лактама сақинасы бар антибиотиктер. Бұған пенициллин туындылары (пенамдар), цефалоспориндер (цефемалар), монобактамалар, карбапенемалар және карбфемалар кіреді. β -лактамдық антибиотиктердің көпшілігі бактериялы организмдегі жасуша қабырғасының биосинтезін тежеу арқылы әрекет етеді және антибиотиктердің ең көп қолданылатын тобы болып табылады. 2003 жылға дейін, сатылымға қарағанда, нарықта қолданылатын антибиотиктердің жартысынан көбі β -лактамды қосылыстар болды. Алғашқы табылған β -лактамдық антибиотик пенициллин сирек кездесетін *Penicillium notatum* нұсқасынан оқшауланған (ол *Penicillium chrysogenum* деп аталды). Бактериялар көбінесе β -лактамдық антибиотиктерге β -лактамаза, β -лактамдық сақинаға шабуыл жасайтын фермент синтезі есебінен төзімділікті дамытады. Бұл қарсылықты жеңу үшін клавулан қышқылы сияқты β -лактамаз ингибиторлары бар β -лактамдық антибиотиктерді тағайындауға болады.

β-лактамазалардың гидролизге төзімділігі. β-лактамды антибиотиктерге төзімділік клиникалық медицинада күрделі мәселе болып табылады [8]. Бұл проблема әдетте β-лактамазаларды кодтайтын гендерді, соның ішінде кең спектрлі β-лактамазаларды (ESBLs) кодтайтын плазмидаларды сатып алуға байланысты. ESBL өндіретін *Klebsiella pneumoniae* және *E. coli* штамдары қазіргі уақытта бүкіл әлемдегі медициналық мекемелерде кең таралған. Бірқатар шетелдік және отандық мамандар медициналық көмек көрсетумен байланысты инфекциялар қоздырғыштарының арасында грам-теріс микроорганизмдердің көбеюі және олардың бұрын жетекші грам-оң бактериялардан басым болуы байқалады.

Әлемдік ауруханаларға медициналық көмек көрсетумен байланысты негізгі грам – теріс қоздырғыштардың бірі - *Klebsiella pneumoniae* (грам-теріс нозокомиальды инфекциялардың үшінші қоздырғышы, грам-теріс қоздырғыштардың құрылымындағы үлесі-13,8 %) және *Enterobacteriaceae* тұқымдасының ең көп таралған өкілі (нозокомиальды энтеробактериялар арасында 30,3%). *Klebsiella pneumoniae* бірқатар ауруханаларда басым грам-теріс қоздырғыш болып табылады. *Klebsiella pneumoniae* тудыратын нозологиялық формалардың спектрі өте кең, олар әртүрлі локализацияның ауруларының себебі болып табылады. Клебсиеллез инфекциясының жиі көрінулеріне босандыру мекемелерінде ерте кезеңдегі балалар арасында, қарқынды терапия палаталарында, онкологиялық, геронтологиялық стационарларда, күйік орталықтарында, хирургиялық бейіндегі бөлімшелерде байқалатын медициналық көмек көрсетуге байланысты инфекциялар жатады. *Klebsiella* көбінесе жоғарғы тыныс жолдарында, сау адамдардың ішектерінде кездеседі. *Klebsiella*, *Enterobacter* және *Serratia* тудыратын инфекциялар көбінесе ауруханаішілік болып табылады және негізінен төзімділігі төмен пациенттерде кездеседі. Әдетте *Klebsiella*, *Enterobacter* және *Serratia* көптеген инфекцияларды тудырады, соның ішінде бактериемия, хирургиялық және катетер инфекциясы және тыныс алу немесе зәр шығару жолдарының инфекциясы, олар пневмония, цистит немесе пиелит түрінде көрінеді және өкпе абсцессіне, эмпиемаға, бактериемияға және сепсиске дейін дами алады.

Klebsiella тудыратын пневмония, сирек кездесетін және ауыр ауру, қара қоңыр немесе ашық қызыл желе тәрізді қақырық, өкпе абсцессінің пайда болуы және эмпиема диабетпен ауыратындар мен маскүнемдер арасында жиі кездеседі. *Serratia*, әсіресе *S. marcescens*, зәр шығару жолына көбірек әсер етеді.

Enterobacter көбінесе нозокомиальды инфекцияны тудырады, бірақ отит медиасын, целлюлитті және неонатальды сепсисі тудыруы мүмкін [9]. ESBL пенициллиндерді, тар спектрлі цефалоспориндерді, кең спектрлі көптеген цефалоспориндерді, оксиминоцефалоспориндерді тиімді гидролиздеуге қабілетті.

Кеңейтілген спектрлі бета-лактамазалар (КСБЛ) – инфекциялық ауруларды емдеу үшін қолданылатын бета-лактамдық антибиотиктердің (пенициллиндер, монобактамалар, цефалоспориндер) көпшілігін ыдырату қабілеті бар бактериялардың ферменттері. Кеңейтілген спектрлі бета-лактамазалар продуценттері әр түрлі тұқымдастардың грам-теріс бактериялары болып табылады (*E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Salmonella enterica*, *Morganella*, *Pseudomonas* және т.б.). Инфекцияларды емдеу үшін қолданылатын микробқа қарсы препараттардың стандартты жиынтығы тиімсіз болуы мүмкін, сондықтан КСБЛ өндіруші патогендер анықталған кезде антибиотиктердің арнайы (қосымша) жиынтығына сезімталдықты анықтау қажет болуы мүмкін. Бұл жағдайда пациенттен алдын-ала оқшауланған патогенді культураны қолданады (Петри ыдысындағы микроорганизмдер колониясы), бұл зертханалық зерттеу уақытын қысқартады [10].

Зерттеудің мақсаты РВР тежейтін әсерлері өзгертін цефтазидим және цефотаксим концентрацияларын анықтау және оларды колония түзуші бірлік (CFU) және минималды ингибирлеуші концентрация (MIC) мөлшерімен байланыстыру болды. Зерттеу барысында бұл антибиотиктер *Enterobacteriaceae* ESBL шығаратын изоляттарында жіпше түзуге қабілетті екендігі де зерттелді. Филамент индукциясы РВР-3-пен байланысқанға дейін антибиотиктердің толық немесе ішінара инактивациясынан кейін мұндай изоляттарда антибиотиктердің жоғары концентрациясында ғана пайда болуы мүмкін деген болжам жасалды.

Материалдар мен зерттеу әдістері. Зерттеу үшін тәжірибе барысында жиналған грам теріс бактериялардың 37 изоляты қолданылды. Изоляттар Витек 2 жүйесін қолдану арқылы анықталды және минималды ингибирлеуші концентрациясына (MIC) Etests арқылы анықталды. *E.coli*, *S.pneumoniae* және *clebsiella oxytoca*, *P.aeruginosa* жасушалары, *Acinetobacter baumannii* тудырған инфекциялар және *Acinetobacter* spp. тудырған басқа да инфекциялар цефотаксим мен цефтазидимге төзімділігі әр түрлі дәрежесі сынақтан өтті. Зерттеуге сонымен қатар бес белгілі ESBL шығаратын *E. coli* изоляттары, бес белгілі ESBL шығаратын *K. pneumoniae* изоляттары және үш стандартты анықтамалық штамдар кірді (*E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 және *K. pneumoniae* ATCC 43816).

Антибиотиктер

Цефтазидим (Glaxo SmithKline, Zeist, Нидерланды) және цефотаксим (Aventis Pharma, Hoeselaken, Нидерланды) бес концентрацияда қолданылды: 0, 0.1, 5, 20, 30 мг/л және әр экспериментте бактериялық жасушалардың ұзындығына сілтеме ретінде қызмет ететін теріс бақылау (антибиотик қосылмай) болды.

Бактериялар саны филаменттер мен колония түзуші бірліктер түзілуінің өзара байланысы 0, 0.1, 5, 20, 30 мг/л концентрацияларда цефтазидим немесе цефотаксим қатысуымен сорпада өсірілген *E. coli* ATCC 25922 қолдану арқылы экспериментте анықталды. 4 сағат инкубациядан кейін үлгілер қан ағарына себілді. Түнгі инкубациядан кейін анықтау шегі $4 \cdot 10^3$ ктб/мл колониялар есептелді. Бұл эксперимент 4 рет қайталанып, жүргізілді.

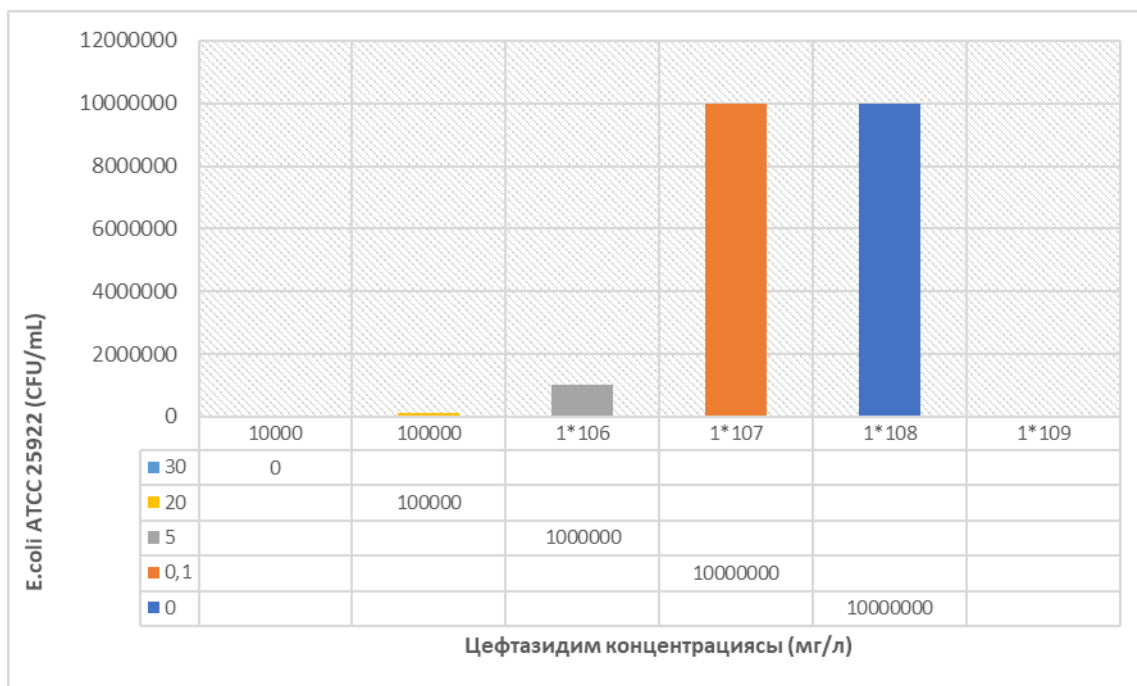
Антибиотиктердің әсерін зерттеу

Әр эксперименттен бір күн бұрын екі бактериялық колония триптозофосфат сорпасында енгізілді, шамамен 10^8 ктб/мл дақылдар алу үшін бір түн ішінде инкубацияланды. Эксперимент басталғанға дейін антибиотиктің стандартты ерітіндісі қажетті концентрацияға жету үшін стерильді тұзды ерітіндіде сұйылтылды, ал әр антибиотиктің 20 μл сұйылтуы микротитрлік плитаның тесіктеріне қосылды. Содан кейін 180 μл бактериялық суспензия қосылды, мұқият араластырылды, 4 сағат ішінде 37°C температурада инкубацияланды, содан кейін Грамм әдісімен боялғаннан кейін жарық микроскобымен зерттелді.

Зерттеу жұмысының нәтижелері. Өміршең болып саналады:

1-2 суреттерде көрсетілгендей *E. coli* ATCC 25922 өміршең мөлшерін 4 сағат ішінде цефтазидим немесе цефотаксимнің алты концентрациясына әсер еткеннен кейін көрсетті. Эксперименттердің басында өміршең жасушалардың саны $4 \cdot 10^7$ ктб/мл құрады, ал өңделмеген бақылауды 4 сағаттан кейін $1 \cdot 10^8$ ктб/мл дейін ұлғаю байқалды (мысалы, 1-2 сурет).

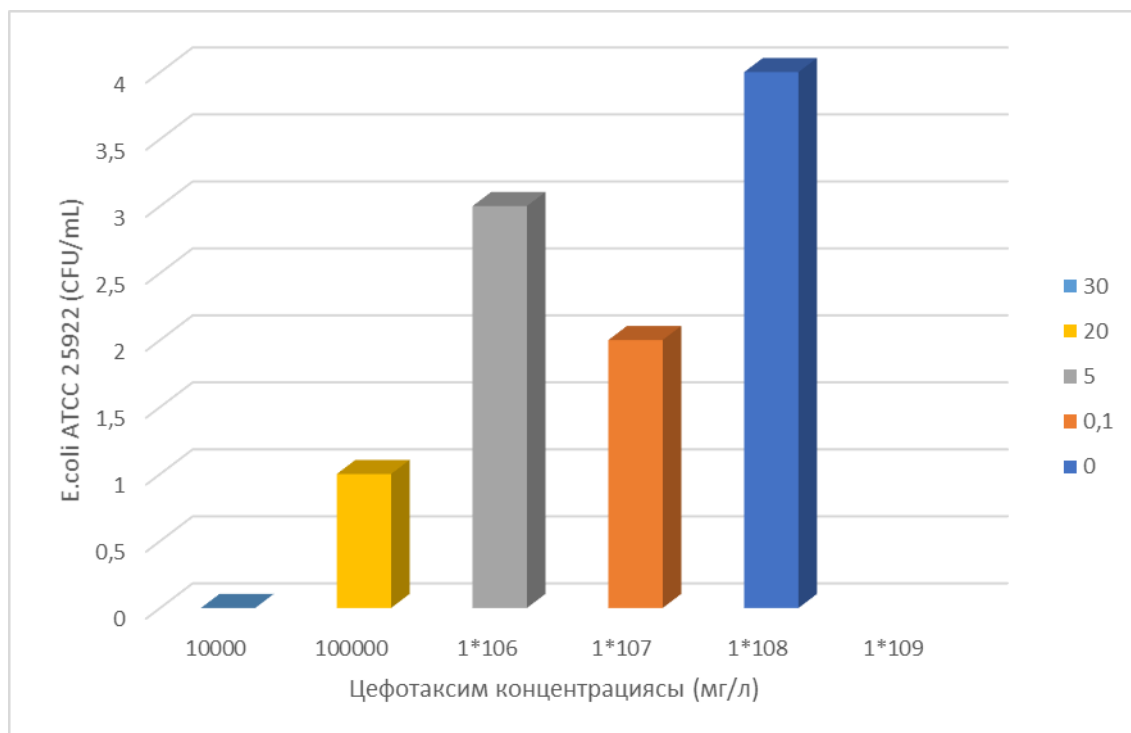
Антибиотиктермен өңделген барлық дақылдар бақылаумен салыстырғанда колония түзуші бірліктің (CFU) 4 сағаттан кейін неғұрлым төмен екенін көрсетті, соның ішінде және минималды ингибирлеуші концентрация (MIC) деңгейінде немесе одан төмен концентрация әсеріне ұшыраған (цефтазидим үшін 0,19 мг/л, цефотаксим үшін 0,064 мг/л). Культуралардың грамдық дақтарын зерттеу цефтазидим 0,1–10 мг/л және цефотаксим 0,1–1 мг /л кезінде жіпшелердің түзілуін растады.



1-сурет -*E.coli* ATCC 25922 цефтазидимнің әртүрлі концентрацияларының бактериялық жіпшелердің түзілуін индукциялауы

Морфологиялық зерттеу

Морфологиялық зерттеулер жіпшелерді қоздыратын концентрация диапазонының ортасына қарағанда жіптерді қоздыратын ең төменгі және ең жоғары концентрацияларда қысқа болатындығын көрсетті. Белгілі бір концентрацияда ұзын жіпшелер байқалған *E.coli*, *P.aeruginosa* және *Acinetobacter*-ден айырмашылығы, *Klebsiella pneumoniae* изоляттары тек антибиотиктердің сыналған концентрацияларында қысқа жіптерге ие болды. Бес изоляттың ішінде 4 жоғары ESBL шығаратын изолятпен жасаған экспериментте филаменттер пайда болған жоқ. Сонымен қатар, бір оқшауланған *K. pneumoniae* цефтазидим мен цефотаксимнің (сәйкесінше 0,032 және 0,016 мг /л) кез-келген сыналатын концентрациясында жіп тәрізді формаларды көрсетпеді.



Сурет 2 - *E. coli* ATCC 25922 цефотаксимнің әртүрлі концентрацияларының бактериялық жіпшелердің түзілуін индукциялауы

Алынған мәліметтерді талдау және қорытынды. *E. coli*-дің өміршеңдігі бақылаумен салыстырғанда субмикрондық немесе микрондық деңгейлерде де цефтазидим немесе цефотаксим әсерінен кейін төмендеді. Төмен концентрацияда бұл бактериялардың жойылуын емес, жіпшелердің пайда болуын көрсетуі мүмкін. Бұл зерттеу жұмысында тіпті үлкен жіпшелердің өзі 1 колония түзуші бірлік деп есептелетіндігімен түсіндіріледі. Көптеген изоляттар белгілі бір дозада үлкен жіпшелерді (оннан астам жасуша ұзындығы), *Klebsiella spp.*-де тек қысқа жіпшелерді түзді, ал кейбір изоляттар жіп тәрізді формаларды мүлдем түзбеді. *K. pneumoniae* изоляттарының бірімен филаменттер өндірісінің болмауын осы изолят үшін екі антибиотиктің де өте төмен минималды ингибируші концентрациясымен түсіндіруге болады, филаменттер осы зерттеуде тексерілмеген <0,1 мг/л концентрациясында түзілуі мүмкін. Бактерия морфологиясының өзгеруімен көрінетін салыстырмалы РВР байланыстыру дәрежесі антибиотик пен бактерия туысына, тобына немесе изоляттың әр комбинациясы үшін әр түрлі болуы мүмкін деген қорытындыға келдік. Бұл гипотезаны растау үшін бактерия туысы, тобы немесе изоляттар арасындағы заңдылықтар анықталды. *Enterobacteriaceae* ішінде цефтазидим мен цефотаксимнің төмен концентрациясы кезінде филаменттер өндіруге арналған дозалардың қысқа диапозондарының көрінісі байқалды, бұл осы изоляттар үшін төмен минималды ингибируші концентрациясымен нақты байланысты болды. *Pseudomonas* және *Acinetobacter spp.* үшін жіпшелер жоғары концентрацияға дейін β-лактамдармен индукцияланған. Көптеген комбинациялар үшін қыздыру индукциясы субмикрон немесе микрон деңгейінде көрінеді, сонымен бірге едәуір жоғары концентрацияларға да көрінуі мүмкін. Тек *Acinetobacter* изоляттары үшін ең үлкен қоздырғыш жіпше концентрациясы салыстырмалы түрде төмен болды. ESBLграм оң изоляттарында қыздыру индукциясы әлі де болуы мүмкін, бірақ қыздыруды тудыратын концентрациялар бірдей типтегі ESBL шығармайтын изоляттарға қарағанда жоғары деңгейге ауысады. Цефтазидим цефотаксимге қарағанда көбірек изоляттарда, әсіресе кейбір ESBL оң изоляттарында жіпшелердің пайда болуын туындатады. ESBL цефотаксимге қатынасы белсенді болды, бұл осы изоляттар үшін салыстырмалы түрде жоғары МИК көрсетті. Кейбір изоляттар, әсіресе *Pseudomonas* және *Acinetobacter spp.* антибиотиктердің ең жоғары концентрациясында филаменттердің өндірісін көрсетті, бұл антибиотиктердің одан да жоғары концентрациясында филаменттер тудыру мүмкіндігін болжайды.

Бұл зерттеудің ең маңызды тұжырымы-антибиотиктердің клиникалық маңызды концентрациялары салыстырмалы түрде иммунитеті жоқ микроорганизмдерге әсер еткен кезде жіптердің қарқынды түзілуі мүмкін. Жіпшелердің мұндай индукциясы эндотоксиннің шамадан тыс шығарылуына әкелуі мүмкін және теріс құбылыс ретінде қарастырылады. Антибиотикке төзімділік қаупінің одан әрі жоғарылауының алдын алу үшін ауыр инфекциялардың алғашқы кезеңдерінде антибиотикпен емдеу салыстырмалы түрде жоғары концентрацияны немесе антибиотиктердің үздіксіз мөлшерін қамтиды.

ӘДЕБИЕТТЕР ТИЗІМІ

1. Buijs J., Dofferhoff A.S., Mouton J.W., van der Meer J.W. Continuous administration of PBP-2 and PBP-3 specific b-lactams causes higher cytokine responses in murine *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* sepsis // *Journal Antimicrob Chemother.* – 2007. - № 59. – P. 926–933.
2. Mai-Prochnow A., Murphy A.B., McLean K. M., Kong M.G. Atmospheric pressure plasmas: Infection control and bacterial responses // *International journal of antimicrobial agents.* – 2014. - №43. - P. 508–517.
3. Tes V.V. Mikroorganizmy i antibiotiki. Zabolevaniya mochevyvodyah putei. - Sankt-Peterburg: KLE-T, 2005. — S 162-164.
4. Chen K., Sun G.W., Chua K.L., Gan Y.H. Modified virulence of antibiotic-induced *Burkholderia pseudomallei* filaments // *Journal Antimicrob Agents Chemother.* – 2005. - № 49. – P. 1002–1009.
5. Ho P.L., Poon W.W., Loke S.L. Community emergence of CTX-M type extended-spectrum b-lactamases among urinary *Escherichia coli* from women // *Journal Antimicrob Chemother.* – 2007. № 60. – P. 140–144.
6. Livermore D.M. The b-lactamase threat in Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* and *Acinetobacter* // *Trends Microbiol.* – 2006. - № 14. – P. 413–420.
7. Rudnov V.A., Frolova Z.A. Klinicheskaya znachimost infektsii, vyzvannyh panrezistentnymi ştammmami *Pseudomonas aeruginosa* u pasientov ORIT // *Klin. mikrobiol. antimikrob. himioter.* – 2007. - № 9 (2). – S. 37.
8. Brsova M.B., Obuhov İ.L., İdentifikasiya entero gemorragicheskikh E.coli i differentsiatsiya E.coli O157:N7 metodom polimeraznoi sepoi reaktsii // *Veterinarnyi jurnal.* – 2008. - № 12. – C. 42-49.
9. Şaginyan İ.A., Chernuha M.. Nefermentiruie gramotrisatelnye bakterii v etiologii vnutribolnichnyh infektsii: klinicheskie, mikrobiologicheskie i epidemiologicheskie osobennosti // *KMAN.* – 2005. - № 7(3). – S . 271-285.
10. Wybo I., Soetens O., De Bel A., Echahidi F., Vancutsem E., Vandoorslaer K., Pierard D. Species identification of clinical *Prevotella* isolates by matrix-assisted laser-desorption ionization-time of flight mass spectrometry // *Journal Clin. Microbiol.* - 2012. - № 50 (4). -P . 1415–1418.

РЕЗЮМЕ

В данной статье исследованы изоляты грамотрицательных бактерий, продуцирующих β-лактамазы расширенного спектра (ESBLs), в 4-часовом инкубационном периоде в условиях 5 концентрации PBP-3 и PBP-1 зависимых β-лактамных антибиотиков цефтазида или цефотаксима.

В ходе исследования были использованы современные методы исследования. Можно сделать вывод, что относительная степень связывания PBP, выраженная в изменении морфологии бактерий, может отличаться для каждой комбинации антибиотика и бактериального вида, группы или изолята.

Поскольку резистентность грамотрицательных бактерий является новой проблемой в клинической практике, были исследованы 14 изоляты *E.coli* и *Klebsiella pneumoniae*, которые производят β-лактамазы расширенного спектра (ESBLs). Морфологические изменения после воздействия лактамных антибиотиков выявили определенные закономерности в различных бактериальных группах и изоляторах. В целом, все изоляты *Enterobacteriaceae* производили нити в относительно небольшом диапазоне концентраций. Филаменты *Pseudomonas* и *Acinetobacter* spp. выпускались при наличии клинически значимой концентрации двух антибиотиков, которая достигает 50 мг/л. Цефтазидим провоцировал образование нитей в

большем количестве изолятов и в более широких концентрациях, чем цефотаксим. Каждый РВР играет важную роль в поддержании пролиферации и морфологии бактерий. Блокировка РВР-1 приводит к бактериальному лизису, который быстро выделяет относительно небольшое количество эндотоксина. β -лактамы антибиотики действуют путем ингибирования белков, связывающих пенициллин (РВР), закрепленных в цитоплазматической мембране грамотрицательных бактерий.

Количество бактерий взаимосвязь образования филаментов и колониеобразующих единиц в концентрациях 0, 0.1, 5, 20, 30 мг/л в присутствии цефтазида или цефотаксима *E.coli* был обнаружен в эксперименте с использованием ATCC 25922. После инкубации в течение 4 часов образцы посыпали агаром крови.

В статье показано, что 37 изолят грамотрицательных бактерий, собранных в ходе эксперимента, были обнаружены с помощью системы Витек 2 и с помощью Etests с минимальной ингибирующей концентрацией (MIC). *E.coli*, *C.pneumoniae* и *Klebsiella oxytoca*, клетки *P.aeruginosa*, инфекции, вызванные *Acinetobacter baumannii*, и *Acinetobacter* spp. другие инфекции, вызванные цефотаксим и цефтазидим были протестированы с различной степенью резистентности.

ӘОЖ 619.614.31.637.636

DOI 10.52578/2305-9397-2021-1-1-108-113

Жумагелдиев А.А., ветеринария ғылымдарының кандидаты, профессор, негізгі автор, ORCID ID 0000-0002-1106-8885

«Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті» КеАҚ, 050010, Абай даңғ. 8, Алматы қ., Қазақстан Республикасы, akil_275@mail.ru

Бердикулов М.А., ветеринария ғылымдарының кандидаты, ORCID ID 000-0003-1304-0354

Қазақстан Республикасы Ауыл шаруашылығы министрлігі «Ветеринария бойынша ұлттық референттік орталық» ШЖҚ РМК, 010000, Абай көш. 22/3, Нұр-Сұлтан қ., Қазақстан Республикасы, akil_275@mail.ru

Шамгунов Н.А., ветеринария ғылымдарының магистрі, ассистент, ORCID ID 0000-0002-1416-3834

«Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті» КеАҚ, 050010, Абай даңғ. 8, Алматы қ., Қазақстан Республикасы, akil_275@mail.ru

Тұрдық Е., магистрант, ORCID ID 0000-0002-5284-8586

«Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті» КеАҚ, 050010, Абай даңғ. 8, Алматы қ., Қазақстан Республикасы, akil_275@mail.ru

Jumageldiev A.A., Candidate of Veterinary Sciences, Professor, the main author

NPJSC «Kazakh National Agrarian Research University», 050010, Abay Ave. 8, Almaty, Republic of Kazakhstan

Berdikulov M.A., Candidate of Veterinary Sciences

"National Reference Centre for Veterinary Medicine" of the Ministry of Agriculture of the Republic of Kazakhstan, 010000, 22/3 Abai str., Nur-Sultan, Republic of Kazakhstan

Şamgunov N.A., Master, Assistant

NPJSC «Kazakh National Agrarian Research University», 050010, Abay Ave. 8, Almaty, Republic of Kazakhstan

Türdyq E., Postgraduate

NPJSC «Kazakh National Agrarian Research University», 050010, Abay Ave. 8, Almaty, Republic of Kazakhstan

«РИСОСТИМ» АЗЫҚТЫҚ ҚОСПАСЫН ПАЙДАЛАНҒАН ЖАЙЫН БАЛЫҒЫНЫҢ САПАЛЫҚ КӨРСЕТКІШТЕРІ ЖӘНЕ ВЕТЕРИНАРИЯЛЫҚ САНИТАРИЯЛЫҚ САРАПТАМАСЫ

QUALITY INDICATORS AND VETERINARY ANALYSIS OF CATFISH MEAT WHEN USING THE FOOD ADDITIVE «RIZOSTIM»

Аннотация

Мақалада балық шаруашылығы саласын құрайтын өндіруші және өңдеуші әлеуетін жаңарту, сондай-ақ кәсіпорындарды молайту мақсатындағы балық шаруашылығын дамыту