

БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ БІОПЛІВКОУТВОРЮЮЧИХ ШТАМІВ *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*, ВИДІЛЕНИХ З ПІХВИ ЖІНОК

Дніпропетровський національний університет

імені Олеся Гончара

Метою роботи було дослідити адгезивні властивості, гемолітичну, ліпазну, лецитиназну активності та чутливість до антибіотиків десяти біоплівкоутворюючих штамів *Staphylococcus epidermidis*. Встановлено, що всі досліджувані біоплівкоутворюючі штами *S. epidermidis* виявляли гемолітичну та ліпазну активності, а 70% штамів – лецитиназну. Під час вивчення адгезивних властивостей на букальному епітелію людини встановлено, що всі досліджувані штами виявилися високоадгезивними: середній показник адгезії дорівнював 7,61.

Дослідження чутливості до антибіотиків показало, що більшість досліджуваних штамів були стійкими до антибіотиків з класу пеніцилінів, а чутливими – до цефалоспоринов.

Ключові слова: біоплівка, біоплівкоутворюючі штами, адгезивні властивості, гемолітична, ліпазната лецитиназна активність, *Staphylococcus epidermidis*.

Дана робота є фрагментом НДР «Структурно-функціональні властивості природних мікробіоценозів та механізми біологічної дії мікробних препаратів», № держ. реєстрації 0115U002385.

Вступ. Існування бактерій у складі біоплівки має місце як у зовнішніх умовах, так і в організмі людини. За впливом на організм людини мікробні біоплівки можна розділити на фізіологічні та патологічні. Прикладом фізіологічних біоплівок є індигенна мікробіота піхви. Прикріплення до поверхні епітеліоцитів і формування на слизовій оболонці піхви біоплівки, що складається зі слизу, колоній індигенної мікрофлори та її метаболітів, є потужним фактором, який попереджує адгезію та надмірний розвиток умовно-патогенних мікроорганізмів [1, 8]. Таким чином, такі біоплівки забезпечують гомеостаз організму та виконують захисну функцію.

Умовно-патогенні бактерії також здатні формувати біоплівки та опосередковувати виникнення запальних інфекційних процесів. Поява біоплівок часто призводить до ускладнення та хронізації інфекційних процесів, так як бактерії у їх складі характеризуються підвищеною стійкістю до факторів зовнішнього середовища, і насамперед, до антибіотиків [2, 4, 5, 9].

Метою роботи було дослідити адгезивні властивості, гемолітичну, ліпазну, лецитиназну активності

та чутливість до антибіотиків біоплівкоутворюючих штамів *Staphylococcus epidermidis*.

Матеріали і методи. Об'єктами дослідження було 10 біоплівкоутворюючих штамів *S. epidermidis*, що були виділені з піхви жінок, які належать до музею кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології Дніпропетровського національного університету ім. Олеся Гончара.

Оцінку гемолітичної, лецитиназної та ліпазної активностей проводили відповідно до «Приказа МОЗ СССР № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» від 22.04.1985р.» [3]. Ступінь продукції гемолізинів та лецитиназну і ліпазну активності визначали за допомогою усередненого показника ширини зони просвітління або помутніння чи появи веселкової оболонки. Якісну оцінку вказаних ознак визначали візуально та враховували в мм. Здатність досліджуваних біоплівкоутворюючих штамів *S. epidermidis* до адгезії вивчали на клітинах букального епітелію людини розгорнутим методом [6].

Чутливість до антибіотиків визначали із застосуванням диск-дифузійного методу. Було використано диски з антибіотиками: пеніцилін, оксацилін, цефтріаксон, цефтазидим, цефуроксим, тетрациклін, доксициклін гідрохлорид, олеандоміцин, еритроміцин (Himedia Laboratories Prv. Limited, Індія). Антибіотики обирали серед найбільш застосовуваних у клінічній практиці з урахуванням механізму їх дії згідно Наказу МОЗ України № 167 від 05. 04. 2007 «Про затвердження методичних вказівок щодо визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» [7].

Результати дослідження та їх обговорення. При вивченні факторів патогенності виявилось, що гемоліз, який характеризувався повним просвітленням (усереднений показник діаметру зони $16,0 \pm 4,0$ мм) на кров'яному агарі, та ліпазну (усереднений показник діаметру зони $5,0 \pm 1,0$ мм) активність на молочно-жовтково-сольовому агарі виявляли всі 10 біоплівкоутворюючих штамів *S. epidermidis*. Лецитиназну активність (усереднений показник діаметру зони $5,0 \pm 1,0$ мм) спостерігали у 70% біоплівкоутворюючих штамів.

У результаті проведених досліджень встановлено, що всі 10 біоплівкоутворюючих штамів *S. epidermidis* здатні адгезуватися до клітин букального епітелію людини та є високоадгезивними, оскільки середній показник адгезії (СПА) дорівнював 7,61. Серед досліджуваних біоплівкоутворюючих штамів найвищий СПА становив 11,10, при цьому участь епітеліоцитів у адгезії склала 92,85 %, а індекс адгезивності мікроорганізмів (ІАМ) – 11,84.

Було встановлено, що найбільша кількість досліджуваних біоплівкоутворюючих штамів *S. epidermidis* виявилася стійкою до пеніциліну – 90 %, оксациліну – 80 %, еритроміцину – 70 %, та олеандоміцину – 70 %.

Визначали чутливість досліджуваних штамів до цефалоспоринов, а саме цефтріаксону, цефуроксиму та цефтазідіму. Було встановлено, що до цефтріаксону стійкість спостерігали у 20 % штамів, до цефуроксиму та цефтазідіму – 40 % біоплівкоутворюючих штамів.

Під час вивчення стійкості до антибіотиків з класу тетрациклінів виявлено, що до тетрацикліну серед 10 біоплівкоутворюючих штамів *S. epidermidis* стійкими були 40 % штамів, а до доксицикліну гідрохлориду – 30 %.

Таким чином, можна припустити, що виражені адгезивні властивості здатних до біоплівкоутворення штамів, які були виділені з піхви жінок, вказують

на їх високий колонізаційний потенціал, що може бути причиною розвитку та сприяти хронізації інфекційного процесу. В той час, високий рівень гемолітичної, ліпазної та лецитиназної активності дозволяє протидіяти та пригнічувати захисні механізми організму-хазяїна. А високий рівень стійкості до антибіотиків досліджуваних штамів підтверджує той факт, що штами, які здатні формувати біоплівку мають більш виражені захисні властивості, у першу чергу до антибіотиків.

Висновки.

Встановлено, що всі досліджувані біоплівкоутворюючі штами *S. epidermidis* виявляли гемолітичну та ліпазну активності, а 70 % штамів – лецитиназну.

2. Всі досліджувані штами виявилися високоадгезивними: середній показник адгезії дорівнював 7,61.

Встановлено, що більшість досліджуваних штамів були стійкими до антибіотиків з класу пеніцилінів, а чутливими – до цефалоспоринов.

Перспективи подальших досліджень. Дослідження біологічних властивостей штамів, які здатні формувати біоплівку у лабораторних умовах є перспективним напрямом наукових досліджень. Так як розуміння процесів, які відбуваються у біоплівці та властивостей, якими володіють бактерії, що входять до її складу дозволить вести адекватну боротьбу з інфекціями, які пов'язані з формуванням біоплівок.

Список літератури

1. Биопленки при бактериальном вагинозе / Е. С. Березовская, И. О. Макаров, М. А. Гомберг [и др.] // Акушерство, гинекология, репродукция. – 2013. – Т. 7, № 2. – С. 34-36.
2. Маянский А. Н. Стафилококковые биопленки: структура, регуляция, отторжение / А. Н. Маянский, И. В. Чеботарь // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2011. – № 1. – С. 101-108.
3. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений: приказ № 535. – [чинний від 22. 04. 1985р.]. – М. : МОЗ СССР, 1985. – 65 с.
4. Окулич В. К. Роль микробных биопленок в патогенезе инфекционных процессов на современном этапе / В. К. Окулич, Ф. В. Плотников, А. А. Кабанова // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2012. – № 4. – С. 70-82.
5. Павлова И. Ж. Биологические свойства *Staphylococcus aureus*, выделенных из различных локусов бактерионосителей / И. Ж. Павлова, Ю. С. Хомич // Вестник Челябинского государственного университета. – 2013. – Т. 298, № 7. – С. 66-67.
6. Пробиотичні властивості промислових штамів лактобацил і біфідобактерій / Н. К. Коваленко, О. П. Лівінська, О. А. Полтавська [та ін.] // Мікробіологічний журнал. – Т. 72, № 1. – С. 9-17.
7. Про затвердження методичних вказівок щодо визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів: наказ МОЗ України № 167. – [чинний від 05. 04. 2007 р.] – К. : МОЗ України, 2007. – 63 с.
8. Радзинский В. Е. Профилактика послеоперационных осложнений у женщин с дисбиозом влагалища / В. Е. Радзинский, И. М. Ордянец, А. Р. Арушанян // Акушерство и гинекология. – 2008. – № 5. – С. 53-55.
9. Фалова О. Е. Взаимосвязь и степень выраженности адгезивной способности и антилизоцимной активности стафилококков, выделенных с кожи людей, страдающих хроническими дерматозами / О. Е. Фалова // Вестник Томского государственного университета. – 2011. – № 349. – С. 188-189.

УДК 579. 61: 616-078

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БИОПЛЕНКООБРАЗУЮЩИХ ШТАММОВ *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ВЛАГАЛИЩА ЖЕНЩИН

Трофимова Е. А., Сидашенко О. И., Воронкова О. С., Винников А. И.

Резюме. Целью работы было исследовать адгезивные свойства, гемолитическую, липазную, лецитиназную активности и чувствительность к антибиотикам десяти биопленкообразующих штаммов *Staphylococcus epidermidis*. Определено, что все исследуемые биопленкообразующие штаммы *S. epidermidis* проявляли гемолитическую и липазную активности, а 70 % штаммов – лецитиназную. Изучение адгезивных свойств на букальном эпителии человека показало, что все исследуемые штаммы – высокоадгезивные, так как средний показатель адгезии равен 7,61.

При определении чувствительности к антибиотикам установлено, что большинство исследуемых штаммов были устойчивыми к антибиотикам из класса пенициллинов, а чувствительными – к цефалоспорином.

Ключевые слова: биопленка, биопленкообразующие штаммы, адгезивные свойства, гемолитическая, липазная, лецитиназная активность, *Staphylococcus epidermidis*.

UDC 579. 61: 616-078

Biological Properties of *Staphylococcus Epidermidis* Biofilm-Forming Strains, Discharge from Women Vaginal

Trofimova K. O., Sidashenko O. I., Voronkova O. S., Vinnikov A. I.

Abstract. Last time, the possibility of bacteria to the existence in the composite community named biofilms, which can take place in the external environment and in the human body. The effect on the human microbial biofilms can be divided into physiological and pathological. Examples of physiological biofilms is indyhenna vaginal microbiota.

The first and most important factor of the process of biofilm formation is the ability of microorganisms to adherence. The existence of bacteria in a film culture qualitatively changed views on the pathogenesis, treatment and prevention of infectious diseases.

The aim was to investigate the adhesive properties, hemolytic, lipase, lecitinase activity and sensitivity to antibiotics of *Staphylococcus epidermidis* biofilm-forming strains.

For all biofilm-forming strains studied the pathogenicity factors. Studying of pathogenicity factors of the film-forming strains showed that complete hemolysis (zone diameter was $16,0 \pm 4,0$ mm) on the blood agar and lipase activity (diameter of zone $5,0 \pm 1,0$ mm) was shown by all the film-forming strains of *S. epidermidis*, lecitinase activity was observed in 80% (zone diameter of $5,0 \pm 1,0$ mm) on the yolk-salt agar.

It was found that all the film forming strains of *S. epidermidis* can adhesion to cells of human buccal epithelium. It was found that all 10 film-forming strains of *S. epidermidis* were high-adherens with the medium adhesion equal to 8. 61. Among the investigated film-forming strains he highest MAR was 11.1, while participating in the adhesion of epithelial cells was 92. 85%, and IMA – 11.84.

It was found that most of the studied biofilm-forming strains of *S. epidermidis* was resistant to penicillin – 90%, oxacillin – 80%, erythromycin – 70%, and oleandomycin – 70% and susceptibility to cephalosporins, such as ceftriaxone, cefuroxime and tseftazydimu.

It was found that resistance to ceftriaxone was observed in 20% of strains, to cefuroxime and tseftazidim – 40% biofilm-forming strains.

In the study of resistance to antibiotics of tetracycline class found that among 10 biofilm-forming strains of *S. epidermidis* were 40% resistant to tetracycline and by 30% to doxycycline hydrochloride.

It was established that most of the studied strains of *S. epidermidis* were resistant to antibiotics from the class penicillin, and sensitive – to cephalosporins.

Thus, high levels of hemolytic, lipase and lecitinase activity of isolated film-forming strains of *S. epidermidis* can oppose and suppress the defense mechanisms of the host organism, on the one hand, and an intense adhesion due to high adhesive capacity – on the other, that leading to the active colonization of damaged and intact organs, along with other factors of pathogenicity of these microorganisms to create the conditions for long-term persistence in the body and leads to chronic infectious processes.

Keywords: biofilm, biofilm-forming strains, ability to adhere, hemolytic, lipase, letsytinase activity, *S. epidermidis*.

Стаття надійшла 24. 11. 2015 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування