

АНТИБІОТИКОЧУТЛИВІСТЬ ТА ЗДАТНІСТЬ ДО УТВОРЕННЯ БІОПЛІВКИ У СТАФІЛОКОКІВ, ВИДІЛЕНИХ З РІЗНИХ БІОТОПІВ

Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара (м. Дніпропетровськ)

shkaruba1970@mail.ru

Дослідження виконано в межах держбюджетної теми «Структурно-функціональні властивості природних мікробіоценозів та механізм біологічної дії мікробних препаратів», № держ. реєстрації 0115U002385, шифр 1-294-15.

Вступ. На сьогоднішній день, незважаючи на широке застосування антибактеріальних препаратів, інфекційні ураження людини, обумовлені мікробними збудниками, які і раніше займали домінуюче положення. За останнє десятиліття серед людей багатьох країн світу відзначено зростання частоти гнійно-інфекційних уражень, пневмоній, бронхітів, які займають перше місце в структурі терапевтичних захворювань, серед яких бактеріальні інфекції є найбільш поширеними. Їх частота серед населення коливається від 30 до 80% [1, 8].

Стафілококи є умовно-патогенними мікроорганізмами, що найбільш часто виступають збудниками уражень. Цей рід бактерій включає 27 видів, 14 з яких виділяються зі шкіри і слизових оболонок людини. Більшість стафілококів нешкідливі: із згаданих 14 видів тільки 3 здатні обумовлювати ураження [3, 11]. У той же час стафілококи практично у всіх людей входять до складу мікрофлори і за умов ефективної реалізації механізмів імунітету не викликають уражень. Однак, при порушенні імунного захисту можливе їх надмірне розмноження і активна колонізація біотопів, що обумовлює розвиток уражень. Важливою особливістю стафілококів є їх здатність до утворення біоплівки, що притаманно як коагулазопозитивним, так і коагулазонегативним стафілококам. З біоплівкоутворенням часто пов'язані ускладнення інфекцій [6, 9].

Виходячи з актуальності проблеми, **метою роботи** було провести вивчення видового складу стафілококів, виділених з різних біотопів людини, дослідити їх здатність до біоплівкоутворення та визначити чутливість до антибіотиків різних класів.

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктом дослідження була частота виявлення та біологічні властивості стафілококів виділених із різних біотопів жінок та чоловіків віком від 18 до 47 років.

Досліджувані ізоляти бактерій були виділені з різних біотопів при підозрі на стафілококову інфекцію. Всього було досліджено 97 зразків матеріалу, взятих від жінок та чоловіків різного віку. Стан інфікованості визначали за результатами бактеріологічного дослідження [2, 12]. Виділення, ідентифікацію та дослідження біологічних властивостей бактерій проводили згідно з наказом «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования» [4].

Для виявлення антибіотикорезистентних мікроорганізмів використовували диск-дифузійний метод визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів. У дослідженні стафілококів, які виділені з різних біотопів, визначено чутливість до антибіотиків: ципрофлоксацину, доксицикліну, гентаміцину, еритроміцину, оксациліну та левоміцетину. Дослідження проводили відповідно до Наказу МОЗ України №167 [5].

Ідентифікацію біоплівкоутворюючих стафілококів проводили за модифікованою методикою, візуально визначаючи здатність до біоплівкоутворення. У лунку 96-лункового стерильного імунологічного планшета (Sarstedt, Німеччина) вносили 200 мкл м'ясопептонного бульона (МПБ) та 50 мкл суспензії клітин культури досліджуваних ізолятів стафілококів, що містила 1×10^4 кл/мл. За біоплівкоутворенням спостерігали протягом 72 год. По закінченню інкубації залишки живильного середовища обережно відбирали шприцом. Якщо на стінках та дні лунок планшета залишалася біоплівка, то ізолят вважали біоплівкоутворюючим [7, 10].

Результати досліджень та їх обговорення. При обстеженні 97 осіб виділено та ідентифіковано 70 ізолятів стафілококів. З них 33 було визначено як коагулазопозитивні та 37 – як коагулазонегативні. Видова ідентифікація показала, що частота виявлення *S. aureus* становила – 47,1%, *S. haemolyticus* – 22,9%, *S. epidermidis* – 12,9%, *S. saprophyticus* – 11,4%, *S. capitis* – 5,7% (рис. 1).

Ізоляти стафілококів були виділені з різних біотопів та біологічних рідин осіб з підозрою на стафілококову інфекцію (рис. 2): найчастіше з крові – 24,3% та сечі – 18,6%, також з уретри та зіву – по 15,7%, зі шкіри – 11,4%, а найменше з носу – 8,6% та фекалій – 5,7%.

Вивчення чутливості стафілококів до антибіотиків (рис. 3) показало, що з досліджених ізолятів 33% були резистентними до різних антибіотиків. Серед коагулазопозитивних стафілококів визначалася висока стійкість до оксациліну – 45,5% ізолятів стійкі. До ципрофлоксацину стійкими були 24,2% ізолятів, до еритроміцину – 36,4%, до гентаміцину та доксицикліну – по 27,2%. Найбільшу чутливість визначено до левоміцетину – лише 21,2% ізолятів стійкі.

Серед коагулазонегативних стафілококів найбільше було стійких до оксациліну 56,8%. Також підвищену стійкість виявлено до ципрофлоксацину – 37,8% стійкі. Показники по доксицикліну та гентаміцину були близькими до таких у золотистого стафілокока – по 27% стійких, до левоміцетину – 21,6%. Серед

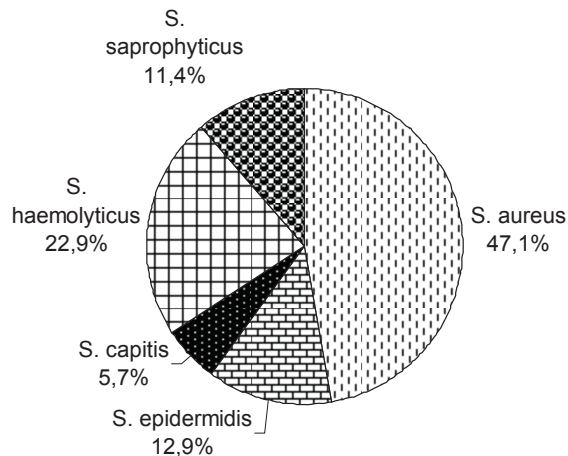


Рис. 1. Частота виявлення стафілококів різних видів.

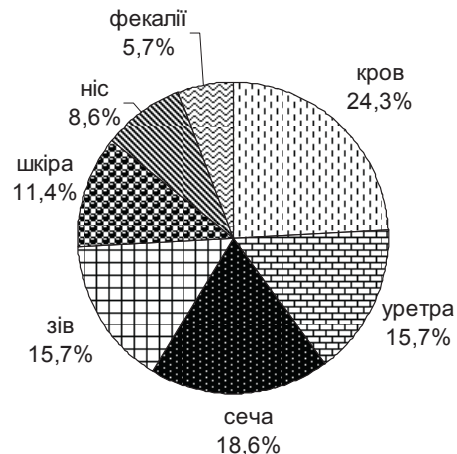


Рис. 2. Частота виявлення стафілококів з різних біотопів.

коагулазонегативних стафілококів взагалі не було виявлено стійких до еритроміцину.

Резистентність була індивідуальною і закономірностей між чутливістю до певного антибіотика не спостерігали.

Дослідження здатності до біоплівкоутворення показало, що через 72 години культивування біоплівку утворювали 18 ізолятів стафілококу (56,3%) з усіх виділених: з них 67% ізолятів були *S. aureus*, а 33% коагулазонегативні стафілококи.

Висновки. При обстеженні 97 осіб, виділено 70 ізолятів стафілококів, з різних біотопів, серед яких 47% ідентифіковані як *S. aureus* і 53% – як коагулазонегативні стафілококи.

Дослідження чутливості до антибіотиків виділених ізолятів показало, що найбільше резистентних ізолятів було до оксациліну, у *S. aureus* – 56,8%, а у коагулазонегативних стафілококів 45,5%.

З досліджених ізолятів стафілококів 18 були здатні до плівкоутворення. З них 67% належали до виду *S. aureus*, а інші були представлені коагулазонегативними стафілококами.

Перспективи подальших досліджень. Вивчення біоплівок викликає величезний інтерес дослідників, головним чином, у зв'язку з тим, що цей спосіб існування бактерій створює великі проблеми в медичній практиці. Здатність бактерій формувати біоплівки розглядається в даний час, як фактор їх патогенності. Стафілококи, що живуть усередині біоплівок,

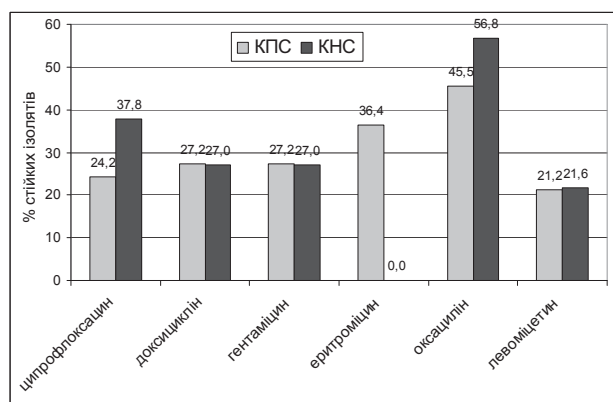


Рис. 3. Частота виявлення резистентних до антибіотиків ізолятів стафілококів.

порівняно з планктонною формою, проявляють значно вищу стійкість до антибіотиків та інших лікарських препаратів, що вкрай ускладнює боротьбу з інфекціями, викликаними різними стафілококами.

Вивчення екологічних закономірностей виникнення і розвитку стафілококових біоплівок є ключовим моментом подальшого розвитку медичної мікробіології. У зв'язку з цим пошук і вивчення речовин, які можуть пригнічувати утворення біоплівок і вбивати бактерії всередині біоплівок, є надзвичайно важливим і актуальним завданням антимікробної терапії.

Література

1. Бондаренко В.Н. Роль условно-патогенных бактерий при хронических воспалительных процессах различной локализации / В.Н. Бондаренко. – Тверь : Триада, 2011. – С. 88-90.
2. Гостев В.В. Бактериальные биопленки и инфекции / В.В. Гостев, С.В. Сидоренко // Журнал инфектол. – 2010. – № 2 (3). – С. 4-15.
3. Иванова Г.А. Про бактерии стафилококк / Г.А. Иванова. – Здоровье. – 2005. – № 8. – С. 18-20.
4. 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. – С. 44-54.
5. Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів». – Наказ МОЗ України №167 від 05.04.2007 р. – К. : МОЗ України, 2007. – 48 с.
6. Смирнова Т.А. Структурно-функциональная характеристика бактериальных биопленок / Т.А. Смирнова, Л.В. Диденко. Микробиология, 2010. – № 79 (4). – С. 435-446.
7. Тец В.В. Эффективность действия антибиотиков на бактерии в биопленках / В.В. Тец, Н.В. Заславская // ЖМЭИ. – 2005. – № 5. – С. 24-26.

8. Янковский Д.С. Микробная экология человека: современные возможности / Д.С. Янковский. – К. : Эксперт ЛТД, 2005. – 362 с.
9. Busetti A. Antibiofilm activity of the brown alga *halidrys siliquosa* against clinically relevant human pathogens / A. Busetti, T.P. Thompson, D. Tegazzini [et al.] // *Mar. Drugs*. – 2015. – Vol. 13 (6). – P. 3581-3605.
10. Hoiby N. Antibiotic resistance of bacterial biofilms / N. Hoiby, T. Bjarnsholt, M. Givskov [et al.] // *Int. J. of Antimic. Agents*. – 2010. – Vol. 35 (4). – P. 322-332.
11. Singh R. Penetration of antibiotics through *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms / R. Singh, P. Ray, A. Das [et al.] // *Antimicrob. Chemother.* – 2010. – Vol. 65. – P. 1955-1958.
12. Zarpellon M.N. Survival of oxacillin-intermediate *Staphylococcus aureus* on hospital surfaces / M.N. Zarpellon, A.C. Gales, A.L. Sasaki [et al.] // *J. Hosp. Infect.* – 2015. – pii: S0195-6701(15)00177-2.

УДК 579.864:616.1

АНТИБИОТИКОЧУТЛИВІСТЬ ТА БІОЛОГІЧНА ЗДАТНІСТЬ ДО УТВОРЕННЯ БІОПЛІВКИ У СТАФІЛОКОКІВ З РІЗНИХ БІОТОПІВ

Шкаруба А.Ю., Воронкова О.С., Вінніков А.І.

Резюме. Інфекційно-запальний процес, обумовлений надмірним розмноженням умовно-патогенних мікроорганізмів, може стати причиною погіршення загального стану здоров'я людини, що вказує на необхідність дослідження їх чинників. Метою роботи було провести детальне вивчення стафілококів з різних біотопів людини, дослідити їх здатність до біоплівкоутворення та визначити чутливість до різних груп антибіотиків.

У результаті дослідження встановлено, що у 70 з 97 випадків мав місце інфекційний процес, серед яких 47% виявились коагулазопозитивними та 53% коагулазонегативними. По дослідженню стафілококів на чутливість до антибіотиків: показано, що з 70 виділених ізолятів, 54% були чутливими до антибіотиків, а 46% були резистентними. Виявлено, що 18 ізолятів антибіотикорезистентних стафілококів здатні до плівкоутворення, з яких 67% відносяться до *S. aureus*.

Ключові слова: стафілокок, резистентність, бактеріологічні методи, антибіотики, біоплівка.

УДК 579.864:616.1

АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ СПОСОБНОСТЬ К ОБРАЗОВАНИЮ БИОПЛЕНКИ У СТАФИЛОКОККОВ С РАЗНЫХ БИОТОПОВ

Шкаруба А.Ю., Воронкова О.С., Винников А.И.

Резюме. Инфекционно-воспалительный процесс, обусловленный избыточным размножением условно-патогенных микроорганизмов, может стать причиной ухудшения общего состояния здоровья человека, указывает на необходимость исследования их факторов. Цель работы провести изучение стафилококков из разных биотопов человека, исследовать их способность к биопленкообразованию и определить чувствительность к различным группам антибиотиков.

В результате исследования установлено, что у 70 из 97 случаев имел место инфекционный процесс, среди которых 47% оказались коагулазоположительные и 53% коагулазоотрицательные. По исследованию стафилококков на чувствительность к антибиотикам: показано, что с 70 выделенных изолятов, 54% были чувствительны к антибиотикам, а 46% были резистентными. Выведено, что 18 изолятов антибиотикорезистентных стафилококков способны к пленкообразованию, из которых 67% относятся к *S. aureus*.

Ключевые слова: стафилококк, резистентность, бактериологические методы, антибиотики, биопленка.

UDC 579.864:616.1

SENSITIVITY TO ANTIBIOTICS AND ABILITY TO BIOFILMFORMATION OF STAPHYLOCOCCI, ISOLATED FROM DIFFERENT BIOTOPES

Shkaruba A.U., Voronkova O.S., Vinnikov A.I.

Abstract. Today, despite the widespread use of antibacterial drugs, infectious diseases and complications of various human diseases caused by microbial agents, still dominate. In the last decade, among the people of many countries, marked by the growth of infections, pneumonia, bronchitis, which occupy the first place in the structure of the therapeutic diseases are bacterial infections are the most common. Their frequency in the population between 30 and 80%.

More than 99% of bacterial populations in natural ecosystems are not as free-floating planktonic cells, and specifically organized in the form attached to the substrate biofilms, whose formation is a complex, tightly controlled biological process. The ability to form biofilms of *Staphylococcus* is part of the life cycle and successful strategy of protection from adverse environmental factors.

With biofilms infections associated chronic diseases, which are often caused by coagulase – positive and coagulase – negative staphylococci, is first of all *Staphylococcus aureus* and *S. epidermidis*.

Infectious-inflammatory process caused by excessive multiplication of opportunistic microorganisms can cause deterioration of the general state of health, indicating the need for studies of factors.

The aim was to conduct a detailed study of staphylococci from various human habitats, explore their ability to biofilm formation and determine the sensitivity of different groups of antibiotics.

The study found that 70 of the 97 cases occurred infectious process, among which 47% were coagulase positive staphylococci, namely *S. aureus* and 53% coagulase negative, including *S. saprophyticus* 22%, *S. epidermidis* 24%, *S. capitis* 11% and 43% of *S. haemolyticus*. For research on staphylococci sensitivity to antibiotics, shows that of the 70 isolates, 54% were sensitive to antibiotics, and 46% were resistant. Resistance was an individual and patterns between sensitivity to certain antibiotics was observed. However, you can determine that a stable coagulase positive and coagulase negative strains to oxacillin were mostly over 50% of strains, and found the greatest sensitivity to chloramphenicol: in *S. aureus* 21,4% strains among coagulase negative 0% to erythromycin. All this points to increasing tendency of evolutionary improvements in the survival of staphylococci. Found that 18 strains of antibiotic-resistant staphylococci are capable of film formation, of which 67% belong to *S. aureus*, and 33% coagulase negative staphylococci. 42% of *S. aureus* strains were resistant to one antibiotic, preferably to oxacillin, and 58% are resistant to two or more antibiotics, mainly to doxycycline, oxacillin and gentamicin. The possibility of exchange of properties between different strains of staphylococci in biofilm, which differ in resistance to antibiotics, which increases the viability of each of these species.

Keywords: staphylococci, resistance, bacteriological techniques, antibiotics, biofilm.

Рецензент – проф. Лобань Г.А.

Стаття надійшла 01.06.2015 р.