

otics significantly changes the “microbial landscape” of the gastrointestinal tract, often causing clinically significant consequences (pain syndrome, diarrhea). Under the term “intestinal dysbiosis” understand the qualitative and quantitative changes characteristic of the human microflora, which entails a pronounced clinical response of the macroorganism or is a consequence of any pathological processes in the body. The aim of the research was to investigate the human intestinal microflora during dysbiotic disorders and to identify the ability of isolated microorganisms to biofilm formation. The object of the study was the violation of human intestinal microbiocenosis and the ability of isolated strains to biofilm formation. The research was done on the basis of the Laboratory of Microbiology and Immunology of the State Research Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine in the city of Dnipro. Investigated strains were isolated from the material (feces) from person with suspected dysbiosis. A total of 44 samples of material were investigated. There were isolated 28 (64%) isolates of *Staphylococcus aureus*; 7 (16%) isolates of *Esherichia coli*; 5 (11%) isolates of *Klebsiella spp.*; 4 (9%) isolates of *Proteus spp.* The largest number of strains is grafted to *S. aureus*, therefore, for further investigation, 28 clinical isolates were used. The ability of strains of *S. aureus* to biofilm formation was investigated. The 86% of all isolates of staphylococci were film-forming, 14% were planktonic forms. At the next stage, a study was carried out to determine the sensitivity of isolated *S. aureus* isolates to antibiotic drugs by the disc-diffusion method. According to the results of the study, the sensitivity of isolated *S. aureus* strains they were susceptible to vancomycin – 92.85%, cefuroxime – 78.57%, rifampicin – 71.4%, azithromycin – 28.57% and tetracycline – 0%. Given the belief that only bacteriological studies with suspicion of dysbiosis may not be sufficient, additional markers should be sought, including among the biological properties of microorganisms that may be associated with an increased risk of dysbiosis. First of all, it is a question of studying the adhesive properties and the ability of microorganisms to biofilm formation, which may be associated with an increase in their pathogenetic properties.

**Keywords:** dysbiosis, conditionally pathogenic microorganisms, biofilm, sensitivity to antibiotics.

Рецензент – проф. Лобань Г. А.

Стаття надійшла 11.11.2017 року

DOI 10.29254/2077-4214-2017-4-3-141-272-276

УДК: 579.61

\*Руденко А. Ю., Голодок Л. П., Вінніков А. І.

### БІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СТАФІЛОКОКІВ, ВИДІЛЕНИХ З ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ ЛЮДИНИ

\*Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара (м. Дніпро)

Дніпровська клінічна лікарня на залізничному транспорті

філія «Центру Охорони Здоров'я» ПАТ «Укр. Залізниця» (м. Дніпро)

rudenchixa24@ukr.net

Роботу виконано у межах держбюджетної теми № 1-294-15 «Структурно-функціональні властивості природних мікробіоценозів та механізми біологічної дії мікробних препаратів», що виконується на кафедрі мікробіології, вірусології та біотехнології Дніпровського національного університету ім. Олеся Гончара.

**Вступ.** Запальні захворювання дихальних шляхів відносяться до найбільш розповсюджених захворювань, в середньому на них страждає не менше 75% людей. Верхні дихальні шляхи є найважливішими вхідними воротами для патогенних мікроорганізмів, що викликають інфекції верхніх та нижніх відділів респіраторного тракту.

Інфекції верхніх дихальних шляхів – широко поширені. До них відносять: риніт, фарингіт, гайморит, трахеїт, синусити та багато інших. Ці захворювання носять сезонний характер, найчастіше вони виникають восени, взимку та навесні [6].

Слизова оболонка гортані, трахеї, бронхів і всіх нижчих відділів зберігається стерильною завдяки

активності їх епітелію, макрофагів, а також продукції секреторного імуноглобуліну А [5].

Дослідження біологічних властивостей кокової мікрофлори дихальних шляхів людини виявили, що стафілококи являються найчастішими представниками. Через свою поширеність і легкість передачі вони часто викликають бактеріальні захворювання верхніх дихальних шляхів.

Боротьба із стафілококовими хворобами ускладнена у зв'язку з широким розповсюдженням стафілокока серед населення і в оточуючому людину середовищі. Епідеміологічно небезпечними є особливо ті носії, у яких постійно і тривалий час виявляється один і той же фаготип стафілокока [3].

Стафілокок відноситься до досить невибагливих мікроорганізмів, легко пристосовується до умов зовнішнього середовища, відносно швидко набуває стійкості до антибіотиків та інших лікувальних препаратів, зберігаючи при цьому свої вірулентні властивості [1,4].

Здатність до утворення плівок штамми патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів лежить у основі збільшення антибіотикорезистентності. До того ж у складі плівки бактерії набувають більшої стійкості до умов довкілля [8,9].

**Мета дослідження** – виділення і вивчення біологічних особливостей стафілококів при запальних інфекціях дихальних шляхів людини та їх здатність до біоплівкоутворення.

Для досягнення цієї мети вирішувались такі задачі:

- виділити та ідентифікувати стафілококи, отримані від пацієнтів з інфекціями дихальних шляхів.
- визначити етіологічну роль стафілококів при інфекційних захворюваннях верхніх і нижніх дихальних шляхів.
- визначити чутливість виділених умовно – патогенних стафілококів до антибактеріальних препаратів.
- дослідити здатність до біоплівкоутворення виділених ізолятів стафілококів.

**Об'єкт і методи дослідження.** В експериментальному дослідженні був проведений аналіз біологічних особливостей стафілококів, виділених з верхніх та нижніх дихальних шляхів людини.

Для мікробіологічного аналізу нами було отримано мікробіологічний матеріал від 50 осіб різного віку і статі із захворюваннями дихальних шляхів. Посів біологічного матеріалу проводився на середовища Кров'яний агар, Чистовича та Сабуро. Чашки поміщали до термостату при 37°C на 24 год. Колонії, схожі на стафілококові, мікроскопували та ідентифікували. Стафілококи розкладають ряд вуглеводів з утворенням кислоти: глюкозу, лактозу, маніт, сахарозу, мальтозу, утворюють на живильному субстраті сірководень, відновлюють нітрати в нітрити, розріджують желатин.

До токсичних субстанцій відносяться виділені стафілококами ферменти агресії: плазмокоагулаза, що викликає згортання плазми крові; гіалуронидаза, що розщеплює гіалуронову кислоту, яка входить до складу основної речовини сполучної тканини; фібринолізин, що розчиняє фібрин; фосфатаза. Крім того, встановлено, що патогенні властивості стафілококів пов'язані зі здатністю їх продукувати дезоксирибонуклеазу (ДНК-азу), лецитівітеллазу, ліпазу, лізоцим.

Визначили чутливість виділених стафілококів до антибіотиків диско-дифузійним методом та вивчали здатність стафілококів утворювати біоплівку методом культивування бактеріальних клітин у 96 – луночних пластикових планшетах [4].

**Результати дослідження та їх обговорення.** Нами було досліджено мікробіологічний матеріал верхніх та нижніх дихальних шляхів 50 осіб, які знаходилися на стаціонарному ліку-

ванні в Дніпровській клінічній лікарні на залізничному транспорті філія «Центру Охорони Здоров'я» ПАТ «Укр. Залізниця».

Проведена міжвидова диференціація стафілококів. За її результатами всі штамми *S. aureus* коагулюють плазму крові, жодний зі штамів *S. epidermidis* та *S. saprophyticus* не дали позитивних результатів у цьому тесті. *S. epidermidis* виявляли гемолітичну та ліпазну активності, а лецитиназну активність спостерігали у 80% штамів. Ліпазу та лецитиназу виявлено як серед ізолятів золотистих та сапрофітних стафілококів. Серед штамів *S. aureus* 75% проявили обидва типи активності. Позитивну реакцію на ферментацію маніту мали штамми *S. aureus* та *S. saprophyticus*.

За результатами обстеження був проведений відсотковий аналіз виділених видів стафілококів (рис. 1).



Рис. 1. Відсоткове співвідношення різних видів стафілококів виділених з дихальних шляхів людини.

При дослідженні мікробіологічного матеріалу від пацієнтів, у яких діагностували захворювання дихальних шляхів, встановлено що більшість виділених стафілококів відносяться до *S. aureus*, що складає – 54%, 34% – *S. epidermidis*, 12% – *S. saprophyticus*.

В ході дослідження нами був проведений аналіз відсоткового співвідношення хворих з захворюваннями верхніх та нижніх дихальних шляхів.

Від осіб з запальними захворюваннями дихальних шляхів 80% хворих мають інфекції верхніх дихальних шляхів, а 20% з захворюваннями нижніх дихальних шляхів.

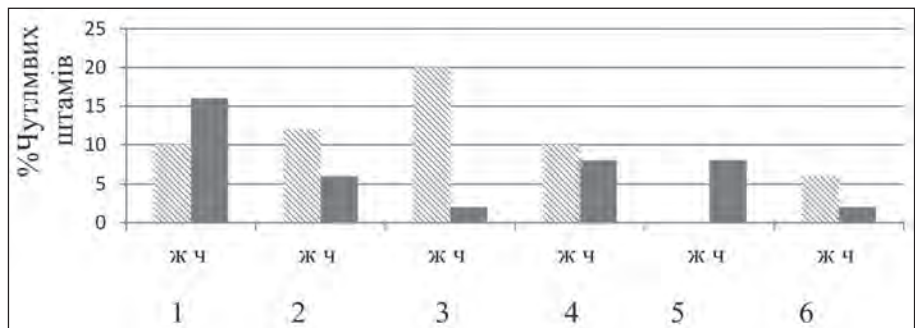


Рис. 2. Частота виявлення стафілококів виділених з дихальних шляхів пацієнтів різного віку та статі.

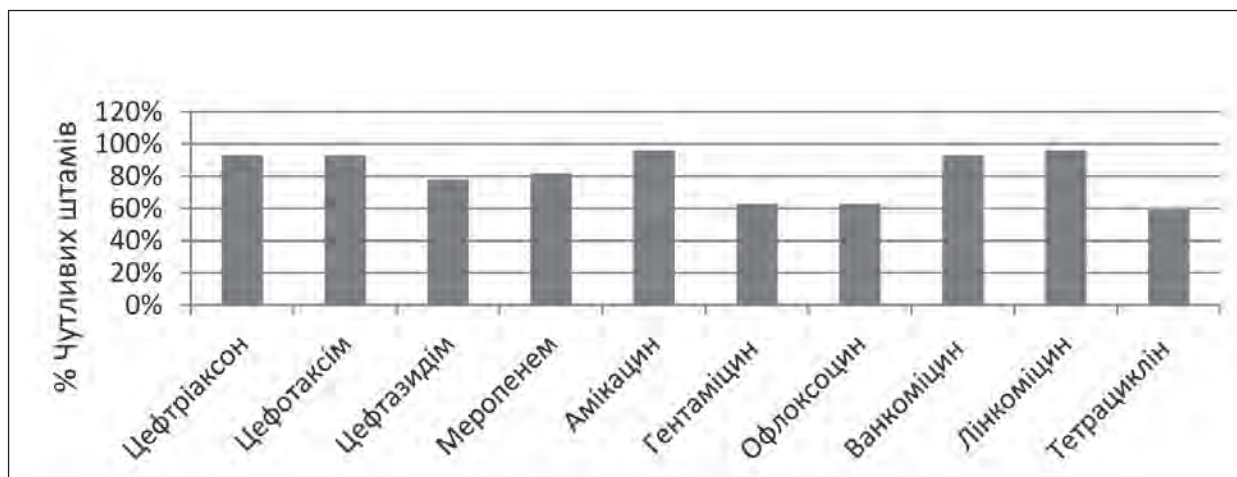


Рис. 3. Чутливість виділених штамів *S. aureus* до антибіотиків.

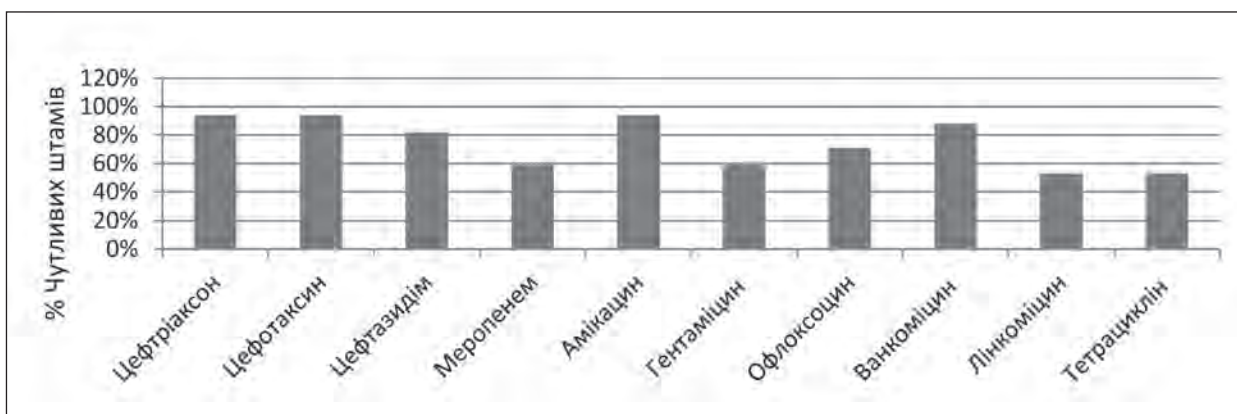


Рис. 4. Чутливість виділених штамів *S. epidermidis* до антибіотиків.

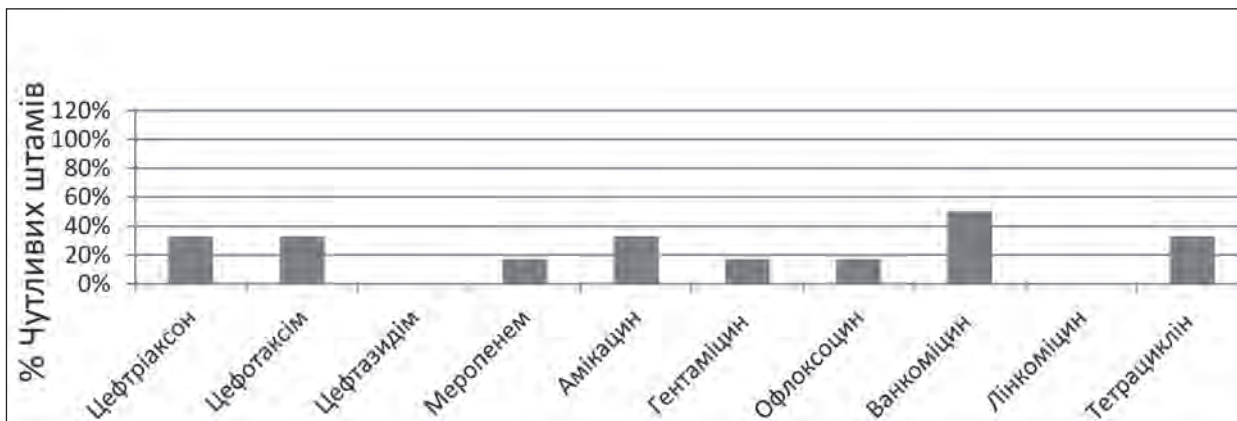


Рис. 5. Чутливість *S. saprophyticus* до антибіотиків.

В ході дослідження ми розділили всіх хворих по віку та статі (рис. 2).

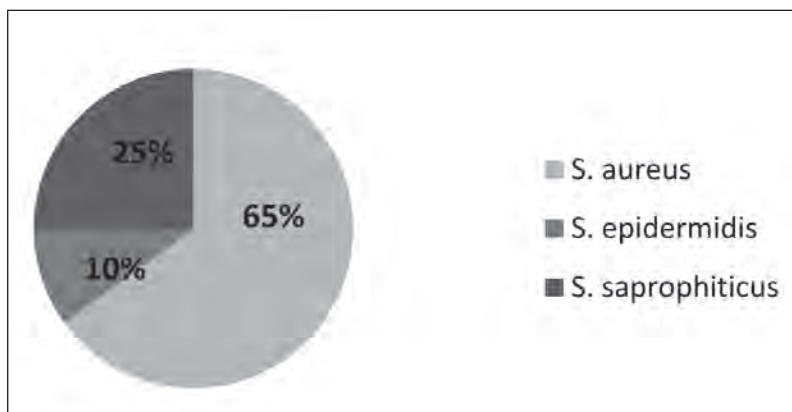
Встановлено, що чоловіки найчастіше хворіють запальними захворюваннями дихальних шляхів у віці 20-30 років. Це пов'язано з важкими умовами праці з якими зустрічаються молоді люди після закінчення ВУЗів. Найменш часто чоловіки хворіють у віці 40-50 та 70-80 років.

Жінки найчастіше хворіють у віці 40-50 років. Це може бути пов'язано з віковим зниженням імунітету,

хронізацією інфекції. Найменш часто хворіють жінки у віці 70-80 років.

Для дослідження антибіотикочутливості виділених штамів стафілококів було використано такі антибіотики: амікацин, цефотаксим, цефтріаксон, офлоксацин, тетрациклін, цефтазидим, меропенем, ванкоміцин, лінкоміцин, гентаміцин.

У ході дослідження було встановлено, що ізоляти *S. aureus* найбільш чутливі до цефтріаксону, цефотаксиму, ванкоміцину – 93%, амікацину та лінкоміцину



**Рис. 6.** Відсоток співвідношення здатності до плівкоутворення різних видів стафілококів.

– 96%. Менш чутливими виділені штами були до меропенему – 82%, цефтазидиму – 73%, гентаміцину – 63%, офлоксацину – 63% та тетрацикліну – 59% (**рис. 3**).

Виділені штами *S. epidermidis* показали високу чутливість до цефтріаксону, цефотаксиму, амікацину – 94%, ванкоміцину та цефтазидиму – 88%. Менш чутливими виділені штами були до меропенему та гентаміцину – 59%, лінкоміцину та тетрацикліну – 53%, офлоксацину – 71% (**рис. 4**).

Виділені штами *S. saprophyticus* були малочутливими до антибіотиків, так як в основному вони були в асоціації з грибами *Candida albicans*, а саме – 50% стафілококів. Тому ми отримали такі низькі показники антибіотикочутливості: ванкоміцин – 50%, цефтріаксон, цефотаксим, амікацин, тетрациклін – 33%. *S. saprophyticus* показав резистентність до цефтазидиму та лінкоміцину (**рис. 5**).

Таким чином, в результаті проведеної роботи встановлено, що найбільш ефективними антибіотичними препаратами відносно умовно – патогенних і патогенних штамів стафілококів є цефтріаксон, цефотаксим, амікацин та ванкоміцин, тому їх можна рекомендувати у клінічній практиці для лікування інфекційних захворювань верхніх та нижніх дихальних шляхів, викликаних стафілококами. Ефективність цих препаратів може бути підтверджена й іншими авторами [6].

На наступному етапі нами було досліджено здатність до біоплівкоутворення антибіотикорезистентних стафілококів. Показано, наявність плівкоутворення у 20 штамів з 50 досліджуваних.

Серед всіх виділених штамів стафілококів найбільше плівкоутворення було у коагулазопозитивних стафілококів, коагулазонегативні теж проявляли здатність до біоплівкоутворення, але в меншому обсязі (**рис. 6**).

З **рисунка 6** видно, що найбільша здатність до біоплівкоутворення проявлялась у *S. aureus* – 65%. Результати наших досліджень співпадають з дослідженнями інших авторів. А саме в досліджах Воронкової О.С. та співавторів встановлено, що 61,5% *S. aureus* здатні до плівкоутворення [2]. Серед коагулазонегативних стафілококів *S. epidermidis* – 10%, *S. saprophyticus* – 25% утворюють біоплівки.

Висновки. За результатами дослідження серед виділених ізолятів стафілококів найчастіше зустрічаються *S. aureus*, що складає – 54%.

Найбільш ефективними антибіотичними препаратами відносно умовно – патогенних і патогенних штамів стафілококів є цефтріаксон, цефотаксим, амікацин та ванкоміцин, тому їх можна рекомендувати у клінічній практиці для лікування інфекційних захворювань верхніх та нижніх дихальних шляхів, викликаних стафілококами.

Виявлено 20 штамів антибіотикорезистентних стафілококів здатних до біоплівкоутворення, з яких 65% відносяться до *Staphylococcus aureus*.

**Перспективи подальших досліджень.** Отримані експериментальні дослідження представляють практичний інтерес, оскільки отримані дані можуть бути використані для подальшого аналізу патогенної та умовно – патогенної мікрофлори дихальних шляхів та розробки засобів для їх лікування. Отже, вивчення моніторингу розповсюдження біоплівкоутворюючих штамів мікроорганізмів та терапії інфекцій, викликаних ними, є одним з важливих питань сучасних медицини та біології.

## Література

1. Avdeeva L.V. Antibiotikoresistentnist problemnuh vudiv mikroorganizmiv / L.V. Avdeeva, V.G. Voichevovski, O.V. Pruhodko // Aktualnie problemy medicine i biologii. – 2007. – № 2. – S. 48-68.
2. Voronkova O.S. Fagotip i chutlivist do antibiotikov plivkovtvirnih shtamiv Staphylococcus aureus, vidilениh iz lihalnih shlahiv / O.S. Voronkova, O.A. Sirokvsha, T.M. Shevchenko, A.I. Vinnikov // Visnik Dnipropetrovskogo universitetu. Biologia, medicina. – 2014. – № 5 (2). – S. 90-93.
3. Deryabin D.G. Stafilokoki: ekologiya i patogennost / D.G. Deryabin. – Ekatiirenburg, 2000. – 240 s.
4. Gel F. Vid antibiotikogrami do receptu / F. Gel, M. Shomara, M. Ueber. – K.: Logos, 2007. – S. 87-89.
5. Infekcionnie bolezni i epidemiologia / V.I. Pokrovski, S.G. Pak, N.I. Briko, K. Danilkin. – M. GEOTAR – Media, 2007. – 816 s.
6. Nazarchuk O.A. Chutlivist klinichnih shtamiv Staphylococcus aureus do antibakterialnih preparativ / O.A. Nazarchuk, G.G. Nazarchuk, D.V. Paliy, V.V. Suhlyak // Ukrainian medical journal. – 2012. – № 3 (89). – V/VI.
7. Sidashenko O.I. Bioplivka yak osobлива forma organizacii bakteriy ta ii rol v infekciynih procesah / O.I. Sidashenko, O.S. Voronkova, O.A. Sirokvsha, A.I. Vinnikov // Visnik problem biologii i medicine. – 2013. – Vyp. 3, Tom 2 (103). S. 36-41.
8. Chaignon P. Susceptibility of Staphylococcal biofilms to enzymatic treatments depends on their chemical composition / P. Chaignon, I. Sadovskaya, Ch. Ragunah // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2010. – № 75 (1). – P. 125-132.
9. Hoibiyi N. Antibiotic resistance of bacterial biofilms / N. Hoibiyi // Int. of Antimic agents. – 2010. – № 35. – P. 322-332.

## БІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СТАФІЛОКОКІВ, ВИДІЛЕНИХ З ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ ЛЮДИНИ

Руденко А. Ю., Голодок Л. П., Вінніков А. І.

**Резюме.** Виділено, ідентифіковано та проведено аналіз патогенно та умовно патогенних стафілококів верхніх та нижніх дихальних шляхів людей у 50 осіб різної статі та віку від 20 до 80 років. Етіологічним агентом при запальних захворюваннях дихальних шляхів є *S. aureus*. Одержані в ході роботи результати показують різну вікову схильність чоловіків і жінок до захворювань викликаних стафілококами. Висока чутливість досліджуваних штамів до ряду антибіотиків, а саме цефтріаксон, цефотаксим, амикацин та ванкомицин та досліджена здатність стафілококів до плівкоутворення. Отримані експериментальні дослідження представляють практичний інтерес, оскільки отримані дані можуть бути використані для подальшого аналізу патогенної та умовно – патогенної мікрофлори дихальних шляхів та розробки засобів для їх лікування.

**Ключові слова:** умовно – патогенна мікрофлора, антибіотики, біоплівка.

## БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СТАФИЛОКОКОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ ЧЕЛОВЕКА

Руденко А. Ю., Голодок Л. П., Винников А. И.

**Резюме.** Выделены, идентифицированы и проведен анализ патогенной и условно патогенных стафилококков верхних и нижних дыхательных путей людей у 50 человек разного пола и возраста от 20 до 80 лет. Этиологическим агентом при воспалительных заболеваниях дыхательных путей является *S. aureus*. Полученные в ходе работы результаты показывают разную возрастную склонность мужчин и женщин к заболеваниям вызванных стафилококками. Высокая чувствительность исследуемых штаммов к ряду антибиотиков, а именно цефтриаксон, цефотаксим, амикацин и ванкомицин и исследована способность стафилококков к пленкообразованию. Полученные экспериментальные исследования представляют практический интерес, поскольку полученные данные могут быть использованы для дальнейшего анализа патогенной и условно – патогенной микрофлоры дыхательных путей и разработки средств для их лечения.

**Ключевые слова:** условно – патогенная микрофлора, антибиотики, биопленка.

## BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF STAFILOCOCCALS RESULTING FROM HUMAN RESOURCES

Rudenko A. Y., Holodok L. P., Vinnikov A. I.

**Abstract.** Infections of the upper respiratory tract – are widespread. These include: rhinitis, pharyngitis, sinusitis, tracheitis, sinusitis and many others. These diseases are seasonal in nature, most often they occur in the fall, winter and spring. The mucous membrane of the larynx, trachea, bronchi and all lower divisions remains sterile due to the activity of their epithelium, macrophages, and also the production of secretory immunoglobulin A. Studies of the biological properties of the coccal microflora of the respiratory tract of human have found that staphylococci are the most frequent representatives. Because of their prevalence and ease of transmission, they often cause bacterial diseases of the upper respiratory tract. The fight against staphylococcal disease is complicated due to the widespread spread of staphylococci among the population and the environment in the environment. The study identified, identified and analyzed the pathogenic and opportunistic staphylococci of the upper and lower respiratory tract of people in 50 people of different sex and age from 20 to 80 years. From persons with inflammatory diseases of the respiratory tract, 80% of the patients have upper respiratory tract infections, and 20% with diseases of the lower respiratory tract. Interspecific differentiation of staphylococci has been performed. The etiologic agent for inflammatory diseases of the respiratory tract is *S. aureus*. The results obtained during the work show a different age inclination of men and women to diseases caused by staphylococci. Men are more likely to suffer from inflammatory diseases of the respiratory tract at the age of 20-30 years, and women are more often ill at the age of 40-50 years. The high sensitivity of the isolated strains to a number of antibiotics, namely ceftriaxone, cefotaxime, amikacin and vancomycin, was revealed, and the ability of staphylococci to film formation was investigated. Among all strains isolated from staphylococci, the largest formation was *S. aureus*, namely 65%. *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* also showed the ability to biofilm formation, but to a lesser extent. The ability to form films by strains of pathogenic and opportunistic microorganisms underlies the increase in antibiotic resistance. In addition, the composition of the film bacteria become more resistant to environmental conditions. The experimental studies received are of practical interest since the data obtained can be used for further analysis of the pathogenic and opportunistic microflora of the respiratory tract and the development of means for their treatment.

**Keywords:** conditionally pathogenic microflora, antibiotics, biofilm.

Рецензент – проф. Лобань Г. А.

Стаття надійшла 10.11.2017 року