

АДГЕЗИВНІ ВЛАСТИВОСТІ ШТАМІВ *Staphylococcus aureus*, ВИДІЛЕНИХ З РІЗНИХ ЕКОНІШ

ДУ «Інститут мікробіології і імунології ім. І. І. Мечникова
Національної академії медичних наук України» (м. Харків)

Робота виконана в рамках планової НДР лабораторії поживних середовищ та біохімії мікроорганізмів ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України», НАМН 122/2014 «Розробка інгібіторів антибіотикорезистентності мікроорганізмів».

Вступ. На сучасному етапі етіологічна значимість умовно-патогенних мікроорганізмів, виділених з клінічного матеріалу, значно пов'язана з наявністю у даної групи мікроорганізмів чинників патогенності (ЧП). Одним з ведучих ЧП є чинники адгезії, які відповідають за початкову стадію інфекційного процесу, тобто прикріплення мікроорганізмів до відповідних клітин макроорганізму [5]. На адгезію впливають як неспецифічні (в основному фізико-хімічні), так і специфічні чинники, наприклад, ліганд-рецепторні взаємодії. Багато видів бактерій мають спеціалізовані структури, які забезпечують адгезію, – це адгезини. У грампозитивних бактерій вони представлені білками клітинної стінки, ліпотейхоєвими кислотами [9, 10]. Адгезія бактерій відбувається на певних ділянках клітини – рецепторах, які мають білкову або вуглеводну природу, і носять видоспецифічній і тканинспецифічний характер [7].

Значення адгезивних характеристик бактерій для макроорганізму може розцінюватися з двох позицій. З одного боку, адгезивний потенціал індигенної мікрофлори є одним з показників реалізації колонізаційної резистентності епітеліальної тканини макроорганізму, з іншого, при дисбіотичних порушеннях, адгезивні властивості опортуністичної мікрофлори розглядають в якості ролі показника патогенності, оскільки вони дозволяють мікроорганізмам закріпитися на поверхні шкіри, слизових оболонок і колонізувати цей біотоп, що дозволяє досягти певного популяційного рівня [4]. Згідно з даними літератури процес адгезії бактерій до поверхні є одним із перших етапів у формуванні біоплівки. Відомо, що агресивність штамів залежить від ступеня патогенності та вірулентності. Адгезія мікроорганізмів – один із факторів їх вірулентності, який визначає перший етап колонізації субстратів [6, 8].

Staphylococcus aureus є мікроорганізмом з універсальним розповсюдженням, який грає провідну роль при виникненні позагоспітальних гнійно-запальних захворювань різної локалізації і займає лідируючі позиції в етіологічній структурі нозокоміальних інфекцій. Він колонізує і вражає багато органів

і тканини, демонструючи при цьому широкий діапазон адаптаційних можливостей [1, 2, 11].

Мета роботи – вивчити адгезивні властивості клінічних ізолятів *S. aureus*, виділених з різних еко-ніш багатопрофільного стаціонару.

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктом дослідження були 323 штами *S. aureus*, з них 216 ізольовані з клінічного матеріалу від хворих, що знаходяться на лікуванні у багатопрофільному стаціонарі (сеча, відокремлюване верхніх дихальних шляхів, трофічних виразок нижніх кінцівок, вуха, очей), 62 штами, виділені з об'єктів зовнішнього середовища багатопрофільного стаціонару (повітря маніпуляційних, змиви з поверхонь) і 45 штамів, ізольованих з носоглотки медичного персоналу багатопрофільного стаціонару.

Виділення і ідентифікацію штамів *S. aureus* здійснювали бактеріологічним методом на підставі вивчення культуральних, біохімічних і морфологічних властивостей мікроорганізмів відповідно до нормативних документів [9].

Вивчення адгезивної активності штамів *S. aureus* проводили згідно з методикою В. І. Бріліс [3]. Для цього використовували формалізовані еритроцити людини I (0) групи крові Rh +. Для постановки дослідження на предметне скло наносили суспензію досліджуваної культури в буферному розчині, яку змішували з еритроцитами, і після інкубації в термостаті протягом 30 хв при 37 °С, суміш фіксували і забарвлювали за методом Романовського-Гімзи. Реєстрацію адгезивних властивостей мікробів проводили під світловим мікроскопом, підрахунок вели на 50 еритроцитах в одному полі зору. При оцінці адгезивних властивостей використовували наступні критерії: середній показник адгезії (СПА), коефіцієнт адгезії (КА) і індекс адгезивності мікроорганізмів (ІАМ). Мікроорганізм вважають неадгезивним при ІАМ – 1,75; низькоадгезивним – при ІАМ від 1,76 до 2,5; середньоадгезивним – при ІАМ від 2,51 до 4,0; і високоадгезивним – при ІАМ більше 4,0.

Дослідження проводили в трьох повтореннях. Всі отримані результати підлягали статистичній обробці загальноприйнятими методами статистики з використанням значень середньої арифметичної (М), помилки середньої арифметичної (m), рівня значущості (p). Статистичну обробку експериментальних даних проводили за допомогою комп'ютерної програми Statistica 6.0.

Таблиця
Рівень адгезивності штамів *S. aureus*,
виділених з різних еконіш

Показники адгезії	Еконіша вилучення штамів <i>S. aureus</i>		
	Клінічний матеріал від пацієнтів (n=216), M±m	Об'єкти зовнішнього середовища (n=62), M±m	Мед-персонал (n=45), M±m
СПА	2,5 ±0,3	4,8±0,1	3,4±0,4
КА, %	80,1	86,3	91,5
IAM	3,8±0,5	6,4±0,6	5,3±0,3

Результати досліджень та їх обговорення.

Результати вивчення адгезивної активності виділених штамів *S. aureus* узагальнені і представлені в таблиці.

Приведені данні свідчать, що всі досліджувані культури *S. aureus* проявляли в основному високу і середню адгезивну властивість реагувати з клітинами людини. Неадгезивні штами *S. aureus* з даних біотопів не були виділені.

Слід зазначити, що діапазон коливання показника IAM у штамів *S. aureus*, ізолюваних від пацієнтів, знаходився в межах від 1,8 до 5,1; при цьому 42,3% штамів були середньоадгезивними, 35,5% – високоадгезивними, останні 22,2% – низькоадгезивними.

Показник IAM у штамів *S. aureus*, ізолюваних з госпітальних об'єктів, знаходився в межах 2,3 до 6,7. Кількість низькоадгезивних штамів склала 14,5%, середньоадгезивних – 48,4%, високоадгезивних -37,1%.

Показник IAM у ізолятів *S. aureus* з носоглотки медперсоналу знаходився в межах від 2,0 до 7,2. Низькоадгезивні штами склали 11,1%,

середньоадгезивні – 62,2%, високоадгезивні – 26,7%.

Середній рівень показника IAM штамів, виділених з об'єктів зовнішнього середовища, в 1,7 рази перевищував аналогічний показник штамів, виділених з клінічного матеріалу від пацієнтів, і в 1,2 рази – IAM штамів, виділених від медперсоналу (p<0,05).

Найвищий показник СПА було відмічено у штамів, вилучених з госпітальних об'єктів, середній рівень показника СПА у даних ізолятів, в 1,9 раз перевищував аналогічний показник штамів, виділених з клінічного матеріалу від пацієнтів, і в 1,4 рази – СПА штамів, виділених від медперсоналу (p<0,05).

Статистичної різниці між штамами з різних еконіш за коефіцієнтом адгезії не виявлено.

Наші дослідження показали, що серед виділених штамів з високою адгезивністю достовірно переважають штами, ізолювані з об'єктів зовнішнього середовища. Дійсно, згідно з цим положенням високу адгезивність *S. aureus* можна вважати одним з чинників патогенності при персистенції даного патогена у зовнішньому середовищі, що є першим етапом утворення біоплівки на госпітальних об'єктах.

Висновки.

1. Штами *S. aureus* виділені з різних еконіш мають різні адгезивні властивості.

2. Виявлено, що серед виділених *S. aureus* з високою адгезивною здатністю достовірно переважають штами, ізолювані з об'єктів зовнішнього середовища, тому даний показник можна вважати одним з чинників персистенції.

Перспективність подальшої роботи полягає у вивченні інших персистентних характеристик ізолятів *S. aureus*, у т. ч. біоплівкоутворення. Результати цих досліджень можуть бути використані для постійного моніторингу інфекцій, етіологічним чинником яких виступає *S. aureus*.

Література

- Акатов А. К. Стафилококки / А. К. Акатов, В. С. Зуева. – М.: Медицина, 1983. – С. 256.
- Бирюкова С. В. Адгезивный потенциал *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans*, выделенных из экссудата слюнных желез под влиянием озонирования [Электронный ресурс] / С. В. Бирюкова, Г. М. Большакова // Анали Мечниковського Інституту. – 2006. – №2. – С. 17-21. Режим доступу: www.imiamn.org.ua/journal.htm.
- Брилис В. И. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов / В. И. Бриллис, Т. Бриллис, Х. Ленцнер [и др.] // Лабор. дело. – 1986. – №4. – С. 210 – 212.
- Бухарин О. . Инфекция – модельная система ассоциативного симбиоза / О. В. Бухарин // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2009 – № 1. – С. 83-86.
- Войда Ю. В. Адгезивные свойства гемолитических эшерихий, выделенных из разных биотопов человека / Ю. В. Войда // Проблеми безпервної медичної освіти та науки. – 2012. – № 1. – С. 86-89.
- Мінухін В. В. Адгезивні властивості асоціації *Candida albicans* і *Staphylococcus aureus* / В. В. Мінухін, О. В. Кочнева, С. М. Граматюк, М. П. Сухомлин // Вісник проблем біології і медицини. – 2013 – Вип. 2 (100). – С. 89-91.
- Мироненко Л. Г. Адгезивні властивості ентерококів, ізолюваних від хворих на нейрохірургічну патологію / Л. Г. Мироненко, О. Г. Перетятко, І. С. Великий // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – Вип. 4, Т. 1 (96). – С. 180-183.
- Покришко А. О. Мікрофлора ротоглотки хворих на ГРВІ та адгезивні властивості деяких її представників / А. О. Покришко // Тези доповідей «Стратегія і тактика боротьби з інфекційними захворюваннями». – Харків, 17- 18 жовтня 2012 р. – С. 89.
- Приказ МЗ СССР «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», №535 от 22 апреля 1985.
- Шубчинский В. В. Адгезивні властивості ліпополісахаридів *Pragia fontium* / В. В. Шубчинский, Л. Д. Варбанець // Мікробіологічний журнал. – 2009. – Т. 71, №2. – С. 27-34.
- Temporal Expression of Adhesion Factors and Activity of Global Regulators during Establishment of *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization Downloaded [Электронный ресурс]: by guest on November, 1, 2013. Режим доступу: http://jid.oxfordjournals.org.

УДК 616:579. 61

АДГЕЗИВНІ ВЛАСТИВОСТІ ШТАМІВ *Staphylococcus aureus*, ВИДІЛЕНИХ З РІЗНИХ ЕКОНИШ

Пономаренко С. В., Осолодченко Т. П., Порт О. В., Менкус О. В.

Резюме. *Staphylococcus aureus* є мікроорганізмом з убіквітарним розповсюдженням, який грає провідну роль при виникненні позагоспітальних гнійно-запальних захворювань різної локалізації і займає лідируючі позиції в етіологічній структурі нозокоміальних інфекцій. Більшість з цих інфекцій протікають з утворенням біоплівки, першим етапом формування яких є адгезія мікроорганізмів до поверхні. Цей процес визначає ступінь патогенності штамів. Наші дослідження показали, що серед виділених штамів з високою адгезивністю достовірно переважають штами, ізольовані з об'єктів зовнішнього середовища – середній рівень показника ІАМ яких, склав $4,8 \pm 0,1$.

Ключові слова: *Staphylococcus aureus*, адгезія, клінічні ізоляти, об'єкти зовнішнього середовища стаціонару.

УДК 616:579. 61

АДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА ШТАММОВ *Staphylococcus aureus*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ЭКОНИШ

Пономаренко С. В., Осолодченко Т. П., Порт О. В., Менкус О. В.

Резюме. *Staphylococcus aureus* является микроорганизмом с убикуитарным распространением, который играет ведущую роль при возникновении внегоспитальных гнойно-воспалительных заболеваний различной локализации и занимает лидирующие позиции в этиологической структуре нозокомиальных инфекций. Большинство из этих инфекций протекают с образованием биоплёнок, первым этапом формирования которых является адгезия микроорганизмов к поверхности. Этот процесс определяет степень патогенности штаммов. Наши исследования показали, что среди выделенных штаммов с высокой адгезивностью достоверно преобладают штаммы, изолированные из объектов внешней среды – средний уровень показателя ИАМ которых составил $4,8 \pm 0,1$.

Ключевые слова: *Staphylococcus aureus*, адгезия, клинические изоляты, объекты внешней среды стационара.

UDC 616:579. 61

Adhesive Properties of *Staphylococcus aureus* Strains, Isolated from Different Ecological Niches

Ponomarenko S. V., Osolodchenko T. P., Port O. V., Menkus O. V.

Abstract. Nowadays etiological significance of opportunistic pathogenic microorganisms, isolated from clinical material, significantly associated with the presence of pathogenicity factors (PF) in this group of microorganisms. One of the leading PF is adhesion, which is responsible for the initial stage of infection, i. e. the attachment of microorganisms to the respective cells of macroorganism. *Staphylococcus aureus* is a germ with ubiquitous distribution. It plays a key role in the emergence of community-acquired inflammatory diseases of different localizations and is the leader in etiological structure of nosocomial infections. Most of these infections occur with the biofilms formation, and the first stage of the biofilms formation is the adhesion of microorganisms to surfaces.

The aim of the work was to study the adhesive properties of clinical strains of *S. aureus*, isolated from different ecological niches in multidisciplinary hospital. 323 strains of *S. aureus* were used as the object of study, 216 of them were isolated from clinical specimens from patients, 62 strains were isolated from environmental objects and 45 strains were isolated from the nasopharynx of medical staff of the multidisciplinary hospital. The study of adhesive activity of *S. aureus* strains was performed according to the V. I. Brilis method. The following criteria were used for the adhesive properties assessment: average adhesive characteristic (AAC), the coefficient of adhesion (CA) and the index of adhesiveness of microorganisms (IAM). Microorganisms were considered nonadherent if IAM was below than 1,76; with low adhesive properties if IAM was 1,76 to 2,5; with medium adhesive properties if IAM was 2,51 to 4,0, and with high adhesive properties if IAM was more than 4,0. It was established that almost all the *S. aureus* strains showed high and medium ability to react with human cells. The range of IAM for *S. aureus* strains, isolated from the patients was from 1,8 to 5,1, meanwhile 42,3% of the strains were with medium adhesive properties, 35,5% were highly adhesive and 22,2% were low adhesive. IAM of *S. aureus* strains isolated from hospital objects ranged from 2,3 to 6,7. Meanwhile 14,5% of the strains were low adhesive, 48,4% were medium adhesive and 37,1% of the strains were highly adhesive. IAM of *S. aureus* strains isolated from nasopharynx of medical personnel ranged from 2,0 to 7,2. Among them 11,1% of the strains were low adhesive, 62,2% were medium adhesive and 26,7% were highly adhesive. IAM of the *S. aureus* strains isolated from environmental objects was 1,7 times greater than that of the strains isolated from patients, and 1,2 times greater than IAM of the strains isolated from medical staff ($p < 0,05$). The highest AAC was observed in *S. aureus* strains isolated from hospital facilities, the AAC of these isolates was 1,9 times greater than that of strains isolated from clinical specimens from patients, and 1,4 greater than AAC of the isolates from medical staff ($p < 0,05$). Thus, it was revealed that the strains isolated from the environmental objects significantly dominated among the *S. aureus* strains with high adhesive ability, and microbial adhesion is of the factors of persistence.

Key words: *Staphylococcus aureus*, adhesion, clinical isolates, the objects of the environment of a hospital.

Рецензент – проф. Лобань Г. А.

Стаття надійшла 14. 03. 2014 р.