

**БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ШТАМІВ УМОВНО-ПАТОГЕННИХ
МІКРООРГАНІЗМІВ, ЩО ВИДІЛЕНІ ПРИ ДИСБІОЗИ
ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ**

Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара (м. Дніпро)

ane4kakazmirchuk@gmail.com

Виконана робота є частиною науково-дослідної роботи, що проводиться на кафедрі мікробіології, вірусології та біотехнології Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара в рамках держбюджетної теми № 1-294-15 «Структурно-функціональні властивості природних мікробіоценозів та механізм біологічної дії мікробних препаратів».

Вступ. Вивчення ролі кишкової мікрофлори в останні роки переконливо показало, що вона є найважливішою складовою захисного кишкового бар'єру, який здійснює контроль над взаємодією організму хазяїна і зовнішнього середовища. Порушення складу мікрофлори людини, а отже, і її функції, супроводжується не тільки розвитком кишкових розладів (діарея, закреп, синдроми мальдигестії і мальабсорбції), а й негативним впливом на загальносоматичні регуляторні процеси [6].

Шлунково-кишковий тракт (ШКТ) являє собою одну з найбільш складних екосистем організму людини, в якій дуже тонко збалансована взаємодія між клітинами травної системи та мікробною флорою.

Нормальна мікрофлора кишечника має велике значення для підтримки на оптимальному рівні метаболічних процесів, що протікають в макроорганізмі, а також для створення високої колонізаційної резистентності організму хазяїна стосовно патогенних мікробів. Екологічна система, компонентами якої є макроорганізми, його мікрофлора і довкілля, характеризуються єдністю і здатністю до саморегуляції. Але в результаті різних несприятливих впливів і патологічних станів відбуваються якісні і кількісні зміни нормальної мікрофлори кишечника [2,5].

Причини, які ведуть до порушення складу нормальної мікрофлори кишечника, досить численні і різноманітні. Розвитку мікроекологічних порушень сприяють алергія, захворювання травної системи, ендокринні, імунні порушення, стреси, нерациональне харчування і терапія тощо [1]. Застосування антибіотиків істотно змінює «мікробний пейзаж» шлунково-кишкового тракту, часто викликаючи клінічно значущі наслідки (больовий синдром, діарею).

Під дисбактеріозом кишечника розуміють якісні і кількісні зміни характерні для нормофлори людини, що тягнуть за собою виражені клінічні реакції макроорганізму або є наслідком будь-яких патологічних процесів в організмі.

На сьогодні є актуальним дослідження інтенсивності формування мікробних біоплівок, адже дисбактеріоз слід розглядати не як прості коливання

відносного вмісту тих чи інших видів мікроорганізмів, а як кардинальне порушення будови біоплівки слизової оболонки товстого кишечника [4,5,8].

Деякі представники кишкової мікрофлори є умовно-патогенними бактеріями і за умов зниження захисних сил організму здатні викликати різноманітні захворювання. Частіше за все це обумовлено утворенням патологічної біоплівки [3,9].

Актуальність цієї теми спонукає до вивчення дисбіозу шлунково-кишкового тракту людини та виявлення здатності мікроорганізмів до біоплівкоутворення.

Метою роботи було: дослідити мікрофлору кишківника людини при дисбіотичних порушеннях та виявити здатність виділених мікроорганізмів до біоплівкоутворення.

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктом дослідження були порушення мікробіоценозу кишківника людини та здатність виділених штамів до біоплівкоутворення.

Дослідження проводили на базі лабораторії мікробіології та імунології ДУ «НДІ Гастроентерології НАМН України» м. Дніпро.

Досліджувані штами були виділені з матеріалу (фекалії) при підозрі на дисбіоз. Всього було досліджено 44 зразки матеріалу.

Стан дисбіозу визначали за результатами бактеріального дослідження. Виділення, ідентифікацію та дослідження біологічних властивостей проводили згідно з наказом МОЗ від 22.04.1985 р. № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» [8].

Для оцінки здатності до формування біоплівок штамми золотистого стафілококу використовували модифіковану методику G. O'Toole et al. [13]. Дослідження проводили на поверхні 96-луночкових плоскодонних полістиролових планшетів для імуноферментного аналізу.

Для встановлення чутливості до антибіотиків використовували диск-дифузійний метод. Дослідження проводили відповідно до наказу Міністерства Охорони здоров'я України, наказ № 167 від 05.04.2007 р. «Про затвердження методичних вказівок щодо визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» [7]. Чутливість культур *S. aureus* визначали до антибіотиків: ванкомицину, цефуроксиму, рифампіцину, азитроміцину та тетрацикліну.

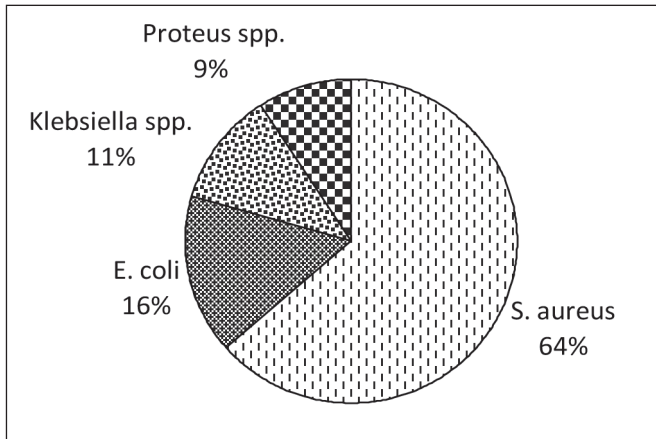


Рис. 1. Клінічні ізоляти виділені від хворих на дисбіозі.

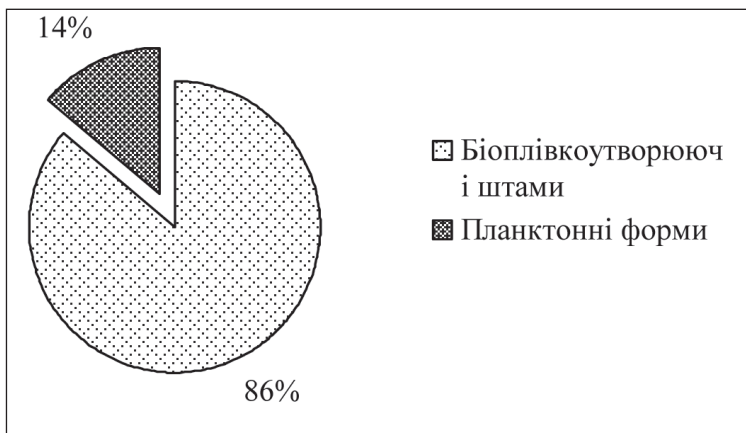


Рис. 2. Відсоткове співвідношення біоплівкоутворюючих та планктонних штамів.

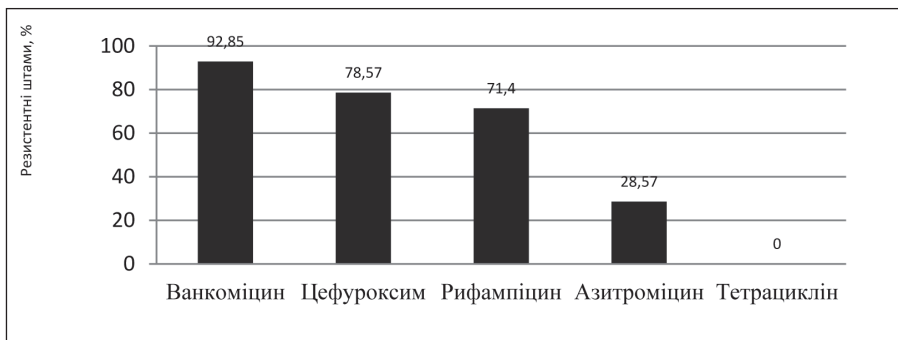


Рис. 3. Частота виявлення резистентності до антибіотиків серед виділених штамів.

Результати досліджень та їх обговорення.

Біологічний матеріал від 44 пацієнтів з дисбіозами кишківника було досліджено для встановлення якісного й кількісного складу мікрофлори (рис. 1). Виділені штами мікроорганізмів були ідентифіковані як: *Staphylococcus aureus* – 28 (64%) ізолятів; *Escherichia coli* – 7 (16%) ізолятів; *Klebsiella spp.* – 5 (11%) ізолятів; *Proteus spp.* – 4 (9%) ізоляти.

Найбільша кількість штамів припадала на *S. aureus*, тому їх було взято у подальше дослідження. Кількісний показник виявлення штамів *S. aureus* коливався у межах від 10^5 до 10^8 КУО/мл.

Після цього було досліджено здатність штамів *S. aureus* до біоплівкоутворення (рис. 2).

До біоплівкоутворення здатні були 86% клінічних ізолятів *S. aureus*, виділених з біологічного матеріалу від осіб з дисбіозами кишківника, а 14% були планктонними формами.

На наступному етапі було проведено дослідження чутливості виділених ізолятів *S. aureus* до антибіотичних препаратів диск-дифузійним методом. За результатами проведеного дослідження чутливості виділених ізолятів *S. aureus* до антибіотичних препаратів (рис. 3) було встановлено, що більшість клінічних ізолятів були чутливі до ванкомицину – 92,85%, що погоджується з відомими даними [12].

Крім того, висока чутливість штамів *S. aureus* також визначена до цефуроксиму – 78,57% та рифампіцину – 71,4% і, навпаки, низька – азитроміцину – 28,57% та тетрацикліну – 0%.

Отримані результати погоджуються з даними про те, що у плівковій формі бактерії набувають ознак посиленої стійкості до антибіотиків, що може зумовлювати складнощі у лікуванні [10, 11].

Висновок

1. Визначено, що при дисбіозі ШКТ переважаючою групою мікроорганізмів були *S. aureus*, що виявлені у 64% випадків; *E. coli* – 16% випадків, *Klebsiella spp.* – 11% та *Proteus spp.* – 9%.

2. За результатами проведеного дослідження на визначення здатності до біоплівкоутворення штамів *S. aureus*, виділених від осіб з дисбіозом ШКТ було виявлено, що 86% клінічних ізолятів здатні до біоплівкоутворення, а 14% були планктонними формами.

3. Встановлено, що проти виділених штамів *S. aureus* найбільшу ефективність мав ванкомицин, чутливими до якого були 92,85% ізолятів.

Перспективи подальших досліджень. З огляду на думку про те, що лише бактеріологічного дослідження при підозрі на дисбіоз може бути недостатньо, слід здійснювати пошук додаткових маркерів, у тому числі і серед біологічних властивостей мікроорганізмів, що можуть бути пов'язані із підвищеним ризиком виникнення дисбіозу. Насамперед мова йде про вивчення адгезивних властивостей та здатності мікроорганізмів до біоплівкоутворення, що можуть бути пов'язані з посиленням їх патогенетичних властивостей.

Література

1. Afinogenova A.G. Mikrobnyye bioplunki ran: sostoyaniye voprosa / A.G. Afinogenova, Ye.N. Darovskaya // *Travmatologiya i ortopediya Rossii*. – 2011. – № 3. – S. 110-125.
2. Bezkaravaynyy B.A. Disbakterioz kishhechnika u detey / B.A. Bezkaravaynyy, G.G. Bondarenko, V.A. Reshchikov // *Russkiy meditsinskiy zhurnal. Gastroenterologiya*. – 2011. – № 6. – S. 101-103.
3. Bezrodnyy B.H. Bioplivky patohennykh bakteriy ta yikh rol' u khronizatsiyi infektsiyonoho protsesu / B.H. Bezrodnyy, O.M. Petrenko // *Medychna hazeta «Zdorov'ya Ukrainy»*. – 2014. – S. 25-29.
4. Lazebnik L.B. Disbioz (disbakterioz) kishhechnika: sovremennoye sostoyaniye problemy, kompleksnaya diagnostika i lechbnaya korrektsiya / L.B. Lazebnik, M.D. Ardatskaya, V.P. Dobritsa [i dr.] // *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya*. – 2015. – № 5. – S. 13-50.
5. Mayanskiy A.N. Stafilokokkovyye bioplunki: struktura, regulyatsiya, ottorzheniye / A.N. Mayanskiy, H.V. Chebotar' // *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii*. – 2011. – № 1. – S. 101-108.
6. Nezhoda I.I. Dysbakterioz kyshechnykh i ditey: problemni pytannya, suchasni metody diahnozyky / I.I. Nezhoda, O.M. Naumenko // *Klinichna imunohiya. Alerholohiya. Infektolohiya*. – 2011. – № 5. – S. 29-32.
7. Nakaz MOZ Ukrainy № 167 vid 05.04.2007 «Pro zatverdzhennyya metodychnykh vkazivok shchodo vyznachennya chutlivosti mikroorganizmiv do antybakterial'nykh preparativ». – K: MOZ Ukrainy, 2007. – 63 s.
8. Ob unifikatsii mikrobiologicheskikh (bakteriologicheskikh) metodov issledovaniya, primenyayemykh v kliniko-diaagnosticheskikh laboratoriyakh lechbeno-profilakticheskikh uchrezhdeniy: prikaz № 535. – [chinniy vnd 22.04.1985 r.]. – M.: MOZ SSSR, 1985. – 65 s.
9. Romanova Yu.M. Bioplunki patogennykh bakteriy i ikh rol' v khronizatsii infektsionnogo protsesa. Poisk sredstv bor'by s bioplunkami / Yu.M. Romanova, L.V. Didenko, E.R. Tolordava // *Vestnik Rossiyskoy AMN*. – 2011. – № 10. – S. 31-38.
10. Tets V.V. Effektivnost' deystviya antibiotikov na bakterii v bioplunkakh / V.V. Tets, N.V. Zaslavskaya // *ZHMEI*. – 2005. – № 5. – S. 24-26.
11. Antibiotic resistance of bacterial biofilms / N. Hoiby, T. Bjarnsholt, M. Givskov [et al.] // *Int. J. of Antimicrob. Agents*. – 2010. – Vol. 35 (4). – P. 322-332.
12. Olufunmiso O. Multidrug and vancomycin resistance among clinical isolates of *Staphylococcus aureus* from different teaching hospitals in Nigeria / O. Olufunmiso, I. Tolulope, C. Roger // *Afri Health Sci*. – 2017. – Vol. 17 (3). – P. 797-807.
13. O'Toole G.A. Biofilm formation as microbial development / G.A. O'Toole, H.B. Kaplan, R. Kolter // *AnnRevMicrobiol*. – 2000. – Vol. 54. – P. 49-79.

БИОЛОГИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ШТАМІВ УМОВНО-ПАТОГЕННИХ МІКРООРГАНІЗМІВ, ЩО ВИДІЛЕНІ ПРИ ДИСБІОЗІ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ**Казмирчук А. А., Голодок Л. П., Воронкова О. С.**

Резюме. Відомо, що дисбіотичні порушення складу мікрофлори є одними з найбільш поширених уражень, однак, у кожному випадку вони мають певні особливості перебігу, що пов'язано зі спектром виділюваних умовно-патогенних мікроорганізмів, а також з індивідуальними властивостями цих штамів. Визначено, що при дисбіозі ШКТ переважаючою групою мікроорганізмів були *S. aureus*, що виявлені у 64% випадків. Серед них 86% були здатні до біоплівкоутворення. Встановлено, що проти цих штамів найбільшу ефективність мав ванкомицин, чутливими до якого були 92,85% ізолятів.

Ключові слова: дисбіоз, умовно-патогенні мікроорганізми, біоплівка, чутливість до антибіотиків.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ШТАММОВ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ПРИ ДИСБИОЗЕ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА**Казмирчук А. А., Голодок Л. П., Воронкова О. С.**

Резюме. Известно, что дисбиотические нарушения состава микрофлоры являются одними из наиболее распространенных проблем, однако, в любом случае они имеют определенные особенности течения, что связано со спектром выделяемых условно-патогенных микроорганизмов, а также с индивидуальными свойствами этих штаммов. Установлено, что при дисбиозе ЖКТ преобладающей группой микроорганизмов были *S. aureus*, выявленные в 64% случаев. Среди них 86% были способны к образованию биопленки. Установлено, что против этих штаммов наибольшую эффективность проявлял ванкомицин, чувствительными к которому были 92,85% изолятов.

Ключевые слова: дисбиоз, условно-патогенные микроорганизмы, биопленка, чувствительность к антибиотикам.

BIOLOGICAL PROPERTIES OF STRAINS OF OPPORTUNISTIC MICROORGANISMS, ISOLATED DURING DYSBIOSIS OF GASTROINTESTINAL TRACT**Kazmirchuk A. A., Holodok L. P., Voronkova O. S.**

Abstract. The study of the role of intestinal microflora in recent years has convincingly shown that it is the most important component of the protective intestinal barrier, which controls the interaction of the host organism and the environment. The gastrointestinal tract (GIT) represents one of the most complex ecosystems in the body of human, which has a very delicate balance between the cells of the digestive system and the microbial flora. The normal intestinal microflora is important for maintenance at the optimal level of metabolic processes occurring in the macroorganism, as well as for the creation of a high colonization resistance of the host organism in relation to pathogenic microbes. Causes that lead to a violation of the composition of the normal intestinal microflora are quite numerous and varied. The development of microecological disorders contribute to allergies, diseases of the digestive system, endocrine, immune disorders, stress, irrational nutrition and therapy, etc. The use of anti-

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].