

УДК 001.5:615.453.6:615.28:620.179.4

О.І.Жорняк, О.К.Стукан

**ВПЛИВ АНТИСЕПТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ НА АДГЕЗИВНІ
ВЛАСТИВОСТІ МІКРООРГАНІЗМІВ**Кафедра мікробіології, вірусології та імунології (зав. – проф. Г.К. Палій)
Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова

Резюме. У роботі представлені результати вивчення впливу таблетованих антисептичних препаратів септефрил та септолете на адгезію грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів.

Ключові слова: адгезія, антисептичні препарати, декаметоксин, септефрил, септолете.

Вступ. Досягнення в галузі молекулярної природи патогенності складають основу для впровадження нових і вдосконалення існуючих антимікробних препаратів. Для проникнення крізь захисні бар'єри макроорганізму та подальшої персистенції в ньому бактерії повинні мати високу здатність заселяти слизові оболонки біологічних ніш людини. Здатність бактерій до адгезії є одним із чинників, що забезпечують колонізацію. Не спроможні до адгезії бактерії видаляються з організму людини механізмами природного захисту. Адгезивність мікроорганізмів до еукаріотичних клітин є початковою ланкою патогенезу при розвитку інфекційних захворювань, що викликають патогенні та умовно-патогенні штами, і одним із механізмів захисної дії представників нормальної мікрофлори, яка безпосередньо бере участь у формуванні пристінкових шарів слизових оболонок [1, 4, 9].

Адгезивний процес характеризується специфічністю, що полягає у вибірковій здатності мікробів прикріплюватися до епітеліальних клітин певних органів макроорганізму. У межах одного і того ж органа або системи спостерігають мозаїчність адгезії. Мікробна адгезія різна не тільки в різних тканинах, але і в різних особин одного і того ж виду, залежна від віку, генетичних особливостей і стану здоров'я.

Елементи клітинної стінки мікроорганізмів, що взаємодіють з рецепторами клітин макроорганізму, називають адгезинами. Характер їх будови зумовлює специфічність даного процесу. З цим пов'язують властивість одних мікроорганізмів прилипати і колонізувати епітелій дихальних шляхів, інших – кишковий тракт, третіх – сечовидільну систему [2]. Адгезини являють собою поверхневі структури мікробних клітин, до складу яких входять макромолекули лектинів, протеїнів, що здатні зв'язуватись з рецепторами чутливої клітини. Рецептори представлені білковими фрагментами або карбогідратами, що комплементарні адгезинам [7, 10].

Грампозитивні та грамнегативні мікроорганізми мають різну будову адгезинів. У грампозитивних бактерій адгезини представлені білковими молекулами, які міцно зв'язані з цитоплазматичною мембраною. Такі адгезини називаються афімбріальними. Рецепторами для адгезинів

грампозитивних бактерій є фібрoneктин та білки міжклітинного матриксу еукаріотичних клітин. У грамнегативних мікроорганізмів адгезини входять до складу ворсинок (фімбрії, пілі), тому їх називають фімбріальними адгезинами. Рецептори чутливих клітин представлені білковими фрагментами, що комплементарні адгезинам. Фімбріальні адгезини забезпечують більш ефективну адгезію, ніж афімбріальні. Вони локалізуються на довгій тонкій ніжці, яка полегшує їх контакт із рецепторами і дозволяє подолати бар'єр нормальної мікрофлори та інші захисні механізми [5].

Видовий склад мікрофлори слизової оболонки ротової порожнини та горла може змінюватися в одного і того ж хворого впродовж життя. Суттєве значення має збалансований склад нормофлори, її антагоністичні властивості. В останні десятиріччя намітилася тенденція до зміни видового складу мікрофлори ротової порожнини та глотки в бік збільшення кількості умовно-патогенних мікроорганізмів. Серед них провідне місце займають стафілококи, кандиди та кишкова паличка, що мають широку розповсюдженість, множинну лікарську стійкість до старих і швидке пристосування до нових антимікробних засобів [3, 6, 11].

Профілактика захворюваності, а також знання патогенезу інфекційної патології потребують детального вивчення колонізуючих властивостей бактерій, оскільки колонізація – це природна форма існування як сапрофітів, так і патогенних бактерій. Розробка методів дослідження взаємодії бактерій з клітинами еукаріотів є актуальним завданням і відкриває перспективу створення нових антиадгезивних засобів та вибір більш ефективних препаратів.

Мета дослідження. Дослідити вплив таблетованих антисептичних препаратів септефрил та септолете на адгезивні властивості мікроорганізмів.

Матеріал і методи. Для дослідження нами взято таблетовані антисептичні лікарські препарати септефрил (декаметоксин) та септолете (бензалконію хлорид) у мінімальних бактеріостатичних концентраціях (МБСК). Об'єктом дослідження були клінічні штами стафілокока (*S.aureus* 44, *S.aureus* 110) та кишкової палички (*E.coli* 128, *E.coli* 34), виділені від хворих на гнійно-запальні процеси. Для порівняння взяли музейні штами *S.aureus* ATCC 25923, *S.aureus* p 209 та *E.coli* ATCC 25922, *E.coli* O-55.

Для вивчення адгезивних властивостей користувалися загальноприйнятою методикою В. І. Бріліса [8], яка передбачає використання формалінованих еритроцитів людини O(I) групи Rh (+). Еритроцити вибрали як універсальну модель, оскільки на своїй поверхні вони несуть глікофурин – речовину, ідентичну глікокаліксу епітеліальних клітин. Бактерії культивували протягом доби. Потім готували бактеріальну суспензію культур, що активно ростуть у концентрації 10^9 /мл; еритроцитів – 10^8 /мл. Після проведених досліджень готували мазки, висушували на повітрі, фіксували метиловим спиртом, фарбували за методом Романовського-Гімзи. Під мікроскопом на 100 еритроцитах визначали індекс адгезивності (ІА) – число прикріплених мікроорганізмів на одному еритроциті, котрі брали участь в адгезивному процесі. Щодо критеріїв адгезивності, то мікроорганізм вважають неадгезивним при $ІА \leq 1,75$; низькоадгезивним – від 1,76 до 2,5; середньоадгезивним – від 2,51 до 4,0, та високоадгезивним при ІА більше ніж 4,0.

Результати дослідження та їх обговорення.

Як показали результати досліджень, таблетовані антисептичні препарати септефрил та септолете впливали на адгезивну здатність музейних та клінічних штамів стафілокока. Так, у контролі кількість адгезованих клітин як музейного, так і клінічного штамів, була найвищою і становила 100 %.

Порівняння контрольних і експериментальних досліджень показало, що адгезивна здатність стафілокока зменшилась за наявності антисептичних препаратів. Відсоток прикріплених бактеріальних клітин до еритроцитів за наявності септефрилу дорівнював 34,08-39,51 % у музейних штамів при МБсК 20 мкг/мл та 51,7-51,9 % – у клінічних при МБсК 9,81 мкг/мл, що у 2,53 та 1,93 раза відповідно менше ніж у контролі. Індекс адгезивності в музейних штамів дорівнював 1,82-1,96, а в клінічних штамів – 2,48-2,8.

Аналіз протимікробної дії септолете показав, що кількість клітин музейного штаму *S. aureus* ATCC 25923, які брали участь в адгезії за наявності МБсК 0,39 мкг/мл, становила 51,34 %, а для *S. aureus* р 209 за наявності МБсК 0,78 мкг/мл – 47,6 %, що в 1,94 та 2,1 раза відповідно менше, ніж у контролі. Індекс адгезивності дорівнював 2,68 для *S. aureus* ATCC 25923 та 2,58 для *S. aureus* р 209. Кількість клітин клінічного штаму *S. aureus* 44 становив 61,7 %, а штаму *S. aureus* 110 – 62,1 % при МБсК 11,4 мкг/мл, що в 1,62 та 1,61 раза відповідно менше, ніж у контролі. Індекс адгезивності дорівнював 3,06 для *S. aureus* 44 та 3,18 для *S. aureus* 110.

У наступних дослідженнях нами вивчено вплив антисептичних препаратів на адгезивні властивості кишкової палички. Слід зазначити, що її адгезивна активність вища, ніж у штамів стафілокока. Можна припустити, що це спостерігається завдяки будові фімбріальних адгезинів кишкової палички, які забезпечують більш ефективну адгезію, ніж афімбріальні адгезини стафілококів. Відомо,

що адгезія кишкової палички забезпечується специфічними фімбріями, зв'язаними з рецепторами епітеліальних клітин. Вони розділені на декілька типів і значно відрізняються за складом у патогенних і непатогенних ешерихій. Ця властивість дозволяє кишкової паличці проявляти високу адгезивну активність і успішно конкурувати з патогенними видами ентеробактерій.

Як і в попередніх дослідженнях, за наявності антисептичних препаратів адгезивна здатність штамів кишкової палички зменшувалася. Так, у контролі кількість адгезованих клітин як музейних, так і клінічних штамів, найвища і становила 100 %.

Встановлено, що при дослідженні препарату септефрил відсоток прикріплених клітин музейних штамів *E. coli* до еритроцитів при МБсК 30 мкг/мл становив 40,83-43,6 %, що у 2,4 раза менше, ніж у контролі. Індекс адгезивності дорівнював 2,26 для *E. coli* ATCC 25922 та 2,16 для *E. coli* O-55. У клінічних штамів при МБсК 31,41 мкг/мл відсоток прикріплених клітин дорівнював 57,5 %. Індекс адгезивності дорівнював 3,03 для *E. coli* 128 та 2,83 для *E. coli* 34.

Адгезивна здатність кишкової палички за наявності септолете для штаму *E. coli* ATCC 25922 становила 71,2 %, а для *E. coli* O-55 – 66,8 % при МБсК препарату 75 мкг/мл, що в 1,4 раза менше, ніж у контролі. Індекс адгезивності дорівнював 3,76 для *E. coli* ATCC 25922 та 3,22 для *E. coli* O-55. Кількість клітин клінічних штамів *E. coli* 128 та *E. coli* 34, що взяли участь в адгезії, за наявності МБсК 73,24 мкг/мл септолете становила 76,8 %, а індекс адгезивності дорівнював 3,32 та 3,96 відповідно.

Таким чином, на підставі проведених досліджень нами встановлено, що антисептичні препарати септефрил та септолете зменшують адгезію грампозитивних і грамнегативних бактерій.

Аналіз адгезивних властивостей мікроорганізмів дозволив встановити, що клінічні штами мають більшу адгезивну здатність, ніж музейні представники даного виду.

Висновки

1. Антисептичні препарати септефрил та септолете впливають на адгезивну здатність як музейних, так і клінічних штамів стафілокока та кишкової палички. Порівняно з музейними штамми, адгезивна активність клінічних штамів виявилася вищою.

2. Вивчення впливу антисептичних препаратів на адгезивні властивості мікроорганізмів дає змогу поглибити знання про біологічні властивості антисептичних препаратів, які в подальшому доцільно враховувати в процесі лікування гнійно-запальних захворювань ротової порожнини та горла.

Перспективи подальшого дослідження. На подальшу увагу заслуговує вивчення впливу таблетованих антисептичних препаратів на морфологію внутрішніх органів тварин із метою створення високоефективних схем лікування запальних захворювань ротової порожнини та горла.

Література

1. Бабич Є.М. Ступінь зміни біологічних властивостей *E. coli*, *K. pneumoniae* та *P. aeruginosa* під впливом екзотоксину *S. diphtheriae* / Є.М. Бабич, С.В. Калініченко, Т.А. Рижкова // *Annals of Mechnikov Institute*. – 2007. – № 4. – С. 25-29.
2. Дія антибактеріальних засобів на патогенні механізми бактерій / В.М. Бойко, Ю.Л. Волянський, А.Ю. Волянський [та ін.] // *Biomedical and biosocial anthropology*. – 2008. – № 11. – С. 32-38.
3. Бойко В. М. Чутливість госпітальних штамів мікроорганізмів до протимікробних засобів та їх вплив на патогенні механізми / В.М. Бойко, І.М. Коваленко, Ю.В. Кордон: матеріали XII з'їзду товариства мікробіологів України ім. С.М. Вернадського, 25-30 трав. 2009 р.: тези доп. – Ужгород, 2009. – С. 150.
4. Адгезивні властивості та антилізоцимна активність свіжовилучених від хворих дітей шигел і сальмонел / І.А. Воронкіна, С.А. Деркач, А.І. Носатенко [та ін.] // *Вісн. СумДУ. Серія «Медицина»*. – 2007. – № 2. – С. 38-43.
5. Коваленко І. М. Вплив антисептичних супозиторіїв на адгезивні властивості мікроорганізмів / І.М. Коваленко: матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. [“Довкілля і здоров'я”], (Тернопіль, 23-24 квітня 2010 р.: тези доповідей. – Тернопіль, 2010. – С. 45-46.
6. Бирюкова С.В. Адгезивний потенціал *S.aureus* и *S.albicans*, выделенных из экссудата воспаленных слюнных желез под влиянием озонирования / С.В. Бирюкова, Г.М. Большакова // *Анали Мечніківського інституту*. – Харьков: Харьковский институт микробиологии и иммунологии им. Мечникова. – 2006. – № 2. – С. 17-21.
7. Адгезия лактобактерий к клеткам вагинального и буккального эпителия / А.Г.Бойцов, С.В.Рищук, Ю.О.Ильясов [та ін.] // *Вестн. Санкт-Петербургской медицинской академии им. И.И. Мечникова*. – 2004. – № 4 (5). – С. 191-193.
8. Брилис В.И. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов / В.И. Брилис, Х.П. Ленцер, А.А. Ленцер // *Лаб. дело*. – 1989. – № 4. – С. 210-212.
9. Зеленова Е.Г. Кандиды: экология, морфофункциональные особенности и факторы патогенности / Е.Г. Зеленова, М.И. Заславская, Т.В. Махрова // *Нижегор. мед. ж.* – 2002. – № 1. – С. 15-18.
10. Оценка влияния отваров лекарственных растений и противобактериальных антител к бифидобактериям *in vitro* / С.М. Попкова, Е.П. Кичишина, С.И. Лещук [и др.] // *Ж. микробиол.* – 2004. – № 2. – С. 70-74.
11. Cannon R. D. Oral colonization by *Candida albicans* / R.D. Cannon, W.L. Chaffin // *Crit. Rev. Oral. Biol. Med.* – 1999. – Vol. 10. – P. 359-383.

ВЛИЯНИЕ ТАБЛЕТИРОВАННЫХ АНТИСЕПТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА АДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА МИКРООРГАНИЗМОВ

Е.И.Жорняк, О.К.Стукан

Резюме. В работе представлены результаты изучения влияния таблетированных антисептических препаратов септефрил и септолете на адгезивные свойства грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов.

Ключевые слова: адгезия, антисептические препараты, декаметоксин, септефрил, септолете.

THE INFLUENCE OF ANTISEPTIC DRUGS ON THE ADHESIVE PROPERTIES OF MICROORGANISMS

O.I.Zhorniak, O.K.Stukan

Abstract. The paper presents the results of studying the influence of tablet antiseptic preparations – septeftiril and septolette on the adhesion of gram-positive and gram-negative microorganisms.

Key words: adhesion, antiseptic agents, decamethoxin, septeftiril, septolette.

M.I.Pyrohov National Medical University (Vinnytsia)

Рецензент – проф. С.Є.Дейнека

Buk. Med. Herald. – 2010. – Vol. 14, № 4 (56). – P.122-124

Надійшла до редакції 9.09.2010 року