

the test animals to round-the-clock light (1500 lux for the last 30 days of the experiment) reduces the production of superoxide anion radical in the liver tissues by NADPH- and NADH-dependent electron transport chains by 45.2% and 43.5%. The production of this radical by leukocytes by NADPH oxidase was 41.6% lower than in the comparison group. The activity of NO-synthase (total and its inducible isoenzyme) decreased by 34.4 and 29.8%, the activity of the constitutive isoform increased threefold. The coupling index of the latter elevated by 5.16 times that indicates the restoration of the coupling state of this isoenzyme. The decrease in the generation of superoxide anion radical and nitric oxide was accompanied by lowering in the peroxynitrites concentration by 36.4%. We can conclude that the administration of ammonium pyrrolidine dithiocarbamate, an NF-kappa B inhibitor, during the metabolic syndrome simulated in rats by round-the-clock lightening exposure and diet rich in carbohydrates and fats is an effective means to restrict the production of reactive oxygen species.

DOI 10.31718/2077-1096.21.3.218

УДК: 616.24-002.5-07:615.015.8:575.191.001.5.

Фаустова М.О., Ананьєва М.М., Лобань Г.А., Чумак Ю.В., Петренко Р.В.

ПЛІВКОУТВОРЮЮЧІ ВЛАСТИВОСТІ *STREPTOCOCCUS SPP.* У ПРИСУТНОСТІ АНТИСЕПТИКІВ НА ОСНОВІ КАТІОННИХ ПОВЕРХНОВО-АКТИВНИХ СПОЛУК

Полтавський державний медичний університет

Згідно даних Американського національного інституту здоров'я, близько 80% бактеріальних інфекцій є плівкоасоційованими, що суттєво утруднює їх лікування та профілактику. Вчені наголошують, що часта хронізація захворювань, пов'язаних з плівковими формами збудників, та їх значуща резистентність до протимікробних засобів на сьогоднішній день є однією з найбільших проблем медицини у всьому світі. Мета дослідження – визначити плівкоутворюючі властивості клінічних ізолятів *Streptococcus spp.*, виділених від хворих з одонтогенними гнійно-запальними захворюваннями м'яких тканин щелепно-лицевої ділянки, у присутності антисептиків декасану та хлоргексидину. Матеріали та методи дослідження. Об'єктом дослідження були клінічні ізоляти *S. warneri* (n=3), *S. sanguinis* (n=4), *S. sobrinus* (n=4), *S. mitis* (n=4), *S. salivarius* (n=5), виділених від хворих з одонтогенними гнійно-запальними захворюваннями м'яких тканин щелепно-лицевої ділянки. Вивчення плівкоутворюючих властивостей клінічних ізолятів визначали за допомогою спектрофотометричного методу за G.D. Christensen. В дослідженні застосовували антисептики на основі катіонних поверхнево-активних сполук: Декасан 0,2 (ТОВ «Юрія-Фарм», м. Київ, Україна) та Хлоргексидину біглюконат 0,05 (Хлоргексидин-КР, ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка», м. Харків, Україна). Результати та обговорення. В результаті досліджень встановлено, що *S. sobrinus* та *S. sanguinis* володіли високими, *S. mitis* і *S. warneri* - середніми плівкоутворюючими властивостями. Антисептик декасан сприяв зниженню плівкоутворення всіх досліджуваних ізолятів *Streptococcus spp.* Поряд з цим, дія хлоргексидину на здатність утворювати біоплівки досліджуваними ізолятами мікроорганізмів була дещо нижчою, порівняно з декасаном. А у випадку з *S. mitis* хлоргексидин навіть посилював його плівкоутворюючі властивості. Висновки. Стрептококи групи *viridans*, що виділяють від хворих з одонтогенними гнійно-запальними захворюваннями м'яких тканин щелепно-лицевої ділянки володіють різними плівкоутворюючими властивостями. Декасан проявляє вищу активність щодо плівкових форм стрептококів порівняно з хлоргексидином.

Ключові слова: streptococcus, декасан, хлоргексидин, біоплівки, одонтогенні захворювання.

Робота виконана в рамках НДР кафедри мікробіології, вірусології та імунології ПДМУ «Вивчення ролі умовно-патогенних та патогенних інфекційних агентів з різною чутливістю до антимікробних і протівірусних препаратів у патології людини», № ДР 0118и004456

Вступ

Бактерії володіють значним арсеналом молекулярних механізмів пристосування до змін навколишнього середовища та умов існування, серед яких є можливість перетворення з планктонних форм у плівкові [1]. Саме існування мікроорганізмів у складі біоплівок надає збудникам додаткової стійкості як до несприятливих зовнішніх умов, так і до дії антибіотиків, антисептиків, дезінфектантів. Більше того, продукція біополімерного матриксу, що є основою бактеріальної біоплівки, забезпечує адгезію до твердих штучних поверхонь, тканини організму людини та тварини, обумовлює коадгезію інших мікроорганізмів [2].

Згідно даних Американського національного інституту здоров'я, близько 80% бактеріальних інфекцій є плівкоасоційованими, що суттєво утруднює їх лікування та профілактику. Вчені наголошують, що часта хронізація захворювань, пов'язаних з плівковими формами збудників, та їх значуща резистентність до протимікробних засобів на сьогоднішній день є однією з найбільших проблем медицини у всьому світі [2, 3].

Статистично одонтогенні гнійно-запальні захворювання (ОГЗЗ) м'яких тканин щелепно-лицевої ділянки (ЩЛД) частіше за все виникають внаслідок дисемінації патогенів некротизованої пульпи, періодонтальних кишень при па-

родонтиті чи перикорониті під час утрудненого прорізування ретинированих зубів [4, 5]. Нещодавні дослідження німецьких вчених вказують на суттєве превалювання *Streptococcus spp.* в етіологічній структурі одонтогенних процесів. При чому, близько 30% випадків захворювань викликані, так званими, альфа-гемолітичними стрептококами групи *viridans* [6,7,8].

Враховуючи вищезазначене, постає необхідність у вивченні плівкоутворюючих властивостей стрептококів, що колонізують тканини у вогнищах ОГЗЗ ЩЛД, та пошуку засобів для ефективного їх пригнічення.

Мета дослідження

Визначити плівкоутворюючі властивості клінічних ізолятів *Streptococcus spp.*, виділених від хворих з ОГЗЗ м'яких тканин ЩЛД, у присутності антисептиків ДКС та ХГ.

Матеріали та методи дослідження

Об'єктом дослідження були клінічні ізоляти *S. warneri* (n=3), *S. sanguinis* (n=4), *S. sobrinus* (n=4), *S. mitis* (n=4), *S. salivarius* (n=5), виділених від хворих з ОГЗЗ м'яких тканин ЩЛД та ідентифікованих за допомогою автоматичного бактеріологічного аналізатора Vitek2compact (BioMerieux, Франція).

Вивчення плівкоутворюючих властивостей клінічних ізолятів визначали за допомогою спектрофотометричного методу за G.D. Christensen (MtP-test «*microtiter plate test*»), який полягає у відтворенні біоплівки на полімерних багатолункових планшетах з наступним забарвленням 1%-розчином кристалічного фіолетового [9]. Після промивання дистильованою водою зразки висушували при кімнатній температурі і досліджували ступінь поглинання барвника, який оцінювали за одиницями оптичної щільності (Од. ОЩ) на спектрофотометрі Humanreader (Німеччина) (620нм). Значення Од. ОЩ<0,120 оцінювали як низьку здатність до утворення біоплівок, 0,221-0,239 - як середню, Од. ОЩ>0,240 – як високий показник.

Показник Од.ОЩ для кожного ізоляту без застосування антисептиків приймали за контроль, щодо якого порівнювали отримані результати.

В дослідженні застосовували антисептики основі катіонних поверхнево-активних сполук: Декасан 0,2 (ТОВ «Юрія-Фарм», м. Київ, Україна) та Хлоргексидину біглюконат 0,05 (Хлоргексидин-КР, ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка», м. Харків, Україна).

Статистичний аналіз отриманих результатів здійснювали за допомогою стандартних пакетів програм «STATISTICA+» та «Microsoft Excel 2016». Наявність відмінностей між досліджуваними показниками оцінювали за t-критерієм Стьюдента. Результати вважали достовірними при значеннях $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

В результаті досліджень встановлено, що клінічні ізоляти *S. warneri* володіли середніми плівкоутворюючими властивостями (Рис.1). Ступінь поглинання барвника їх біоплівками становив $0,127 \pm 0,05$ Од.ОЩ. Внесення суббактеріостатичних концентрацій антисептиків при відтворенні біоплівок *S. warneri* призвело до зниження плівкоутворюючих властивостей досліджуваних ізолятів. При дії ДКС оптична щільність біоплівок *S. warneri* зменшувалася у 1,2 рази, а у присутності ХГ – у 1,7 рази порівняно з показником контролю.

здатність до утворення біоплівок (Рис.1). Оптична щільність їх біоплівок знаходилася у межах $0,242 \pm 0,09$ Од.ОЩ. У присутності ДКС спостерігали достовірне зниження оптичної щільності біоплівок у 1,5 рази щодо контролю.

Поряд зі *S. sanguinis* інший представник стрептококів *S. mitis* проявив середні плівкоутворюючі властивості (Рис.1). Оптична щільність його біоплівок складала $0,203 \pm 0,06$. Препарат на основі ДКМ виявляв подібний вплив на формування біоплівок штамми *S. mitis*, пригнічуючи його у 1,1 рази. При вивченні впливу ХГ на властивості клінічних штамів *S. mitis* встановлено високий рівень плівкоутворення в присутності даного антисептика, порівняно з контролем. Так, даний показник зростав у 1,2 рази щодо оптичної щільності біоплівок *S. mitis* без антиантисептиків, проте достовірної різниці встановлено не було ($p > 0,05$).

Визначено низькі плівкоутворюючі властивості клінічних штамів *S. Salivarius* (Рис.1). Ступінь поглинання їх біоплівок не перевищував $0,118 \pm 0,02$ Од.ОЩ. Однак, за результатами досліджень доведено відсутність впливу суббактеріостатичних концентрацій досліджуваних антисептичних препаратів на здатність формувати біоплівки клінічними ізолятами *S. Salivarius*, оскільки показники оптичної щільності біоплівок мікроорганізмів даного виду при дії ДКС та ХГ достовірно не відрізнялися від контрольних і не виходили за межі низького рівня біоплівкоутворення ($p > 0,05$).

У дослідженні визначили, що стрептокок *Mutans*-групи *S. sobrinus* проявляв високі плівкоутворюючі властивості (Рис.1). Оптична щільність біоплівок *S. sobrinus* складала $0,241 \pm 0,03$ Од.ОЩ. Встановлено, що суббактеріостатична концентрація ХГ не впливала на формування біоплівок даними клінічними ізолятами, оскільки оптичні щільності біоплівок недостовірно зменшувалися щодо контрольних показників. В свою чергу, у присутності ДКС спостерігали достовірне пригнічення утворення біоплівок збудниками даного виду ($p < 0,05$).

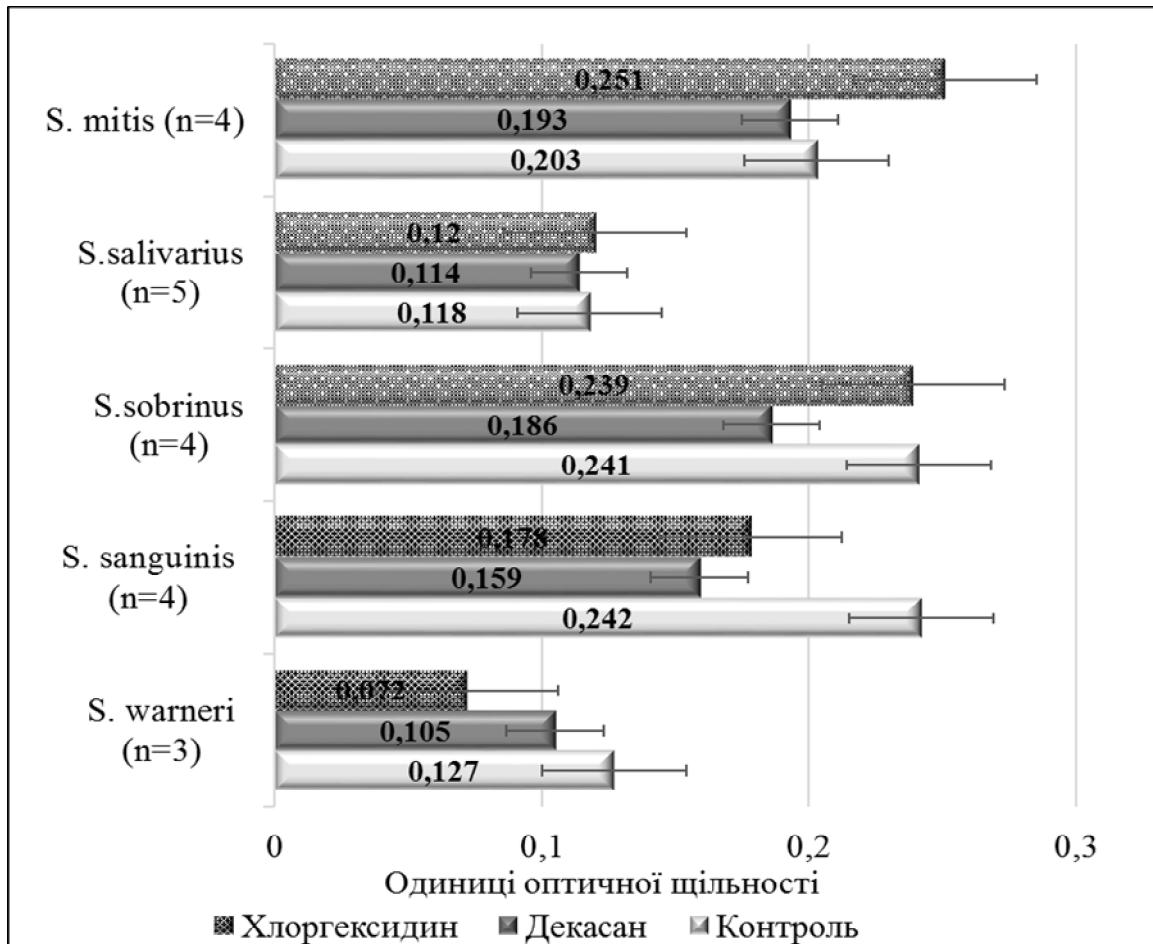


Рис.1. Плівкоутворюючі властивості клінічних ізолятів з вогнищ ОГЗЗ м'яких тканин ЩПД у присутності антисептиків ($p < 0,05$).

Клінічні ізоляти *S. sanguinis* виявили високу досить закономірно, що клінічні ізоляти різних видів роду *Streptococcus* володіли різними плівкоутворюючими властивостями, адже утворення позаклітинних полісахаридів, що складають основу матриксу біоплівки, залежить від наявності капсульних полісахаридів. Відомо, що капсульовані штами менш схильні до плівкоутворення і – навпаки [10]. Крім того, зазначимо, що молекулярні механізми, які детермінують здатність до утворення біоплівок оральними стрептококами, відрізняються залежно від групи. Якщо для збудників груп *mitis* та *mitis* характерним є утворення глюканів та фруктанів, що забезпечують адгезію до різних поверхонь, то стрептококи *anginosus* групи не здатні до їх утворення [10, 11].

Відомо, що стрептококи містять більше 200 генів, які відносяться до *brpA* і відповідають за регуляцію механізмів адгезії та стресової толерантності [12]. Крім цього, регуляторний протеїн пептидил-проліл ізомераза відіграє ключову роль у розвитку адгезії до компонентів слини та поверхонь, змочених нею.

Висновки

Стрептококи групи *vigidans*, що виділяють від хворих з ОГЗЗ м'яких тканин ЩПД володі-

ють різними плівкоутворюючими властивостями. Найвищу здатність до утворення біоплівок мають клінічні ізоляти *S. sobrinus* та *S. sanguinis*.

Антисептик декасан сприяє зниженню плівкоутворення всіх досліджуваних ізолятів *Streptococcus spp.* Поряд з цим, дія хлоргексидину на здатність утворювати біоплівки досліджуваними ізолятами мікроорганізмів є дещо нижчою, порівняно з декасаном. А у випадку з *S. mitis* хлоргексидин навіть посилює його плівкоутворюючі властивості.

Література

1. Planson AG, Sauveplane V, Dervyn E et al. Bacterial growth physiology and RNA metabolism. *Biochim. Biophys. Acta.* 2020;1863:194502.
2. Guzmán-Soto I, McTiernan C, Gonzalez-Gomez M et al. Mimicking biofilm formation and development: Recent progress in in-vitro and in vivo biofilm models. *iScience.* 2021; 24(5): 102443.
3. Filardo S, Di Pietro M, Tranquilli G et al. Biofilm in genital ecosystem: a potential risk factor for Chlamydia trachomatis infection. *Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol.* 2019;2019:1672109.
4. Al-Naqeeb AJ, Al-Naqeeb HM. Odontogenic Infections: Etiology and Manageme. *Al- Anbar Medical Journal.* 2019; 15 (1): 6-9
5. Read-Fuller A, Mueller A, Finn R. Maxillofacial infections. *Selected Readings in Oral and Maxillofacial Surgery.* 2015; 23(3): 2-24.
6. Meinen A, Reuss A, Willrich N et al. Antimicrobial Resistance and the Spectrum of Pathogens in Dental and Oral-Maxillofacial Infections in Hospitals and Dental Practices in Germany. *Front Microbiol.* 2021 Jun 2;12:676108.

7. Adamson OO, Adeyemi MO, Gbotolorun OM et al. Comparison of sensitivity of bacteria isolated in odontogenic infections to ceftriaxone and amoxicillin-clavulanate. *Afr Health Sci.* 2019 Sep;19(3):2414-2420.
8. Nazarchuk OA, Faustova MO, Bybr VV, et al. The investigation of the relationship between biofilm-forming properties of clinical strains of *p. aeruginosa* and their sensitivity to antiseptic medicines. Reports of Vinnytsia National Medical University, 2018, 22.3: 403-406.
9. Nahaichuk, V, Nazarchuk, O, Faustova, M et al. Correlation of susceptibility to antiseptics with biofilm-forming properties in *acinetobacter baumannii* as a pathogen of surgical infection. *Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences.* 2020; 16(1): 230-234.
10. Yadav P, Verma S, Bauer R et al. Deciphering Streptococcal Biofilms. *Microorganisms.* 2020; 8(11): 1.
11. Matsumoto-Nakano. Role of *Streptococcus mutans* surface proteins for biofilm formation. *MJpn Dent Sci Rev.* 2018 Feb; 54(1):22-29.
12. Wang C, Hou J, van der Mei HC et al. Emergent Properties in *Streptococcus mutans* Biofilms Are Controlled through Adhesion Force Sensing by Initial Colonizers. *mBio.* 2019 Sep 10; 10(5): e01908-19

Реферат

ПЛЕНКООБРАЗУЮЩИЕ СВОЙСТВА STREPTOCOCCUS SPP. В ПРИСУТСТВИИ АНТИСЕПТИКОВ НА ОСНОВЕ КАТИОННЫХ ПОВЕРХНОСТНО АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Фаустова М.А., Ананьева М.Н., Лобань Г.А., Чумак Ю.В., Петренко Р.В.

Ключевые слова: streptococcus, декасан, хлоргексидин, биопленки, одонтогенные заболевания.

Согласно данным Американского национального института здоровья, около 80% бактериальных инфекций является пленкоассоциированными, что существенно затрудняет их лечение и профилактику. Ученые отмечают, что частая хронизация заболеваний, связанных с пленочными формами возбудителей, и их значительная резистентность к противомикробным средствам на сегодняшний день является одной из самых больших проблем медицины во всем мире. Цель исследования - определить пленкообразующие свойства клинических изолятов *Streptococcus spp.*, выделенных от больных с одонтогенными гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей челюстно-лицевой области, в присутствии антисептиков Декасан и хлоргексидина. Материалы и методы исследования. Объектом исследования были клинические изоляты *S. warneri* (n = 3), *S. sanguinis* (n = 4), *S. sobrinus* (n = 4), *S. mitis* (n = 4), *S. salivarius* (n = 5), выделенных от больных с одонтогенными гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей челюстно-лицевой области. Изучение пленкообразующих свойств клинических изолятов определяли с помощью спектрофотометрического метода по G.D. Christensen. В исследовании применяли антисептики на основе катионных поверхностно-активных соединений: Декасан 0,2 (ООО «Юрия-Фарм», г. Киев, Украина.) И Хлоргексидина биглюконат 0,05 (Хлоргексидин-КР, ОАО «Химфармзавод» Красная звезда », г. Харьков, Украина). Результаты и обсуждение. В результате исследований установлено, что *S. sobrinus* и *S. sanguinis* обладали высокими, *S. mitis* и *S. warneri* - средними пленкообразующими свойствами. Антисептик декасан способствовал снижению пленкообразования всех исследуемых изолятов *Streptococcus spp.* Наряду с этим, действие хлоргексидина на способность образовывать биопленки исследуемыми изолятами микроорганизмов было несколько ниже по сравнению с Декасаном. А в случае с *S. Mitis*, хлоргексидин даже усиливал его пленкообразующие свойства. Выводы. Стрептококки группы viridans, выделяющих от больных с одонтогенными гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей челюстно-лицевой области, обладают различными пленкообразующими свойствами. Декасан проявляет высокую активность в отношении пленочных форм стрептококков по сравнению с хлоргексидином.

Summary

FILM-FORMING PROPERTIES OF STREPTOCOCCUS SPP. IN THE PRESENCE OF ANTISEPTICS BASED ON CATIONIC SURFACE-ACTIVE COMPOUNDS

Faustova M.O., Ananieva M.M., Loban G.A., Chumak Yu.V., Petrenko R.V.

Key words: streptococcus, decasan, chlorhexidine, biofilms, odontogenic diseases.

According to the American National Institutes of Health, about 80% of bacterial infections are film-associated that impedes their treatment and prevention. Scientists emphasize that the frequent chronicity of diseases associated with film-forming pathogens, and their significant resistance to antimicrobials today poses the major health problem worldwide. The aim of this study is to determine the film-forming properties of clinical isolates of *Streptococcus spp.* isolated from patients having odontogenic purulent-inflammatory diseases of the soft tissues of the maxillofacial area in the presence of antiseptics decasan and chlorhexidine. Materials and methods. The clinical isolates of *S. warneri* (n = 3), *S. sanguinis* (n = 4), *S. sobrinus* (n = 4), *S. mitis* (n = 4), *S. salivarius* (n = 5) were the objects of the study. To identify film-forming properties of the clinical isolates, a spectrophotometric method according to G.D. Christensen was applied. The antiseptics based on cationic surfactants as Decasan 0.2 (LLC "Yuri-Pharm", Kyiv, Ukraine) and chlorhexidine bigluconate 0.05 (Chlorhexidine-KR®, PJSC "Chimpharmzavod" Red Star ", Kharkiv, Ukraine) were used. Results and discussion. The study has shown that *S. sobrinus* and *S. sanguinis* have high film-forming properties; *S. mitis* and *S. warneri* demonstrate moderate film-forming properties. The antiseptic Decasan helped to reduce the film formation by all investigated isolates of *Streptococcus spp.* The effect of chlorhexidine on the ability of microbial isolates to produce biofilms was slightly lower compared to Decasan; moreover, in the case of *S. mitis* species, chlorhexidine even enhances film-forming properties. Conclusion. Streptococci of the viridans group, which are isolated from patients having odontogenic purulent-inflammatory diseases of the soft tissues of the maxillofacial area, have different film-forming properties. Decasan is more effective against the film formation by streptococci compared to Chlorhexidine.