

DOI 10.31718/2077-1096.21.2.165

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

Фаустова М.О.

## ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК АДГЕЗИВНИХ ТА ПЛІВКОУТВОРЮЮЧИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ STAPHYLOCOCCUS SPP. - ЗБУДНИКІВ ІНФЕКЦІЙНО-ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ М'ЯКИХ ТКАНИН ЩЕЛЕПНО-ЛИЦЕВОЇ ДІЛЯНКИ

Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава

Метою дослідження було встановити наявність взаємозв'язку між плівкоутворюючими та адгезивними властивостями клінічних ізолятів *Staphylococcus spp.* Матеріали та методи. Об'єктом дослідження були 20 клінічних ізолятів *S. aureus* та 10 ізолятів *S. epidermidis*, отриманих з гнійного ексудату хворих з інфекційно-запальними захворюваннями м'яких тканин щелепно-лицевої ділянки. Культивування зазначених ізолятів проводили за стандартною методикою. Визначення адгезивних властивостей досліджуваних клінічних ізолятів мікроорганізмів проводили за допомогою стандартної методики за Бріліс. Адгезивні властивості оцінювали за індексом адгезивності мікроорганізмів. Вивчення плівкоутворюючої здатності клінічних ізолятів визначали за допомогою спектрофотометричного методу MtP-test «microtiter plate test» за G.D. Christensen. З метою визначення наявності зв'язку між змінними величинами визначали коефіцієнт кореляції (*r*-Пірсона). Результати. Встановлено, що клінічні штами *S. aureus* володіють високими адгезивними та плівкоутворюючими властивостями. В свою чергу, індекс адгезивності клінічних ізолятів *S. epidermidis* вказував на середні адгезивні властивості збудника. Крім цього *S. epidermidis* проявляв середню здатність до утворення біоплівки. В результаті досліджень виявлений тісний взаємозв'язок між адгезивністю та плівкоутворенням клінічними ізолятами роду *Staphylococcus*. Висновки. Клінічні ізоляти *S. aureus* володіють високими адгезивними та плівкоутворюючими властивостями. Ізоляти *S. epidermidis* проявляють середню здатність до адгезії та утворення біоплівки. Між адгезивними та плівкоутворюючими властивостями мікроорганізмів роду *Staphylococcus* прослідковується прямий міцний кореляційний зв'язок.

Ключові слова: адгезія, біоплівка, захворювання щелепно-лицевої ділянки, кореляція.

Робота виконана в рамках НДР кафедри мікробіології, вірусології та імунології УМСА «Вивчення ролі умовно-патогенних та патогенних інфекційних агентів з різною чутливістю до антимікробних і противірусних препаратів у патології людини», № ДР 0118u004456

За даними літератури, причиною інфекційно-запальних захворювань (ІЗЗ) м'яких тканин щелепно-лицевої ділянки (ЩЛД) можуть бути патологічні процеси у порожнині рота, з яких мікроорганізми розповсюджуються через зруйновані тканини зуба чи крайовий пародонт у підлеглі тканини, а також при хірургічних маніпуляціях та травмах [1, 2]. Відомо, що нормобіота порожнини рота нараховує більше 700 різних видів мікроорганізмів, які за умов зниження опірності організму можуть слугувати «резервуаром» одонтогенної інфекції, набуваючи при цьому патогенні властивості [3, 4].

На сьогоднішній день частота виділення стафілококів як збудників ІЗЗ м'яких тканин ЩЛД становить більше 30 %. Варто зауважити, що *Staphylococcus aureus* виділяють з таких вогнищ інфекції у 15,0% хворих. При цьому останнім часом коагулазонегативні стафілококи (*Staphylococcus epidermidis*) визначають в складі мікробіоти при ІЗЗ м'яких тканин ЩЛД значно частіше [5, 6].

Відомо, що адгезія мікроорганізмів до слизових оболонок, твердих тканин зубів та штучних матеріалів, що знаходяться в порожнині рота у складі ортопедичних конструкцій, у більшості випадків виступає пусковим механізмом розвитку ІЗЗ. В свою чергу, формуючи біоплівки, збудники набувають нових властивостей, стають у сотні разів стійкішими до дії антибіотиків та антисептиків, порівняно з планктонними формами.

Саме тому, захворювання, розвиток яких асоційований з утворенням плівок на поверхнях твердих та м'яких тканин організму, важко піддається лікуванню і створюють суттєву загрозу життю пацієнтів [7,8,9,10].

### Мета дослідження

Встановити наявність взаємозв'язку між плівкоутворюючими та адгезивними властивостями клінічних ізолятів *Staphylococcus spp.*

### Матеріали та методи

Об'єктом дослідження були 20 клінічних ізолятів *S. aureus* та 10 ізолятів *S. epidermidis*, отриманих з гнійного ексудату хворих з ІЗЗ м'яких тканин ЩЛД. Забір матеріалу здійснювався у пробірці з транспортним середовищем до початку антисептичної обробки та антибіотикотерапії.

Культивування зазначених ізолятів проводили за стандартною методикою з використанням м'ясо-пептонного агару, жовтково-сольового агару та агару з додаванням 5-7% еритроцитів барана (HIMEDIA, Індія). Остаточну ідентифікацію здійснювали за морфологічними, культуральними та біохімічними властивостями збудників.

Визначення адгезивних властивостей досліджуваних клінічних ізолятів мікроорганізмів проводили за допомогою стандартної методики за Бріліс. В якості універсальної моделі для ви-

вчення адгезії мікроорганізмів використовували еритроцити людини O(I) групи Rh(+). Адгезивні властивості оцінювали за індексом адгезивності мікроорганізмів (IAM), тобто середньою кількістю мікробних клітин на одному еритроциті, що приймає участь в адгезивному процесі. Мікроорганізми поділяли на неадгезивні (IAM $\leq$ 1,75), низькоадгезивні (IAM=1,76-2,5), середньоадгезивні (IAM=2,51-4,0) та високоадгезивні (IAM $\geq$ 4,1).

Вивчення плівкоутворюючої здатності клінічних ізолятів визначали за допомогою спектрофотометричного методу MtP-test «*microtiter plate test*» за G.D. Christensen. Досліджували ступінь поглинання барвника біоплівкою, який оцінювали за одиницями щільності (Од. ОЩ) на спектрофотометрі Humanreader (Німеччина) з довжиною хвилі 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.

Статистичний аналіз отриманих результатів здійснювали за допомогою стандартного пакету програми IBM SPSS Statistics Base 22.0. З метою визначення наявності зв'язку між змінними величинами визначали коефіцієнт кореляції (r-Пірсона), абсолютною величиною якого характеризували силу зв'язку. При значенні коефіцієнту  $<$ 0,2 – кореляцію вважали дуже слабкою,

$<$ 0,5 – слабкою,  $<$ 0,7 – середньою,  $<$ 0,9 - високою і  $>$ 0,9 – дуже високою кореляцією.

### Результати та їх обговорення

В результаті проведених досліджень встановлено, що клінічні штами *S. aureus* володіють високими адгезивними та плівкоутворюючими властивостями. IAM у середньому складав  $4,54 \pm 1,01$ , показник ОЩ біоплівки, утвореної ними –  $0,27 \pm 0,1$  Од.ОЩ.

В свою чергу, IAM клінічних ізолятів *S. epidermidis* становив  $2,5 \pm 0,42$ , що вказувало на середні адгезивні властивості збудника. Крім цього *S. epidermidis* проявляв середню здатність до утворення біоплівок, ОЩ яких оцінювали у  $0,22 \pm 0,1$ .

В результаті досліджень було встановлено міцний кореляційний взаємозв'язок між здатністю збудників роду *Staphylococcus* утворювати біоплівки та їх адгезивними властивостями. Ними доведено наявність прямої кореляції між даними процесами клінічних ізолятів *S. aureus*, виділених від хворих з ІЗЗ 'яких тканин ЩЛД (рис. 1). Коефіцієнт кореляції (r-Пірсона) для даних величин становив +0,91, що свідчило про тісний зв'язок між плівкоутворенням та адгезивністю мікроорганізмів.

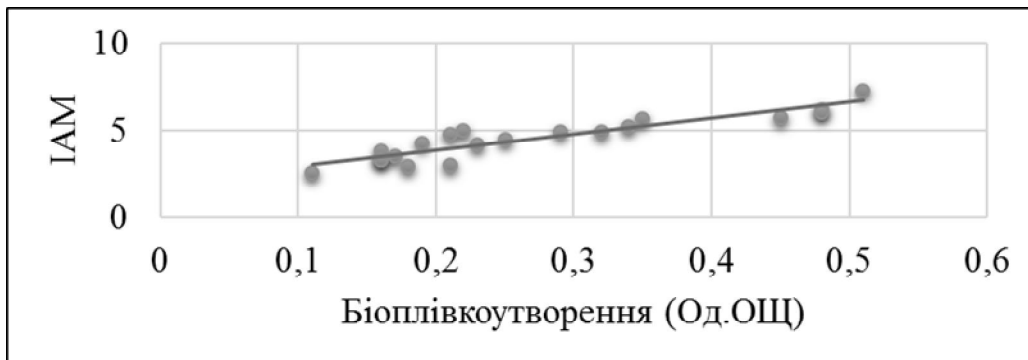


Рис. 1. Кореляція IAM та плівкоутворення клінічних штамів *S. aureus* (n=20).

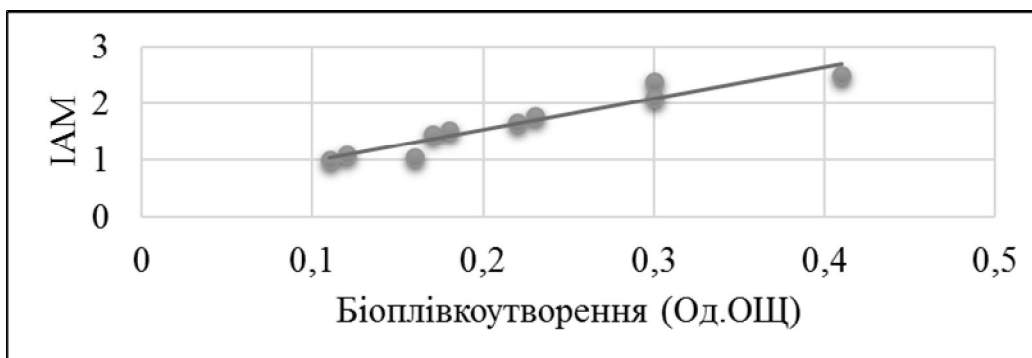


Рис. 2. Кореляція IAM та плівкоутворення клінічних штамів *S. epidermidis* (n=10).

Не дивлячись на той факт, що найчисленніші представники коагулазонегативних стафілококів *S. epidermidis* володіли низькою адгезивністю і середньою здатністю утворювати біоплівки, між

даними процесами також виявлений прямий кореляційний взаємозв'язок (рис. 2.). При цьому, коефіцієнт r-Пірсона між адгезивністю та біоплівкоутворенням клінічних штамів *S. epidermidis*

дорівнював +0,96.

IЗЗ м'яких тканин ЩЛД на клітинному рівні виникають в результаті незворотної адгезії збудників до слизових з наступною їх колонізацією та формуванням біоплівки. Спектр бактеріальних адгезинів досить широкий і напряму залежить від виду мікроорганізму. Дані, отримані нами, свідчать про високі адгезивні властивості золотистих стафілококів, що пов'язано з наявністю низки поверхневих білків. Так, основним відмінним фактором адгезії *S. aureus* є MSCRAMM, так званий фактор злипання, що являє собою фібриноген-зв'язуючим білком, здатним до прикріплення до пептидоглікану колінної стінки грампозитивних бактерій. Більше того, його субодиниця ClfB сприяє прикріпленню збудника до епітеліальних клітин, відіграючи ключову роль у розвитку інфекційних процесів порожнин носа та рота [11, 12]. Крім того, до факторів, що сприяють адгезії *S. aureus* відносять колагеновий адгезин (CNA), генетично-детерміновані позаклітинні білки Eap, FnBNA, FnBHB та інші [11].

Раніше вважали, що *S. epidermidis* рідко виступає у якості збудника тяжких ІЗЗ. Проте зі зниженням популяційного імунітету людства та еволюціонуванням мікроорганізмів на сьогодні коагулазонегативні стафілококи, до яких, власне, відноситься вищезазначений мікроорганізм, входять до переліку лідерів збудників ІЗЗ, в тому числі ЩЛД [13]. За даними результатів дослідження, клінічні ізоляти *S. epidermidis* володіють середніми адгезивними та плівкоутворюючими властивостями. Безумовно, даний мікроорганізм не володіє MSCRAMM, порівняно зі *S. aureus*. Однак, згідно сучасних даних літератури, він має поверхневий білок J – прототип потужного фактору вірулентності золотистого стафілококу (фактору злипання). Варто зауважити, що штами *S. epidermidis* мають плазмін-чутливі протеїни (PIs), що відповідають за формування біоплівок [14].

Тісний взаємозв'язок між адгезивністю та плівкоутворенням клінічними ізолятами роду *Staphylococcus* вказує на міцну залежність процесів, пусковим механізмом при чому виступає саме наявність на поверхнях бактеріальних клітин широко арсеналу зв'язуючих білків.

## Висновки

Отже, клінічні ізоляти *S. aureus*, збудники ІЗЗ м'яких тканин ЩЛД, володіють високими адгезивними та плівкоутворюючими властивостями.

Ізоляти *S. epidermidis* проявляють середню здатність до адгезії та утворення біоплівок.

Між адгезивними та плівкоутворюючими властивостями мікроорганізмів роду *Staphylococcus* прослідковується прямий міцний кореляційний зв'язок.

## Література

1. Al-Naqeeb AJ, Al-Naqeeb HJM. Odontogenic Infections: Etiology and Management. Al-Anbar Medical Journal. 2019; 15(1): 6-9.
2. Anwar K, Irfan N, Arain MI, Shahnaz S. Prevalence of odontogenic infections and their risk factors among the general population of Hyderabad, Pakistan. The Professional Medical Journal. 2019; 26(11): 1931-1936.
3. Faustova MA, Dobrovolskaia OV, Dobrovolskii AV. Izmeneniie aktivnosti lizotsyima rotovoy zhydkosti pri dentalnoy implantatsii [Changes of lysozyme activity during dental implant placement]. Dental science and practice. 2015; 3-4: 22-25. (Russian)
4. Ananieva MM, Faustova MO, Loban GA, Avetikov DS. Microbiological aspects of chlorophyll extract used for prevention of candida postoperative complications. Euromediterranean biomedical journal 2018;13 (39): 178-80.
5. Jagadish CH, Sripathi Rao BH, Muhammed Manzoor AP, Arun AB. Characterization and Antibiotic Sensitivity Profile of Bacteria in Orofacial Abscesses of Odontogenic Origin. J Maxillofac Oral Surg. 2017;16(4):445-452.
6. Shweta, Prakash SK. Dental abscess: A microbiological review. Dent Res J (Isfahan). 2013;10(5):585-591.
7. Nazarchuk O, Faustova M, Bobyr V, Kordon Y. 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): 403-6.
8. Fu B, McGowan K, Sun JH, Batstone M. Increasing frequency and severity of odontogenic infection requiring hospital admission and surgical management. Br J Oral Maxillofac Surg. 2020 Jan 24. pii: S0266-4356(20)30014-0.
9. Cheaib Z, Rakmathulina E, Lussi A, Eick S. Impact of acquired pellicle modification on adhesion of early colonizers. Caries research. 2015; 49 (6): 626-632.
10. Ponomarenko SV, Osolodchenko TP, Port OV, Menkus OV. Adhezyvni vlastyvnosti shtamiv Staphylococcus aureus, vydilyenykh z riznykh ekonish [Adhesion properties of Staphylococcus aureus strains isolated from various ekonish]. Visnyk problem biolohii i medytsyny. 2014; 2: 230-233. (Ukrainian).
11. Motallebi M, et al. Molecular analysis and the toxin, MSCRAMM, and biofilm genes of methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains isolated from pemphigus wounds: A study based on SCCmec and dru typing. Infection, Genetics and Evolution. 2021; 87: 104644.
12. Schnurr E, et al. Staphylococcus aureus Interferes with Streptococci Spatial Distribution and with Protein Expression of Species within a Polymicrobial Oral Biofilm. Antibiotics. 2021; 10: 116.
13. Arora, Srishtee, et al. Staphylococcus epidermidis MSCRAMM SesJ Is Encoded in Composite Islands. Mbio. 2020; 11:1.
14. Bleiziffer, Isabelle, et al. The plasmin-sensitive protein PIs in methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) is a glycoprotein. PLoS pathogens. 2017; 13.1: e1006110.

## Реферат

ВЗАИМОСВЯЗЬ АДГЕЗИВНЫХ И ПЛЕНКООБРАЗУЮЩИХ СВОЙСТВ STAPHYLOCOCCUS SPP. - ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИОННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ МЯГКИХ ТКАНЕЙ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ  
Фаустова М.А.

Ключевые слова: адгезия, биопленка, заболевания челюстно-лицевой области, корреляция.

Целью исследования было установить наличие взаимосвязи между пленкообразующими и адгезивными свойствами клинических изолятов *Staphylococcus spp.* Материалы и методы. Объектом исследования были 20 клинических изолятов *S. aureus* и 10 изолятов *S. epidermidis*, полученных из гнойного экссудата больных с инфекционно-воспалительными заболеваниями мягких тканей челюстно-лицевой области. Культивирования указанных изолятов проводили по стандартной методике.

Определение адгезивных свойств изучаемых клинических изолятов микроорганизмов проводили с помощью стандартной методики по Брилис. Адгезивные свойства оценивали по индексу адгезивности микроорганизмов. Изучение пленкообразующей способности клинических изолятов определяли с помощью спектрофотометрического метода MtP-test "microtiter plate test" по G.D. Christensen. С целью

определения наличия связи между переменными величинами определяли коэффициент корреляции (r-Пирсона). Результаты. Установлено, что клинические штаммы *S. aureus* обладают высокими адгезивными и пленкообразующими свойствами. В свою очередь, индекс адгезивности клинических изолятов *S. epidermidis* указывал на средние адгезивные свойства возбудителя. Кроме этого *S. epidermidis* проявлял среднюю способность к образованию биопленок. В результате исследований обнаружена тесная взаимосвязь между адгезивностью и пленкообразованием клинических изолятов рода *Staphylococcus*. Выводы. Клинические изоляты *S. aureus* обладают высокими адгезивными и пленкообразующими свойствами. Изоляты *S. epidermidis* проявляют среднюю способность к адгезии и образования биопленок. Между адгезивными и пленкообразующими свойствами микроорганизмов рода *Staphylococcus* прослеживается прямая крепкая корреляционная связь.

### **Summary**

RELATIONSHIP BETWEEN ADHESIVE AND FILM-FORMING PROPERTIES OF STAPHYLOCOCCUS SPP. - PATHOGENS OF INFECTIOUS INFLAMMATORY DISEASES IN SOFT TISSUES OF JAW AND FACIAL AREA

Faustova M.O.

Key words: adhesion, biofilm, diseases of the maxillofacial region, correlation.

The aim of the study was to establish the relationship between film-forming and adhesive properties of clinical isolates of *Staphylococcus* spp. Materials and methods. The study included 20 clinical isolates of *S. aureus* and 10 isolates of *S. epidermidis* obtained from purulent exudates in patients with infectious inflammatory diseases of soft maxillofacial tissues. Cultivation of these isolates was performed according to standard methods. The assessment of the adhesive properties of the clinical isolates of microorganisms under the study was performed using the standard method of V. I. Brillis et al. Adhesive properties were evaluated by the index of microorganism adhesion. The study of the film-forming property of clinical isolates was performed using the spectrophotometric method of MtP-test "microtiter plate test" by G.D. Christensen. The correlation coefficient (r-Pearson) was applied to determine the relationship between the variables. Results. Clinical strains of *S. aureus* have been found to possess high adhesive and film-forming properties. In turn, index of adhesion of clinical isolates of *S. epidermidis* indicates the moderate adhesive properties of the pathogen. Moreover, *S. epidermidis* showed a moderate ability to form biofilms. The study had shown a close relationship between the adhesion and film formation in clinical isolates of the genus *Staphylococcus*. Conclusions. Clinical isolates of *S. aureus* have been found to have high adhesive and film-forming properties. Isolates of *S. epidermidis* show a moderate ability to adhere and form biofilms. There is a direct strong correlation between the adhesive and film-forming properties of microorganisms of the genus *Staphylococcus*.