© Назарчук О.А., Фаустова М.О.

УДК: 616:314 - 089:579.86 - 026.569

Назарчук О.А., Фаустова М.О.
Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018), ВДНЗУ "Українська медична стоматологічна академія" (вул. Шевченка, 23, м. Полтава, Україна, 36011)

МІКРОБІОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ ГРАМПОЗИТИВНИХ ЗБУДНИКІВ ІНФЕКЦІЙНО-ЗАПАЛЬНИХ ПЕРИІМПЛАНТАЦІЙНИХ УСКЛАДНЕНЬ

Резюме. *У статті наведені результати дослідження біологічних властивостей грампозитивних мікроорганізмів, що колонізують слизову оболонку періімплантатної ділянки за умов періімплантатного мукозиту. Об'єктом дослідження стали 147 клінічних штамів мікроорганізмів, отриманих від хворих. Показано, що клінічні ізоляти S. aureus, S. epidermidis, S. warneri та S. sunguinis, які приймають участь у розвитку інфекційно-запальних ускладнень одонтоімплантації, володіють низькою чутливістю до більшості антибактеріальних засобів. Крім цього, наведені результати дослідження адгезивних властивостей отриманих штамів грампозитивних мікроорганізмів, серед яких лише S. epidermidis володіють низькою адгезивністю щодо еритроцитів людини. Встановлено, що клінічним штамам S. aureus, S. warneri, та S. sunguinis притаманна середня та висока адгезивність.*

Ключові слова: *антибіотики, грампозитивні мікроорганізми, адгезивність, періімплантатний, чутливість.*

Вступ

Останнім часом у світі реєструють збільшення кількості осіб зі зниженим імунітетом, що може бути пов'язано не лише з рецидивуючими інфекціями та ВІЛ. Досить вагомими причинами є генетична схильність, активне використання імунодепресантів, хіміотерапевтичних засобів, неконтрольоване, довготривале вживання антибіотиків та забруднення навколишнього середовища. На цьому тлі все частіше реєструють випад-

ки розвитку опортуністичних інфекцій, які спричиняють представниками нормальної мікрофлори організму людини, в тому числі ротової порожнини [5, 7, 10].

Серед збудників опортуністичних інфекцій у хворих з критичними станами одне з провідних місць займають бактерії роду *Staphylococcus*. Стафілококи включено до п'ятірки проблемних мікроорганізмів, моніторинг яких проводять у всіх розвинутих країнах світу, перш за все через швидкість наростання стійкості до антибіотиків (National Nosocomial Infections Surveillance, 2004). Особливу проблему становлять штами стафілококів резистентні до метициліну (оксациліну), яким, як правило, притаманна стійкість до інших антибіотиків. Такі умови є передвісниками серйозної екологічної проблеми. До теперішнього часу стафілококи належать до провідних збудників інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги [6].

Значення умовно-патогенних мікроорганізмів у спричиненні інфекційних захворювань безпосередньо пов'язують з наявністю факторів патогенності, одним із найвагоміших серед яких є адгезія [2, 3]. Адже саме в результаті адгезії збудників інфекційних ускладнень ініціюється каскад імунологічно-опосередкованих реакцій, які визначають специфіку інфекційного процесу, і є його пусковим механізмом. Долаючи захисні бар'єри макроорганізму, мікроорганізми специфічно взаємодіють з клітинами слизових оболонок, шкіри, прикріплюючись до них [4].

Відомо, що більшість представників мікрофлори ротової порожнини володіють потужними адгезивними властивостями, що обумовлює їх роль не лише в розвитку бляшкоасоційованих захворювань (карієс, пародонтит), одонтоімплантаційних ускладнень, а й важких інфекцій серцево-судинної, сечостатевої та нервової та ін. систем організму [4, 9]. Саме вивчення біологічних властивостей домінуючих збудників захворювань порожнини рота є надзвичайно важливим етапом на шляху пошуку нових методів і засобів їх лікування та профілактики.

Мета - дослідження чутливості до протимікробних засобів та адгезивних властивостей грампозитивних мікроорганізмів періімплантаційної ділянки в пацієнтів з мукозитом.

Матеріали та методи

У дослідженні обстежено 53 пацієнти (середній вік 48±4 років) з включеними дефектами зубних рядів, яким було встановлено від 1 до 4 розбірних титанових імплантатів та за результатами клінічних і рентгенологічних методів діагностовано періімплантатний мукозит (ПІМ). Всього від хворих, яким діагностуали ПІМ, виділено та ідентифіковано 147 клінічних штамів грампозитивних мікроорганізмів. Серед них штами *Staphylococcus aureus* (n=86), *Staphylococcus epidermidis* (n=29), *Staphylococcus warneri* (n=15) та Streptococcus sunguinis (n=17).

Культивування мікроорганізмів проводили протягом 24-48 годин при температурі 37оС за загальноприйнятими методами. Заключну ідентифікацію здійснювали за допомогою автоматичного бактеріологічного аналізатора Vitec - 2compact bioMerieux (Франція) згідно інструкції виробника.

Чутливість отриманих штамів мікроорганізмів до антибіотиків різних груп визначали стандартними диско-дифузійним методом, а до антисептиків (декасану, горостену, хлоргексидину біглюконату) - кількісним методом двократних серійних розведень (МОЗ України № 167 від 05.04.2007 р. "Про затвердження методичних вказівок "Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів"). Результати чутливості клінічних ізолятів до антибіотиків оцінювали за розміром діаметру зон затримки росту мікроорганізмів навколо стандартного диску. Досліджувані мікроорганізми умовно поділяли на чутливі, помірно-стійкі та резистентні, згідно критеріїв інтерпретації результатів вивчення чутливості відповідного виду збудника [1]. Адгезію досліджуваних мікроорганізмів визначали на формалізованих еритроцитах людини групи крові О (1) Rh+ за методикою Бріліса [3]. Адгезивні властивості оцінювали за допомогою індексу адгезивності еритроцитів (IAE) шляхом підрахунку середньої кількості мікробних клітин, що прикріпилися до одного еритроциту, який приймає участь у адгезивному процесі. Адгезивність вважали нульовою при IAE нижче 1,75, низькою - при IAE від 1,76 до 2,5, середньою - від 2,51 до 4,0, високою - вище 4,0.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою програми Microsoft Excel. Аналіз достовірності - за критерієм Стьюдента.

Результати. Обговорення

Дослідження показали низьку антибіотикочутливість клінічних штамів грампозитивних мікроорганізмів, що виділені за умов ПІМ. Встановлено, що в середньому лише близько 50 % клінічних ізолятів, які спричиняли гнійно-запальні ускладнення одонтоімплантації, були чутливими до оксациліну. Абсолютну стійкість до оксациліну в S. aureus (35,33±13,64 %), *S. epidermidis* (55,12±11,02 %), S. warneri (86,5±14,12 %) та S sunguinis (87,0±13,41 %) (рис. 1, 2). Враховуючи одержані дані можна зазначити, що вагома частка клінічних ізолятів золотистого стафілокока мала резистентність до метициліну. Наявність стійких до ампіциліну/сульбактаму клінічних штамів *S. aureus* (24,45 %), S. epidermidis (34,17 %), *S. warneri* (93,2 %) та S. sunguinis (86,6 %) засвідчило неефективність природних та напівсинтетичних пеніцилінів, захищених сульбактамом при гнійно-запальних захворюваннях, спричинених даними збудниками.

Подібну низьку чутливість *S. aureus*, виділених від хворих на ПІМ, (67,47±9,30 %) встановлено до амоксициліну/клавуланату. Показники високої резистентності

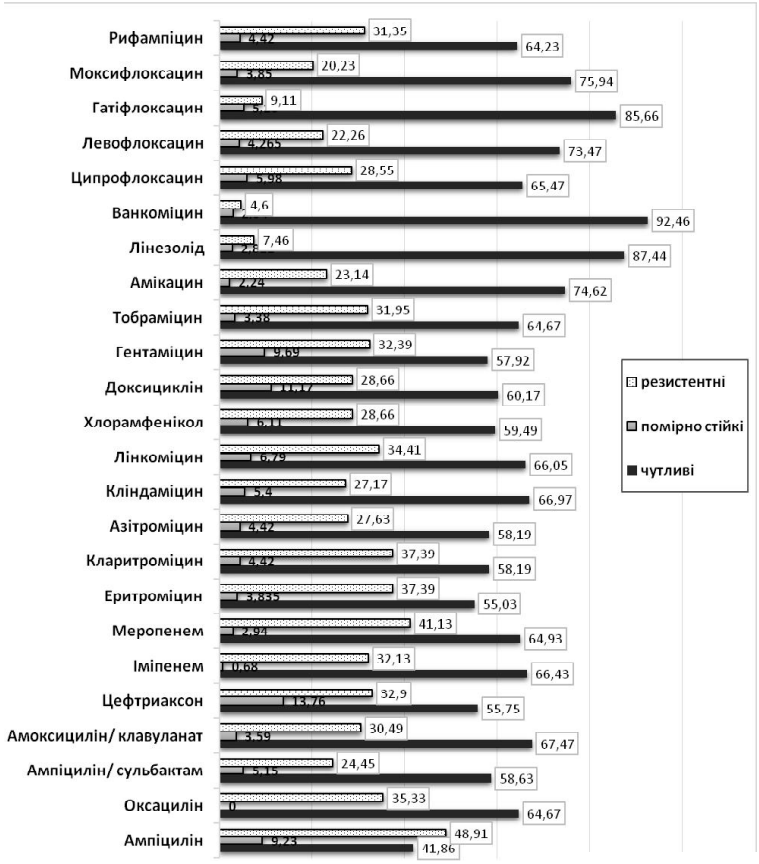


Рис. 1. Чутливість клінічних штамів *S. aureus* (n=86) до антибактеріальних препаратів, (%).

S. aureus (30,49 %) вказували на недостатню ефективність амоксициліну, що містить інгібітор беталактамаз (клавуланат калію). У клінічних штамів S. aureus, виділені з періімплантатних кишень також виявили резистентність і до цефтриаксону (32,9 %). Низьку чутливість до оксациліну (41,3±13,15 %), цефтриаксону (70,35±6,31 %) проявили і клінічні штами *S. epidermidis*.

Серед клінічних штамів стафілококів, виділених від хворих з ПІМ, чутливими до меропенему були тільки (64,93±10,5 %) штамів *S. aureus*, однак чутливість *S. epidermidis* (70,35±2,41 %), *S. warneri* (81,16±6,47 %) та *S. sunguinis* (74,04±4,52 %) була дещо вищою.

Встановлено низьку чутливість до аміноглікозидів. Так, низьку чутливість *S. aureus* встановили до гентаміцину (57,92±10,76 %), тобраміцину (64,67±10,3 %). У дослідженні доведено низьку протимікробну активність макролідів щодо штамів *S. aureus*. Чутливість *S. aureus* до еритроміцину не перевищувала (55,03±13,88 %). Встановлено низьку чутливість *S. aureus* до напівсинтетичного похідного еритроміцину - кларитроміцину (58,19±13,94 %). Азитроміцин, також, виявся малоефективним. Так, чутливість *S. aureus* до даного антибіотика не перевищувала 58 %.

Резистентність стафілококів була високою як до азитроміцину (*S. aureus* - 27,63 %; *S. epidermidis* - 45,3 %) і кларитроміцину (*S. aureus* - 37,39 %; *S. epidermidis* - 41,75 %). Еритроміцин визначили як малоефективний щодо клінічних ізолятів *S. epidermidis* (43,95 %).

Водночас усі досліджувані штами мікроорганізмів проявили низьку чутливість до лінкоміцину та кліндаміцину.

Досліджувані штами мікроорганізмів, що колонізують періімплантаційну ділянку за умов ПІМ, володіють адгезивними властивостями щодо еритроцитів людини в різній мірі (рис. 3).

Серед клінічних штамів найменшу здатність до адгезії проявили ізоляти *S. warneri* та *S. epidermidis*, що відповідало середній та низькій адгезивності за Брилісом відповідно. У свою чергу, IAM S. sunguinis складав (4,48±1,47) і характеризувався високим рівнем адгезії. Механізм адгезії *S. sunguinis* до клітин макроорганізму пояснюється наявністю ліпотейхоєвих кислот в складі клітинної стінки та поверхневих білків. Крім того, даний збудник має здатність уникати місцевої імунної відповіді шляхом розщеплення sIgA. Саме тому, даний мікроорганізм відносять до ранніх колонізаторів

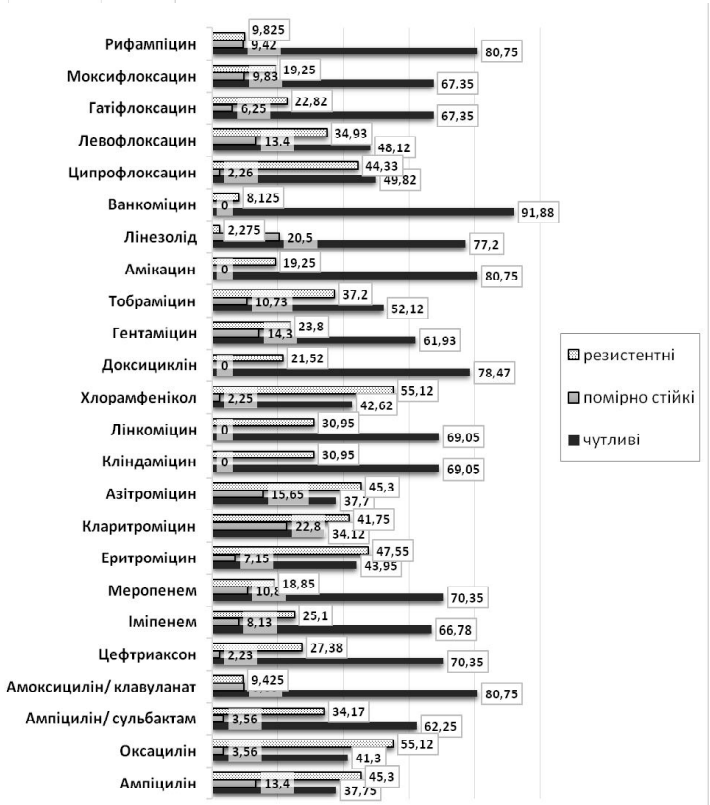


Рис. 2. Чутливість клінічних штамів *S. epidermidis* (n=29) до антибактеріальних препаратів, (%).

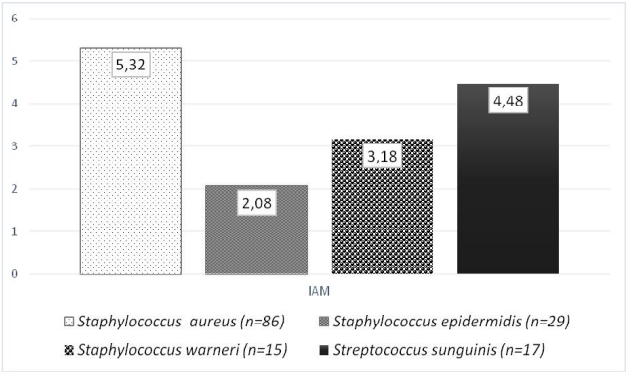


Рис. 3. Індекс адгезивності грампозитивних мікроорганізмів, що колонізують періімплантатну ділянку у хворих ПІМ.

ротової порожнини і все частіше виступає у ролі етіологічного збудника інфекційних захворювань серцево-судинної системи [5].

S. warneri значно рідше викликає бактеримії та виступає в якості домінантного збудника ендокардитів, порівняно зі S. sunguinis, що співпадає з результатами досліджень їх адгезивних властивостей [5].

Найвищими адгезивними властивостями серед мікроорганізмів, виділених за умов ПІМ, володіли клінічні штами *S. aureus*. Їх ІАМ досягав (5,32±1,14), що відповідало високій адгезивності за Брилісом. Варто відмітити, що ІАМ антибіотикорезистентних штамів був значно вищим, ніж у чутливих ізолятів.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Досліджувані штами грампозитивних мікроорганізмів, що колонізують періімплантаційну ділянку за умов ПІМ, виявляють низьку антибіотикочутливість до більшості антибактеріальних засобів.

2. Клінічні штами *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. warneri* та *S. sunguinis* володіють адгезивними властивостями відносно еритроцитів людини у різній мірі.

3. Клінічні ізоляти *S. aureus* володіють високою, а *S. sunguinis* та *S. warneri* - середньою адгезивністю за Брілісом.

Розвиток значущої резистентності до антибактеріальних засобів серед грампозитивних збудників ПІМ та наявність середніх та високих адгезивних властивостей щодо еритроцитів людини створює підґрунтя для пошуку та впровадження нових засобів для профілактики та лікування інфекційно-запальних ускладнень одонтоімплантації.

Список посилань

1. Наказ МОЗ України за № 167 від 05.04.2007 р. "Про затвердження методичних вказівок "Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів". Взято з http//www.moz.gov.ua.
2. Петрушанко Т. А., Череда, В. В. & Лобань Г. А. (2013). Роль колонизационной резистентности полости рта в развитии кариеса. Стоматология, 92 (1), 43-45.
3. Пономаренко, С. В., Осолодченко, Т. П., Порт, О. В. & Менкус О. В. (2014). Адгезивні властивості штамів Staphylococcus aureus, виділених з різних еконіш. Вісник проблем біології і медицини, 2, 230-233.
4. Семенко, Н. М., Степанський, Д. О. & Смотрова Н. Г. (2016). Методи вивчення адгезії мікроорганізмів. Morphologia, 10 (4), 7-11.
5. Фаустова М. О., Назарчук, О. А. & Ананьєва М. М. (2017). Етіологічна структура, біологічні властивості збудників періімплантатного мукозиту. Запорізький медичний журнал, 5, 652-657.
6. Фоміна Н. С. & Фомін О. О. (2012). Біологічні властивості стафілокока, дріжджоподібних грибів роду Candida виділених з організму онкологічних пацієнтів. Аннали Мечниковського інституту, 4, 110-113.
7. Berg, G., Erlacher, A., Smalla, K. & Krause, R. (2014). Vegetable microbiomes: is there a connection among opportunistic infections, human health and our 'gut feeling'? Microbiol. biotechnology, 7 (6), 487-495.
8. Cheaib, Z., Rakmathulina, E., Lussi, A. & Eick, S. (2015). Impact of acquired pellicle modification on adhesion of early colonizers. Caries research., 49 (6), 626-632.
9. Hakata K., Kawamata, H. & Imai, Y. (2014). Implication of the oral bacteria on the onset of infective endocarditis. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 72 (9), e86.
10. Kawamata, H., Okubo, M. & Uchida, D. (2015). Association of the oral bacteria with onset of the infective endocarditis. International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 44, e240.

Назарчук А.А., Фаустова М.А.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИОННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПЕРИИМЛПАНТАЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ

Резюме. *В статье приведены результаты исследований биологических свойств грамположительных микроорганизмов, которые колонизируют слизистую оболочку периимплантатного участка при периимплантатном мукозите. Объектом исследования были 147 клинических штаммов микроорганизмов, полученных от больных. Показано, что клинические изоляты S. aureus, S. epidermidis, S. warneri и S. sunguinis, принимающие участие в развитии инфекционно-воспалительных осложнений одонтоимплантации, обладают низкой чувствительностью к большинству антибактериальных средств. Кроме этого, представлены результаты исследования адгезивных свойств полученных штаммов грамположительных микроорганизмов, среди которых только S. epidermidis обладают низкой адгезивностью относительно эритроцитов человека. Установлено, что клиническим штаммам S. aureus, S. warneri, и S. sunguinis присуща средняя и высокая адгезивность.*

Ключевые слова: *антибиотики, адгезивность, грамположительные микроорганизмы, периимплантатний мукозит, чувствительность.*

Nazarchuk O.A., Faustova M.O.

THE MICROBIOLOGICAL INVESTIGATION OF THE PROPERTIES OF GRAM-POSITIVE PATHOGENS OF INFECTIOUS AND INFLAMMATORY PERIIMPLANTATION COMPLICATIONS

Summary. *The article presents the results of studies of the biological properties of Gram-positive microorganisms that colonize the*

mucous membrane of the peri-implant site during the peri-implant mucositis. The subject of the study was 147 clinical strains of microorganisms obtained from patients. It has been shown that the clinical isolates of S. aureus, S. epidermidis, S. warneri and S. sunguinis, which are involved in the development of infectious and inflammatory complications of dental implantation, show low sensitivity to the most antibacterial agents. In addition, the results of the investigation of the adhesive properties of the obtained strains of gram-positive microorganisms are presented. Among them only S. epidermidis have low adhesiveness to human erythrocytes. It has been established that the clinical strains of S. aureus, S. warneri, and S. sunguinis are characterized by medium and high adhesiveness.
Key words: *antibiotics, Gram-positive microorganisms, adhesiveness, peri-implant, sensitivity.*

Рецензент - д.мед.н., проф. Ковальчук В.П.

Стаття надійшла до редакції 21.08.2017 р.

Назарчук Олександр Адамович - к.мед.н., ст. викладач кафедри мікробіології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова; nazarchukoa@gmail.com
Фаустова Марія Олексіївна - викладач кафедри мікробіології, вірусології та імунології ВДНЗУ "Українська медична стоматологічна академія"; mashafaustova@ukr.net