

УДК 54-71+546.57:579.262+579.862+582.28

Е. О. Синегар, О. В. Покас, О. І. Брич
 ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН
 України», м. Київ

ВПЛИВ ІОНІВ СРІБЛА НА ФОРМУВАННЯ БІОПЛІВКИ ENTEROCOCCUS FAECALIS І CANDIDA ALBICANS В АСОЦІАЦІЇ

Встановлено, що на зовнішній і внутрішній поверхні силіконового катетера вже через 24 годин *in vitro* формуються основні структурні одиниці біоплівки – мікроколонії *S. albicans*, які складаються з щільно об'єднаних дріжджоподібних клітин, а також спостерігали менший рівень утворення мікроколоній клітин *E. faecalis* у порівнянні з клітинами *S. albicans* на фрагментах досліджуваного катетера. Тоді як на зовнішній і внутрішній поверхні катетера, обробленого іонами срібла в концентрації 0,002 мг/мл, спостерігали наявність поодиноких клітин досліджуваних штамів в асоціації.

Ключові слова: *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, силіконові катетери, іони срібла, біоплівка.

Поширення штамів, які утворюють біоплівку обумовлює необхідність їх всебічного вивчення, а також розробки напрямів боротьби із біоплівками, зокрема підходів до запобігання їх утворення [1]. Збудники катетер-асоційованих інфекцій сечовивідних шляхів, що змінюються при тривалій катетеризації, обумовлюють складність своєчасного підбору емпіричної антибіотикотерапії при запальних ускладненнях [2, 10]. Видовий склад мікрофлори сечі у катетеризованих пацієнтів змінюється із збільшенням тривалості захворювання. При цьому зменшується питома вага кишкової палички і збільшується частка змішаної мікрофлори, зокрема *Enterococcus* sp., *Klebsiella* sp., *P. aeruginosa* та грибів роду *Candida*. Крім того, при зміні збудника катетер-асоційованої бактеріурії відмічається постійне наростання його резистентності [9].

Серед відомих природних речовин, які мають антимікробну активність, особливе місце займає срібло. На думку авторів, срібло в іонному виді володіє бактерицидною, противірусною та протигрибковою дією стосовно патогенних мікроорганізмів, які зумовлюють гострі інфекції [3]. Великий інтерес до срібла пояснюється не тільки його високими антибактеріальними властивостями стосовно збудників інфекційних захворювань, але й тим, що резистентність мікроорганізмів до срібла розвивається досить повільно. Спектр антимікробної дії срібла ширше багатьох антибіотиків і сульфаніламідів. Ця властивість обумовлює перевагу срібла над багатьма сучасними хіміотерапевтичними засобами, що застосовуються з лікувально-профілактичною метою. При цьому іони срібла безпечні для клітин організму людини, на відміну від мікроорганізмів [1, 5, 6].

Метою роботи було вивчення впливу іонів срібла на процес біоплівкоутворення штамів *Enterococcus faecalis* і *Candida albicans* в асоціації на поверхні силіконового катетера.

Матеріал та методи дослідження. Дослідження проводились триразово з використанням асоціації штамів *E. faecalis* 48 і *S. albicans* 48, виділених з сечі у пацієнта відділення реанімації та інтенсивної терапії (ВРІТ). Визначали мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК) іонів срібла методом серійних розведень у відповідному живильному середовищі [4] з встановленням субінгібуючої концентрації, яку в подальшому використовували у дослідній роботі.

У роботі використовували іони срібла, марки Sigma Aldrich без додаткової очистки $AgNO_3$ у концентрації 10 мг/мл.

З метою вивчення антимікробного впливу іонів срібла на біоплівкоутворення асоціацій досліджуваних штамів мікроорганізмів фрагменти силіконових катетерів занурювали на 1 годину у розчин іонів срібла у субінгібуючій концентрації: 0,002 мг/мл для *E. faecalis*. Фрагменти обробленого катетера підсушували при кімнатній температурі і вносили у завись бактеріальної суспензії *E. faecalis* і *S. albicans*, що містила 107 кл/мл кожного у співвідношенні 1:1. В якості контролю використовували фрагменти катетера без попередньої обробки препаратом. Інкубували в термостаті при 37°C протягом 24 годин, фарбували 1 % розчином генціанвіолету і фіксували 96 % етиловим спиртом. Результати оцінювали за кількістю прикріплених клітин на поверхні катетерів з використанням скануючого електронного мікроскопа Tescan Mira 3 LMU, виробництва Чехія [7].

Результати дослідження та їх обговорення. Встановлено, що на зовнішній поверхні фрагментів силіконового катетера без попередньої обробки іонами срібла вже на 24 години відбувалось прикріплення клітин *E. faecalis*, розташованих поодинокі або зібраних попарно. Клітини *S. albicans*, розташовувались як поодинокі, так і у вигляді угруповань. При цьому клітини *S. albicans* були подовженими або знаходились у стадії поділу. В цілому, фрагмент катетера був покритий не суцільно розташованими клітинами *S. albicans*, а у вигляді агломератів, що може свідчити про ймовірність подальшого утворення біоплівки. Відмічено, що на фоні утворення угруповань з клітин *S. albicans* було менше адгезованих клітин *E. faecalis* (рис. 1).

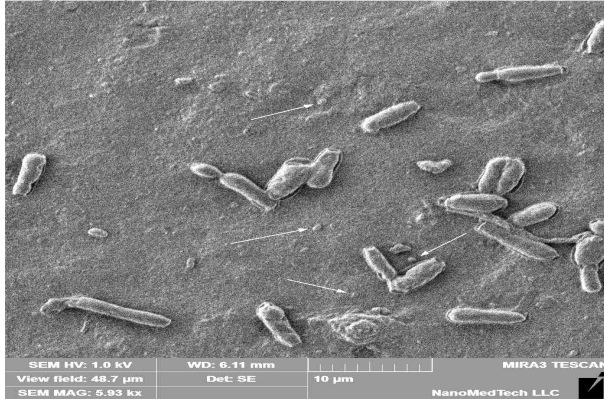


Рис. 1 Угруповання клітин *S. albicans* і *E. faecalis* на зовнішній поверхні силіконового катетера через 24 години обробленого іонами срібла у концентрації 0,002 мг/мл.

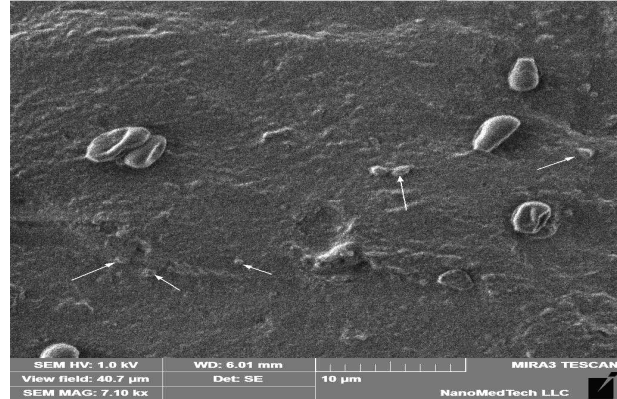


Рис. 2 Адгезія клітин *S. albicans* і *E. faecalis* на зовнішній поверхні силіконового катетера. Примітка: на рисунку 1, 2 стрілками показано клітини *E. faecalis*.

На зовнішній поверхні фрагментів катетера, обробленого іонами срібла у концентрації 0,002 мг/мл, було виявлено меншу кількість прикріплених клітин *E. faecalis* і *S. albicans* у порівнянні з контролем. При цьому прикріплені клітини *S. albicans* мали змінені морфологічні ознаки (зморшкування). Змін морфології клітин *E. faecalis* при концентрації іонів срібла 0,002 мг/мл нами не виявлено (рис. 2).

За даними літератури авторів [3], механізм дії іонів срібла на мікробну клітину полягає в тому, що іони срібла поглинаються клітинною оболонкою мікроба, в результаті чого його клітина залишається життєздатною, але при цьому порушуються деякі її функції, включаючи поділ.

На внутрішній поверхні фрагментів силіконового катетера, необроблених іонами срібла, протягом 24 годин *in vitro* лише в окремих ділянках було виявлено групування клітин *E. faecalis* з утворенням мікроколоній (рис. 3), а також спостерігали адгезію поодиноких та попарно розташованих клітин *E. faecalis* і їх поділ.

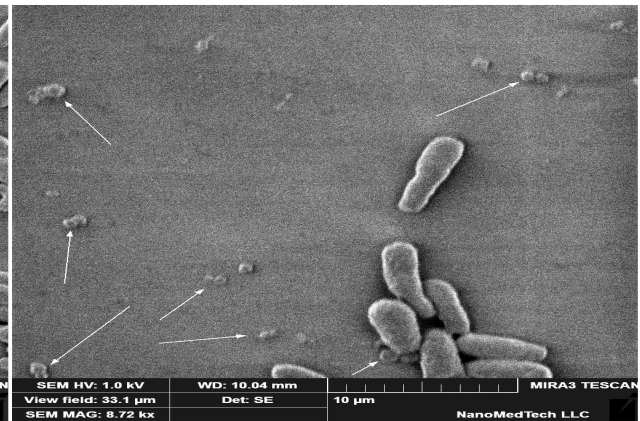
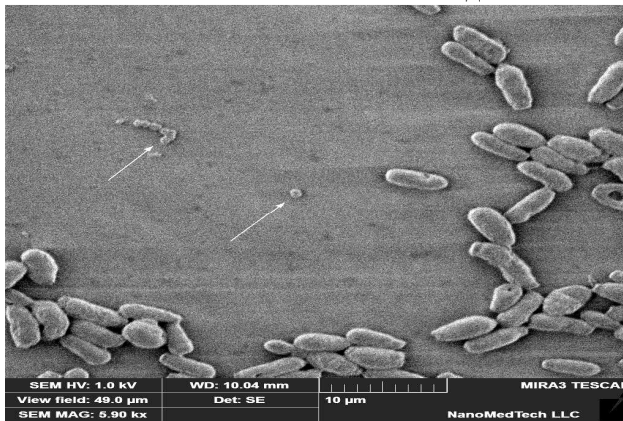


Рис. 3, 4 Угруповання клітин *S. albicans* і поодинокі або зібрані попарно клітини *E. faecalis* на внутрішній поверхні силіконового катетера протягом 24 годин. Примітка: на рисунку 3, 4 стрілками показано поодинокі і попарно розташовані клітини *E. faecalis*.

Крім того на фрагментах силіконового катетера знаходяться угруповання клітин *S. albicans*, які розташовані на різній відстані один від одного, що є наслідком їх розмноження після адгезії. Отже, нами встановлено, що на внутрішній поверхні силіконового катетера вже через 24 годин *in vitro* формуються основні структурні одиниці біоплівки – мікроколонії *S. albicans*, які складаються з щільно об'єднаних дріжджоподібних клітин (рис. 3, 4). Слід відмітити, що на

фрагментах досліджуваного катетера спостерігали менший рівень утворення мікроколоній клітин *E. faecalis* у порівнянні з клітинами *C. albicans* (рис. 3, 4).

Тоді як, на внутрішній поверхні катетера, обробленого іонами срібла, спостерігали наявність поодиноких клітин *C. albicans* і *E. faecalis*. Клітини *C. albicans* морфологічно не були змінені порівняно з клітинами, які були прикріплені до зовнішньої поверхні катетера при обробці іонами срібла. Концентрація іонів срібла 0,002 мг/мл не призводила до утворення мікроколоній досліджуваних мікроорганізмів (рис. 5, 6).

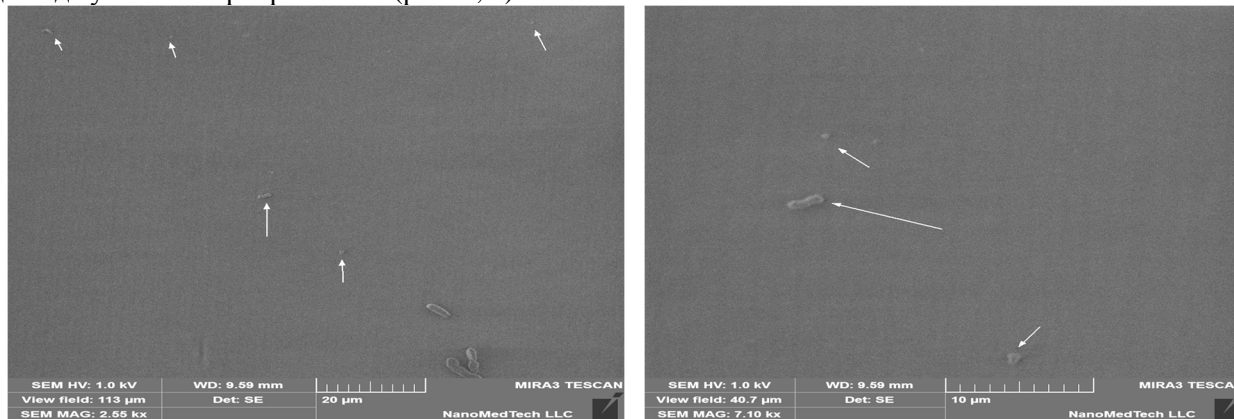


Рис. 5, 6 Адгезія клітин *C. albicans* і *E. faecalis* на внутрішній поверхні силіконового катетера, обробленого іонами срібла у концентрації 0,002 мг/мл. Примітка: на рисунку 5, 6 стрілками показано клітини *E. faecalis*.

Висновки

1. Обробка поверхні силіконового катетера іонами срібла в концентрації 0,002 мг/мл призводить до зменшення адгезії клітин досліджуваних штамів.
2. Досліджувана концентрація запобігає формуванню мікроколоній, які є основними структурними одиницями утворення біоплівки *C. albicans* і *E. faecalis* в асоціації на поверхні досліджуваного катетера.

Перспективи подальших досліджень. Отримані дані свідчать про перспективність застосування іонів срібла для обробки поверхонь катетерів з метою попередження біоплівкоутворення мікроорганізмами.

Список літератури

1. Afonina I. A. Bakteritsidnaya aktivnost kolloidnogo serebra v otnoshenii predstaviteley grampozlozhitelnykh i gramotritsatelnykh bakteriy / I.A. Afonina, L.A. Kraeva, G.Ya. Tseneva // Antibiotiki i himioterapiya. – 2010. – No. 55. – S. 9-10.
2. Buharin O. V. Eksperimentalnoe izuchenie kombinatsii tsiprofloksatsina s oksitotsinom na obrazovanie bioplenok uslovno patogennymi bakteriyami / O.V. Buharin, P.P. Kurlaev, N.B. Perunova [i dr.] // Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii. – 2010. – No. 6. – S. 3-7.
3. Bukina Yu. A. Antibakterialnyye svoystva i mehanizm bakteritsidnogo deystviya nanochastits i ionov serebra / Yu. A. Bukina, E. A. Sergeeva // Vesnik Kazanskogo tehnologicheskogo universiteta. – 2012. – No. 15. – S. 170-172.
4. Vznachennya chutlivosti mikroorganizmiv do antibakterialnih preparativ: metodichni vkazivki MV 9.9.5-143-2007. Ofitsiyne vid. - K.: MOZ Ukrayiny, - 2007.
5. vanov V. N. Nekotorye eksperimentalnyye i klinicheskie rezultaty primeneniya kationov serebra v borbe s lekarstvenno-ustoychivymi mikroorganizmami / V. N. Ivanov, G. M. Larionov, N. I. Kulish [i dr.] // Srebro v meditsine, biologii i tehnike. Sib.otd.RAMN. – 1995. – No. 4 – S. 53-62.
6. Orlov D. S. Deystvie kompleksov prirodnykh antimikrobnih peptidov i nanochastits serebra na mikroorganizmy / D. S. Orlov, O. V. Shamova, O. Yu. Golubeva [i dr.] // Tsitokiny i vospaleniye. – 2010. – T. 9, No. 2. – S. 32-36.
7. Sinetar E. O. Formuvannya bioplivki Candida albicans na poverhni medichnih kateteriv: doslidzhennya in vitro / E. O. Sinetar, L. V. Avdyeyeva, M. A. Skorik [i dr.] // Dovkillya ta zdorov'ya. – 2014. – No. 1 (68) – S. 28-32.
8. Tsiganenko A. Ya. Dosyagnennya ta perspektivi rozvitku antibiотikoterapiyi gnIyno-septichnih Infektsiy / A. Ya. Tsiganenko // Eksperimentalna ta klinichna meditsina. – 2004. – No. 2. – S. 8 – 11.
9. Chebotar I. V. Antibiotikorezistentnost bioplYonochnykh bakteriy / I. V. Chebotar, A. N. Mayanskiy, E. D. Konchakova [i dr.] // Klin. mikrobiol. antimikrob. himioter. – 2012. – T. 14, No. 1. – S. 51-57.
10. Ronald A. The etiology of urinary tract infection traditional and emerging pathogens / A. Ronald // Dis. Mon. – 2003. – Vol. 49, N 2. – P. 71-82.

Реферати

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ СЕРЕБРА НА ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЕНКИ ENTEROCOCCUS FAECALIS И CANDIDA ALBICANS В АССОЦИИ

Синетар Э. А., Покас Е. В., Брыч О. И.

Установлено, что на наружной и внутренней поверхности

INFLUENCE OF SILVER IONS ON THE FORMATION OF JOINT ENTEROCOCCUS FAECALIS AND CANDIDA ALBICANS BIOFILM

Sinetar E.A., Pokas E.V., Brych O.I.

It was established that the outer and inner

силиконового катетера уже через 24 часа in vitro формируются основные структурные единицы биопленки - микроколонии *S. albicans*, которые состоят из плотно объединенных дрожжеподобных клеток, а также наблюдали меньший уровень образования микроколоний клеток *E. faecalis* по сравнению с клетками *S. albicans* на фрагментах исследуемого катетера. Тогда как на внешней и внутренней поверхности катетера, обработанного ионами серебра в концентрации 0,002 мг / мл, наблюдали наличие единичных клеток исследуемых штаммов в ассоциации. Полученные данные свидетельствуют о перспективности применения ионов серебра для обработки поверхностей катетеров с целью предупреждения образования биопленки микроорганизмами.

Ключевые слова: *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, силиконовые катетеры, ионы серебра, биопленка.

surface of the silicone catheter within 24 hours of in vitro formed the basic structural unit of biofilm - mikrokolonies *S. albicans*, which consist of tightly united yeast cells and observed a lower level of education microcolonies *E. faecalis* cells compared to *S. albicans* cells fragments investigational catheter. While the outer and inner surfaces of the catheter treated with silver ions, the concentration of 0.002 mg / ml was observed the presence of single cell strains investigated the association. These data suggest promising application of silver ions for surface treatment catheters to prevent the formation of biofilm by microorganisms.

Key words: *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, silicone catheters, silver ions, biofilm.

Стаття надійшла 20.05.2015 р.

Рецензент Бобирьов В.М.

УДК 616.311.2-002-053-071:615

Н.І. Ткаченко, Н.М. Лохматова, Н.М. Коротич
ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

НАЙБЛИЖЧІ НАСЛІДКИ КОМПЛЕКСНОГО ЛІКУВАННЯ ХРОНІЧНОГО ДИФУЗНОГО КАТАРАЛЬНОГО ГІНГІВІТУ В ДІТЕЙ

У роботі наведені результати комплексного лікування хронічного дифузного катарального гінгівіту в двох групах дітей, які спостерігалися протягом півроку. Стоматологічне обстеження проведене через 6 місяців та співставлення отриманих результатів у групах порівняння дозволило встановити, що хворі які лікувались за запропонованою методикою (додаткове включення антисептика «Декасан» до складу комплексного лікування) мали кращі показники індексів гігієни та стану тканин пародонта. Доведено, що запропонований лікувальний комплекс дозволяє отримати більш позитивні і стабільні клінічні результати та досягти зменшення кількості загострень протягом 6 місяців в 1,5 рази.

Ключові слова: хронічний катаральний гінгівіт, діти, лікування.

Робота є фрагментом НДР "Механізми пошкодження зубо-щелепної системи, резистентність організму і обґрунтування засобів профілактики, терапії і реабілітації основних стоматологічних захворювань" (державний реєстраційний № 01970018550) та "Імунні взаємодії в слизовій оболонці порожнини рота і їх роль в патогенезі стоматологічних захворювань" (державний реєстраційний №0109U000389).

За даними ВООЗ, запальні захворювання пародонта, зважаючи на їх значну поширеність і прогресуючий перебіг, являють собою актуальну проблему сучасної стоматології, де чільне місце займає дитяча пародонтологія. Епідеміологічні моніторингові дослідження і клінічні дані свідчать про невіправний збиток, нанесений хворобами пародонта в дитинстві та юності, що в середньому віці призводить до значного руйнування зубного апарата [1, 2].

Дані про їх частоту у дітей, які наводяться в численних наукових публікаціях періодичних видань неоднорідні і коливаються від 4,54% до 97,6%. Відомо, що у дітей найбільш часто зустрічається хронічний катаральний гінгівіт (80-85%), рідше - хронічний гіпертрофічний (10-17%), а пародонтит розвивається у 3-5% дітей і підлітків [3, 4].

Розповсюдженість пародонтопатій залежить від великої кількості факторів, серед яких слід зазначити географічно-екологічну регіональність і соціальні умови проживання, стать та вік, стан здоров'я в цілому і стан органів порожнини рота. Зокрема, важливу роль відіграють наявність карієсу та його ускладнених форм, аномалій прикусу й положення окремих зубів, шкідливі звички, ступінь засвоєння навичок по підтриманню гігієни порожнини рота на належному рівні.

Збільшення поширеності гінгівіту знаходиться у прямій залежності від віку. Так, у дошкільнят частота гінгівіту складає 5,7%, у молодшій шкільній віковій групі (7-10 років) - 29,5 - 60,0%, у середньому шкільному віці (11-14 років) - 41,82-87,5%, у старшокласників (15-17 років) - 62,4 - 83,3% [4].

Загальноновизнано, що представники сапрофітної мікрофлори порожнини рота, володіючи певними механізмами адгезії й колонізації характерних для них областей організму хазяїна, здатні викликати захворювання при зниженні резистентності тканин пародонта. Вірулентність бактерій може проявлятися їх безпосереднім токсичним впливом, що викликає запалення й деструкцію, а також шляхом стимуляції імунopatологічних деструктивних реакцій [5, 6, 7].