

АДГЕЗИВНІ ВЛАСТИВОСТІ АСОЦІАЦІЇ *CANDIDA ALBICANS* І *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Харківський національний медичний університет (м. Харків)

Дана стаття є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри «Оптимізація діагностики і протимікробної терапії гнійно-запальних процесів з урахуванням комунікативних властивостей мікроорганізмів»,

№ держреєстрації 0111U001402.

Вступ. Гнійно-запальні інфекції, які викликані асоціацією мікроорганізмів *C. albicans* і *S. aureus* є важливим питанням для вивчення дослідників різних країн. За даними літератури у 27% цей консорціум є причиною госпітальних інфекцій та в 11% випадків викликає катетер-асоційовані інфекції. [1, 6-8]. Австралійськими вченими було встановлено що кандидозно-стафілококова інфекція у 20% випадків викликає гострий післяродові ускладнення [2, 9].

В патогенезі інфекційних захворювань, за даними американських дослідників, близько 80% всіх мікробних інфекцій у людини протікають з утворенням біоплівки, в яких бактерії об'єднані складними міжклітинними зв'язками, що підтримують «відчуття кворуму» [1-3, 10].

У складі біоплівки мікроорганізми в 50-500 разів більш стійкі до дії дезинфікуючих речовин, антибактеріальних препаратів, бактеріофагів, антитіл і фагоцитів [4, 11].

Процес адгезії бактерій до поверхні є одним із перших етапів у формуванні біоплівки. Відомо, що агресивність штамів залежить від їх ступеня патогенності та вірулентності. Адгезія мікроорганізмів – один із факторів їх вірулентності, який визначає 1 етап колонізації субстратів.

Адгезія бактеріального патогена може здійснюватися до компонентів позаклітинного матрикса – фібронектину, колагену, ламініну тощо. Білки позаклітинного матрикса сприяють «приклеюванню» бактерій до клітин – мішеней хазяїна. Адгезія бактерій до таких білків носить специфічний характер та визначає ступінь розвитку стійкості до антибіотиків. Одним із способів блокування механізмів адгезії є використання антибактеріальних препаратів у низьких концентраціях, що інгібують процес закріплення патогенів первинного інфікування. З цієї метою можливе застосування й специфічних бактеріофагів.

За даними літератури, адгезивні властивості *C. albicans* посилюються при утворенні асоціації з *S. aureus*, а також збільшується полірезистентність штамів до хіміотерапевтичних препаратів [5-7, 9-11].

Мета дослідження – визначення адгезивних властивостей ізолятів та референтних штамів асоціації *C. albicans* і *S. aureus*.

Об'єкт і методи дослідження. У дослідженні були використані 10 штамів *S. aureus* виділених від

хворих на різні гнійно – запальні процеси, та 4 референтні штами ATCC 25923 в якості контрольної групи. Також вивчалися 10 штамів *C. albicans*, які були виділені з мокротиння від хворих на пневмонію та 4 референтні штами ATCC 885-653.

Адгезивні властивості штамів визначали за методом В. І. Бриліса (1986). Мазки готували та фарбували за Романовським – Гімзе. Оцінювали адгезію під імерсійним мікроскопом (ок. 7. Ч об. 90). Критеріями адгезивних властивостей мікроорганізмів були наступні показники: середній показник адгезії (СПА), тобто середня кількість мікроорганізмів, що прикрипились до одного еритроциту, при підрахунку 50 еритроцитів; коефіцієнт участі еритроцитів (КУЕ) – відсоток еритроцитів, які мають на поверхні адгезовані мікроорганізми. Визначали ці показники на 50 еритроцитах, продиляючи все предметне скло. ІАМ (індекс адгезивності мікроорганізмів) – це середня кількість мікробних клітин адгезованих на одному еритроциті, що бере участь в адгезивному процесі.

Розрахунок цього показника здійснювався за формулою:

$$IAM = \frac{СПА \cdot 100}{КУЕ},$$

де ІАМ – індекс адгезивності мікроорганізмів,
СПА – середній показник адгезії,
КУЕ – коефіцієнт участі еритроцитів а адгезії.

При ІАМ ≤ 1,75 мікроорганізми вважаються неадгезивними; при ІАМ від 1,75 до 2,49 – низькоадгезивними, при 2,51 – 4, 0 – середньоадгезивними, при ІАМ > 4,00 – високоадгезивними.

Результати досліджень та їх обговорення.

В результаті проведених досліджень були отримані наступні дані (**табл.**).

Високоадгезивні властивості мали ізоляти *C. albicans* і *S. aureus*, низькоадгезивні та середньоадгезивні – референтні штами. Так, ІАМ для ізолятів *C. albicans* склав 5,72±1,1, для референтних штамів – 3,09±0,15 (різниця достовірна p<0,05). Показники індексу адгезивності для ізолятів *S. aureus* склала 4,98±1,3, для референтних штамів – 2,44±0,54 (**рис.**) Найвищими показники адгезивних властивостей виявились у асоціації мікроорганізмів *C. albicans* і *S. aureus*, що можливо свідчить про посилення вірулентних властивостей цих патогенів у консорціумі. ІАМ для ізолятів *C. albicans* і *S. aureus* склав 7,17±1,76, для референтних штамів – 3,41±1,24 (різниця достовірна p<0,05). З 60 штамів золотистого стафілокока, які вивчалися 84,7% мали

Показники адгезивних властивостей ізолятів та референтних штамів *C. albicans* і *S. aureus*

| № | Групи досліджуваних штамів <i>C. albicans</i> і <i>S. aureus</i> | Коефіцієнт участі еритроцитів % | Середній показник адгезії | Індекс адгезивності мікроорганізмів |
|----|--|---------------------------------|---------------------------|-------------------------------------|
| 1. | ізоляти <i>C. albicans</i> | 86,18±3,59* | 3,63±0,25* | 5,72±1,1* |
| 2. | референтні штами <i>C. albicans</i> ATCC 885-653 | 77,12±2,64 | 2,25±0,15* | 3,09±0,15* |
| 3. | ізоляти <i>S. aureus</i> | 81,15±1,24* | 3,15±0,33* | 4,98±1,3* |
| 4. | референтні штами <i>S. aureus</i> ATCC 25923 | 74,7±6,5* | 2,05±0,33* | 2,44±0,54* |
| 5. | ізоляти <i>C. albicans</i> і <i>S. aureus</i> | 91,31±5,16* | 4,15±0,97* | 7,17±1,76* |
| 6. | референтні штами <i>C. albicans</i> і <i>S. aureus</i> | 80,23±3,61* | 2,88±0,41* | 3,41±1,24* |

Примітка: * – різниця достовірна $p < 0,05$. Результати досліджень 3 експериментів.

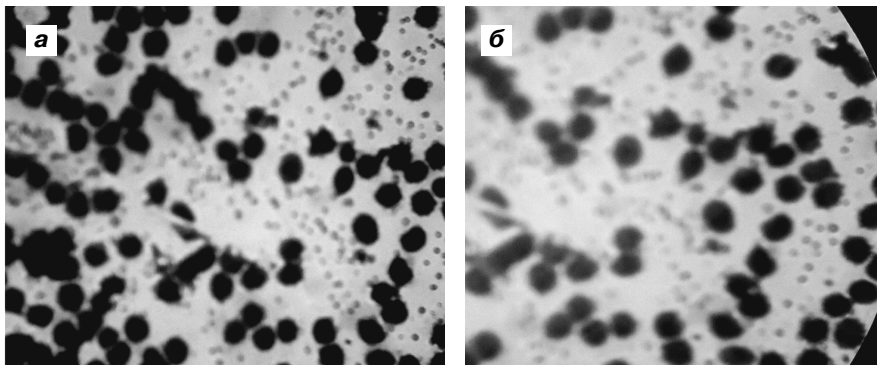


Рис. Адгезивні властивості *S. aureus* (1а – адгезивні властивості референтних штамів *S. aureus*; 1б – адгезивні властивості ізолятів *S. aureus*).

у високоадгезивних, а іноді у середньоадгезивних штамів золотистого стафілокока. Якщо культури мікроорганізмів були неадгезивними, то на поверхні еритроцитів бактерії не виявлялися.

Висновки. В результаті проведеного дослідження можна зробити висновок, що ізоляти *C. albicans* і *S. aureus* мають більш високі адгезивні властивості ніж референтні штами, це можливо пов'язано із ступенем

високоадгезивні властивості, 8,5% були низькоадгезивними інші 6,8% – неадгезивними. Штами *C. albicans* мали високоадгезивні властивості у 87%, низькоадгезивні – близько у 13%.

При вивченні адгезивних властивостей *C. albicans* і *S. aureus* в мікропрепаратах, на поверхні еритроцитів виявляли як окремі бактеріальні клітини, так і групи клітин, об'єднані між собою інколи, у вигляді суцільного шару. Така картина спостерігалась

їх патогенності. Найвищими показники адгезивності виявились у асоціації *C. albicans* і *S. aureus* (ІАМ 7,17±1,76), це може вказувати на агресивні властивості цих мікроорганізмів при поєднанні їх у консорціум та впливати на перебіг і тяжкість захворювань.

Перспективи подальших досліджень. Перспективним напрямком подальших досліджень є визначення чутливості до хіміотерапевтичних препаратів високоадгезивних штамів.

Література

1. Klotz S. A. Polymicrobial bloodstream infections involving *Candida* species: analysis of patients and review of the literature / S. A. Klotz, B. S. Chasin // *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* – 2007. – Vol. 59. – P. 401-06
2. Lisa H Amir. The role of micro-organisms (*Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*) in the pathogenesis of breast pain and infection in lactating women / H Amir Lisa, Cullinane1 Meabh // *Pregnancy and Childbirth.* – 2011., – Vol. 10. – P. 1186.
3. Parsek M. R. Sociomicrobiology: the connections between quorum sensing and biofilms / M. R. Parsek, E. P. Greenberg // *Trends Microbiol.* – 2005. – Vol. 13, № 1. – P. 27-33.
4. Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents / D. Davies // *Nat. Rev. Drug Discov* – 2003. – № 2. – P. 114-22.
5. Peters Brian M. *Staphylococcus aureus* adherence to *Candida albicans* hyphae is mediated by the hyphal adhesin Als3p / Brian M. Peters // *Microbiology* – 2012. – № 10. – P. 1099.
6. Chambers H. The Changing Epidemiology of *Staphylococcus aureus* / H. Chambers // *Emerg Inf Dis.* – 2001 – № 7. – P. 178-182.
7. Chandra J. Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture and drug resistance / J. Chandra, D. M. Kuhn // *J. Bacteriol.* – 2001. – Vol. 183. – № 18. – P. 5385-5394.
8. Carlson E. Synergistic effect of *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* on mouse mortality / E. Carlson // *Infect. Immun.* – 1982. Vol. 38. – P. 921-924.
9. Klotz S. A. Polymicrobial bloodstream infections involving *Candida* species: analysis of patients and review of the literature / S. A. Klotz, B. S. Chasin, B. Powell // *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* – 2007. Vol. 59. – P. 401-406.
10. Kojic E. M. *Candida* infections of medical devices / E. M. Kojic, R. O. Darouiche // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2004. Vol. 17. – P. 255-267.
11. Wisplinghoff H. T. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study / H. T. Wisplinghoff, S. M. Bischoff, R. P. Tallent // *Clin. Infect. Dis.* – 2004. Vol. 39. – P. 309-317.

УДК 579. 861. 2: 582. 282. 23: 576. 52

АДГЕЗИВНІ ВЛАСТИВОСТІ АСОЦІАЦІЇ CANDIDA ALBICANS І STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Мінухін В. В., Кочнева О. В., Граматюк С. М., Сухомлин М. П.

Summary. Асоціація *C. albicans* і *S. aureus* є збудниками багатьох гнійно-запальних інфекцій, в тому числі і нозокоміальних. Більшість з цих інфекцій протікають з утворенням біоплівки, першим етапом формування яких є адгезія мікроорганізмів до поверхні. Цей процес визначає ступінь патогенності штамів. В результаті проведеного дослідження було встановлено, що ізоляти *C. albicans* і *S. aureus* мають більш високі показники адгезивних властивостей ніж референтні штами. Найвищими показниками адгезивності виявились у асоціації *C. albicans* і *S. aureus* (IAM $7,17 \pm 1,76$), це може свідчити про посилення агресивності цих мікроорганізмів при поєднанні в консорціум та впливати на перебіг і тяжкість захворювань, які викликані декількома патогенами.

Ключові слова: асоціація *C. albicans* і *S. aureus*, адгезія, біоплівка.

УДК 579. 861. 2: 582. 282. 23: 576. 52

АДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА АСОЦИАЦИИ CANDIDA ALBICANS И STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Минухин В. В., Кочнева Е. В., Граматюк С. Н., Сухомлин Н. П.

Резюме. Ассоциация *C. albicans* и *S. aureus* является возбудителем многих гнойно-воспалительных инфекций, в том числе и нозокомиальных. Большинство этих инфекций протекают с образованием биопленки, первым этапом формирования которых является адгезия микроорганизмов к поверхности. Этот процесс определяет степень патогенности штамов. В результате проведенного исследования было установлено, что изоляты *C. albicans* и *S. aureus* имеют более высокие показатели адгезивных свойств чем референтные штаммы. Наивысшими показателями адгезивности выявились у ассоциации *C. albicans* и *S. aureus* (IAM $7,17 \pm 1,76$), это может свидетельствовать о большей агрессивности микроорганизмов при связывании их в консорциум, а также влиять на течение и тяжесть заболеваний, которые вызваны несколькими патогенами.

Ключевые слова: ассоциация *C. albicans* и *S. aureus*, адгезия, биопленка.

UDC 579. 861. 2: 582. 282. 23: 576. 52

Adhesive Properties of Association Candida Albicans and Staphylococcus Aureus

Minukhin V., Kochneva O., Gromatiuk S., Sukhomlyn M.

Summary. Association of *C. albicans* and *S. aureus* are the pathogens a lot of pyo-inflammatory infections, including nosocomial. Most of these infections occur with formation of biofilms, the first stage of the formation is adhesion of the microorganisms to the surface. This process determines the degree of pathogenicity of strains.

Purpose of the research. Determination adhesive properties of the isolates and reference strains of association *S. aureus* and *C. albicans*.

Materials and methods. In the researching was used 10 strains of *S. aureus* and extracted from patients with various pyo-inflammatory processes, 4 reference strains ATCC 25923 as a control group. 10 strains of *C. albicans* were also studied and were isolated from sputum from patients with pneumonia and 4 reference strains ATCC 885-653.

Adhesive properties of strains were determined by the method Brylisa V. I. (1986). Smears were prepared and stained by the Romanovsky – Himze. Adhesion was evaluated under immersion microscope (ok. 7. Ч об. 90). Criteria of adhesive properties of microorganisms were following indicators: the average index of adhesion (AIA), it's average number of microorganisms which were attached to one erythrocytes, in counting of 50 erythrocytes; participation rate of erythrocytes (PRE) – the percentage of red blood cells which have on their surface adhesive microorganisms. These rates were determined on 50 erythrocytes, checking all surface of the slide. Index adhesiveness of microorganisms (IAM) – the average number of adhesive microbial cells on one erythrocyte that take part in the adhesion process.

When $IAM \leq 1,75$ microorganisms is not adhesive; IAM from 1,75 to 2,49 – low adhesive, if 2,51 – 4,0 – medium adhesive, when $IAM > 4,00$ high adhesive.

Results. Isolates of *C. albicans* and *S. aureus* have high adhesive properties reference strains have medium and low adhesive properties. As IAM for isolates *C. albicans* is $5,72 \pm 1,1$, for reference strains – $3,09 \pm 0,15$. Rates of index adhesiveness for isolates *S. aureus* are $4,98 \pm 1,3$, for reference strains – $2,44 \pm 0,54$. The highest indicators of adhesive properties were determined in association microorganisms *C. albicans* and *S. aureus* that is proof about increasing virulence abilities in consortium. IAM for isolates *C. albicans* and *S. aureus* is $7,17 \pm 1,76$, for reference strains – $3,41 \pm 1,24$. From the 60 strains of *S. aureus* which were studied, 84,7% had high adhesive properties, 8,5% were low adhesive, 6,8 was not adhesive. *C. albicans* strains had high adhesive properties in 87% and low adhesive about 13%.

In studying adhesive properties *C. albicans* and *S. aureus* in the microscopic slides, on the surface of erythrocytes were determined as separate cells so groups of cells which combined to each other sometimes in continuous sphere. This pattern was observed in high adhesive sometimes in the medium adhesive strains of *S. aureus*. If the bacterial cultures were not adhesive, bacteria would not detect on the surface of erythrocyte.

In a result of research was defined that isolates of *S. aureus* and *C. albicans* have higher adhesive properties than reference strains due to their degree of pathogenicity. The highest rates were detected in the association of *C. albicans* and *S. aureus* (IAM $7,17 \pm 1,76$), it may indicate on aggressiveness properties of these microorganisms at joining in the consortium and influence the course and severity of disease.

Key words: association of *S. Aureus* and *C. Albicans*, adhesion, biofilm.

Рецензент- проф. Лобань Г. А.

Стаття надійшла 27. 04. 2013 р.