

БЛІНДЕР О.О., БЛІНДЕР О.В.

Буковинська державна медична академія,

кафедра мікробіології та вірусології, м. Чернівці

НДІ медико-екологічних проблем, мікробіологічна лабораторія, м.Чернівці

УДК: 576.851.252

ФАГОТИП ШТАМІВ STAPHYLOCOCCUS AUREUS, ВИДІЛЕНИХ ВІД НАЗАЛЬНИХ НОСІЇВ, ТА АНТИЛІЗОЦИМНА АКТИВНІСТЬ, ЧУТЛИВІСТЬ ДО ПОЛІВАЛЕНТНОГО БАКТЕРІОФАГУ, ШВИДКІСТЬ РОЗМНОЖЕННЯ

ключові слова:

*бактеріофаг, стафілокок, носії,
антилізоцимна активність*

Вступ. Стан мікробіоценозу різних мікроекологічних ніш тіла людини є одним із найчутливіших показників, які можуть використовуватись для оцінки загального стану здоров'я як окремих індивідумів, так і колективів, і популяцій. Зокрема, працями Бухарина О.В. та співавт. [3, 6] показана можливість оцінки середовища існування людини шляхом вивчення носійства стафілококів на слизовій носа. Очевидно, що для більш точної інтерпретації даних, які отримані у такого роду дослідженнях, необхідне знання механізмів та закономірностей розвитку інфекційного процесу при бактеріоносійстві. Загальновідомо, що з усіх видів стафілококів *S. aureus* найчастіше є етіологічним фактором запальних процесів різної локалізації. Тому багато робіт присвячено проблемі носійства саме золотистого стафілококу. Особлива увага приділяється вивченню факторів персистенції, які дають змогу *S. aureus* протидіяти механізмам протиінфекційної резистентності хазяїна [4, 5, 7]. Антилізоцимна активність (АЛА) розглядається як один із основних факторів персистенції *S. aureus* [4, 5]. Проте біологічна роль АЛА цим не обмежується. Наприклад, Грищенко В.А. [9] вказує, що антилізоцимний фактор в ешерихій діє як регулятор росту клітин. А Бухарин О.В. та співавт. [2] вказують, що АЛА у *Shigella flexneri* є одним із факторів, який впливає на чутливість бактерій до бактеріофагу.

Мета роботи. Встановити наявність і характер зв'язку між АЛА, з одного боку, та чутливістю до полівалентного стафілококового бактеріофагу (ПСФ) і швидкістю розмноження, з іншого, у штамів *S. aureus* при назальному носійстві постійного та тимчасового типів у динаміці.

Матеріали та методика. Дослідження проведене на штамів *S. aureus*, виділених зі слизової носа студентів Буковинської державної медичної академії (БДМА). Слиз із носових ходів брали за допомогою стерильних сухих ватних тампонів. Виділення та ідентифікацію золотистого стафілококу проводили загальноприйнятими бактеріологічними методами [1].

Для диференціації типу носійства проводили повторні висіви зі слизової носа обстежуваних студентів з інтервалами в 5-7 днів. До тимчасових носіїв відносили тих, у кого *S. aureus* виділявся лише один раз, до постійних — тих, у кого він виділявся 2-3 рази [4].

АЛА вивчали фотометричним методом [8] з використанням спектрофотометру СФ-46 та штаму *Micrococcus luteus* ГІСК 211601 (АТСС 4698). АЛА вивчена у 103 штамів *S. aureus*.

Швидкість росту у поживному бульйоні (ПБ) вивчена у 10 штамів *S. aureus* фотоелектроколориметричним методом [10].

Чутливість до ПСФ ("Бактериофаг стафилококковый жидкий", НПО "Иммуно-препарат", г. Уфа) вивчена у 85 штамів. Її визначали, наносячи розведення фагу на газонну культуру стафілококу на м'ясо-пептонному агарі (МПА). Використовували не розведений фаг та його розведення 1:10, 1:100. Наявність, або відсутність стерильних плям на МПА використовували як критерій чутливості.

Визначений фаготип 112 штамів згідно "Инструкции по применению бактериофагов стафилококковых типовых диагностических сухих — Англия (международный набор)".

Результати досліджень та їх обговорення. У штамів *S. aureus*, виділених від назальних носіїв постійного типу восени 1999 р., середнє значення АЛА, а також частота цієї ознаки були статистично вірогідно вищими, ніж у штамів, виділених від тимчасових носіїв (табл. 1). Проте весною 2000 р. значення вивчених показників в обох групах носіїв суттєво не відрізнялись (табл. 1). Виявлені сезонні зміни в популяціях *S. aureus*, виділених від назальних носіїв, свідчать про складність епідеміологічного процесу, який викликає стафілокок у студентському колективі. Очевидно, що при проведенні мікроекологічного моніторингу середовища існування людини необхідно враховувати можливість таких сезонних змін.

Таблиця 1

Антилізоцимна активність назальних штамів *S. aureus*

Тип носійства	Осінь 1999р.		Весна 2000р.	
	АЛА (%)	АЛА (мкг/мл · од. опт. густини)	АЛА (%)	АЛА (мкг/мл · од. опт. густини)
Постійні носії	85,7±6,74* n=28	1,485±0,3922* n=28	58,3±8,22 n=36	0,396±0,1888 n=36
Тимчасові носії	53,3±9,11* n=30	0,352±0,3232* n=30	55,6±15,57 n=9	0,574±0,5672 n=9

* — різниця показників у тимчасових і постійних носіїв статистично вірогідна

Таблиця 2

Чутливість назальних штамів *S. aureus* до полівалентного бактериофагу

Сезон	Тип носійства	n	% штамів, чутливих до ПСФ у різних концентраціях		
			не розведений	1:10	1:100
Осінь 1999р.	постійний	28	100,0±3,57	85,2±6,96	63,0±9,47*
	тимчасовий	33	100,0±2,94	97,0±3,02	97,0±3,02*
Весна 2000р.	постійний	18	83,3±9,05	61,1±11,82	55,6±12,05
	тимчасовий	17	85,7±14,29	71,4±18,45	57,1±20,21

* — різниця показників у тимчасових і постійних носіїв статистично вірогідна

При вивченні чутливості до ПСФ встановлено, що восени 1999 р. серед штамів, виділених від постійних носіїв, було менше чутливих до фагу у розведенні 1:10 порівняно з виділеними від тимчасових носіїв ($t = 3,42$; $p < 0,001$), (табл. 2).

Водночас чутливість до ПСФ штамів, у яких виявлена АЛА (АЛА(+)) штамів без ознак АЛА (АЛА(-)) штамів, суттєво не відрізнялась (табл. 3). Весною 2000 р. штамів, виділені від постійних і тимчасових носіїв, були однаково чутливі до

ПСФ (табл. 2). Але серед АЛА(+) штамів було більше чутливих до фагу в розведеннях 1:10 і 1:100, ніж серед АЛА(-) штамів (відповідно $t=2,15$; $p<0,05$ і $t=2,93$; $p<0,01$), (табл. 3). Підсумовуючи дані табл. 2 і 3, можна стверджувати, що чутливість назальних штамів *S. aureus* до ПСФ залежить як від їх АЛА, так і від типу носія, від якого виділено штам. У свою чергу, характер дії АЛА та типу носійства на чутливість до ПСФ змінюється протягом року.

Таблиця 3

Чутливість до полівалентного бактеріофагу назальних штамів *S. aureus* залежно від антилізоцимної активності

Сезон	АЛА штамів	n	% штамів, чутливих до розведень фагу		
			не розведений	1:10	1:100
Осінь 1999р.	АЛА(+)	33	100,0 \pm 2,94	87,9 \pm 5,77	81,8 \pm 6,82
	АЛА(-)	19	100,0 \pm 5,00	94,7 \pm 5,28	84,2 \pm 8,60
Весна 2000р.	АЛА(+)	16	87,5 \pm 8,54	75,0 \pm 11,18*	68,8 \pm 11,96*
	АЛА(-)	7	71,4 \pm 18,45	28,6 \pm 18,45*	14,29 \pm 14,29*

* — різниця між АЛА(+) та АЛА(-) штамми статистично вірогідна

З метою вивчення причини сезонних змін АЛА і чутливості до ПСФ серед штамів, виділених від назальних носіїв різного типу, було проведено їх фаготипування. У результаті встановлено, що протягом кожного сезону різниця між постійними і тимчасовими носіями за частотою виділення від них штамів різних фагогруп була незначною і статистично невірогідною. При вивченні залежності між фагогрупою і АЛА встановлено, що серед штамів 1 і змішаної фагогруп відносна кількість АЛА(+) штамів статистично вірогідно вища, ніж у АЛА(-) штамів (табл. 4). Також встановлено, що штамми, які належали до 4 і змішаної фагогруп, а також штамми, які не типуються, менш чутливі до ПСФ, ніж штамми 1-3 фагогруп. Між 1 і змішаною фагогрупами ця різниця була статистично вірогідна ($p<0,05$) для розведення ПСФ 1:100. Отже, приналежність штаму *S. aureus* до певної фагогрупи може в деяких випадках впливати на його АЛА і чутливість до ПСФ. Але фаготип не є вирішальним фактором, який визначає формування тимчасового або постійного типу носійства.

Таблиця 4

АЛА штамів *S. aureus* залежно від фагогрупи

Фагогрупа	n	% АЛА (-) штамів	% АЛА (+) штамів
1	21	33,3 \pm 10,54*	66,7 \pm 10,54*
2	17	47,1 \pm 12,48	52,9 \pm 12,48
3	22	54,5 \pm 10,87	45,5 \pm 10,87
4	4	25,0 \pm 25,0	75,0 \pm 25,0
Змішана	5	0,0 \pm 16,7*	100,0 \pm 16,7*
Нетипові	18	38,9 \pm 11,82	61,1 \pm 11,82

* — різниця в кількості АЛА(+) і АЛА(-) штамів у фагогрупі вірогідна

При вивченні швидкості розмноження в ПБ суттєвих відмінностей між штамми з АЛА і без неї не виявлено. Це не збігається з результатами Грищенка В.А. [9], який виявив, що ешерихії з високою АЛА розмножуються повільніше, ніж штамми з низькою АЛА. Але це може бути обумовлено різницею в будові клітинних стінок грацілікунтів та формікутів.

Висновки.

1. АЛА назальних штамів *S. aureus* залежить від типу носійства та від сезону, в якому виділено штам.
2. Чутливість назальних штамів до ПСФ залежить від їх АЛА, типу носійства та від сезону, в якому вони виділені.
3. При проведенні мікроекологічного моніторингу середовища існування людини необхідно враховувати можливість сезонних змін АЛА та чутливості до ПСФ.

4. АЛА не впливає на швидкість розмноження назальних штамів *S. aureus*.
5. Назальні штами *S. aureus*, які належать до першої та змішаної фагогруп частіше проявляють АЛА, а штами, які не типуються, та 4 і змішаної фагогруп менш чутливі до ПСФ.
6. Фагогрупа штаму не впливає на формування тимчасового або постійного типу носійства.

ЛІТЕРАТУРА

1. Биргер М.О. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования.— М.: Медицина, 1982.— 462 с.
2. Бухарин О.В., Дерябин Д.Б. Роль антилизоцимной активности *Shigella flexneri* как фактора, контролирующего степень их устойчивости к литическому действию бактериофагов // ЖМЭИ.— 1989.— №11.— С.16-19.
3. Бухарин О.В. Бактерионосительство стафилококка у работающих на Архангельском газоконденсатном месторождении // Гигиена и санитария.— 1993.— №7.— С. 44-47.
4. Бухарин О.В., Дерябин Д.Г. Дифференциация резидентной и транзитной стафилококковой микрофлоры при бактерионосительстве // Клин. лабор. диагност.— 1994.— №1.— С. 44-46.
5. Бухарин О.В., Чернова О.Л., Матюшина С.Б. Построение диагностической модели дифференциации резидентной и транзитной стафилококковой микрофлоры при бактерионосительстве // ЖМЭИ.— 1996.— №3.— С. 68-70.
6. Бухарин О.В., Усвяцов Б.Я., Чернова О.Л., Матюшина С.Б. Резидентное стафилококковое бактерионосительство в популяции человека как показатель микрoэкологического мониторинга среды его обитания // ЖМЭИ.— 1996.— №3.— С. 71-74.
7. Бухарин О.В., Дерябин Д.Г. Экологическая детерминированность маркеров персистенции стафилококков // ЖМЭИ.— 1997.— №4.— С. 60-63.
8. Бухарин О.В., Вальшев А.В., Елагина Н.Н., Иванов Ю.Б., Черкасов Н.Н. Фотометрическое определение антилизоцимной активности микроорганизмов // ЖМЭИ.— 1997.— №4.— С.117-120.
9. Грищенко В.А. Анализ взаимосвязи антилизоцимной активности и репродуктивной функции у эшерихий // ЖМЭИ.— 1997.— №4.— С. 67-71.
10. Колпакова С.Д. Фотоэлектроколориметрический метод для изучения жизнедеятельности бактерий // Клин. лаб. диагн.— 1993.— №2.— С. 61-63.

УДК: 576.851.252

Блиндер Е.А., Блиндер А.В.

Антилизоцимная активность, чувствительность к поливалентному бактериофагу, скорость размножения и фаготип у штаммов *Staphylococcus aureus*, выделенных от назальных носителей

*У штаммов *S. aureus*, выделенных от назальных носителей, изучены антилизоцимная активность (АЛА), чувствительность к поливалентному стафилококковому бактериофагу (ПСФ), скорость размножения в питательном бульйоне, и проведено фаготипирование. Установлено, что чувствительность назальных штаммов к ПСФ зависит от их АЛА. И чувствительность к ПСФ, и АЛА зависят от типа носительства и от сезона, в котором выделен штамм. АЛА не влияет на скорость размножения. Между штаммами, которые относятся к разным фагогруппам, выявлены различия в чувствительности к ПСФ и наличию АЛА. Фагогруппа штамма не влияет на развитие постоянного или временного носительства.*

UDK: 576.851.252

Blinder H.A., Blinder A.V.

Antilysozyme activity, sensitivity to polyvalent bacteriophage, rate of reproduction and phagotype of *Staphylococcus aureus* strains, isolated from nasal carriers

*We have studied the antilysozym activity (ALA), the sensitivity to the polyvalent staphylococcus phage (PSP) and the rate of reproduction of the *S. aureus* strains, isolated from nasal carriers, in the nutrient broth. We have also carried out the phagotyping. It was determined, that the sensitivity of nasal strains to PSP depends on its antilysozyme activity. The sensitivity to PSP and antilysozym activity, in their turn, depend on the type of carriage and the season, when the strain was isolated. Antilysozyme activity does not influence the rate of reproductivity. Some differences have been discovered in strains, which belong to various phage-groups, in their sensitivity to PSP and the presence of antilysozyme activity in them. Strain's phagotype does not influence the development of the constant or temporary type of carriage.*