

15.2 Вплив комбінацій поживних субстратів, що включають дезінтеграти *Staphylococcus spp.* з *Escherichia coli*, на фактори патогенності збудників

Відомо відмінний вплив поживних субстратів, які містять біологічно активні речовини (БАР) бактерій, на ріст різних мікроорганізмів [694, 695]. При низьких концентраціях спостерігається стимулювання росту, а при збільшенні концентрації діючого чинника, зокрема дезінтегратів бактерій, відбувається пригнічення росту збудників [696, 697]. Встановлено, що добова експозиція *S. aureus*, *P. aeruginosa* в ультразвукових дезінтергатах *S. epidermidis* не впливає на окремі ознаки досліджуваного штаму стафілококу: колонії правильної форми, з рівними краями, випуклі, звичайного розміру. Також з'ясовано відсутність впливу ультразвукових дезінтергатів *P. aeruginosa* та комбінації поживних субстратів із ультразвукових дезінтегратів *S. epidermidis* і *S. aureus* на заявлені ознаки мікробних клітин *P. aeruginosa*. Наряду із відсутністю впливу цих ультразвукових дезінтергатів на розмір, форму колоній збудників, відмічається зміни пігментів певних мікроорганізмів при їх вирощуванні в поживних субстратах, що містять БАР бактерій. Здатність ультразвукових дезінтегратів *P. aeruginosa*, *S. epidermidis* впливати на пігменти збудників інфекційних захворювань відрізняється щодо ефекту, зокрема відбувається їх посилення або пригнічення [698].

Можливість дезінтегратів бактерій інгібувати фактори патогенності мікроорганізмів має терапевтичне значення [699-701]. Так, лецитиназа *S. aureus* руйнує лецитин клітинних мембран лейкоцитів та інших клітин і призводить до лейкопенії, піовердин і піоціанін *P. aeruginosa* сприяють щодо прямого гемолізу еритроцитів [702, 703]. Відмінності стосовно факторів впливу дезінтегратів, БАР мікроорганізмів, а саме: стимулювання або інгібування пігментоутворення збудників залежать від штаму-продуценту, концентрації діючого чинника, часу впливу, тощо [698]. Однак, обом ефектам можна знайти практичне застосування. Їх можна використати за двома різними напрямками: пригнічення факторів патогенності збудників бактеріальних інфекцій – для розробки кандидат-

препаратів на основі біологічно активних речовин мікрофлори, а їх стимулювання – для виготовлення поживних середовищ із застосуванням, в якості факторів росту, БАР мікроорганізмів з метою культивування високо вибагливих бактерій.

Дана публікація присвячена напряму досліджень, який передбачає посилення продукування факторів патогенності бактерій. Оскільки раніше нами була встановлена можливість окремих дезінтегратів бактерій впливати на фактори патогенності мікроорганізмів, наступним етапом щодо впливу різних поживних субстратів, які містять біологічно активні речовини бактерій, на окремі ознаки та фактори патогенності мікроорганізмів, стало вивчення впливу комбінацій ультразвукових дезінтегратів на обрані ознаки та фактори патогенності збудників хвороб.

Мета роботи: на основі використання біологічно активних речовин мікроорганізмів розробити високопродуктивні живильні середовища для культивування високо вибагливих бактерій.

Для вивчення впливу БАР на окремі ознаки та фактори патогенності умовно-патогенних мікроорганізмів отримували ультразвукові дезінтеграти. Для цього мікробні суспензії добових культур *S. epidermidis*, *S. aureus* і *E. coli*, які мали оптичну щільність 10,0 одиниць за шкалою McFarland (прилад Densi-La-Meter), обробляли ультразвуковими хвилями (робоча частота 130 кГц, час впливу 5 годин), прогрівали при температурі (80 ± 1 °C) впродовж 50 – 60 хвилин. Для отримання експериментальних поживних субстратів до поживного агару вносили комбінації ультразвукових дезінтегратів: *S. aureus* з *E. coli* або *S. epidermidis* з *E. coli* у співвідношенні 1:1. В якості контролю застосовували виробничий поживний агар. Дослідні та контрольні зразки культивували в аеробних умовах при температурі (37 ± 1) °C.

Вивчення впливу поживних субстратів, які містять біологічно активні речовини бактерій, проводили якісним методом щодо росту, пігментоутворення, гемолітичної та лецитовітелазної активностей обраних представників (*S. aureus*, *S. haemolyticus*, *P. aeruginosa*).

За результатами проведених досліджень стосовно дослідження впливу комбінацій поживних субстратів, які містять дезінтеграції *S. aureus* і *E. coli*, на окремі ознаки та фактори патогенності *S. haemolyticus* встановлено відсутність активності дослідних зразків щодо досліджуваного мікроорганізму (Таблиця 1). Застосування зазначеної комбінації не впливало на ростові властивості, пігмент та гемоліз ізоляту незалежно від терміну впливу, а саме впродовж 1–, 5– та 21 доби.

Таблиця 1.

Вплив комбінації поживних субстратів (ультразвукових дезінтеграцій) *S. aureus* і *E. coli* на окремі ознаки та фактори патогенності *S. haemolyticus*

Тест-культури	Наявність	Час експозиції, доба	Поживні субстрати	
			ПА	БАР
<i>S. haemolyticus</i>	росту	1	+	+
		5	+	+
		21	+	+
	пігменту	1	+++	+++
		5	+++	+++
		21	+++	+++
	гемолізу	1	+++	+++
		5	+++	+++
		21	+++	+++

Примітки: + – відсутність впливу поживних субстратів на дані ознаки

Результати спільного впливу дослідних ультразвукових дезінтеграцій *S. aureus* і *E. coli* на гемолітичну і лецитовітелазну активності, пігменти та ростові властивості обраного представника *S. aureus* частково відрізнялися від попередніх даних щодо штаму *S. haemolyticus* (Таблиця 2). При культивуванні *S. aureus* за участі комбінації поживних субстратів *S. aureus* і *E. coli*, не відмічалось змін ростових властивостей коагулазопозитивного штаму стафілококу при всіх

термінах спостереження. Вирослі колонії *S. aureus* були правильної форми, гладкі, з рівними краями, звичайні за розміром.

Таблиця 2.

Вплив комбінації поживних субстратів (ультразвукових дезінтегратів) *S. aureus* і *E. coli* на окремі ознаки та фактори патогенності *S. aureus*

Тест-культури	Наявність	Час експозиції, доба	Поживні субстрати	
			ПА	БАР
<i>S. aureus</i>	росту	1	+	+
		5	+	+
		21	+	+
	пігменту	1	+++	+++
		5	+++	+++
		21	+++	+++
	гемолізу	1	+++	++++++
		5	+++	++++++
		21	+++	++++++
	лецитоветилазн ої реакції	1	+++	+++
		5	+++	+++
		21	+++	+++

Примітки: + – відсутність впливу поживних субстратів на дані ознаки;
++++++ – наявність та ступінь впливу поживних субстратів на дані ознаки,
зокрема їх посилення

Аналогічні результати отримано відносно характерного пігменту штаму *S. aureus*: одностодова, п'ятидодова та двадцятидододова експозиція в дезінтегратах *S. aureus* і *E. coli* не впливала на дану ознаку стафілококу (Таблиця 2).

Не відбувалося змін лецитовітелазної активності *S. aureus* під впливом комбінації із ультразвукових дезінтегратів *S. aureus* і *E. coli* (Таблиця 2). Відсутність впливу щодо лецитинази коагулазопозитивного штаму стафілококу спостерігалось після одностодової, п'ятидодової і двадцятидододової

експозиції життєздатних мікроорганізмів в експериментальних поживних субстратах *S. aureus* з *E. coli*.

Відмінність щодо штаму *S. haemolyticus* спостерігалася при вивченні спільного впливу ультразвукових дезінтегратів *S. aureus* і *E. coli* на гемолітичну активність *S. aureus*. Так, однодобова витримка супроводжувалася посиленням гемолітичної активності коагулазопозитивного штаму стафілококу в комбінації ультразвукових дезінтегратів *S. aureus* і *E. coli* (Таблиця 2). При збільшенні до п'ятидобового терміну посилення гемолітичної активності *S. aureus* зберігалася на рівні з однодобовою експозицією відносно досліджуваних субстратів *S. aureus* з *E. coli* та перебільшувала дану активність порівняно з аналогічними показниками стафілококу після його культивування у поживному агарі. Підвищення терміну спостереження до 21 доби супроводжувалося посиленням гемолізу коагулазопозитивного стафілококу, що відповідало даним 1– та 5 добової витримки. Отже, однодобової експозиції в комбінації ультразвукових дезінтегратів *S. aureus* з *E. coli* було достатньо для посилення гемолітичної активності *S. aureus*.

Відмінні результати стосовно попередніх отримані при вирощуванні мікробних клітин *P. aeruginosa* в суміші поживних субстратів *S. aureus* і *E. coli* (Таблиця 3). Наслідки впливу експериментального середовища на пігмент (піоціанін) окремого представника *P. aeruginosa* залежали від терміну інкубування (1 – , 5 – та 21 доби) псевдомонад (Таблиця 3). Однодобове вирощування в пробах дезінтегратів *S. aureus* з *E. coli* призводило до посилення піоціаніну збудників порівняно з мікроорганізмами, котрі культивували на поживному агарі.

Таблиця 3.

Вплив комбінації поживних субстратів (ультразвукового дезінтеграту)
S. aureus і *E. coli* на окремі ознаки та фактори патогенності *P. aeruginosa*

Тест-культури	Наявність	Час експозиції, доба	Поживні субстрати	
			ПА	БАР
<i>P. aeruginosa</i>	росту	1	+	+
		5	+	+
		21	+	+
	пігменту (піоціаніну)	1	+++	++++
		5	+++	++++
		21	+++	+++

Примітки: + – відсутність впливу поживних субстратів на дані ознаки;
++++ – наявність та ступінь впливу поживних субстратів на дані ознаки, зокрема
їх посилення

Вплив впродовж п'яти діб поживних субстратів *S. aureus* і *E. coli* на зазначений фактор патогенності *P. aeruginosa* сприяв підвищенню піоціаніну дослідного ізоляту (Таблиця 3). При зазначеній експозиції посилення пігменту псевдомонад відповідало однодобовому терміну спостереження, а саме перебільшувало показники щодо виробничого агару.

Відсутність відмінностей між експериментальним поживним середовищем із дезінтегратів *S. aureus* з *E. coli* та поживним агаром спостерігалася після 21 добового інкубування. Так, збільшення терміну інкубації (21 доба) не чинило дії на піоціанін, чим співпадало з даними виробничого середовища та відрізнялося від показників комбінації ультразвукових дезінтегратів при меншому часі впливу (1 – та 5 – доби), при якому відмічалася посилення пігменту псевдомонад (Таблиця 3). Можна припустити, що інкубація псевдомонад на поживному агарі з додаванням дезінтегратів, яка призводила до посилення пігменту після добового та п'ятидобового впливу та відсутність ефекту при

двадцятиоднодобовій експозиції, свідчить про наявність факторів впливу в обмеженій кількості.

Наступна серія експериментів передбачала вивчення впливу інших поживних субстратів, зокрема ультразвукових дезінтегратів *S. epidermidis* і *E. coli*, на окремі ознаки та фактори патогенності мікроорганізмів. В результаті культивування *S. haemolyticus* у вищезазначеному експериментальному середовищі змін ростових властивостей збудника не відмічалось (Таблиця 4).

Таблиця 4.

Вплив комбінації поживних субстратів (ультразвукових дезінтегратів) *S. epidermidis* і *E. coli* на окремі ознаки та фактори патогенності *S. haemolyticus*

ест-культури	Наявність	Час експозиції, доба	Поживні субстрати	
			ПА	БАР
<i>S. haemolyticus</i>	росту	1	+	+
		5	+	+
		21	+	+
	пігменту	1	+++	+++
		5	+++	+++
		21	+++	+++
	гемолізу	1	+++	++++++
		5	+++	++++++
		21	+++	++++++

Примітки: + – відсутність впливу поживних субстратів на дані ознаки;
++++++ – наявність та ступінь впливу поживних субстратів на дані ознаки, зокрема їх посилення

Комбінація ультразвукових дезінтегратів *S. epidermidis* з *E. coli* не впливала на форму і розмір колоній *S. haemolyticus* на протязі дослідження, а саме після добового, дводобового та двадцятиоднодобового терміну інкубування. Колонії штаму *S. haemolyticus*, після вирощування у поживних

субстратах, які містять БАР мікроорганізму і після культивування у поживному агарі, були правильної форми, з рівними краями, випуклі, звичайного розміру. Також відмічалася відсутність впливу дослідного комбінованого середовища речовин на пігмент стафілококу незалежно від терміну культивування (1 – 5 – та 21 доби) збудника (Таблиця 4).

Проте, спостерігалася наявність впливу поживних субстратів *S. epidermidis* з *E. coli* на гемолітичну активність стафілококу (Таблиця 4). Так, посилення гемолізу *S. haemolyticus* відбувалося після добової, дводобової та двадцятиоднодобової експозиції у порівнянні з показниками бактерій, культивованих у виробничому агарі. Ступінь впливу поживних субстратів на дану ознаку не залежав від часу інкубації.

Ці результати щодо наявності впливу поживних субстратів *S. epidermidis* і *E. coli* стосовно *S. haemolyticus* (посилення гемолізу) відрізняються від аналогічних показників після впливу ультразвукових дезінтегратів *S. aureus* з *E. coli* відносно *S. haemolyticus* (відсутність впливу на ріст, пігмент, гемоліз). Проте вони співпадають з такими самими даними стосовно *S. aureus*: під дією комбінації із поживних субстратів *S. aureus* з *E. coli* відбувалося посилення гемолізу коагулазопозитивного стафілококу.

Результати експериментального дослідження стосовно впливу поживних субстратів, які містять біологічно активні речовини *S. epidermidis* і *E. coli*, на ріст *S. aureus*, не відрізнялися від даних виробничого поживного агару (Таблиця 5). Добова експозиція *S. aureus* в комбінації ультразвукових дезінтергатів *S. epidermidis* і *E. coli* не впливала на окремі ознаки збудника: колонії правильної форми, з рівними краями, випуклі, звичайного розміру.

Збільшення часу експозиції щодо витримки у зазначеному поживному субстраті, до п'яти та двадцяти однієї діб, також не оказувало вплив на ростові властивості, форму, розмір *S. aureus*: ці параметри були аналогічні зазначеним показникам після культивування стафілококу у поживному агарі (Таблиця 5).

Таблиця 5.

Вплив комбінації поживних субстратів (ультразвукових дезінтегратів)
S. epidermidis і *E. coli* на окремі ознаки та фактори патогенності *S. aureus*

Тест-культури	Наявність	Час експозиції, доба	Поживні субстрати	
			ПА	БАР
<i>S. aureus</i>	росту	1	+	+
		5	+	+
		21	+	+
	пігменту	1	+++	+++
		5	+++	+++
		21	+++	+++
	гемолізу	1	+++	+++
		5	+++	+++
		21	+++	+++
	лецитоветилазної реакції	1	+++	++++
		5	+++	++++
		21	+++	++++

Примітки: + – відсутність впливу поживних субстратів на дані ознаки;
++++ – наявність та ступінь впливу поживних субстратів на дані ознаки, зокрема
їх посилення

Застосування суміші із ультразвукових дезінтегратів *S. epidermidis* і *E. coli* також не впливало на характерний пігмент *S. aureus* незалежно від терміну дослідження (1 –, 5 – та 21 доби) (Таблиця 5). Відсутність впливу цього поживного субстрату на гемолітичну активність коагулазопозитивного стафілококу спостерігалось після добового, п'ятидобового та двадцятидодобового культивування збудника.

Незважаючи на відсутність впливу на вищеназвані ознаки *S. aureus*, спостерігалися зміни лецитоветилазної реакції даного мікроорганізму при його вирощуванні у комбінації ультразвукових дезінтергратів *S. epidermidis* і *E. coli* (Таблиця 5). Так, після добової експозиції у вищеназваному поживному

субстраті відмічалось посилення лецитиназної активності стафілококу у порівнянні з бактеріями, культивованими на виробничому агарі. Аналогічні результати, а саме посилення лецитинази *S. aureus*, отримано при вирощуванні даного штаму стафілококу у експериментальному поживному субстраті *S. epidermidis* з *E. coli* впродовж п'яти діб. Також посилення лецитоветилазної реакції коагулазопозитивного штаму стафілококу відмічалось при вирощуванні мікробних клітин *S. aureus* в зазначеній комбінації дезінтегратів впродовж 21 добового терміну випробування у порівнянні з мікроорганізмами, культивованими на поживному агарі.

Підвищення здатності *S. aureus* продукувати лецитиназу, що руйнує лецитин клітинних мембран лейкоцитів та інших клітин і призводить до лейкопенії, при вирощуванні у експериментальному субстраті *S. epidermidis* з *E. coli* стане в нагоді при розробці поживних середовищ.

Результати впливу комбінації ультразвукових дезінтегратів *S. epidermidis* і *E. coli* на ростові властивості представника *P. aeruginosa* не залежали від часу експозиції (Таблиця 6). Так, після добової, п'ятидобової та двадцятиоднодобового вирощування на вищеназваному поживному субстраті змін росту псевдомонад не спостерігалось: колонії були правильної форми, з рівними краями, випуклі, звичайного розміру і відповідали аналогічним показникам мікроорганізмам, культованим у поживному агарі.

Вплив впродовж однієї доби поживних субстратів *S. epidermidis* з *E. coli* сприяв посиленню продукування пігменту *P. aeruginosa* ніж після культивування псевдомонад на поживному агарі (Таблиця 6). Підвищення продукування піоціаніну також відбувалося після п'ятидобового вирощування мікроорганізмів на середовищі із додаванням комбінації ультразвукових дезінтегратів *S. epidermidis* з *E. coli* у порівнянні з показниками виробничого середовища.

Підвищення здатності *P. aeruginosa* продукувати пігменти, які є факторами вірулентності і факторами інвазії, зокрема піоціанін пошкоджує епітеліальні тканини, при їхньому вирощуванні у експериментальному субстраті із

дезінтегратів *S. epidermidis* з *E. coli* можна використати при створенні поживних середовищ для культивування псевдо монад.

Таблиця 6.

Вплив комбінації поживних субстратів (ультразвукового дезінтеграту) *S. epidermidis* і *E. coli* на окремі ознаки та фактори патогенності *P. aeruginosa*

Тест-культури	Наявність	Час експозиції, доба	Поживні субстрати	
			ПА	БАР
<i>P. aeruginosa</i>	росту	1	+	+
		5	+	+
		21	+	+
	пігменту (піоціаніну)	1	+++	++++
		5	+++	++++
		21	+++	+++

Примітки: + – відсутність впливу поживних субстратів на дані ознаки;
++++ – наявність та ступінь впливу поживних субстратів на дані ознаки, зокрема їх посилення

Роблячи висновок можна зазначити: при конструюванні поживних середовищ в якості компоненту, що підвищує фактори патогенності псевдомонад, можна застосовувати субстрат із дезінтегратів *S. epidermidis* з *E. coli*. Також, враховуючи надані результати стосовно можливостей дезінтегратів бактерій чинити вплив на фактори патогенності збудників, зазначену комбінацію БАР можна використовувати в наукових дослідженнях, промисловому виробництві, лабораторних центрах стосовно мікробіологічних досліджень.