

АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНІСТЬ І БІОПЛІВКИ МІКРООРГАНІЗМІВ

Тіщенко І.Ю., Місюрьова С.В., Дубініна Н.В., Дубініна Ю.В., Нардід Х.В.

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

microbiology@nuph.edu.ua

Вступ. У сучасному світі стрімко зростає необхідність в підвищенні ефективності антимікробної терапії. І це пов'язано, з одного боку, з ростом числа інфекційних захворювань, а, з іншого боку, рівень діагностики та ефективності лікування не завжди є достатньо результативним. Для повноцінної діагностики та терапії вкрай важливо знати природу збудника хвороби. Тому зараз актуальною метою вивчення медичної та клінічної мікробіології є дослідження всіх особливостей поведінки та взаємодії мікроорганізмів в умовах людського організму як багаторівневих спільнот - «біоплівок», а не тільки як ізольованих клітин. Відкриття біоплівок є одним з найбільш важливих досягнень сучасної мікробіології. Життя мікробів в складі біоплівок принципово відрізняється від тієї картини, яка відповідає давно сформованим уявленням про мікроорганізми як самостійні біологічні об'єкти. Раніше вивчення ефективності та чутливості антимікробних препаратів проводилося на ізольованих мікробних клітинах. І накопичені на цьому шляху відомості складають основну базу сучасної клінічної мікробіології і фармакології. Але життя мікробів в складі біоплівок принципово відрізняється від тієї картини, яка відповідає давно сформованим уявленням.

Мета дослідження. Проаналізувати та узагальнити опубліковані дані щодо вивчення особливостей застосування антимікробних препаратів в умовах формування біоплівок.

Матеріали та методи. Аналіз наукової літератури та інформаційних повідомлень в галузі медичної та клінічної мікробіології, фармакології, клінічної фармації та фармакотерапії.

Отримані результати. На сучасному етапі встановлено, що в природних умовах всі мікроби існують не як деяка кількість самостійних і ізольованих клітин, а знаходяться в складі біоплівок. В організмі людини мікробні спільноти утворюють всі представники нормальної мікрофлори і збудники хвороб. З їх появи починається розвиток будь-якої інфекції. Формування і поширення біоплівок в організмі відіграють найважливішу роль в розвитку патологічного процесу. Вже сьогодні за даними Центрів з контролю і профілактики захворювань США доведено, що понад 70% інфекцій людини обов'язково супроводжується утворенням біоплівок. Отримані дані про властивості біоплівок відкрили нові аспекти дії антимікробних препаратів на бактерії або гриби, що утворюють ці біоплівки.

Мікробні біоплівки - це спільноти, утворенні родинними і несумісними мікроорганізмами, клітини яких мають спеціалізацію, контактують між собою, виробляють міжклітинну речовину і відмежовані від навколишнього середовища додатковими оболонками. У складі біоплівок можна виділити три основних компоненти: клітини мікроорганізмів, позаклітинний матрикс і поверхневу оболонку. Клітини в біоплівках можуть належати до одного виду або включати кілька неспоріднених мікроорганізмів. Бактерії всередині біоплівок розрізняються за багатьма ознаками, в тому числі, по їх чутливості до антимікробних засобів. Було виявлено групи клітин, що отримали назву "персістери", що знаходяться в стані, абсолютної толерантності до всіх відомих антибіотиків. Бактерії в складі біоплівок формують міжклітинні контакти, які дозволяють передавати між клітинами деякі молекули без їх вивільнення у навколишнє середовище. Такі контакти в числі інших факторів сприяють формуванню єдиної кооперативної клітинної системи.

Важливим компонентом біоплівки є позаклітинний матрикс, він складається з комплексу органічних речовин і заповнює весь простір між мікробами. Компоненти матриксу служать одним з бар'єрів між клітинами й зовнішнім середовищем і беруть участь в захисті мікробів від факторів імунної системи, а також можуть пов'язувати надходження молекули антибіотиків.

У саморегуляції властивостей біоплівки бере участь позаклітинна ДНК матриксу, й у біоплівках відбувається прискорений горизонтальний перенос генетичної інформації, в тому числі генів, що визначають резистентність до антибіотиків. Матрикс біоплівки є досконалим середовищем для появи мікроорганізмів з новими патогенними властивостями, стійкістю до антибіотиків і здатністю до виживання в різних умовах.

Важливим захисним компонентом біоплівки є поверхнева оболонка, що має ліпідний, мембраноподібний компонент. Вона оточує все співтовариство й перешкоджає вільному проникненню в нього різних факторів зовнішнього середовища (наприклад, клітинних і розчинних компонентів імунної системи, антибіотиків і антисептиків).

Особливості взаємодії між організмом господаря й мікробами в біоплівках грають важливу роль у патогенезі та лікуванні захворювань, багато в чому вони залишаються недостатньо вивченими. Для всіх мікробів встановлено, що бактерії в біоплівках: стійкі до факторів імунної системи господаря; виробляють і звільняють у матрикс біоплівки ендотоксини; виживають у присутності антибіотиків; інтенсивно обмінюються генетичною інформацією, в тому числі генами резистентності до антибіотиків.

Сьогодні ще дуже погано вивчена взаємодія антимікробних препаратів з мікроорганізмами, що знаходяться в складі біоплівки. Наявні дані про ефективність антибіотиків свідчать про те, що їх активність складається з дії на окремі, ізольовані мікроорганізми (спектр активності антибіотиків) і здатності діяти на бактерії, що знаходяться в складі біоплівки, що може відбуватися тільки в разі проникнення препарату крізь поверхневу оболонку і позаклітинний матрикс спільноти.

Ізольовані бактерії, які з'являються при первинному інфікуванні, є важливою мішенню для різних антибіотиків. Вони з'являються до формування біоплівки, і в процесі їх розселення. Для впливу на такі мікроорганізми антибіотикам не потрібно проникати крізь додаткові оболонки біоплівки. Саме в таких умовах проводиться стандартне лабораторне вивчення чутливості бактерій до антибіотиків. На такі бактерії (виходячи із спектру активності) діють усі антибіотики незалежно від здатності проникати в біоплівку. Однак той факт, що в біоплівках бактерії можуть виживати в присутності високих концентрацій антибіотиків, вимагає нових досліджень по створенню нових схем ефективної антимікробної терапії.

Сьогодні вже проведені численні дослідження ефективності й механізму дії антибіотиків і антисептиків на бактерії й гриби, що знаходяться в складі біоплівки. Дослідники розділили всі антимікробні препарати на дві основні групи - які добре й погано проникають у біоплівку. До групи антибіотиків, що добре проникають у біоплівку різних бактерій, увійшли: тетрациклін, макроліди, фторхінолони, рифампіцин, хлорамфенікол, сульфаніламід. Погано проникаючими в біоплівку виявилися β -лактамі препарати (пеніциліни, цефалоспорини, монобактами, карбапенеми та ін.), аміноглікозиди, фосфоміцин і деякі інші.

Висновки. Опубліковані результати змушують переглянути механізми звільнення організму від інфекції при лікуванні антимікробними препаратами. Клінічний ефект антибіотиків пов'язаний з тим, що вони заважають біоплівкам підтримувати свою життєдіяльність і розселятися. В умовах антибіотикотерапії біоплівки патогенних бактерій, вочевидь, не можуть тривалий час зберігатися в організмі. Можливо, що при цьому біоплівки

стають об'єктом успішної атаки з боку представників нормальної мікрофлори й факторів імунного захисту організму хазяїна. Також велике значення має той факт, що антибіотики, що не проникають в біоплівки, можуть сприяти хронізації процесу і формуванню персистентних інфекцій з рецидивуючою течією в зв'язку з виявленою їх здатністю до стимуляції мінливості бактерій.

Сучасні уявлення про дію антибіотиків свідчать про те, що ніякі сучасні антибіотики не можуть повністю знищити сформовані біоплівки. Окрім того, стандартні лабораторні дослідження не дають інформації про дію антибіотиків на бактерії біоплівок.

ОЦІНКА ВПЛИВУ ХАРЧОВОЇ ДОБАВКИ E407a НА МЕТАБОЛІЧНУ АКТИВНІСТЬ ФІБРОБЛАСТІВ

Ткаченко А.С., Прокопюк В.Ю., Оніщенко А.І.

Інститут експериментальної та клінічної медицини Харківського національного медичного університету, Харків, Україна
as.tkachenko@knmu.edu.ua

Вступ. З 2012 р. у Європейському Союзі діє програма щодо переоцінки безпеки використання харчових добавок, що були вже визнані безпечними раніше. Харчові добавки E407 та E407a, відомі як карагенани, є пріоритетними в цій програмі, оскільки відомо, що ці згущувачі та гелеутворювачі здатні викликати запалення шлунково-кишкового тракту в експериментальних тварин та порушувати обмін вуглеводів при пероральному вживанні, викликаючи інсулінорезистентність. Тому актуальним питанням є вивчення токсичності карагенанів щодо еукаріотичних клітин, особливо залежності ефектів цієї харчової добавки від вжитої дози.

Мета дослідження. Визначення впливу харчової добавки E407a на метаболічну активність фібробластів щурів.

Матеріали та методи. В даному дослідженні застосовували первинну культуру фібробластів шкіри ембріонів щурів 3-4 пасажів. Моношар клітин культивували протягом 24 годин з харчовою добавкою E407a у концентраціях 0, 10, 25, 50, 100, 200, 500, 1000, 5000, 10000 мкг/мл (n=8). Метаболічну активність досліджували за допомогою МТТ тесту.

Отримані результати. Аналіз результатів МТТ тесту продемонстрував, що використання E407a у концентрації 1000 мкг/мл та нижче не призводило до статистично значущих змін оптичної щільності розчинів формазану, який утворюється у метаболічно активних клітинах з МТТ під дією мітохондріальних дегідрогеназ. У той же час, культивування фібробластів з E407a у концентрації 5000 мкг/мл і вище статистично достовірно збільшувало метаболічну активність клітин порівняно з контрольними зразками.

Висновки. Таким чином, харчова добавка E407a токсична по відношенню до фібробластів щурів в концентрації 5000 мкг/мл і вище.