

**Д.О. Степанський,  
Г.М. Кременчуцький,  
І.П. Кошова,  
О.О. Величко**

## **ГОМО - І ГЕТЕРОАДГЕЗИВНА АКТИВНІСТЬ АУТОСИМБІОНТНИХ ШТАМІВ AEROCOCCUS VIRIDANS**

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»  
кафедра мікробіології, вірусології, імунології та епідеміології  
пл. Соборна, 4, Дніпро, 49000, Україна  
SE «Dnipropetrovsk medical academy of Health Ministry of Ukraine»  
Department of microbiology, virology, immunology and epidemiology  
Soborna Sq., 4, Dnipro, 49000, Ukraine  
e-mail: dstepanskiy@gmail.com

**Ключові слова:** аутосимбіонти, *Aerococcus viridans*, адгезія

**Key words:** autosymbionts, *Aerococcus viridans*, adhesion

**Реферат.** Гомо - и гетероадгезивная активность аутосимбионтных штаммов *Aerococcus Viridans*. Степанский Д.А., Кременчуцкий Г.Н., Кошова И.П., Величко Е.А. Адгезия – важнейший этап взаимодействия микроорганизмов с макроорганизмом, важный фактор, с помощью которого микрофлора колонизирует различные биотопы макроорганизма, обеспечивая тем самым колонизационную резистентность и препятствуя адгезии и инвазии патогенов. В работе представлены данные адгезивных свойств аутосимбионтов *Aerococcus viridans* крыс, мышей и человека. Показано, что аутосимбионты *Aerococcus viridans* имеют более высокие показатели адгезии при изучении их активности в условиях контакта с эритроцитами хозяина и меньшую активность в условиях гетероадгезии. Среди показателей гомоадгезии самый высокий ИАМ (индекс адгезивности микроорганизмов) был у аутосимбионтов человека –  $5,78 \pm 0,04$ ; у крыс –  $4,49 \pm 0,06$  и у мышей –  $4,29 \pm 0,04$ . За счет большей адгезивной способности использование аутосимбионтов *Aerococcus viridans* теоретически может быть обоснованным для коррекции дисбиотических состояний человека и животных, что требует дальнейшего изучения.

**Abstract.** Homo- and heteroadhesion activity of autosymbionts of *Aerococcus Viridans* strains. Stepansky D.A., Kremenchutsky G.N., Koshevaya I.P., Velychko Ye.A. Adhesion is the major stage of interaction of microorganisms with macroorganism, important factor with the help of which microflora colonizes different biotypes of macroorganism, thus providing colonization resistance, preventing adhesion and pathogenic invasion. In our study data about adhesive features of *Aerococcus viridans* autophytes of rats, mice and human are presented. *Aerococcus viridans* autosymbionts have higher performances of adhesion in the condition of heteroadhesion. Among performance of homoadhesion the highest microorganisms adhesive index (MAI) was in human autosymbionts –  $5,78 \pm 0,04$ , in rats –  $4,49 \pm 0,06$  and mice –  $4,29 \pm 0,04$ . On the account of greater adhesive features, using of autosymbionts of *Aerococcus viridans* theoretically can be justified for correction of disbiotic conditions of a human and animals, this requires further study.

Пробіотичні препарати на основі мікроорганізмів роду *Aerococcus* ефективні для корекції дисбіотичних станів [1, 3]. Антагонізм щодо широкого кола патогенних і умовно патогенних мікроорганізмів, а також самостійна елімінація зі шлунково-кишкового тракту, стимулюючий вплив на травлення, протиалергенна, антитоксична, сануюча і загальнозміцнююча дія на організм зробили їх особливо перспективними при створенні пробіотичних препаратів [2]. Особливе значення належить вивченню адгезивних властивостей пробіотичних штамів [6]. Адгезія - найважливіший етап взаємодії мікроорганізмів з макроорганізмом, найважливіший фактор, за допомогою якого мікрофлора колонізує різні біотопи макроорганізму, забезпечуючи тим самим колонізаційну резистентність і

перешкоджаючи адгезії та інвазії патогенів. У роботі Resta-Lenart S. et al. [2003] було показано, що живі штами пробіотиків адгезуються до епітелію і тим самим у кінцевому підсумку сприяють підвищенню резистентності епітелію, посилюючи його бар'єрні функції і захист. Від адгезивних властивостей мікроорганізмів багато в чому залежить склад, стабільність і захисні властивості біоплівки кишечника, яка створює екологічний бар'єр для патогенів [8, 9]. Високі адгезивні властивості представників нормофлори дозволяють займати їм найбільш вигідні екологічні ніші і дозволяють вигравати в конкуренції за джерела харчування.

З іншого боку, явище адгезії визначає патогенність мікроорганізмів. У момент здійснення мікроорганізмом адгезії запускається

каскад імунологічно-опосередкованих реакцій, які визначають специфіку інфекційного процесу.

Адгезія - явище специфічне, і обов'язковою умовою для успішного завершення цього процесу є комплементарність факторів колонізації мікроорганізму (адгезини, ЛПС, спеціалізовані білки тощо) та специфічних рецепторів клітин-мішеней макроорганізму [10]. Доклінічне вивчення властивостей аутосимбіонтів аерококів показало їх високу антагоністичну активність, атоксичність і нешкідливість при введенні мікробної суспензії білим мишам [7]. Проте в сучасній літературі бракує робіт, присвячених вивченню адгезії аерококів, особливо аутосимбіонтів, до клітин макроорганізму.

Мета роботи – оцінити гомо- і гетероадгезивну активність аутосимбіонтних штамів *Aerococcus viridans*, перспективних для створення нових пробіотичних препаратів та мікробіологічного обґрунтування аутопробіотикотерапії і профілактики.

**МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ**

Об'єктами дослідження були пробіотичні симбіонтні штами аерококів, що входять до складу нормофлори людини і тварин та є перспективними для розробки аутопробіотикотерапії в лікуванні і профілактиці дисбіозів шлунково-кишкового тракту тварин і людини. Для оцінки моно - і гетероадгезії аерококів використовували аутосимбіонтні штами, виділені з калу мишей, щурів і людини [4].

Адгезивні властивості бактерій вивчали з використанням еритроцитів крові мишей, щурів і людини ОІ групи, що несуть на своїй поверхні глікоферин - речовину, ідентичну глікокаліксу епітеліальних клітин [5]. Використовувалася методика, запропонована В.І. Брілліс і співавт. [5]. Враховувалися такі показники: середній показник адгезії (СПА), тобто середня кількість мікроорганізмів, що прикріпилися до поверхні одного еритроцита при підрахунку не менше 25 еритроцитів, враховуючи не більше п'яти з них в одному полі зору; коефіцієнт участі еритроцитів

(КУЕ), тобто відсоток еритроцитів, що мають на своїй поверхні адгезовані мікроорганізми; індекс адгезивності мікроорганізму (ІАМ) - середня кількість мікробних клітин на еритроциті, враховуючи тільки еритроцити, що беруть участь в адгезивному процесі. Визначали ІАМ на підставі значень СПА і КУЕ:  $ІАМ = (СПА / КУЕ) \times 100$  [1]. Мікроорганізми вважали неадгезивними при  $ІАМ \leq 1,75$ , низькоадгезивними - від 1,76 до 2,5, середньоадгезивними - від 2,51 до 4,0, високоадгезивними - при  $ІАМ > 4,00$  [5]. Мазки еритроцитів з адгезованими на них мікроорганізмами фарбували за Романовським-Гімзою. Для дотримання стандартних умов у постановці досліджень використовували еритроцити господарів, відповідних виділенням аутосимбіонтам. Експерименти проводили в трьох повторах. Дані представлені як середнє арифметичне (М), стандартна похибка середнього ( $\pm m$ ), 95% довірчий інтервал (95% ДІ); як критерій достовірності відмінностей використовували критерій Стьюдента на 5% рівні значущості ( $p < 0,05$ ).

**РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ**

Були виділені 8 ізолятів аерококів з калу безпородних щурів (1-8к), 7 ізолятів аерококів з калу безпородних мишей (1-7м) і 7 ізолятів аерококів з калу здорових людей (1-7ч). У виділених ізолятах були вивчені морфологічні, культуральні, біохімічні, антагоністичні властивості. Для експерименту були відібрані 3 найбільш активні в біохімічному й антагоністичному відношенні ізоляти: 1) 5м2015, 2) 3к2015, 3) 3ч2015.

У таблицях № 1-3 представлені результати адгезії аутосимбіонтів *Aerococcus viridans* до еритроцитів людей, щурів і мишей.

Як видно з даних таблиці 1, більш високі адгезивні властивості по відношенню до еритроцитів мишей мали аутосимбіонти, виділені з організму мишей (ізолят 5м2015). Згідно з класифікацією Брілліс [5], по відношенню до еритроцитів мишей ізоляти *Aerococcus viridans* 3ч2015 і 3к2015 є середньоадгезивними, а ізолят 5м2015 – високоадгезивним ( $p < 0,001$ ).

Таблиця 1

**Показники адгезії аутосимбіонтних штамів *Aerococcus viridans* до еритроцитів миші (М $\pm$ m)**

Види аутосимбіонтів (ізолят)	Кількість еритроцитів	СПА	КУС %	ІАМ
Людини (3ч2015)	25	1,92 $\pm$ 0,11*	65 $\pm$ 2	2,95 $\pm$ 0,05*
Щурів (3к2015)	25	1,96 $\pm$ 0,06*	64 $\pm$ 3	3,0 $\pm$ 0,03*
Мишей (5м2015)	25	2,92 $\pm$ 0,03	68 $\pm$ 2	4,29 $\pm$ 0,04

Примітка. \* –  $p < 0,001$  порівняно з ізолятами мишей.

Як видно з даних таблиці 2, більш значні адгезивні властивості по відношенню до еритроцитів щурів, мали аутосимбіонти, виділені з організму щурів (ізолят 3к2015). Згідно з класифікацією

Брілліс [5], по відношенню до еритроцитів щурів ізоляти *Aerococcus viridans* 3ч2015 і 5м2015 є середньоадгезивними, а ізолят 3к2015 – високоадгезивним ( $p < 0,001$ ).

Таблиця 2

**Показники адгезії аутосимбіонтних штамів *Aerococcus viridans* до еритроцитів щурів (M±m)**

Види аутосимбіонтів	Кількість еритроцитів	СПА	КУЄ %	IAM
Людини (3ч2015)	25	2,11±0,12*	70±3	3,01±0,05*
Щурів (3к2015)	25	3,01±0,06	67±2	4,49±0,06
Мишей (5м2015)	25	2,02±0,04*	68±1	2,97±0,02*

Примітка. \* –  $p < 0,001$  порівняно з ізолятами щурів

Як видно з даних таблиці 3, більш високі адгезивні властивості по відношенню до еритроцитів людини мали аутосимбіонти, виділені з організму людини (ізолят 3ч2015). Згідно з класифікацією Брілліс [5], по відношенню до еритроцитів щурів ізоляти *Aerococcus viridans*

3к2015 і 5м2015 є середньоадгезивними, а ізолят 3ч2015 – високоадгезивним ( $p < 0,001$ ).

На рисунках 1-3 зображена залежність рівня адгезивності аутосимбіонтів залежно від походження аерококів і виду еритроцитів.

Таблиця 3

**Показники адгезії аутосимбіонтних штамів *Aerococcus viridans* до еритроцитів людини (M±m)**

Види аутосимбіонтів	Кількість еритроцитів	СПА	КУЄ %	IAM
Людини (3ч2015)	25	3,82±0,03	66±2	5,78±0,04
Щурів (3к2015)	25	2,42±0,04*	70±3	3,45±0,05*
Миші (5м2015)	35	2,23±0,02*#	62±3	3,59±0,02*#

Примітка. \* –  $p < 0,001$  порівняно з ізолятами людини; # –  $p < 0,05$  порівняно з ізолятами щурів.

З рисунку 1 видно, що IAM аерококів людини найвищий до еритроцитів людини та становить 5,78±0,04, а до еритроцитів щурів та мишей

значно менший та практично однаковий (3,01±0,05 та 2,95±0,05 відповідно;  $p > 0,05$ ).

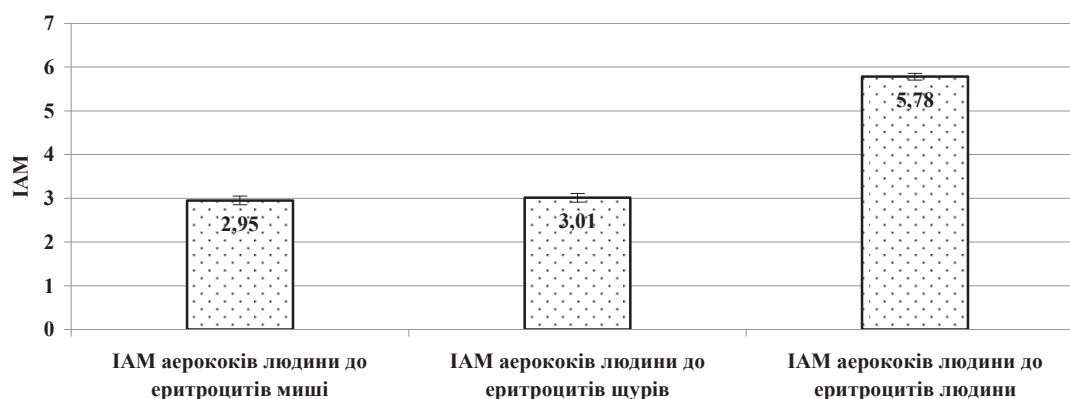


Рис. 1. Середні показники (M, 95% ДІ) IAM аерококів людини залежно від виду еритроцитів

З рисунку 2 видно, що ІАМ аерококів щурів найвищий до еритроцитів щурів ( $4,49 \pm 0,06$ ) і достовірно перевищує ІАМ до еритроцитів людини ( $3,45 \pm 0,05$ ) у 1,3 разу ( $p < 0,001$ ), мишей

( $3,0 \pm 0,03$ ) – у 1,5 рази ( $p < 0,001$ ). Різниця між показниками ІАМ до еритроцитів людини і мишей також достовірна з  $p < 0,001$ .

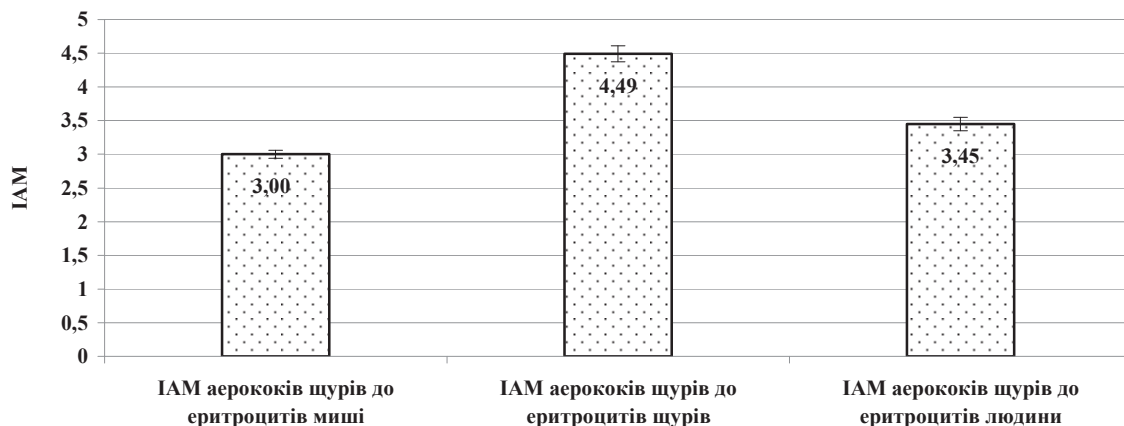


Рис. 2. Середні показники (М, 95% ДІ) ІАМ аерококів щурів залежно від виду еритроцитів

Показник ІАМ аерококів мишей до еритроцитів мишей ( $4,29 \pm 0,04$ ), представлений на рисунку 3, достовірно перевищує відповідні показники до еритроцитів людини ( $3,59 \pm 0,02$ ) в 1,2 рази, щурів ( $2,97 \pm 0,02$ ) – в 1,4 рази ( $p < 0,001$ ).

Таким чином, серед показників гомоадгезії найбільшим був ІАМ в аутосимбіонтів людини –  $5,78 \pm 0,04$ , у щурів –  $4,49 \pm 0,06$  ( $p < 0,001$ ) та у мишей –  $4,29 \pm 0,04$  ( $p < 0,001$  і  $p < 0,01$  порівняно з попередніми показниками).

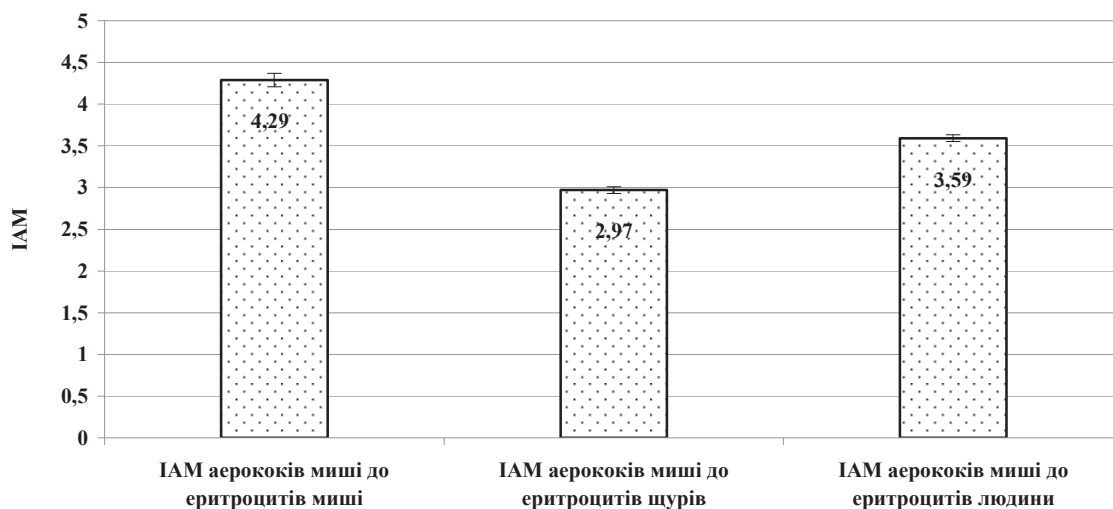


Рис. 3. Середні показники (М, 95% ДІ) ІАМ аерококів мишей залежно від виду еритроцитів

**ВИСНОВКИ**

1. Показано, що *Aerococcus viridans* є компонентом нормальної мікрофлори кишківника людини та тварин.
2. Вивчаючи адгезивну активність аутосимбіонтних штамів аерококів, показано, що вона

різна і залежить від походження мікроорганізму і виду господаря еритроцитів. Аутосимбіонти *Aerococcus viridans* мають більш високі показники адгезії при вивченні їх активності в умовах контакту з еритроцитами господаря і меншу активність в умовах гетерадгезії.

3. За рахунок більшої адгезивної здатності використання аутосимбіонтів *Aerococcus viridans* теоретично може бути обґрунтованим для

корекції дисбіотичних станів людини і тварин та потребує подальшого вивчення.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Барановский А.Ю. Дисбактериоз кишечника. – 3-е изд. / А.Ю. Барановский, Э.А. Кондрашина. – СПб.: Питер, 2008. – 240 с.
2. Кременчуцкий Г.Н. Биологические особенности А-бактерина / Г.Н. Кременчуцкий // Медицинские перспективы. – 2001. – Т. 6, № 3. – С. 90-97
3. Кременчуцкий Г.Н. Роль микроэкологии организма человека и принципы её коррекции / Г.Н. Кременчуцкий, С.А. Рыженко, С.И. Вальчук. – Днепропетровск: Пороги, 2003. – 230 с.
4. Методи виділення та ідентифікації грампозитивних каталазонегативних коків: метод рекомендації / Г.Н. Кременчуцкий, Л.Г. Юргель, О.В. Шарун, Д.О. Степанський [та ін.]. – Киев, 2009. – 19 с.
5. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов / В.И. Брилис, Т.А. Брилене, Х.П. Ленцнер, А.А. Ленцнер // Лаб. дело. – 1986. – № 4. – С. 210-212.
6. Пробиотики: сравнительная характеристика моно и поликомпонентных препаратов / В.А. Нес-
- числяев, Я.В. Долгих, Е.В. Орлова, К.А. Лыско [и др.] // Сибир. мед. журнал. – 2011. – Т. 26, № 2, вып. 2. – С. 68-70.
7. Степанський Д.О. Доклінічне вивчення властивостей аутосимбіонтів людини *A. viridans* / Д.О. Степанський, Г.Н. Кременчуцький, І.П. Кошова // Медицинские перспективы. – 2016. – Т. XXI, № 2. – С. 87-93.
8. Gibson G.R. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics / G.R. Gibson, M.B. Roberfroid // G. Nutr. – 1995. – Vol. 125. – P. 140-1412.
9. Guntunen M.K. Adherence of probiotic, bacteria to human intestinal mucus in healthy infants and during rotavirus infection / M.K. Guntunen, P.V. Kirjavainen A.C. Ouwehand // Clin. Diagn. Lab. Immunol. – 2001. – Vol. 8, N 2. – P. 293-296.
10. Hori K. Bacterial adhesion: From mechanism to control / K. Hori, S. Matsumoto // Biochemical Engineering J. – 2010. – Vol. 48. – P. 424-434.

## REFERENCES

1. Baranovskiy AYU, Kondrashina EA. [Intestinal dysbiosis]. Piter, 3-e izd. 2008;240. Russian.
2. Kremenchutskiy GN. [Biological features of A-bacterin]. Medicni perspektivi. 2001;6(3):90-97. Russian.
3. Kremenchutskiy GN, Ryzhenko SA, Val'chuk SI. [Role of microecology of the human body and principles of its correction]. Dnepropetrovsk, Porogi. 2003;230. Russian.
4. Kremenchutskiy GN, Yurgel' LG, Sharun OV, Stepan'skiy DO. [Methods for isolation and identification of Gram-positive catalase negative cocci: guidelines]. Kiev. 2009;19. Ukrainian.
5. Brilis VI, Brilene TA, Lentsner KhP, Lentsner AA. [Methods of studying the adhesive process of microorganisms]. Lab. delo. 1986;4:210-2. Russian.
6. Neschislyayev VA, Dolgikh YaV, Orlova EV, Lysko KA. [Probiotics: comparative characteristics of mono and multicomponent drugs]. Sibir. med. Zhurnal. 2011;26(2):68-70. Russian.
7. Stepan'skiy DO, Kremenchut'skiy GN, Koshova IP. [Preclinical study of the properties of human self symbionts *A. viridans*]. Medicni perspektivi. 2016;21(2):87-93. Ukrainian.
8. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. G. Nutr. 1995;125:140-1412.
9. Guntunen MK, Kirjavainen PV, Ouwehand AS. Adherence of probiotic, bacteria to human intestinal mucus in healthy infants and during rotavirus infection. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2001;8(2):293-6.
10. Hori K, Matsumoto S. Bacterial adhesion: From mechanism to control. Biochemical Engineering Journal. 2010;48:424-34.

Стаття надійшла до редакції  
06.09.2016

