

Купрієнко М.М.

аспірант;

Янчій Р.І.

доктор біологічних наук, професор,

Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України

Джуран Б.В.

кандидат медичних наук, доцент,

*Національний університет охорони здоров'я України
імені П.Л. Шупика*

Балко О.Б.

кандидат біологічних наук, старший дослідник;

Балко О.І.

кандидат біологічних наук,

*Інститут мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного
НАН України*

ГЕТЕРОГЕННІСТЬ МІКРОБІОТИ У СКЛАДІ БІОПЛІВОК НА ПОВЕРХНІ НИРКОВИХ КІНЦІВ СЕЧОВОДНИХ СТЕНТІВ

Сечоводні (уретеральні) стенти широко застосовуються в сучасній урологічній практиці як ефективний засіб для відновлення чи підтримання прохідності сечових шляхів при сечокам'яній хворобі, стриктурах, пухлинах [1]. Важливість встановлення стентів в передопераційному та післяопераційному періоді в ендouroлогії не викликає сумнівів [2]. Проте, попри свою клінічну ефективність, імплантація стентів та їх довготривала присутність в сечоводах пов'язана з низкою ускладнень, серед яких особливо актуальними є інфекції сечовивідних шляхів [2; 3]. Одним із ключових факторів патогенезу інфекцій, пов'язаних зі стентами, є формування на їхній поверхні мікробних біоплівки – структурованих спільнот бактерій, які існують у захисному позаклітинному матрикусі.

Біоплівки формуються в декілька послідовних стадій: первинна адгезія бактерій до інертної поверхні, закріплення та мікроколонізація, синтез позаклітинного полімерного матриксу, дозрівання структури

та, на завершальному етапі, – дисперсія клітин, що дозволяє колонізувати нові ділянки [4]. Сформована біоплівка істотно змінює фізіологію бактеріальних клітин, включаючи зниження метаболічної активності, утворення персистентних форм та активацію генів, відповідальних за резистентність. У такому стані мікроорганізми здатні витримувати вплив антибіотиків у концентраціях, у десятки і навіть сотні разів вищих за мінімальні пригнічуючі дози [4; 5]. Біоплівки також ефективно захищають мікроорганізми від імунної відповіді організму, зокрема від фагоцитозу, дії комплементу та антитіл [4].

Зважаючи на це, інфекції, пов'язані з біоплівками, вважаються хронічними, важко піддаються лікуванню та часто рецидивують після стандартної антибіотикотерапії [6; 7]. Більше того, наявність біоплівки може слугувати джерелом постійної бактеріємії або висхідної інфекції, що особливо небезпечно у пацієнтів з імунодефіцитними станами або супутніми захворюваннями нирок [8]. На поверхні сечоводних стентів найчастіше виявляють умовно-патогенні мікроорганізми, зокрема *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Proteus mirabilis*, багато з яких демонструють мультирезистентність, у тому числі до β -лактамних антибіотиків та фторхінолонів [9; 10].

Особливе значення має вивчення біоплівок на проксимальних (ниркових) кінцях стентів, де концентрація сечі вища, а уродинаміка менш активна, що створює сприятливі умови для адгезії бактерій та утворення зрілих біоплівкових структур [11]. У той час як значна частина досліджень проводилась щодо мікрофлори на дистальних (міхурових) сегментах, проксимальні зони залишаються відносно недостатньо вивченими [12]. Це обмежує розуміння розподілу мікроорганізмів у складі біоплівки уздовж стента та ускладнює розробку ефективних підходів до їх профілактики.

Матеріали і методи. Стенти отримували шляхом видалення уретероскопом в асептичних умовах операційної, обережно промивали стерильним 0,85% розчином хлориду натрію для видалення клітин у планктонній формі і асептично переносили у ємності із тiogліколевим розчином (Fluid Thioglycollate medium, Merck, Germany) для їх транспортування. Перевезення зразків здійснювали протягом 2-3 год після отримання. Матеріал із

транспортного розчину переносили в поживне середовище (Nutrient broth, Merck, Germany). Культивування проводили протягом 24 год при 37°C. В подальшому отримані зразки суспензії мікроорганізмів висівали на поживний агар (Nutrient agar, Merck, Germany) і середовище Ендо (ENDO agar, Merck, Germany) та інкубували при 37°C протягом 24 год. Сформовану бактеріальну масу розсівали до одиничних колоній для отримання окремих культур мікроорганізмів. Чистоту кожного ізоляту перевіряли за результатами повторних розсівів до одиничних колоній, морфологією клітин після забарвлення за методом Грама (Merck, Germany), а також за наявністю каталазої і оксидазної активності (Erba Lachema, Czech Republic).

Результати та обговорення. Встановлено, що отримані чисті культури мікроорганізмів були двох типів. Культури першого типу через одну добу росту при 37°C на поживному агарі утворювали колонії середнього розміру, діаметром 1,5-2 мм, круглої форми з гладким краєм, гладкою блискучою поверхнею і пуповидним профілем, слизистої консистенції, непрозорі, темно-бежевого забарвлення без пігментації агару. При культивуванні протягом однієї доби на середовищі Ендо культури даного типу формували середні непрозорі колонії діаметром близько 2 мм, округлої форми, з гладким краєм, гладкою блискучою поверхнею і високим профілем, які були забарвлені у рожевий і червоний із металічним блиском колір та темно рожевою пігментацією агару. Культури другого типу на поживному агарі через одну добу вирощування при 37°C утворювали мілкі непрозорі колонії діаметром 0,75-1 мм, округлої форми, з гладким краєм, гладкою блискучою поверхнею і випуклим профілем, в'язкої консистенції, білого кольору без пігментації агару. На середовищі Ендо дані мікроорганізми характеризувались слабким ростом і через дві доби культивування при 37°C утворювали дрібні, точкові, непрозорі колонії діаметром близько 0,05-0,1 мм, округлої форми, слабо рожевого забарвлення без пігментації агару. При подальшому дослідженні встановлено, що в одному випадку культури були представлені грамнегативними короткими паличками, які були оксидазонегативними і каталазопозитивними, а в іншому – грампозитивними каталазо- і оксидазонегативними коками. Наведене свідчить про приналежність даних мікроорганізмів до представників родин *Enterobacteriaceae* і *Enterococcaceae*. При цьому, виділення

ентеробактерій спостерігалось у двох третиinah випадків, тоді як ентерококи були представлені лише у третині зразків. Слід відмітити, що вік і стать пацієнтів, тривалість стентування та наявність/відсутність в сечі мікроорганізмів на виявлену гетерогенність у складі бактеріальних біоплівок не впливали.

Мікробіота у складі біоплівок на поверхні ниркових кінців уретеральних стентів є гетерогенною. Частіше спостерігається виділення представників родини *Enterobacteriaceae*, тоді як мікроорганізми родини *Enterococcaceae* виділяються дещо рідше. Отримані результати можуть мати значний вплив на стратегії ведення пацієнтів із тривалим стентуванням, а саме на вибір антибіотиків, тривалість їх застосування та розробку нових антибіоплівкових матеріалів або покриттів для стентів.

Список використаних джерел:

1. Rane, A., Kommu, S. S., & Eddy, B. (2023). Ureteral stents in urological practice: Indications and current advances. *Urology Annals*, 15(2), 98–104. https://doi.org/10.4103/ua.ua_228_22
2. Lange, D., Bidnur, S., Hoag, N., & Chew, B. H. (2017). Ureteral stent-associated complications – Where we are and where we are going. *Nature Reviews Urology*, 14(1), 17–25. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2016.233>
3. Sharma, D., Misba, L., & Khan, A. U. (2019). Antibiotics versus biofilm: An emerging battleground in microbial communities. *Antibiotics*, 8(2), 76. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8020076>
4. Ibrahim, A., & Batura, D. (2023). Biofilm formation on urological devices: Stages, characteristics, and clinical impact. *Frontiers in Urology*, 3, 1335414. <https://doi.org/10.3389/fruro.2023.1335414>
5. Lewis, K. (2008). Multidrug tolerance of biofilms and persister cells. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 322, 107–131. https://doi.org/10.1007/978-3-540-75418-3_6
6. Trautner, B. W., & Darouiche, R. O. (2004). Role of biofilm in catheter-associated urinary tract infection. *The American Journal of Infection Control*, 32(3), 177–183. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2003.08.005>
7. Sánchez, C. J., Mende, K., Beckius, M. L., Akers, K. S., Romano, D. R., Wenke, J. C., & Murray, C. K. (2013). Biofilm formation by clinical isolates and the implications in chronic infections. *BMC Infectious Diseases*, 13, 47. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-47>

8. Wang, H., & Lee, J. C. (2020). Clinical significance of persistent bacteremia caused by biofilm-producing uropathogens. *Journal of Clinical Medicine*, 9(9), 2820. <https://doi.org/10.3390/jcm9092820>

9. Jakobsen, L., Garneau, P., Bruant, G., Harel, J., Olsen, S. S., Porsbo, L. J., ... & Frimodt-Møller, N. (2012). Is *Escherichia coli* urinary tract infection a zoonosis? Proof of direct link with a pig reservoir. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(7), 1474–1480. <https://doi.org/10.1093/jac/dks050>

10. Gorman, S. P., Jones, D. S., Bonner, M. C., & Akay, M. (2023). Bacterial biofilms and the urothelium: Emerging paradigms in infection pathophysiology. *BMC Urology*, 23, 56. <https://doi.org/10.1186/s12894-023-01339-x>

11. Tunney, M. M., Keane, P. F., Jones, D. S., & Gorman, S. P. (1996). Comparative assessment of ureteral stent biomaterial encrustation and biofilm formation. *Urology Research*, 24(2), 119–123. <https://doi.org/10.1007/BF02247414>

12. Müller, G., Al-Busaidi, R., & Bachmann, A. (2023). Distribution of bacteria along ureteral stents: A prospective pilot study. *World Journal of Urology*, 41, 125–131. <https://doi.org/10.1007/s00345-022-04103-2>