

Влияние низина на ростовые параметры и биопленкообразующую активность штаммов *Enterococcus faecalis*, изолированных из ротовой полости

Д.С.Пантелеев¹, А.П.Годовалов¹, М.В.Яковлев²

¹ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А.Вагнера»
Минздрава России, Пермь, Российская Федерация;

²ГБУЗ ПК «Городская стоматологическая поликлиника №1», Пермь, Российская Федерация

В настоящее время актуален поиск антимикробных препаратов, пригодных для использования в стоматологической практике, поскольку в патогенезе большинства заболеваний задействованы микробные ассоциации. Имеющийся арсенал антибиотиков обладает рядом негативных моментов. Среди представителей оральной микрофлоры существенное клиническое значение имеют *Enterococcus faecalis*.

Цель. Изучение влияния низина на параметры роста и формирование биопленки штаммами *Enterococcus faecalis*, изолированными из ротовой полости.

Материалы и методы. Изучали изменение параметров роста 15 клинических штаммов *E. faecalis* под влиянием низина в концентрации 1,25 и 2,5 мг/мл. Оценивали влияние низина на биомассу пленок, сформированных *E. faecalis*, а также жизнеспособность микроорганизмов в пленке, обработанной низином.

Результаты. Установлено, что низин обладает антимикробной активностью, снижает ростовые характеристики *E. faecalis*. Однако не оказывает влияния на сформированную пленку клиническими штаммами, что обеспечивает выживание и в дальнейшем восстановление популяции бактерий.

Заключение. В целом низин обладает антимикробной активностью, однако в клинической практике необходимо использование комбинации низина с биопленкоразрушающими веществами.

Ключевые слова: *Enterococcus faecalis*, биопленка, низин, лантибиотик, фаза адаптации, кинетика роста, жизнеспособность клеток

Для цитирования: Пантелеев Д.С., Годовалов А.П., Яковлев М.В. Влияние низина на ростовые параметры и биопленкообразующую активность штаммов *Enterococcus faecalis*, изолированных из ротовой полости. Бактериология. 2025; 10(1): 71–74. DOI: 10.20953/2500-1027-2025-1-71-74

Effect of nisin on growth parameters and biofilm-forming activity of *Enterococcus faecalis* strains isolated from the oral cavity

D.S.Panteleev¹, A.P.Godvalov¹, M.V.Yakovlev²

¹E.A.Wagner Perm State Medical University, Perm, Russian Federation;

²City Dental Polyclinic No 1, Perm, Russian Federation

Currently, the search for antimicrobial agents suitable for use in dentistry is relevant, since microbial associations are involved in the pathogenesis of most diseases. The available arsenal of antibiotics has a number of negative aspects. Among the representatives of oral microflora *Enterococcus faecalis* are of clinical importance.

Objective. Was to investigate the effect of nisin on growth parameters and biofilm formation by *Enterococcus faecalis* strains isolated from the oral cavity.

Materials and methods. Changes in growth parameters of 15 clinical strains of *E. faecalis* under the influence of nisin 1.25 and 2.5 mg/ml were studied. The effect of nisin on the biomass of films formed by *E. faecalis* and the viability of microorganisms in the film treated with nisin was evaluated.

Results. It was found that nisin has antimicrobial activity, reduces growth characteristics of *E. faecalis*. However, it has no effect on the formed film by clinical strains, which ensures the survival and further recovery of the bacterial population.

Conclusion. In general, nisin has antimicrobial activity, but in practical practice it is necessary to create a combined preparation with an antibiofilm-destroying component.

Key words: *Enterococcus faecalis*, biofilm, nisin, lantibiotic, adaptation phase, growth kinetics, cell viability

For citation: Panteleev D.S., Godvalov A.P., Yakovlev M.V. Effect of nisin on growth parameters and biofilm-forming activity of *Enterococcus faecalis* strains isolated from the oral cavity. Bacteriology. 2025; 10(1): 71–74. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2025-1-71-74

Для корреспонденции:

Пантелеев Данил Станиславович, врач-ординатор ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А.Вагнера» Минздрава России

Адрес: 614000, Пермь, ул. Петропавловская, 26

Статья поступила 14.09.2024, принята к печати 31.03.2025

For correspondence:

Danil S. Panteleev, resident physician, E.A.Wagner Perm State Medical University

Address: 26 Petropavlovskaya str., Perm, 614990, Russian Federation

The article was received 14.09.2024, accepted for publication 31.03.2025

Распространенность стоматологических заболеваний среди всех возрастных групп достигает 100%, а патология твердых тканей зубов и слизистой оболочки полости рта занимает лидирующие позиции [1]. Общеизвестно, что среди основных факторов, способствующих развитию заболеваний полости рта, существенную долю составляют микроорганизмы, колонизирующие слизистую оболочку ротовой полости и твердые ткани зубов. Например, такие бактерии, как *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius* (78%) и *Staphylococcus epidermidis* (3%), играют ключевую роль в образовании зубного налета и развитии кариеса зубов [2]. Согласно исследованиям Н.Е.Баранцевич и соавт., *Enterococcus faecalis* колонизирует ткани пародонта и слизистую оболочку полости рта примерно у 20% здоровых лиц, а при присоединении инфекционно-воспалительных заболеваний встречается у 68% пациентов [3]. По своей природе микробная ассоциация в процессе жизнедеятельности образует биопленку, которая защищает ее от воздействия факторов экзотической среды, в первую очередь обладающих антимикробной активностью [4].

В случае отсутствия своевременного и качественного лечения заболеваний, вызванных микроорганизмами, развиваются осложнения системного характера [5]. Например, микроорганизмы полости рта могут обуславливать такие заболевания сердечно-сосудистой системы, как эндокардит [6, 7].

В настоящее время неотъемлемой частью борьбы с инфекционно-воспалительными заболеваниями бактериальной этиологии являются антибиотики. Однако при длительном применении таких препаратов существует риск развития резистентности к ним у микроорганизмов [8], а также других побочных негативных явлений [9]. Более того, нерациональное употребление антибиотиков затрудняет их подбор для лечения других заболеваний. Именно поэтому актуален вопрос о поиске и создании препаратов, не приводящих к развитию устойчивости бактерий, а также других негативных эффектов на организм человека [10, 11]. Среди таких препаратов заслуживают внимания бактериоцины.

При анализе фармацевтического рынка препаратов на основе полипептидных лантибиотиков для применения в стоматологической практике не обнаружилось. Поэтому создание препарата на основе низина с выраженным антимикробным действием представляет интерес.

Целью исследования явилось изучение влияния низина на параметры роста и формирование биопленки штаммами *Enterococcus faecalis*, изолированными из ротовой полости.

Материалы и методы

В исследовании использовали 15 штаммов *Enterococcus faecalis*, изолированных из ротовой полости. Все исследования проводили в повторях. На каждый штамм использовали не менее трех повторов. Для изучения кинетики роста штаммов использовали их культивирование в мясо-пептонном бульоне (МПБ). Влияние низина оценивали при добавлении в питательную среду бактериоцина в концентрациях 1,25 и 2,5 мг/мл. В контрольные пробы вносили аналогичный объем МПБ. В отдельной серии экспериментов изучали восстановление клеточной популяции энтерококков после обработки

предварительно выращенной их биопленки низином в течение 20 минут при 37°C.

Параметры роста определяли путем ежечасного измерения оптической плотности культуральной жидкости в течение 24 ч при длине волны 600 нм на спектрофотометре PowerWave X (США). Оценивали длительность фазы адаптации микроорганизмов, скорость их роста. Для определения численности жизнеспособных клеток вычисляли площадь под кривой роста штаммов.

В планшетах формировали биопленки, культивирование которых осуществляли при 37°C в течение 24 ч с последующей окраской по методике O'Toole, 2011.

Статистический анализ результатов проводили с использованием методов описательной статистики, t-критерия Стьюдента и коэффициента корреляции. Результаты проведенных экспериментов представлены в виде среднего арифметического и его ошибки ($M \pm m$).

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты исследования показали, что при культивировании в жидкой питательной среде (МПБ) низин статистически значимо увеличивал продолжительность лаг-фазы ($p = 0,002$). Установлено, что в его отсутствие фаза адаптации в среднем длилась $0,25 \pm 0,03$ ч, а в образцах с концентрацией 1,25 мг/мл низин удлинял лаг-фазу в среднем до $13,6 \pm 0,8$ ч. При повышении концентрации до 2,5 мг/мл низин статистически значимо увеличивал фазу адаптации в среднем до 21 ± 2 ч ($p = 0,013$). Вместе с тем нами была выявлена прямая корреляционная взаимосвязь между дозой препарата и длительностью начальной фазы роста штаммов *E. faecalis* ($r = 0,98$).

В процессе исследования скорости роста бактерий было установлено, что низин статистически значимо уменьшает этот параметр по сравнению с контрольными пробами. Например, с $0,09 \pm 0,001$ до $0,029 \pm 0,005$ у.е./ч при концентрации 1,25 мг/мл ($p = 0,004$). Выявлена обратная дозозави-

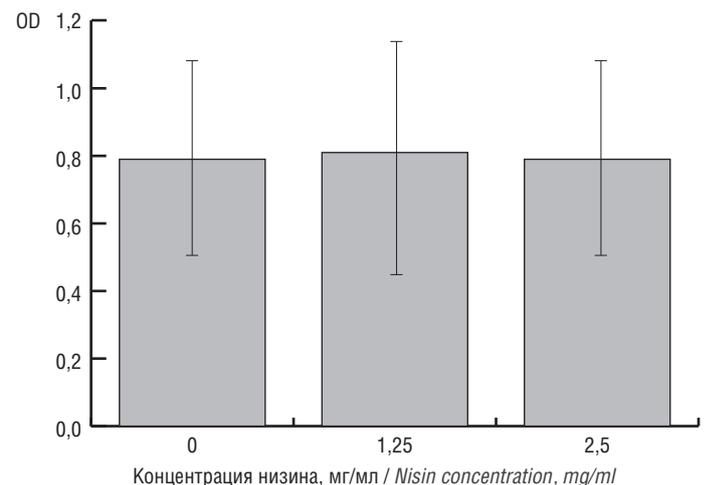


Рис. 1. Влияние низина на биомассу зрелой пленки штаммов *Enterococcus faecalis*: OD – оптическая плотность раствора кристаллического фиолетового, экстрагированного из окрашенной биопленки. Данные представлены в виде $M \pm m$.

Fig. 1. Effect of nisin on the biomass of mature *Enterococcus faecalis* strains: OD is the optical density of the crystal violet solution extracted from the stained biofilm. Data presented as $M \pm m$.

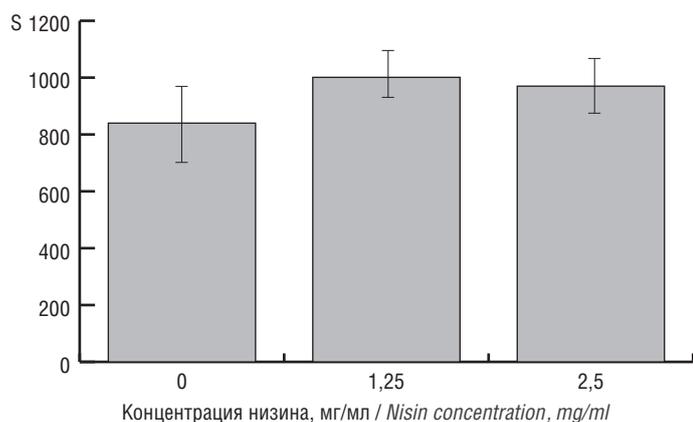


Рис. 2. Численность жизнеспособных клеток штамма *Enterococcus faecalis* после обработки зрелой биопленки низином. S – условные единицы площади под кривыми роста штамма. Данные представлены в виде $M \pm m$.

Fig. 2. The number of viable cells of the *Enterococcus faecalis* strain after treatment of mature biofilm with nisin. S – conventional units of area under the strain growth curves. Data are presented as $M \pm m$.

симая связь между повышением концентрации низина и скоростью роста штаммов ($r = -0,95$).

Выявлено, что низин статистически значимо подавляет жизнеспособность клеток *E. faecalis*. Площадь под кривой роста штаммов в МПБ без низина составила $574,83 \pm 74,54$ у.е., при внесении низина в концентрации 1,25 мг/мл – $278,21 \pm 30,08$ у.е. ($p = 0,018$), 2,5 мг/мл – $214,09 \pm 17,30$ у.е. ($p = 0,011$). При этом наблюдается обратная корреляционная связь ($r = -0,93$).

По своему характеру микробные консорциумы в полости рта находятся в бактериальных пленках, что добавляет обязательное требование к препаратам, применяемым в стоматологии в виде антибиопленочного эффекта. Нами было показано, что низин не оказывает влияния на толщину зрелой биопленки, сформированной штаммами *E. faecalis* (рис. 1).

Кроме этого, важно оценить выживаемость штаммов энтерококков, находящихся в биопленке, после ее обработки низином. Было установлено, что такие штаммы медленно адаптируются, длительность их лаг-фазы составила $3,4 \pm 0,25$ ч ($p = 0,001$ к пробам без низина).

Выявлена прямая корреляционная дозозависимая связь концентрации бактериоцина и длительности лаг-фазы ($r = 0,92$). Скорость роста штаммов из биопленки, обработанной низином, существенно не отличалась от таковой для штаммов, выращенных из биопленки, не обработанной препаратом ($0,10 \pm 0,03$ у.е./ч; $p = 0,41$). При этом энтерококки восстанавливали численность жизнеспособных клеток до уровня, сопоставимого в пробах без низина. Так, после обработки биопленки энтерококков низином в концентрации 1,25 мг/мл рост штамма возобновился, а площадь под кривой составила $999,99 \pm 32,7$ у.е. ($p = 0,08$), при 2,5 мг/мл – $979,04 \pm 38,97$ у.е. ($p = 0,36$), в пробах без низина – $832,49 \pm 109,24$ у.е. ($p = 0,13$) (рис. 2). Полученные данные указывают, что низин не оказывает значимого эффекта на бактерии, находящиеся в биопленке, и после завершения экспозиции и промывки планшет с последующим добавлением свежей питательной среды наблюдается восстановление роста штаммов.

Закключение

Таким образом, экспериментально показано, что низин оказывает ингибирующее влияние на параметры роста клинических штаммов *E. faecalis* в зависимости от концентрации, что проявляется увеличением фазы адаптации микроорганизмов, значительным снижением их скорости роста и уменьшением жизнеспособности штаммов. Однако низин не оказывает антибиопленочного эффекта, что приводит к восстановлению популяции клеток спустя 3,5 ч после его краткосрочного воздействия. Такое явление можно объяснить тем, что в структуре зрелой биопленки имеются экзополисахариды, которые не позволяют проникнуть бактериоцину к клеткам-персистерам и оказать на них влияние. Решением в подобной ситуации может быть применение комбинированного с низином препарата, который, помимо влияния на энтерококки, будет оказывать антибиопленочное действие.

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках бюджетного финансирования.

Financial support

The work was carried out within the framework of budgetary financing.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

- Сафиуллин АА. Эпидемиологические аспекты основных стоматологических заболеваний в Челябинской области: монография. Издательский дом Академии Естествознания, 2016.
- Пестов АЮ, Панченко АВ. Колонизация полости рта стафилококками при пародонтите. Вестник ВолГМУ. 2011;4(40):62-65.
- Баранцевич НЕ, Орехова ЛЮ, Баранцевич ЕП. Роль *Enterococcus faecalis* при апикальном периодонтите. Пародонтология. 2021;26(4):275-283. DOI: 10.33925/1683-3759-2021-26-4-275-283
- Sharma D, Misba L, Khan AU. Antibiotics versus biofilm: an emerging battleground in microbial communities. Antimicrob Resist Infect Control. 2019 May; 16:8:76. DOI: 10.1186/s13756-019-0533-3
- Годовалов АП, Степанов МС, Яковлев МВ, Кобзаренко ЕЕ, Батог КА. Определение биопленкообразующей активности микроорганизмов на синтетических полимерных материалах. Клиническая лабораторная диагностика. 2019;64(12):758-761. DOI: 10.18821/0869-2084-2019-64-12-758-761
- Годовалов АП, Карпунина ТИ. Определение компонентного состава биопленок грамположительных бактерий. Клиническая лабораторная диагностика. 2019;64(10):632-634. DOI: 10.18821/0869-2084-2019-64-10-632-634
- Сабуров СК, Тураев НГ. Оценка взаимодетерминированности стоматологических и системных заболеваний. Вестник Авиценны. 2013;4(57):125-129.
- Lockhart PB, Durack DT. Oral microflora as a cause of endocarditis and other distant site infections. Infect Dis Clin North Am. 1999 Dec;13(4):833-50. DOI: 10.1016/s0891-5520(05)70111-2
- Крючков ДЮ, Крючкова ОН, Романенко ИГ, Джерелей АА, Горобец СМ. Состояние полости рта и стоматологические вмешательства как фактор риска инфекционного эндокардита. Особенности профилактики. Крымский терапевтический журнал. 2020;3:80-83.

10. Черненко ТВ, Годков МА. «Проблемные» полирезистентные бактерии – возбудители внутрибольничных инфекций у пациентов в критических состояниях (обзор литературы). Неотложная медицинская помощь. Журнал им. Н.В.Склифосовского. 2015;3:30-35.
11. Sultan AA, Mallen C, Muller S, Hider S, Scott I, Helliwell T, et al. Antibiotic use and the risk of rheumatoid arthritis: a population-based case-control study. BMC Med. 2019 Aug 7;17(1):154. DOI: 10.1186/s12916-019-1394-6

References

1. Safiullin AA. Epidemiologicheskie aspekty osnovnykh stomatologicheskikh zabolevaniy v chelyabinskoi oblasti: monografiya. Izdatel'skii dom Akademii Estestvoznaniya. 2016. (In Russian).
2. Pestov AYu, Panchenko AV. Colonization of oral cavity by staphylococci in parodontitis. Journal of Volgograd State Medical University. 2011;4(40):62-65. (In Russian).
3. Barantsevitch NE, Orekhova LY, Barantsevitch EP. The role of Enterococcus faecalis in apical periodontitis. Parodontologiya. 2021;26(4):275-283. DOI: 10.33925/1683-3759-2021-26-4-275-283 (In Russian).
4. Sharma D, Misba L, Khan AU. Antibiotics versus biofilm: an emerging battleground in microbial communities. Antimicrob Resist Infect Control. 2019 May; 16;8:76. DOI: 10.1186/s13756-019-0533-3
5. Godovalov AP, Stepanov MS, Yakovlev MV, Kobzarenko EE, Batog KA. Determination of biofilm forming activity of microorganisms on synthetic polymeric materials. Russian Clinical Laboratory Diagnostics. 2019;64(12):758-761. DOI: 10.18821/0869-2084-2019-64-12-758-761 (In Russian).
6. Godovalov AP, Karpunina TI. The determination of biofilm composition of gram-positive bacteria. Russian Clinical Laboratory Diagnostics. 2019;64(10):632-634. DOI: 10.18821/0869-2084-2019-64-10-632-634 (In Russian).

7. Saburov SK, Turaev NG. Evaluation of interdetermination of dental and systemic diseases. Avicenna Bulletin. 2013;4(57):125-129. (In Russian).
8. Lockhart PB, Durack DT. Oral microflora as a cause of endocarditis and other distant site infections. Infect Dis Clin North Am. 1999 Dec;13(4):833-50. DOI: 10.1016/s0891-5520(05)70111-2
9. Kryuchkov DY, Kryuchkova ON, Romanenko IG, Dzhereley AA, Gorobets SM. The condition of the oral cavity and dental interventions as a risk factor for infectious endocarditis. Features of prevention. Crimean Journal of Internal Diseases. 2020;3:80-83. (In Russian).
10. Chernenkaya TV, Godkov MA. The "challenging" multidrug-resistant pathogens of nosocomial infections in critically ill patients (a literature review). Russian Sklifosovsky Journal of "Emergency Medical Care". 2015;3:30-35. (In Russian).
11. Sultan AA, Mallen C, Muller S, Hider S, Scott I, Helliwell T, et al. Antibiotic use and the risk of rheumatoid arthritis: a population-based case-control study. BMC Med. 2019 Aug 7;17(1):154. DOI: 10.1186/s12916-019-1394-6

Информация о соавторах:

Годовалов Анатолий Петрович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А.Вагнера» Минздрава России ORCID: 0000-0002-5112-2003

Яковлев Михаил Владимирович, кандидат медицинских наук, врач стоматолог-ортопед ГБУЗ ПК «Городская стоматологическая поликлиника №1» ORCID: 0000-0002-2895-387X

Information about co-authors:

Anatoliy P. Godovalov, PhD, MD, Associate Professor of the Department of Microbiology and Virology, E.A.Wagner Perm State Medical University ORCID: 0000-0002-5112-2003

Mikhail V. Yakovlev, PhD, MD, dentist-orthopedist, City Dental Clinic No 1 ORCID: 0000-0002-2895-387X

НОВОСТИ НАУКИ

Домашние собаки способствуют распространению сальмонеллы, устойчивой к антибиотикам

Домашние животные, такие как домашние собаки, являются уязвимым из виду местом передачи зоонозных патогенов, таких как нетифозная сальмонелла (НТС). Учитывая близость собак к людям и использование критически важных антибиотиков в медицине домашних животных, домашние собаки представляют риск распространения сальмонеллы, устойчивой к противомикробным препаратам (AMR).

Исследователи идентифицировали все штаммы НТС, выделенные от домашних собак, с помощью в период с мая 2017 года по март 2023 года ($n = 87$), а также пространственно-временные сопоставленные штаммы, выделенные от людей NCBI ($n = 77$). Штаммы, выделенные от собак, включали различные серовары, большинство из которых были клинически значимы для здоровья человека. Все штаммы обладали детерминантами AMR для классов препаратов, которые ВОЗ считает критически или очень важными. Идентифицировали 16 изолятов НТС от людей, тесно связанных с ≥ 1 из шести штаммов, ассоциированных с собаками.

Эти данные подчеркивают важность антимикробного управления и постоянного биологического надзора за пределами ветеринарной медицины, связанной с человеком и сельским хозяйством.



Kennedy SM, M'ikanatha NM, Ganda E.
Antimicrobial Resistance and Zoonotic Potential of Nontyphoidal Salmonella From Household Dogs.
Zoonoses Public Health. 2025 Feb;72(1):84-94. DOI: 10.1111/zph.13174