

Вартанян Альберт Ашотович, младший научный сотрудник лаборатории фармакологии,
тел.: +79624445428; e-mail: albert.vartanyan.1998@mail.ru

Болатчиева Елизавета Юрьевна, ассистент кафедры анатомии им. В. Ю. Первушина,
тел.: +79286382353

Диденко Николай Николаевич, ассистент кафедры нормальной и патологической физиологии,
и.о. зав. лабораторией регенеративной медицины,
тел.: +7478652352684; e-mail: patphysiology@stgmu.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9734-8158>

Веретенников Тарас Александрович, студент,
тел.: +79187456487; e-mail: veretennikov_t@inbox.ru

© Коллектив авторов, 2025

УДК 616.31:616

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2025.20074>

ISSN – 2073-8137

Изменение ростовых параметров условно патогенных микроорганизмов под влиянием низина

Д. С. Пантелеев, О. А. Шулятникова, А. П. Годовалов, Г. И. Рогожников, М. В. Яковлев

Пермский государственный медицинский университет им. академика Е. А. Вагнера,
Российская Федерация

Changes in growth parameters of conditionally pathogenic microorganisms under the influence of nisin

Panteleev D. S., Shuliatnikova O. A., Godovalov A. P., Rogozhnikov G. I., Yakovlev M. V.

E. A. Vagner Perm State Medical University, Russian Federation

Изучено влияние низина на ростовые параметры и сформированную биоплёнку штаммами *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 и *Escherichia coli* M-17. Продемонстрирована слабая активность низина относительно штаммов *E. coli*. Низин нарушал целостность клеточных мембран бактерий, приводя к их гибели, и нарушал процесс образования биоплёнок. Низин представляет собой перспективный препарат для разработки антимикробных препаратов и профилактики биопленкообразования, в т. ч. на зубных протезах.

Ключевые слова: биоплёнка, полость рта, пародонт, оральная микрофлора, зубные протезы, бактериоцины, низин

The study investigated the effect of nisin on growth parameters and the biofilm formed by *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Escherichia coli* M-17 strains. The weak activity of nisin relative to *E. coli* strains has been demonstrated. Nisin disrupted the integrity of bacterial cell membranes, leading to their death, and disrupts the formation of biofilms. Nisin is a promising drug for the development of antimicrobial drugs and the prevention of biofilm formation, including on dentures.

Keywords: biofilm, oral cavity, periodontium, oral microflora, dentures, bacteriocins, nisin

Для цитирования: Пантелеев Д. С., Шулятникова О. А., Годовалов А. П., Рогожников Г. И., Яковлев М. В. Изменение ростовых параметров условно патогенных микроорганизмов под влиянием низина. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2025;20(4):350-353. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2025.20074>

For citation: Panteleev D. S., Shuliatnikova O. A., Godovalov A. P., Rogozhnikov G. I., Yakovlev M. V. Changes in growth parameters of conditionally pathogenic microorganisms under the influence of nisin. *Medical News of North Caucasus*. 2025;20(4):350-353. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2025.20074> (In Russ.)

МПБ – мясо-пептонный бульон

УПМ – условно патогенные микроорганизмы

Условно патогенные микроорганизмы играют значительную роль в развитии воспалительных заболеваний и дисбиотических изменений в различных биотопах [1]. Дисбиоз полости рта изучен относительно меньше и отличается наличием стоматологических конструкций, которые

могут оказывать влияние на оральную микрофлору [2–6].

Актуален поиск препаратов, избирательно подавляющих УПМ, но не нарушающих общий микробный баланс [7]. Традиционные антисептики лишены такой избирательности [8, 9]. Перспективной альтернати-

вой являются бактериоцины, в частности низин – природный антимикробный пептид. Низин эффективен против ключевых грамположительных УПМ, таких как *Streptococcus mutans* и *Staphylococcus aureus*, участвующих в развитии кариеса и воспаления пародонта [10, 11]. Низин связывается с липидом II и инициирует образование пор в мембране, что приводит к гибели клетки. Важное преимущество низина – локальное действие с минимальным риском системных эффектов или дисбиоза других биотопов. Пептид обладает низкой токсичностью, и к нему медленно развивается резистентность у бактерий, что делает его актуальным для длительного применения [11, 12]. Перспективы связаны с разработкой ополаскивателей и гелей на основе низина, в том числе в комбинации с другими агентами для синергического эффекта. Требуется подбор оптимальных концентраций препарата с учётом всей совокупной микрофлоры рта.

В целом низин благодаря своим свойствам представляет собой перспективное средство для коррекции дисбиоза и противовоспалительной терапии.

Цель работы – изучить влияние низина на ростовые параметры и сформированную бактериальную плёнку штаммами *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*.

Материал и методы. В исследовании использовали штаммы *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 и *Escherichia coli* M-17, являющиеся типичными представителями грамположительных и грамотрицательных условно патогенных бактерий. Для изучения кинетики роста штаммов их культивировали в мясо-пептонном бульоне (МПБ). Низин добавляли в питательную среду в концентрациях 1,25 и 2,5 мг/мл [13]. В контрольные пробы вносили аналогичный объем МПБ. В отдельной серии экспериментов изучали восстановление клеточной популяции штаммов после обработки предварительно выращенной их биоплёнки низином в течение 20 минут при 37 °С. Оценивали длительность фазы адаптации микроорганизмов, скорость их роста. Для определения численности жизнеспособных клеток вычисляли площадь под кривой роста штаммов. Параметры роста определяли путём ежечасного измерения оптической плотности культуральной жидкости в течение 24 ч при длине волны 600 нм на спектрофотометре PowerWave X (Bio-Tek instruments, США). В планшетах формировали биоплёнки, культивирование которых осуществляли при 37 °С в течение 24 ч с последующей окраской по методике O'Toole. Все исследования проводили в трех повторах.

Статистический анализ проводился с использованием программы StatTech v. 4.8.7 (Статтех, Россия). Нормальность распределения проверяли критерием Шапиро – Уилка. Данные с нормальным распределением представлены как $M \pm SD$ и 95 % ДИ, отличающиеся от нормального – как $Me (Q1-Q3)$. Сравнение трёх и более групп проводили с помощью дисперсионного анализа (критерий Тьюки) или критерия Краскела – Уоллиса (критерий Данна с поправкой Холма). Уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. В исследование были включены штаммы-маркеры орального дисбиоза, требующие селективной элиминации с помощью антимикробных препаратов.

В ходе исследования показано, что низин во всех концентрациях статистически значимо увеличивает длительность лаг-фазы штаммов стафилококков. Установлено, что фаза адаптации *S. aureus* в пробах в отсутствие низина составила $1,5 \pm 0,5$ ч, а при концентрации низина 1,25 мг/мл эта фаза статистически значимо увеличивалась до $21,9 \pm 0,2$ ч ($p = 0,001$ к образцам без низина). Однако при дальнейшем повышении

концентрации низина до 2,5 мг/мл длительность фазы адаптации существенно не изменилась ($22,6 \pm 0,1$ ч; $p = 0,11$ к пробам с концентрацией низина 1,25 мг/мл). Вместе с тем была выявлена дозозависимая корреляционная взаимосвязь между концентрацией низина и продолжительностью лаг-фазы штаммов *S. aureus* ($r = 0,88$). При анализе скорости роста стафилококков выявлено, что низин во всех концентрациях оказывает выраженный подавляющий эффект. Так, при концентрации 1,25 мг/мл скорость роста штаммов *S. aureus* изменилась с $0,031 \pm 0,005$ до 0 усл. ед./час ($p = 0,046$). Между концентрацией низина и скоростью роста стафилококков установлена обратная корреляционная связь ($r = -0,86$). Для оценки числа жизнеспособных клеток использовали интегральный показатель – площадь под кривой роста штаммов. В ходе исследования отмечено, что низин значимо снижает биомассу жизнеспособности клеток *S. aureus* – площадь под кривой изменяется с $737,015 \pm 14,55$ усл. ед. при росте штаммов в МПБ до $176,33 \pm 4,25$ усл. ед. при концентрации низина 1,25 мг/мл ($p = 0,01$). Однако при повышении содержания препарата в пробах до 2,5 мг/мл показатель оказался выше – $194,67 \pm 4,19$ усл. ед. ($p = 0,001$ к образцам с концентрацией низина 1,25 мг/мл). При этом выявлена обратная корреляционная связь концентрации препарата и жизнеспособности клеток ($r = -0,85$).

Лаг-фаза роста штаммов *E. coli* в пробах без низины составила $0,225 \pm 0,025$ ч. Длительность начальной стадии роста кишечной палочки при добавлении низина в концентрации 1,25 мг/мл увеличилась до $0,28 \pm 0,03$ ч ($p = 0,003$ к контрольным образцам без низина). С повышением концентрации низина до 2,5 мг/мл длительность фазы адаптации *E. coli* составила $0,32 \pm 0,02$ ч ($p = 0,02$ к образцам без низина). В результате анализа влияния низина на штаммы *E. coli* было установлено, что низин не ингибирует скорость роста кишечной палочки. В пробах с концентрацией низина 1,25 мг/мл скорость роста *E. coli* составила $0,046 \pm 0,003$ усл. ед./час ($p = 0,16$ к образцам с отсутствием низина), в образцах с концентрацией низина 2,5 мг/мл – $0,043 \pm 0,003$ усл. ед./час ($p = 0,1$ к пробам без низина). При концентрации низина 1,25 мг/мл в пробах с *E. coli* площадь под кривой роста составила $944,68 \pm 0,32$ усл. ед. ($p = 0,003$ к пробам без низина). С повышением низина до 2,5 мг/мл жизнеспособность клеток кишечной палочки статистически значимо не изменилась ($948,3 \pm 0,05$ усл. ед.; $p = 0,06$ к образцам с концентрацией низина 1,25 мг/мл).

Результаты настоящего исследования показали, что низин обладает способностью разрушать зрелые биоплёнки УПМ, однако наблюдается неполное разрушение с последующим восстановлением биоплёнки (рис.). Нами была выявлена обратная корреляционная взаимосвязь между дозой низина и толщиной биоплёнки штаммов ($r = -0,85$).

В настоящем исследовании была оценена выживаемость штаммов *S. aureus* и *E. coli*, находящихся в биоплёнке, после обработки её низином. Результаты исследования показали, что бактерии в биоплёнках, обработанных низином, быстро адаптируются к новым условиям. Так, в пробах без низина фаза адаптации стафилококков составила $0,205 \pm 0,015$ ч ($p = 0,022$ к образцам с концентрацией низина 1,25 мг/мл). При увеличении концентрации низина до 2,5 мг/мл длительность лаг-периода *S. aureus* составила $0,345 \pm 0,015$ ч ($p = 0,042$ к образцам с концентрацией низина 1,25 мг/мл). При этом наблюдается прямая дозозависимая корреляционная связь между дозой низина и фазой адаптации штаммов стафилококков ($r = 0,99$). Ско-

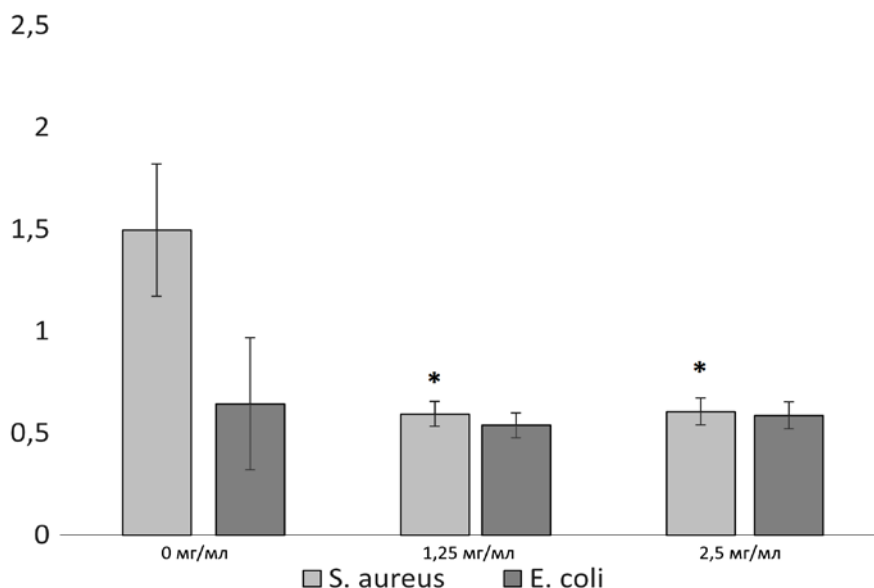


Рис. Влияние низина на биомассу зрелой плёнки штаммов *S. aureus* и *E. coli*.

Примечание. По оси ординат – толщина биоплёнки штаммов (усл. ед.); * – $p < 0,05$ при сравнении с пробами без низина

рость роста штаммов *S. aureus* из биоплёнки, не обработанных низином, составляла $0,038 \pm 0,003$ усл. ед./час ($p = 0,19$ к пробам, обработанным низином в концентрации 1,25 мг/мл), при обработке низином в концентрации 2,5 мг/мл не отличалась от таковой культур, обработанных препаратом в концентрации 1,25 мг/мл ($0,045 \pm 0,002$ усл. ед./час; $p = 0,26$ к образцам, обработанным препаратом в концентрации 1,25 мг/мл). При этом численность микроорганизмов восстанавливалась до уровня, сопоставимого в образцах без низина. При культивировании штаммов стафилококков из биоплёнки, обработанной низином в концентрации 1,25 мг/мл, площадь под кривой составила $914,58 \pm 7,44$ усл. ед. ($p = 0,24$ к пробам, не обработанным низином), при 2,5 мг/мл – $916,4 \pm 16,7$ усл. ед. ($p = 0,44$ к образцам с концентрацией низина 1,25 мг/мл), а в пробах без низина – $853,74 \pm 65,9$ усл. ед. ($p = 0,45$ к образцам с концентрацией пептида 2,5 мг/мл).

Механизм действия низина на грамположительные кокки изучен относительно подробно. Однако его влияние на грамотрицательные микроорганизмы требует более детального изучения. В настоящем исследовании показано, что низин не оказывает статистически значимого влияния на фазу адаптации *E. coli*. Длительность фазы адаптации имеет прямую дозозависимую корреляцию с дозой низина. На скорость роста кишечной палочки низин не оказал влияния, что может свидетельствовать о его ограниченной активности. Показано, что при концентрации низина 1,25 мг/мл рост *E. coli* составил $0,043 \pm 0,004$ усл. ед./ч ($p = 0,57$ к образцам без низина), при повышении концентрации до 2,5 мг/мл – $0,045 \pm 0,007$ усл. ед./ч ($p = 0,8$ к пробам с концентрацией низина 1,25 мг/мл). Между дозой низина и скоростью роста *E. coli* выяв-

лена прямая корреляция ($r = 0,99$). В ходе проведения исследования отмечено, что низин при обработке зрелых биоплёнок штаммов *E. coli* не оказывает ингибирующего влияния на жизнеспособность клеток. Показано, что при концентрации низина 2,5 мг/мл жизнеспособность штаммов составила $1025,6 \pm 131,1$ усл. ед. ($p = 0,66$ к образцам, не обработанным низином), при концентрации 1,25 мг/мл – $962,64$ усл. ед. ($p = 0,92$ к пробам, не обработанным низином). При этом выявлена прямая корреляция между дозой низина и жизнеспособностью штаммов кишечной палочки ($r = 0,93$).

Воспаление и дисбиоз полости рта играют ключевую роль в патогенезе заболеваний пародонта [13], а нарушение баланса микрофлоры приводит к хроническому воспалению и деструкции тканей [14]. Традиционные

антимикробные средства неселективны и способствуют развитию резистентности, что требует новых подходов к коррекции состава микрофлоры этого биотопа [15].

Низин – бактериоцин, продуцируемый *Lactococcus lactis*, обладает избирательной активностью против ключевых патогенов полости рта, сохраняя аутохтонную микрофлору. Его механизм действия основан на связывании с липидом II и образовании пор в клеточной мембране грамположительных бактерий, что приводит к лизису клетки [16, 17]. Однако против грамотрицательных бактерий низин неэффективен из-за наличия наружной ЛПС-мембраны, периплазматического пространства и недоступности мишени [16–18].

Большинство бактерий в природе существуют в форме биоплёнки, обеспечивающей устойчивость к антимикробным средствам [19, 20]. Низин способен разрушать биоплёнку, проникая в матрикс, нарушая его целостность, ингибируя синтез экзополисахаридов, подавляя адгезию и *quorum sensing* [10, 21, 22]. В исследовании продемонстрирована высокая активность низина против *S. aureus*: увеличение лаг-фазы, подавление скорости роста и снижение биомассы клеток. Против *E. coli* активность была ограниченной. Низин эффективно снижал толщину биоплёнки обоих штаммов, но не предотвращал её восстановление.

Таким образом, низин высокоэффективен против грамположительных бактерий и биоплёнок, но ограниченно активен против грамотрицательных УПМ. Перспективно его комбинирование с другими антимикробными агентами для преодоления резистентности.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература/References

- Willis J. R., Gabaldon T. The human oral microbiome in health and disease: from sequences to ecosystems. *Microorganisms*. 2020;8(2):308. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8020308>
- Cugini C., Ramasubbu N., Tsiagbe V. K., Fine D. H. Dysbiosis from a microbial and host perspective relative to oral health and disease. *Front. Microbiol.* 2021;12:617485. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.617485>
- Min Z., Yang L., Hu Y., Huang R. Oral microbiota dysbiosis accelerates the development and onset of mucositis and oral ulcers. *Front. Microbiol.* 2023;14:1061032. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1061032>
- Sedghi L., DiMassa V., Harrington A., Lynch S. V., Kapila Y. L. The oral microbiome: Role of key organisms and complex networks in oral health and disease. *Periodontology 2000*. 2021;87(1):107-131. <https://doi.org/10.1111/prd.12393>

5. Elghannam M. T., Hassanien M. H., Ameen Y. A., Turkey A. E., Elattar G. A. [et al.]. Oral microbiome dysbiosis and gastrointestinal diseases: a narrative review. *Egypt Liver Journal*. 2024;14:32. <https://doi.org/10.1186/s43066-024-00340-9>
6. Kitamoto S., Kamada N. The oral-gut axis: a missing piece in the IBD puzzle. *Inflamm. Regener.* 2023;43(1):54. <https://doi.org/10.1186/s41232-023-00304-3>
7. Hosseini H. M., Salari S., Nasiri K., Salim U. S., Saeed L. M. [et al.]. The potential use of bacteriophages as antibacterial agents in dental infection. *Virology Journal*. 2024;21(1):258. <https://doi.org/10.1186/s12985-024-02510-y>
8. Osmanov A., Farooq Z., Richardson M. D., Denning D. W. The antiseptic Miramistin: a review of its comparative in vitro and clinical activity. *FEMS microbiology reviews*. 2020;44(4):399-417. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa012>
9. Thompson W., Teoh L., Pulcini C., Williams D., Pitkeathley C. [et al.]. Dental antibiotic stewardship: study protocol for developing international consensus on a core outcome set. *Trials*. 2022;23(1):116. <https://doi.org/10.1186/s13063-022-06038-w>
10. Shin J. M., Ateia I., Paulus J. R., Liu H., Fenno J. C. [et al.]. Antimicrobial nisin acts against saliva derived multi-species biofilms without cytotoxicity to human oral cells. *Frontiers in Microbiology*. 2015;6:617. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00617>
11. Cunha E., Valente S., Nascimento M., Pereira M., Tavares L. [et al.]. Influence of the dental topical application of a nisin-biogel in the oral microbiome of dogs: a pilot study. *Peer. J*. 2021;9:e11626. <https://doi.org/10.7717/peerj.11626>
12. Reiners J., Lagedroste M., Gottstein J., Adeniyi E. T., Kalscheuer R. [et al.]. Insights in the antimicrobial potential of the natural nisin variant Nisin H. *Front. Microbiol.* 2020;11:573614. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.573614>
13. 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. [Panteleev D. S., Godovalov A. P., Yakovlev M. V. Influence of nisin on growth parameters and bio-ligneous activity of strains of *Enterococcus faecalis*, isolated from the oral cavity. *Bakteriologiya. – Bacteriology*. 2025;10(1):71-74. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.20953/2500-1027-2025-1-71-74>
14. Peng X., Cheng L., You Y., Tang C., Ren B. [et al.]. Oral microbiota in human systematic diseases. *International journal of oral science*. 2022;14(1):14. <https://doi.org/10.1038/s41368-022-00163-7>
15. Cook M. A., Wright G. D. The past, present, and future of antibiotics. *Science translational medicine*. 2022;14(657):eabo7793. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abo7793>
16. Jensen C., Li H., Vestergaard M., Dalsgaard A., Frees D. [et al.]. Nisin damages the septal membrane and triggers DNA condensation in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in Microbiology*. 2020;11:1007. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01007>
17. Скуредина А. А., Якупова Л. Р., Ле-Дейген И. М., Кудряшова Е. В. Структурно-функциональные аспекты взаимодействия полимеров медицинского назначения с липосомами и бактериальными клетками. *Вестник Московского университета. Серия 2. Химия*. 2023;64(5):441-459. [Skuredina A. A., Yakupova L. R., Le-Dejgen I. M., Kudryashova E. V. Structural-functional aspects of the interaction of medical polymers with liposomes and bacterial cells. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 2. Ximiya. – Bulletin of the Moscow University. Series 2. Chemistry*. 2023;64(5):441-459. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.55959/MSU0579-9384-2-2023-64-5-441-459>
18. Wojciechowska M. Endolysins and membrane-active peptides: innovative engineering strategies against gram-negative bacteria. *Frontiers in Microbiology*. 2025;16:1603380. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1603380>
19. Хрянин А. А. Биоплёнки микроорганизмов: современные представления. *Антибиотики и химиотерапия*. 2020;65(5-6):70-77. [Хрянин А. А. Biofilms of microorganisms: modern ideas. *Antibiotiki i ximioterapiya. – Antibiotics and chemotherapy*. 2020;65(5-6):70-77. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2020-65-5-6-70-77>
20. Padder S. A., Prasad R., Shah A. H. Quorum sensing: A less known mode of communication among fungi. *Microbiological research*. 2018;210:51-58. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.03.007>
21. Ghapanvari P., Taheri M., Jalilian F. A., Dehbashi S., Dezfuli A. A. Z. [et al.]. The effect of nisin on the biofilm production, antimicrobial susceptibility and biofilm formation of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *European Journal of Medical Research*. 2022;27:173. <https://doi.org/10.1186/s40001-022-00804-x>
22. Godoy-Santos F., Pitts B., Stewart P. S., Mantovani H. C. Nisin penetration and efficacy against *Staphylococcus aureus* biofilms under continuous-flow conditions. *Microbiology*. 2019;165(7):761-771. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000804>

Поступила 22.08.2025

Сведения об авторах:

Пантелеев Данил Станиславович, ординатор кафедры ортопедической стоматологии;
тел.: +79679042912; e-mail: panteleevdvlv@gmail.com; <https://orcid.org/0009-0003-3796-4065>

Шулятникова Оксана Александровна, доктор медицинских наук,
профессор кафедры ортопедической стоматологии;
тел.: +79028386222; e-mail: anasko06@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2033-5903>

Годовалов Анатолий Петрович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры микробиологии и вирусологии;
тел.: +79129815100; e-mail: agodovalov@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-5112-2003>

Рогожников Геннадий Иванович, доктор медицинских наук,
профессор кафедры ортопедической стоматологии, заслуженный деятель науки Российской Федерации;
тел.: +79028347816; e-mail: info@digident.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7812-6338>

Яковлев Михаил Владимирович, кандидат медицинских наук, врач – стоматолог-ортопед;
тел.: +79091054554; e-mail: mikhailyak@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2895-387X>