

АДГЕЗИВНІ ВЛАСТИВОСТІ ГЕМОЛІТИЧНИХ ЕШЕРИХІЙ, ВИЛУЧЕНИХ ІЗ РІЗНИХ БІОТОПІВ ЛЮДИНИ

Ю. В. Войда

Харківська медична академія післядипломної освіти

У статті вивчено адгезивні властивості ешерихій, вилучених в осіб з дисбактеріозом кишечника і в здорових людей із сечовивідних, статевих та дихальних шляхів, а також із ділянок шкіри та м'яких тканин. Показано, що ступінь вираженості адгезивних властивостей в ешерихій залежить від біотопу вилучених штамів і корелює з наявністю та ступенем важкості запального процесу.

АДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА ГЕМОЛИТИЧЕСКИХ ЭШЕРИХИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАЗНЫХ БИОТОПОВ ЧЕЛОВЕКА

Ю. В. Войда

В статье изучены адгезивные свойства эшерихий, выделенных из кишечника больных дисбактериозом и здоровых людей, из мочевыводящих, половых и дыхательных путей, а также с участков кожи и мягкой ткани. Показано, что степень выраженности адгезивных свойств у эшерихий зависит от биотопа выделенных штаммов и коррелирует с наличием и степенью тяжести воспалительного процесса.

ADHESIVE PROPERTIES OF HEMOLYTIC ESCHERICHIA COLI SELECTED FROM DIFFERENT BIOTOPES OF HUMAN

Ju. V. Voyda

Adhesive properties of Escherichia coli selected from the intestine of patients with bacterial overgrowth syndrome and healthy people, from urinoexcretory, sexual and respiratory ways, and also from the areas of skin and soft tissue are studied. It is shown that the degree of expressed of Escherichia coli adhesive properties depends on biotope of the selected isolates and correlates with a presence and degree of inflammatory process.

Етіологічна значущість умовно патогенних мікроорганізмів, вилучених із клінічного матеріалу, значною мірою пов'язана з наявністю в мікроорганізмів чинників патогенності (ЧП), які кодуються відповідними генами на островах патогенності (ОП). Одними з провідних ЧП є чинники адгезії, що відповідають за початкову стадію інфекційного процесу, тобто прикріплення мікроба до відповідних клітин макроорганізму.

Значення адгезивних характеристик бактерій для макроорганізму може розглядатися з двох позицій. З одного боку, адгезивний потенціал індигенної мікрофлори є одним із чинників реалізації колонізаційної резистентності слизової оболонки кишечника та перешкодою прикріпленню до рецепторів слизової оболонки патогенних мікроорганізмів. З іншого — за розвитку дисбіотичних порушень адгезивні властивості опортуністичної

мікрофлори розглядають у ролі чинника патогенності, оскільки вони дозволяють мікробам закріпитися на поверхні шкіри, слизових оболонок і колонізувати даний біотоп, що дозволяє досягти певного популяційного рівня [2; 4]. Це призводить до розвитку запального процесу та загибелі епітеліальних клітин кишечника з подальшим проникненням ешерихій до регіонарних лімфатичних вузлів, а інколи й до кровотоку [8].

Слід зазначити, що мікроорганізми у процесі еволюції набувають нових механізмів адгезії. Встановлено здатність передання ознаки адгезії за допомогою плазмід, а також в інші способи придбання нових генів [1; 6]. Мікробні клітини можуть знаходити рецептори для прикріплення не лише на епітелії, але й на поверхневих структурах уже адгезованих клітин мікроорганізмів або їхніх мікроколоній [7].

Мета роботи — вивчити адгезивні властивості гемолітичних ешерихій, вилучених із різних біотопів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У хворих із дисбактеріозом кишечника було вилучено 34 гемолітичних штами *E. coli*. Як контроль використано 25 гемолітичних штамів, які вилучено з кишечника здорових осіб. У хворих з інфекціями сечовивідних шляхів (цистити та пієлонефрити) було ізольовано 38 гемолітичних штамів, котрі стали об'єктом наших досліджень (12 та 26, відповідно). У хворих з інфекцією дихальних шляхів було виділено 2 штами *E. coli*. З уражених ділянок шкіри хворих піодерміями та з інфекціями м'яких тканин було ізольовано також 2 штами. Останню групу склали 44 штами, вилучені у жінок, які звернулися до жіночої консультації з приводу різних запальних хвороб внутрішніх статевих органів, та чоловіків, які також мали скарги, пов'язані зі статевими органами.

Для визначення видової приналежності та наступного вивчення біологічних властивостей бактерій *E. coli* досліджувались фекалії, сеча, слиз із зів та носа, мокротиння, сперма, вагінальний вміст, а також виділення з рани згідно з чинною нормативно-методичною документацією [5].

Адгезивну здатність ешерихій вивчали згідно з методикою В. І. Бриліса [3]. Для цього використовували формалізовані еритроцити людини I (0) групи крові Rh+. Для проведення дослідів на предметне скло наносили завісу досліджуваної культури в буферному розчині, яку змішували з еритроцитами, і після інкубування у вологій камері протягом 30 хв при 37 °C суміш фіксували та фарбували за Романовським—Гімзою. Реєстрацію адгезивних властивостей мікробів проводили під світловим мікроскопом, підрахунок вели на 50 еритроцитах в одному полі зору. При оцінці адгезивних властивостей використовували такі критерії: середній показник адгезії (СПА), коефіцієнт адгезії (К) та індекс адгезивності мікроорганізмів (ІАМ). Мікроорганізм вважають неадгезивним при ІАМ ≤ 1,75, низькоадгезивним — при ІАМ від 1,76 до 2,5, середньоадгезивним — при ІАМ від 2,51 до 4,0, та високоадгезивним — при ІАМ > 4,0.

Досліди проводили в трьох повтореннях. Усі отримані кількісні результати досліджень підлягали статистичному обробленню загальноприйнятими методами варіаційної та кореляційної статистики з використанням значень середньої арифметичної (М), помилки середньої арифметичної (m), критерію Стьюдента (t), рівня значущості (p). Статистичне оброблення експериментальних даних проводили за допомогою комп'ютерної програми «Microsoft Excel 2000».

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХНЄ ОБГОВОРЕННЯ

Усі взяті для дослідів гемолітичні ешерихії, які вилучено з кишечника осіб із синдромом дисбактеріозу та у здорових людей із сечовивідних, дихальних та статевих шляхів, а також з ділянок шкіри та м'яких тканин мали адгезивні властивості.

Одержані результати вивчення адгезивних властивостей ешерихій, вилучених у осіб із дисбактеріозом кишечника і здорових людей, було проаналізовано (табл. 1).

Таблиця 1

Рівень адгезивності гемолітичних ешерихій, вилучених в осіб із дисбактеріозом кишечника і здорових людей

Показники адгезії	Біотоп вилучення	
	Кишечник осіб із дисбактеріозом (n = 34), М ± m	Кишечник здорових осіб (n = 25), М ± m
СПА	3,4 ± 0,3*	1,7 ± 0,2
К (%)	72,3 ± 1,4	67,7 ± 2,2
ІАМ	4,7 ± 0,3*	2,5 ± 0,2

Примітка: * — різниця показників є статистично достовірною (p < 0,001).

Середнє значення показника ІАМ ешерихій, які вилучено у осіб із дисбактеріозом кишечника, у 1,8 разу перевищувало аналогічний показник ешерихій, вилучених у здорових людей (p < 0,001).

Слід відзначити, що діапазон коливання показника ІАМ в ешерихій, вилучених у осіб із дисбактеріозом кишечника, знаходився в межах від 1,6 до 8,3; при цьому 44,12 ± 8,5 % штамів були середньоадгезивними, 35,29 ± 8,2 % — високоадгезивними, решта, 20,59 ± 6,9 %, — низькоадгезивними. Значення показника ІАМ ешерихій контрольної групи знаходилось у межах

від 1,2 до 6,8. Для більшості штамів контрольної групи була характерна низька адгезивність $52,0 \pm 9,9$ %. Частка високоадгезивних штамів ешерихій цієї групи становила лише $16,0 \pm 7,3$ %.

Встановлено, що середня кількість еритроцитів, які беруть участь в адгезивному процесі (К) ешерихій із групи осіб із дисбактеріозом кишечника і контрольної групи, достовірно не відрізнялась ($p > 0,05$). Значення СПА в ешерихій групи осіб із дисбактеріозом кишечника було в 2 рази вищим, ніж в ешерихій контрольної групи ($p < 0,001$).

Більш високі показники адгезії в ешерихій, вилучених в осіб із дисбактеріозом кишечника, порівняно з контрольною групою, можуть свідчити про залежність адгезивних властивостей ешерихій від наявності запального процесу в кишечнику. Знижені показники адгезії гемолітичних ешерихій (з пониженою ферментативною активністю), вилучених у здорових осіб, свідчать про втрату ними своєї ролі в забезпеченні колонізаційної резистентності.

Деякі дослідники вважають, що при транслокації УПМ із місць природного перебування в інші біотопи відбувається модифікація фенотипових характеристик мікроорганізмів та збільшення їхнього патогенного потенціалу [9; 10].

Ураховуючи вищезазначене, було вивчено показники адгезії ешерихій, вилучених із різних біотопів (табл. 2).

Середній рівень показника СПА штамів, вилучених із сечі, в 1,7 разу перевищував аналогічний показник у штамів, вилучених із виділень піхви та сперми, в 3,5 разу — СПА штамів, вилучених із виділень зів та мокротиння, і в 1,6 разу — зі шкіри та м'яких тканин ($p < 0,001$). Діапазон експресії СПА коливався в межах від 6,2 до 10,8 в ешерихій, вилучених із сечовивідних шляхів, та від 1,7 до 8,6 у штамів,

вилучених зі статевих шляхів. Показники СПА у штамів, вилучених із дихальних шляхів, склали, відповідно 1,2 та 3,4; а з ділянок шкіри та м'яких тканин — 5,8 та 3,7 відповідно.

Аналіз проведених досліджень із вивчення адгезивності ешерихій, вилучених із сечі при інфекціях сечовивідних шляхів, показав, що $65,79 \pm 6,9$ % штамів були високоадгезивними, $23,68 \pm 6,8$ % — середньоадгезивними і $10,53 \pm 4,9$ % — низькоадгезивними. При цьому всі 4 низькоадгезивних штами та 7 ($77,78 \pm 13,8$ %) середньоадгезивних штамів було вилучено при неускладнених інфекціях нижніх сечових шляхів (гострі та рецидивуючі цистити). Серед штамів, вилучених із сечі при ускладненій інфекції сечовивідної системи з наявністю або відсутністю пієлонефриту, у $92,31 \pm 5,2$ % випадків зустрічалися високоадгезивні представники штамів.

У штамів, вилучених зі статевих шляхів, фіксувалося домінантне значення середньої адгезивної активності — $50,0 \pm 7,5$ %, а також було виявлено значну частку штамів з високою адгезивною властивістю ($31,82 \pm 7,0$ %). При цьому у хворих, у яких виділяли високоадгезивні штами ешерихій, у 74 % випадків виявлялася супутня інфекція сечовивідних шляхів.

Ешерихії, вилучені з дихальних шляхів, характеризувалися низьким (1 штам) та середнім (1 штам) ступенями адгезивності; а з ділянок шкіри та м'яких тканин — високим (1 штам) та середнім (1 штам) ступенями адгезивності. Неадгезивні бактерії з цих біотопів не було виділено. Можливо, більш високі показники адгезії шкірного ізолята пов'язано з необхідністю постійної конкуренції великої кількості різноманітних коменсалів цього біотопу.

Наші дослідження показали, що серед вилучених штамів з високою адгезивною

Таблиця 2

Рівень адгезивності гемолітичних ешерихій, вилучених із сечовивідних, дихальних та статевих шляхів, а також із ділянок шкіри та м'яких тканин

Показники адгезії	Біотоп вилучення			
	Сечовивідні шляхи (n = 38), М ± m	Статеві шляхи (n = 44), М ± m	Дихальні шляхи (n = 2), М ± m	Ділянки шкіри та м'яких тканин (n = 2), М ± m
СПА	$8,1 \pm 0,8^*$	$4,7 \pm 0,3$	$2,3 \pm 0,7$	$4,8 \pm 0,4$
К (%)	$89,0 \pm 3,2$	$78,5 \pm 2,6$	$82,0 \pm 2,8$	$87,3 \pm 3,1$
IAM	$9,1 \pm 0,5^*$	$5,9 \pm 0,3$	$2,8 \pm 0,6$	$5,5 \pm 0,3$

Примітка: * — різниця показників статистично достовірна ($p < 0,001$).

властивістю достовірно переважають уропатогенні ешерихії. Дійсно, згідно з цим положенням високу адгезивність ешерихій можна вважати одним із чинників уропатогенності. Наявність штамів із низькою адгезивністю за неускладнених інфекцій нижніх сечових та статевих шляхів дозволила нам припустити транзиторну бактеріурію чи контамінацію ешерихіями цих біотопів.

ВИСНОВКИ

1. Доведено, що штами ешерихій залежно від місця забору мають різні адгезивні властивості.

2. Показано, що ешерихії, вилучені в осіб із дисбактеріозом кишечника, порівняно з контрольною групою, мали більш високі показники адгезії, що свідчить про залежність

адгезивних властивостей ешерихій від наявності запального процесу в кишечнику.

3. Виявлено, що серед вилучених штамів із високою адгезивною властивістю достовірно переважають уропатогенні ешерихії, тому цей показник можна вважати одним із чинників уропатогенності.

4. Наявність штамів з низькою адгезивністю за неускладнених інфекцій нижніх сечових та статевих шляхів дозволила нам припустити транзиторну бактеріурію чи контамінацію ешерихіями цих біотопів.

Перспективність роботи полягає в подальшому вивченні не тільки адгезивних властивостей, але й інших персистентних характеристик вилучених ешерихій, котрі можуть бути використані для постійного моніторингу збудників інфекцій.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. *Бабин В. Н.* Биохимические и молекулярные аспекты симбиоза человека и его микрофлоры / В. Н. Бабин, И. В. Домарадский, А. В. Дубинин // Рос. хим. журн. — 1994. — № 38 (6). — С. 66–78.
2. *Бондаренко В. М.* Роль дисфункции кишечного барьера в поддержании хронического воспалительного процесса различной локализации / В. М. Бондаренко, Е. В. Рябиченко // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2010. — № 1. — С. 92–100.
3. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов / В. И. Брилис, Т. А. Брилене, Х. П. Ленцнер, А. А. Ленцнер // Лаб. дело. — 1986. — № 4. — С. 210–212.
4. *Бухарин О. В.* Инфекция — модельная система ассоциативного симбиоза / О. В. Бухарин // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2009. — № 1. — С. 83–86.
5. Приказ МЗ СССР «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» № 535 от 22 апреля 1985.
6. *Сидоренко С. В.* Инфекционный процесс как «диалог» между хозяином и паразитом / С. В. Сидоренко // Клин. микробиология и антимикробиол. химиотерапия. — 2001. — Т. 3, № 4. — С. 301–315.
7. *Шендеров Б. А.* Нормальная микрофлора человека и некоторые вопросы микрoэкологической токсикологии / Б. А. Шендеров // Антибиотики и мед. биотехнология. — 1987. — Т. XXXII, № 3. — С. 165–170.
8. *Янковский Д. С.* Микробная экология человека: современные возможности ее поддержания и восстановления / Д. С. Янковский — К. : Эксперт ЛТД, 2005. — 362 с.
9. *Johnson J. R.* Bacterial characteristics in relation to clinical source of *Escherichia coli* isolates from women with acute cystitis or pyelonephritis and uninfected women / J. R. Johnson, K. Owens, A. Gajewski, M. A. Kuskowski // J. Clin. Microbiol. — 2005. — Vol. 43. — P. 6064–6072.
10. *Ruiz J.* Differences in virulence factor among clinical isolates of *Escherichia coli* causing cystitis and pyelonephritis in women and prostatitis in men / J. Ruiz, K. Simon, P. J. Horcajada [et al.] // J. Clin. Microbiol. — 2002. — Vol. 40. — P. 4445–4449.