

МІКРОБІОЛОГІЯ

© Л. Г. Мироненко, О. Г. Перетятко, І. С. Великий

УДК 576.524:579.862:616.8-089-052

Л. Г. Мироненко, О. Г. Перетятко, І. С. Великий

АДГЕЗИВНІ ВЛАСТИВОСТІ ЕНТЕРОКОКІВ, ІЗОЛЬОВАНИХ ВІД ХВОРІХ

НА НЕЙРОХІРУРГІЧНУ ПАТОЛОГІЮ

ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАН України» (м. Харків)

Робота виконана у рамках науково-дослідної теми ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАН України» «Вивчення біологічних властивостей мікроорганізмів роду *Enterococcus* різного походження та удосконалення методів лабораторної діагностики ентерококових інфекцій», № держреєстрації 0112U0000784.

Вступ. Відомо, що одним з важливих етапів розвитку інфекції є адгезія мікроорганізмів на компетентних клітинах хазяїна [7, 9]. Разом з цим адгезивність забезпечує стабільне заселення макроорганізму нормальною мікрофлорою, яка складає екологічний бар'єр для інфекційних агентів [8]. Адгезія бактерій відбувається на певних ділянках клітини – рецепторах, які мають білкову або вуглеводну природу, і носять видоспецифічний і тканеспецифічний характер [10, 11]. Доведено, що процес адгезії індигенної мікрофлори є однією з основних стадій формування проепітеліального шару біоплівки кишечника, що забезпечує стабільне заселення мікроорганізму нормальною мікрофлорою [8]. Маючи міцний адгезивний потенціал, представники нормофлори, у тому числі ентерококи, колонізують еконіші природного заходження та перешкоджають адгезії патогенних мікроорганізмів. Однак, здатність до адгезії створює умови для подальшої інвазії в тканини хазяїна. З природних для них еконіш ентерококи через неушкоджений епітелій потрапляють у фагоцити регіонарних лімфовузлів, де проліферують і потім розносяться у внутрішні органи [2, 8].

При аналізі останніх досліджень та публікацій встановлено, що роль ентерококів у виникненні нозокоміальних та гнійно-септичних інфекцій зростає. Ентерококи характеризуються убіквітарністю, тому спектр ентерококових інфекцій достатньо різноманітний, найчастіше це ендокардит, бактеріемія, інфекції сечовивідних шляхів, ранові, інтраабдомінальні інфекції, значно рідше інфекції лор-органів, легень, кісткової системи та нейрохірургічні інфекції [4]. До сьогодні залишається нез'ясованим питання про роль біологічних властивостей, у тому числі адгезивність, бактерій, що транслокуються в інші екотопи вегетування. В наших попередніх дослідженнях було показано, що ентерококи, які ізольовано з трофічних виразок хворих на цукровий діабет, характеризуються більш вираженою експресивністю адгезивних властивостей, ніж кишкові штами [5]. В

літературі нами не було знайдено повідомлень про вивчення біологічних властивостей штамів, ізольованих від хворих на нейрохірургічну патологію (НХП).

Тому **метою роботи** було вивчення пенентрантності та експресивності адгезивних властивостей мікроорганізмів роду *Enterococcus*.

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктами дослідження були 39 культур, ізольованих від 34 хворих після оперативного втручання, які були госпіталізовані в нейрохірургічні клініки (15 осіб) та відділення інтенсивної терапії та реанімації (19 осіб) ДУ «Інститут нейрохірургії ім. Ромоданова НАН України». Серед дітей (15 осіб): 6 осіб були з діагнозом спинномозкова грижа, 5 – з пухлинами мозку та 4 – з гідроцефалією; серед дорослих (19 осіб): 9 – з пухлинами мозку, 10 – з ГПМК (з них 2 – у реабілітаційному періоді). Як матеріал для дослідження використовували ліквор, сечу, кров, видлення з ран та інший біологічний матеріал вищезазначених пацієнтів. Для групи порівняння було обрано ентерококи, виділені з кишечнику практично здорових людей, у кількості 20 штамів.

Виділення ентерококів проводили згідно існуючих нормативних та методичних документів [3]. Біохімічну ідентифікацію здійснювали за допомогою тест-системи EN-COCCUStest (Lachema, Чехія). Здатність ентерококів до адгезії досліджували методом гемадгезії на формалізованих еритроцитах людини 0 (I) групи крові резус-позитивної. При оцінці адгезивних властивостей мікроба використовували такі критерії: середній показник адгезії (СПА), коефіцієнт адгезії (КА) та індекс адгезивності мікроорганізмів (IAM). Щодо критеріїв оцінки адгезивних властивостей, то мікроорганізм вважають неадгезивним при IAM $\leq 1,75$; низькоадгезивним при IAM від 1,76 до 2,5; середньоадгезивним при IAM від 2,51 до 4,0; та високоадгезивним при IAM більш ніж 4,0 [1].

Обробка отриманих результатів проведена методами непараметричної статистики за допомогою комп’ютерної програми Statistica 6.0. Достовірність розбіжностей між показниками визначали з використанням U-критерію за методом Манна-Уйтні.

Результати дослідження та їх обговорення. При аналізі результатів видової ідентифікації штамів ентерококів, ізольованих від хворих на НХП встановлено, що при домінуванні видів *E. faecium* – 19 (48,7%) та *E. faecalis* – 15 (38,5%) вилучено і інші

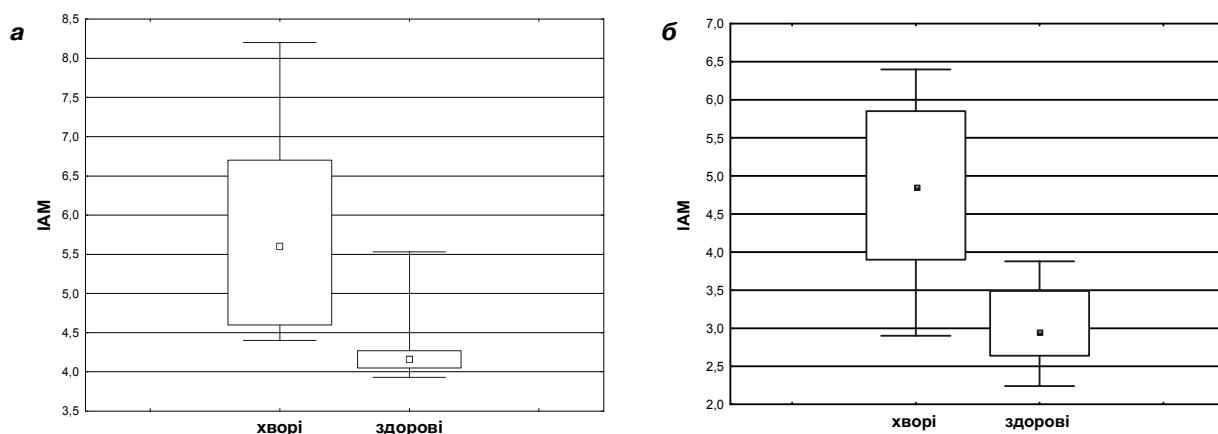


Рис. 1. Показники адгезії (IAM) *E. faecalis* (а) та *E. faecium* (б), вилучених від хворих на НХП та здорових.

види, а саме: *E. raffinosus* – 1 (2,6%), *E. durans* – 1 (2,6%), *E. cecorum* – 1 (2,6%), *E. spp.* – 2 (5,1%). В контрольній групі розподіл штамів за видовим спектром виявився таким: *E. faecium* – 7 (35,0%), *E. faecalis* – 5 (25,0%), *E. casseliflavus* – 1 (5,0%), *E. durans* – 1 (5,0%), *E. spp.* – 6 (30,0%).

Аналізуючи результати досліджень по вивченю адгезивних властивостей ентерококів, вилучених від хворих, встановлено, що усі штами характеризуються високо та середньоадгезивними властивостями (рис. 1). Так, діапазон коливання показника IAM у ентерококів, вилучених від хворих на НХП, знаходився у межах від 2,9 до 8,2, при цьому кількість штамів, що були високоадгезивними, дорівнювала 33 (84,6%). Слід відзначити, що значення показника IAM ентерококів контрольної групи знаходилось у межах від 2,24 до 5,5, при цьому 3 (15,0%) штами були низькоадгезивними, 13 (65,0%) штамів були середньоадгезивними, решта, 4 (20,0%) – високоадгезивними.

Статистична обробка показала, що експресивність ознаки (IAM), що характеризує адгезивні властивості ентерококів, ізольованих від хворих була достовірно вищою ніж у групі порівняння ($p<0,05$).

Слід відзначити, що у ентерококів з ліквору діапазон IAM коливався у межах від 3,3 до 5,8, з кишечнику – від 2,2 до 3,9. Статистичний аналіз показав достовірність відмінностей між цими групами ($p<0,05$) (рис. 2).

Слід відмітити, що середня кількість еритроцитів, які приймають участь в адгезивному процесі ентерококів з групи хворих на НХП і контрольної групи достовірно не відрізнялась ($p>0,05$).

Таким чином, усі взяті для досліду ентерококи, які вилучено з кишечнику здорових та хворих на НХП, характеризувались адгезивністю. Дослідження, що виявили більш високу експресивність адгезивних властивостей у позакишкових ентерококів, які вилучено від хворих на НХП, на наш погляд, можуть свідчити про роль адгезії у транслокації мікроорганізмів з природної еконіші та здатність їх виживати в незвичайних умовах, що підтверджують наші попередні результати [5].

Нами було проведено порівняльний аналіз адгезивних властивостей ентерококів, вилучених у хворих на НХП і практично здорових людей, в залежності від видової приналежності штамів (рис. 1). Слід відзначити, що у ентерококів виду *faecium* діапазон експресії IAM коливався у межах від 2,9 до 6,4, виду *faecalis* – від 4,5 до 8,2. При порівнянні експресивності адгезивної властивості в цих групах не встановлено достовірної різниці між показниками ($p>0,05$).

Аналіз результатів досліджень адгезивних властивостей ентерококів з контрольної групи в залежності від виду показав, що показники адгезії штамів виду *faecalis* достовірно перевищували аналогічні показники ентерококів виду *faecium* ($p<0,05$). Так, значення показника IAM ентерококів виду *faecalis* знаходилось у межах від 3,9 до 5,5, виду *faecium* – від 2,2 до 3,5. Відомо, що для ентерококів виду *faecalis*, характерний переважно ендогенний шлях зараження [6].

На наш погляд, однією з причин цього є більш виражена експресивність адгезивних властивостей

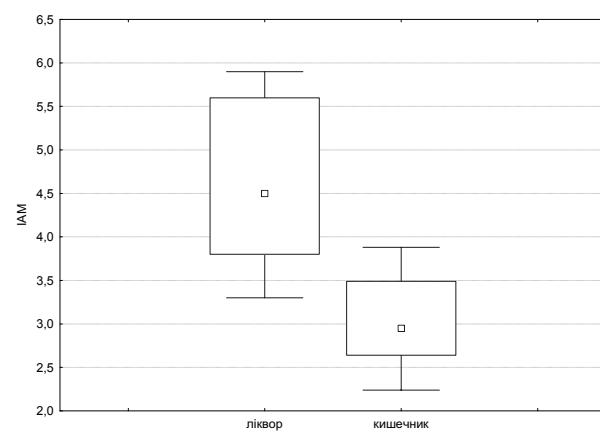


Рис. 2. Показники адгезії (IAM) ентерококів, вилучених з ліквору від хворих на НХП та з кишечнику здорових.

МІКРОБІОЛОГІЯ

E. faecalis, що сприяє транслокації мікроорганізму з кишечнику, але це припущення потребує подальших досліджень.

Висновки.

1. Мікроорганізми роду *Enterococcus* характеризуються високо та середньоадгезивними властивостями, експресивність ознаки була більшою у ентерококів, вилучених у хворих на НХП.

2. Показники адгезії ентерококів, ізольованих від хворих на НХП в залежності від видової принадлежності штамів достовірно не відрізнялися. Експресивність адгезії була більш вираженою у ентерококів виду *faecalis*, ізольованих з кишечнику здорових.

3. Більш виражена адгезивність ентерококів, вилучених з патологічного матеріалу, може свідчити про роль адгезії у транслокації мікроорганізмів з природної еконіші та здатність їх виживати в незвичайних умовах, та її можна розглядати як фактор патогенності мікроорганізмів.

Перспективи подальших досліджень. Важаємо за доцільне продовження досліджень по вивченю патогенного потенціалу ентерококів, вилучених з різних екотопів.

Список літератури

1. Брилис В. И. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов / В. И. Брилис // Лабораторное дело. – 1986. – № 4. – С. 210-212.
2. Бухарин О. В. Механизмы выживания энтерококков в организме хозяина / О. В. Бухарин, С. И. Билимова, К. Л. Чертков // Журнал микробиологии эпидемиологии иммунологии. – 2002. – № 3. – С. 100-106.
3. Методи виділення та ідентифікації ентерококів: [метод. рек.] / уклад.: О. І. Поліщук, Л. Г. Мироненко, Т. Г. Глушкевич, В. В. Яновська, О. П. Покас, О. Г. Перетятко. – К.: Знання України, 2009. – 24 с.
4. Мироненко, Л. Г. Протеолітична активність ентерококів, вилучених з вмісту трофічних виразок хворих на цукровий діабет /Л. Г. Мироненко, О. Г. Перетятко // Лабораторна діагностика. – 2008. – № 1. – С. 67-70.
5. Перетятко Е. Г. Адгезивные свойства энтерококков, выделенных из содержимого трофических язв больных сахарным диабетом /Е. Г. Перетятко // Вісник Харківського національного університету ім. В. Н. Каразіна № 774. –2007. – віп. 14. – С. 120-123.
6. Перетятко О. Г. Гетерогенность за факторами патогенности та антибіотикочутливістю мікроорганізмів роду *Enterococcus*, вилучених з різних екотопів: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. . мед. наук: спец. 03.00.07 «Мікробіологія» / О. Г. Перетятко. – Харків, 2009. – 24 с.
7. Факторы патогенности оппортунистических энтеробактерий и их роль в развитии диареи / А. Р. Мавзютов, В. М. Бондаренко, Н. Ю. Жеребцова [и др.] // Журн. микробиол. – 2007. – № 1. – С. 89-97.
8. Янковский Д. С. Микробная экология человека: современные возможности ее поддержания и восстановления / Д. С. Янковский. – К. : Эксперт ЛТД, 2005. – 362 с.
9. Influence of Culture Heterogeneity in Cell Surface Charge on Adhesion and Biofilm Formation by *Enterococcus faecalis* / Annet E. J. van Merode, Henny C. van der Mei, Henk J. Busscher [et al.] // Journal of bacteriology. – 2006. – Vol. 188, No 7. – P. 2421 – 2426.
10. Functional Collagen Adhesin Gene, acm, in Clinical Isolates of *Enterococcus faecium* Correlates with the Recent Success of This Emerging Nosocomial Pathogen / Sreedhar R. Nallapareddy, Kavindra V. Singh, Pablo C. Okhuysen [et al.] // Infection and Immunity. – 2008. – Vol. 76, No 9. – P. 4110-4119.
11. Nallapareddy Sreedhar R. Contribution of the Collagen Adhesin Acm to Pathogenesis of *Enterococcus faecium* in experimental Endocarditis / Sreedhar R. Nallapareddy, Kavindra V. Singh, Barbara E. Murray // Infection and Immunity. – 2008. – Vol. 76, No 9. – P. 4120-4128.

УДК 576.524:579.862:616.8-089-052

АДГЕЗИВНІ ВЛАСТИВОСТІ ЕНТЕРОКОКІВ, ІЗОЛЬОВАНИХ ВІД ХВОРИХ НА НЕЙРОХІРУРГІЧНУ ПАТОЛОГІЮ

Мироненко Л. Г., Перетятко О. Г., Великий І. С.

Резюме. В статті надано результати вивчення адгезивних властивостей 39 штамів ентерококів, вилучених з патологічного матеріалу хворих на нейрохірургічну патологію та 20 штамів, ізольованих з кишечнику здорових людей. За видовим спектром в 1 і 2 групах переважали *E. faecium* – 19 (48,7%) та 7 (35,0%), *E. faecalis* – 15 (38,5%) та 5 (25,0%) відповідно. Встановлено, що експресивність адгезії більш виражена у штамів, вилучених від хворих, ніж у ентерококів з групи порівняння. В першій групі 33 (84,6%) штами були високоадгезивними, решта – середньоадгезивними.

Ключові слова: *E. faecalis*, *E. faecium*, адгезивні властивості, нейрохірургічна патологія.

УДК 576.524:579.862:616.8-089-052

АДГЕЗИВНІ СВОЙСТВА ЭНТЕРОКОККОВ, ИЗОЛИРОВАННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ С НЕЙРОХИРУРГІЧЕСКОЮ ПАТОЛОГІЄЮ

Мироненко Л. Г., Перетятко Е. Г., Великий І. С.

Резюме. В статье представлены результаты изучения адгезивных свойств 39 штаммов энтерококков, выделенных из патологического материала больных с нейрохирургической патологией и 20 штаммов, изолированных из кишечника здоровых людей. По видовому спектру в 1 и 2 группах преобладали *E. faecium* – 19 (48,7%) и 7 (35,0%), *E. faecalis* – 15 (38,5%) и 5 (25,0%) соответственно. Установлено, что экспрессивность адгезии более выражена у штаммов, выделенных от больных, чем у энтерококков из группы сравнения. В первой группе 33 (84,6%) штамма были высокoadгезивными, остальные – среднеадгезивными.

Ключевые слова: *E. faecalis*, *E. faecium*, адгезивные свойства, нейрохирургическая патология.

UDC 576.524:579.862:616.8-089-052

Adhesion Properties of Enterococcus Isolated from the Sufferers with Neurosurgical Pathology

Myronenko L. G., Peretyatko H. G., Velikyi I. S.

Summary. In the research were shown the results of studying of adhesion properties of 39 enterococcus strains isolated from the pathologic material of the sufferers with neurosurgical pathology and 20 strains isolated from the intestinal canal of the intact man. By species composition in 1 and 2 groups were prevailed *E. faecium* – 19 (48,7%) and 7 (35,0%), *E. faecalis* – 15 (38,5%) and 5 (25,0%) respectively. Was stated that expressivity of adhesion was more expressed in strains isolated from sufferers than in comparison group enterococcus. In the first group 33 (84,6%) strains had high-adhesion level, remainders had medium-adhesion level.

Key words: *E. faecalis*, *E. faecium*, adhesion properties, neurosurgical pathology.

Стаття надійшла 15.11.2012 р.

Рецензент – проф. Лобань Г. А.