

УДК 579.22:57.04:537.811(083.94)

**СТУПІНЬ ЗМІНИ БІОЛОГІЧНИХ
ВЛАСТИВОСТЕЙ E.COLI, K.PNEUMONIAE ТА
P.AERUGINOSAE ПІД ВПЛИВОМ
ЕКЗОТОКСИНУ S.DIPHTHERIAE**

**Бабич Є.М., Калініченко С.В., Рижкова Т.А.
ДУ «ІМІ ім. І.І. Мечникова АМНУ», м. Харків**

Мікробіоценози людини являють собою численні бактеріальні асоціації зі складними міжмікробними взаємовідносинами. Так, *in vitro* визначено антагоністичну активність окремих мікроорганізмів – стафілококів, ентеробактерій, псевдомонад по відношенню до інших представників патогенної та умовно-патогенної мікрофлори [1]. На підставі вивчення антагоністичних властивостей до певних бактерій, показана можливість застосування пробіотичних штамів у комплексній терапії багатьох захворювань.

Так, в літературі приводяться дані про вплив метаболітів та клітинних екстрактів вагінальних лактобацил на ріст, каталазну, антилізоцимну і антикомплементарну активності епідермальних стафілококів та кишкової палички. Визначена різнопланова зміна характеристик персистенції: у стафілококів відмічено достовірне зниження антилізоцимної активності, тоді як у кишкової палички відбувалось пригнічення антикомплементарної активності. Виявлений модифікуючий вплив лактофлори автори розглядають як один із механізмів утворення мікробіоценозів та формування колонізаційної резистентності [2].

Бактеріальні токсини та інші мікробні метаболіти є однією зі складових біоценозу людини, бо вони постійно утворюються мікрофлорою слизових оболонок. Токсини мікробів беруть участь у диференціюванні різноманітних клітин, у тому числі клітин імунної системи, здатні впливати на рівень та активність багатьох ферментів, спричиняючи зміну імунологічних і метаболічних процесів, а при багатьох інфекційних хворобах вони викликають основні симптоми захворювання (дифтерія, кашлюк, холера, сибірська виразка, правець та ін.) [1-5].

Дифтерійний гістотоксин (екзотоксин) синтезується у вигляді єдиного поліпептидного ланцюга (протоксин), де А- і В-фрагменти з'єднані дисульфідними містками. Протоксин активується під впливом протеолітичних ферментів і тілових з'єднань, що призводить до утворення біфункціональної А-В-структури токсину. Обмежений протеоліз відбувається як під впливом протеаз самого мікроба, так і супутньої мікрофлори, або під впливом протеаз макроорганізму. Відновлення дисульфідних груп у сульфідгідрильні веде до завершення фрагментації ланцюга, але розбіжність фрагментів (А і В), що утворились, відбувається тільки після контакту з рецепторами чутливої клітини. Таким чином, рецептори зв'язують дифтерійний гістотоксин виключно в інтактному стані його молекули. Фрагмент В взаємодіє зі специфічними гангліозидними рецепторами клітини та бере участь в утворенні транспортного каналу для

фрагменту А. Активований фрагмент А відповідає за токсичність. Потрапивши до цитозолу еукаріотичної клітини він стає недосяжним для дії антитоксичних антитіл, які не взможли проникати крізь мембрану клітини. Усереднені уражених клітин фрагмент А має ферментативну активність. Він відноситься до АДФ-рібозил-трансфераз, які переносять АДФ-рібозу, що відщеплюється від НАД⁺ з одночасним звільненням нікотинаміду на акцепторні білки-мішені. Дифтерійний екзотоксин викликає АДФ-рібозилування чинника елонгації EF-2 (трансферази 2), необхідного для побудови пептидних ланцюгів на рибосомах еукаріотичної клітини. Блокада функціональної активності цього ферменту веде до порушення синтезу білка на стадії елонгації та загибелі клітин у результаті некрозу. Проте прокаріотичні клітини використовують інший фактор елонгації - (EF-6) [6].

Метою нашої роботи було вивчення впливу дифтерійного екзотоксину на кінетику росту і окремі біологічні властивості грамнегативних бактерій.

Матеріали та методи

Вплив екзотоксину на грамнегативні бактерії (еталонні культури *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, отримані з філії музею мікроорганізмів ДУ «ІМІ ім. І.І. Мечникова АМНУ» та циркулюючий штам *Klebsiella pneumoniae*, отриманий з бактеріологічної лабораторії міської СЕС, м. Харків) визначали шляхом вивчення найбільш значущих біологічних властивостей тест-культур, які досліджувались. Окрім кінетики росту мікробів, вивчали показники адгезивної активності, здатність інактивувати комплемент та чутливість до протимікробних засобів.

Кінетику росту вивчали за стандартною методикою [7]. Для визначення впливу дифтерійного екзотоксину на кінетику росту біооб'єктів до поживного бульйону з визначеною концентрацією мікробних клітин додавали відповідну кількість: у контрольні зразки: (К_{досліда}) - бульйону Лінгуда (оскільки цей бульйон використовують для накопичення екзотоксину), а у дослідні (Д) – промислового дифтерійного екзотоксину (серія 68). Після чого інкубували при температурі 37 °С. Концентрацію мікробних клітин визначали через 2, 4, 6, 8 та 18 годин культивування.

Адгезивні властивості об'єктів визначали за методикою вивчення адгезивного процесу у мікроорганізмів [8]. Антикомплементарну активність штамів коринебактерій вивчали за допомогою фотометричного методу [9].

Чутливість мікроорганізмів до протимікробних препаратів встановлювали диско-дифузійним методом Kirby-Bauer з використанням готових комерційних паперових дисків, імпрегнованих антибіотиками (НДЦФ, м. Санкт-Петербург, Росія) на середовищі АГВ. Маточні суспензії бактерій, що відповідали 0,5 одиниць каламутності за шкалою McFarland, розводили в 10 разів стерильним ізотонічним розчином натрію хлориду (рН=7,2). Інкубацію проводили при

температурі 37 °C впродовж 24-х годин. Для контролю якості середовищ використовували еталонні штами: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *E.coli* ATCC 25922, *P.aeruginosa* ATCC 27853. Результати вивчення антибіотикорезистентності інтерпретували у відповідності з методичними вказівками “Антибіотикограма: диско-дифузійний метод. Інтерпретація результатів” (Москва, 1999), а також відповідно до рекомендацій, що розроблені комітетом клінічних та лабораторних стандартів США (NSSL) від 1991 р. і наказу МОЗ СРСР №250. Зменшення або зростання діаметру зони затримки росту штамів в порівнянні з контролем у межах 5-15% розцінювали як недостовірне ($p>0,05$) [10].

Результати обробляли статистично за допомогою персонального комп'ютера із застосуванням комп'ютерних програм Biostat-4, Statistika-6, пакету прикладних програм для обробки медико-біологічної інформації “BMDP”. Достовірність розбіжностей визначали за допомогою критерія (t) – Стьюдента, з обчисленням середньої величини (M), середньоквадратичного відхилення (S), середньої похибки величини (m), значення достовірності (p). Для аналізу одержаного матеріалу проводилось його групування за атрибутивними та варіаційними ознаками. У результаті зведення матеріалу при підрахунках одиниць спостережень були отримані абсолютні числа, які виражали описові і кількісні ознаки. Подальша обробка експериментальних даних здійснювалась у відповідності з правилами

рядової й альтернативної варіаційної статистики як викладено у посібниках [11, 12].

Результати та обговорення

Нами була проведена низка дослідів щодо вивчення впливу дифтерійного екзотоксину на біологічні властивості грамнегативних бактерій (кінетику росту, адгезію, антикомплементарну активність та антибіотикочутливість).

Статистично достовірний стимулюючий ефект був отриманий при вивченні ростових властивостей досліджуваних грамнегативних бактерій після додавання екзотоксину у дозі 0,1 мл на 1,0 мл поживного середовища, а пригнічуючий - у дозі 0,3 мл (табл. 1, 2).

Як видно з таблиці 1, кінетика росту різних грам-негативних бактерій була неоднаковою. Так, штам *E.coli* ATCC 25922 подвоював кількість мікробних клітин вже через дві години термостатування, через чотири – збільшував мікробну кількість в 19 разів, а через 18 годин біомаса клітин збільшувалась в 800 разів. Найбільш повільну кінетику росту мав дослідний штам *P.aeruginosa* ATCC 27853 – він подвоював кількість бактерій через 4 години, через 8 годин збільшував клітинну масу в 6 разів, а через 18 годин – в 36,6 разів. Щодо штаму *K.pneumoniae*, то він потроював кількість мікробних клітин через 4 години росту, через 8 годин – кількість клітин збільшувалась в 7 разів, а на прикінці інкубування – в 300 разів.

Таблиця 1 – Вплив дифтерійного екзотоксину у концентрації 0,1 мл на 1,0 мл поживного середовища на кінетику росту грамнегативних бактерій.

Назва штаму		Концентрація мікробних клітин в 1 мл (M±m)					
		початкова	ч/з 2 год.	ч/з 4 год.	ч/з 6 год.	ч/з 8 год.	ч/з 18 год.
К _д	<i>E.coli</i> ATCC 25922	(0,3±0,1 ×10 ⁸)	(0,6±0,1 ×10 ⁸)	(6,1±0,2 ×10 ⁸)	(7,2±0,2 ×10 ⁸)	(8,7±0,2 ×10 ⁸)	(2,8±0,5 ×10 ⁹)
Д	<i>E.coli</i> ATCC 25922	(0,3±0,1 ×10 ⁸)	(0,6±0,1 ×10 ⁸)	(8,1±0,2 ×10 ⁸)	(9,3±0,3 ×10 ⁸)	(10,2±0,3 ×10 ⁸)	(4,3±0,5 ×10 ⁹)
К _д	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	(0,3±0,1 ×10 ⁸)	(0,3±0,1 ×10 ⁸)	(0,8±0,1 ×10 ⁸)	(0,95±0,1 ×10 ⁸)	(1,9±0,1 ×10 ⁸)	(1,6±0,4 ×10 ⁹)
Д	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	(0,3±0,1 ×10 ⁸)	(0,3±0,1 ×10 ⁸)	(0,82±0,1 ×10 ⁸)	(1,3±0,1 ×10 ⁸)	(2,9±0,1 ×10 ⁸)	(3,1±0,5 ×10 ⁹)
К _д	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	(0,3±0,1 ×10 ⁸)	(0,51±0,1 ×10 ⁸)	(0,96±0,1 ×10 ⁸)	(2,4±0,1 ×10 ⁸)	(3,7±0,2 ×10 ⁸)	(2,3±0,5 ×10 ⁹)
Д	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	(0,3±0,1 ×10 ⁸)	(0,56±0,1 ×10 ⁸)	(1,2±0,1 ×10 ⁸)	(3,5±0,2 ×10 ⁸)	(5,2±0,3 ×10 ⁸)	(3,9±0,5 ×10 ⁹)

Вивчення впливу дифтерійного екзотоксину на кінетику росту *E.coli* ATCC 25922 показало, що додання до досліді дифтерійного екзотоксину стимулювало ріст кишкової палички в 1,3-1,5 разів у порівнянні з контролем ($p<0,01$).

Дослідження впливу екзотоксину на кінетику росту *P.aeruginosa* ATCC 27853 встановило, що в досліді відбувалось підвищення кінетики росту ($p<0,05$). Через 18 годин кількість синьогнійних бактерій в дослідних пробах була в 1,9-2,8 разів більшою у порівнянні з контролем. Стимулювання

кінетики росту після інкубації з дифтерійним екзотоксином було відмічено і для штаму *K.pneumoniae*. Визначено, що через 18 годин росту клебсієльозна культура в досліді підвищувала накопичення своєї біомаси в 1,69-2,05 разів у порівнянні з контролем ($p<0,05$).

Експериментальні дослідження щодо впливу дифтерійного екзотоксину у концентрації 0,3 мл на 1,0 мл поживного середовища показали, що застосування більшої дози екзотоксину призводило до пригнічення кінетики росту грамнегативних бактерій (табл. 2).

Таблиця 2 – Вплив дифтерійного екзотоксину у концентрації 0,3 мл на 1,0 мл поживного середовища на кінетику росту грамнегативних бактерій

Назва штаму		Концентрація мікробних клітин в 1 мл (M±m)					
		початкова	ч/з 2 год.	ч/з 4 год.	ч/з 6 год.	ч/з 8 год.	ч/з 18 год.
К _д	E.coli ATCC 25922	(0,3±0,1 ×10 ⁸)	(0,64±0,1 ×10 ⁸)	(6,9±0,2 ×10 ⁸)	(7,4±0,2 ×10 ⁸)	(8,8±0,2 ×10 ⁸)	(3,1±0,5 ×10 ⁹)
Д	E.coli ATCC 25922	(0,3±0,1 ×10 ⁸)	(0,4±0,1 ×10 ⁸)	(3,2±0,2 ×10 ⁸)	(4,7±0,2 ×10 ⁸)	(6,4±0,2 ×10 ⁸)	(1,1±0,5 ×10 ⁹)
К _д	P.aeruginosa ATCC 27853	(0,3±0,1 ×10 ⁸)	(0,3±0,1 ×10 ⁸)	(0,86±0,1 ×10 ⁸)	(1,3±0,2 ×10 ⁸)	(2,0±0,1 ×10 ⁸)	(1,7±0,4 ×10 ⁹)
Д	P.aeruginosa ATCC 27853	(0,3±0,1 ×10 ⁸)	(0,3±0,1 ×10 ⁸)	(0,64±0,1 ×10 ⁸)	(0,7±0,1 ×10 ⁸)	(1,3±0,1 ×10 ⁸)	(0,5±0,1 ×10 ⁹)
К _д	Klebsiella pneumoniae	(0,3±0,1 ×10 ⁸)	(0,43±0,1 ×10 ⁸)	(1,1±0,1 ×10 ⁸)	(2,5±0,2 ×10 ⁸)	(3,8±0,3 ×10 ⁸)	(2,4±0,5 ×10 ⁹)
Д	Klebsiella pneumoniae	(0,3±0,1 ×10 ⁸)	(0,32±0,1 ×10 ⁸)	(0,72±0,1 ×10 ⁸)	(1,2±0,2 ×10 ⁸)	(2,5±0,2 ×10 ⁸)	(0,9±0,2 ×10 ⁹)

Так, кінетика росту кишкової палички пригнічувалась в 2,45 – 2,8 разів, синьогнійних бактерій в 2 – 3,4 рази, а клебсієльозних мікробів – в 2,0 – 3,0 рази (p<0,01).

Для проникнення крізь захисні бар'єри макроорганізму та подальшої персистенції в ньому бактерії повинні мати високу здатність заселяти слизові оболонки біологічних ніш людини. Здатність бактерій до адгезії є одним з факторів, що забезпечують персистенцію мікроорганізмів. Адгезивний процес характеризується специфічністю, яка обумовлена наявністю комплементарних структур у мікробів (адгезини) та чутливостю до них рецепторів еукаріотичних клітин макроорганізму. Основою адгезії є фізико-хімічні процеси, які визначаються силами молекулярного притягання, гідрофобними силами та електростатичними силами [1, 3, 5].

Адгезивність бактерій до еукаріотичних клітин є і початковою ланкою патогенезу при розвитку захворювань, що викликають умовно-патогенні та патогенні штами, і одним із механізмів захисної дії представників нормальної мікрофлори, оскільки представники нормофлори безпосередньо приймають участь у формуванні пристіночних “шарів” слизових оболонок. Мікроби, які входять до складу таких “шарів”, забезпечують колонізаційну резистентність макроорганізму та поставляють йому необхідні для життєдіяльності компоненти [4, 5, 12].

Тому метою подальших досліджень стало вивчення показників адгезивного процесу у мікробів, що підпали під вплив дифтерійного екзотоксину.

Дослідження адгезивних властивостей штамів грамнегативних бактерій показало, що вихідні показники досліджених тест-культур, в середньому, були наступними: у E.coli ATCC 25922 середній показник адгезії (СПА) склав (7,58±0,6), коефіцієнт адгезії (КА) – (98,3±0,6)%, індекс адгезивності мікроорганізму (ІАМ) – (7,7±0,6); у P.aeruginosa ATCC 27853 СПА – (9,76±0,8), КА – (98,6±1,1)%, ІАМ – (9,98±0,9); а у циркулюючого штаму K.pneumoniae – СПА склав (5,62±0,4), КА – (96,3±0,6)%, ІАМ –

(5,86±0,4). Причому, циркулюючий штам K.pneumoniae проявляв меншу ступінь адгезивності у порівнянні з еталонними культурами E.coli ATCC 25922 та P.aeruginosa ATCC 27853.

Після обробки тест-культур дифтерійним токсином достовірної зміни показників адгезивного процесу не було відмічено: у E.coli ATCC 25922 СПА склав (7,46±0,6), КА – (98,7±1,15)%, ІАМ – (7,46±0,6); у P.aeruginosa ATCC 27853 СПА – (9,78±0,8), КА – (98,2±0,91)%, ІАМ – (9,99±0,9); а у циркулюючого штаму K.pneumoniae – СПА склав (5,69±0,38), КА – (95,8±0,8)%, ІАМ – (5,81±0,4).

Важливу роль у патогенезі інфекційних хвороб також відіграє здатність патогенних бактерій протидіяти захисним факторам макроорганізму. Одним з таких факторів природного захисту є комплемент, який приймає участь у багатьох імунологічних реакціях та спричиняє лізис бактерій, приєднуючись до комплексу антигену з антитілом. Цей фактор неспецифічної резистентності грає суттєву роль у захисті макроорганізму від чужорідних агентів. Тому патогени, що уникають впливу комплементу, тобто мають антикомплемтарну активність, здатні утворювати більш стійкі біоценози ніж ті, що не володіють цією здатністю. [12].

У дослідях щодо здатності грамнегативних бактерій інактивувати комплемент встановлено, що вихідна антикомплемтарна активність еталонних штамів була низькою, тоді як циркулюючий штам K.pneumoniae мав високу здатність інактивувати комплемент (табл. 3).

При вивченні впливу екзотоксину на здатність інактивувати комплемент відмічено достовірне зниження антикомплемтарної активності у всіх штамів, взятих до експерименту (p<0,05). Так, вищевказана активність еталонних штамів P.aeruginosa ATCC 27853 та E.coli ATCC 25922 знижувалась відповідно в 1,43 і 1,52 рази, тоді як здатність до інактивації комплементу циркулюючого штаму K.pneumoniae знижувалась в 1,26 разів.

Таблиця 3 – Вплив дифтерійного екзотоксину на антикомплементарну активність грамнегативних бактерій (в перерахунку на одиниці анти-С'Н₅₀).

№ п/п	Середні показники антикомплементарної активності у тест-культур:		
	E.coli ATCC 25922 (M±m)	P.aeruginosa ATCC 27853 (M±m)	Klebsiella pneumoniae (M±m)
1. Контроль	(8,175±0,02)	(10,82±0,08)	(63,24±1,0)
2. Дослід	(5,35±0,03)	(7,56±0,09)	(49,96±1,2)

Наявність серед циркулюючих збудників інфекційних захворювань штамів, стійких до антибактеріальних препаратів, є наслідком важливих еволюційних процесів, які відбуваються серед прокариот і на цей час. Стійкість бактерій до протимікробних засобів детермінується генами резистентності (r-генами). Набута стійкість до антибіотиків може виникнути внаслідок мутацій у хромосомі бактеріальної клітини з подальшою селекцією, при переносі трансмісивних плазмід резистентності (R-плазмід), або при переносі мігруючих генетичних елементів (транспозонів). Однак природа більшості детермінант резистентності і досі залишається невідомою [2].

У наших дослідках було вивчено вплив різних доз дифтерійного токсину на чутливість грамнегативних бактерій до протимікробних засобів та встановлено, що зміна чутливості до протимікробних засобів не залежала від дози екзотоксину.

Циркулюючий штам *K.pneumoniae* був найбільш чутливим до ципрофлоксацину, офлоксацину, цефтріаксону, цефоперазону та цефотаксиму. Достовірне зменшення зон затримки росту *K.pneumoniae* після впливу екзотоксину було відмічено для ципрофлоксацину (розбіжність зон затримки росту при концентрації дифтерійного токсину 0,1 мл та 0,3 мл у порівнянні з контролем склала відповідно 16,91% та 16,78%), цефоперазону (16,45% та 15,85%), цефотаксиму (17,65% та 17,69%) і офлоксацину (20,02% та 20,01%). Досліджений клебсієльозний штам після впливу екзотоксину не змінював своєї чутливості до цефтріаксону, цефтазидиму, гентаміцину, левоміцетину та амікацину.

Вивчення антибіотикочутливості еталонного штаму *E.coli* ATCC 25922 показало, що достовірне зменшення зон затримки росту мікробів після впливу на них екзотоксину відбувалося для ципрофлоксацину (розбіжність зон затримки росту у порівнянні з контролем склала відповідно 16,79% та 15,85%), гентаміцину (21,19% та 21,15%), цефоперазону (20,44% та 20,74%), цефотаксиму (17,34% та 16,93%) і офлоксацину (19,04% та 19,02%). Зазначений штам не змінював свою чутливість після впливу дифтерійного токсину до цефтріаксону, цефтазидиму, левоміцетину та амікацину.

За експериментальними даними, еталонний штам *P.aeruginosa* ATCC 27853 теж зменшував чутливість до протимікробних засобів, проте тільки до трьох: ципрофлоксацину (зони затримки росту при

додаванні 0,1 мл та 0,3 мл дифтерійного токсину були відповідно меншими на 19,73% та 19,8%), гентаміцину (17,73% та 17,5%) і цефоперазону (15,75% та 15,28%), тоді як до цефтріаксону, цефтазидиму, левоміцетину, цефотаксиму, офлоксацину та амікацину чутливість цього мікроорганізму залишалась незмінною.

Висновки

1. При вивченні впливу дифтерійного токсину на адгезію та здатність грам-негативних бактерій інактивувати комплемент, встановлено, що адгезивна активність не зазнавала достовірних змін, тоді як антикомплементарна активність знижувалась в 1,26-1,52 разів ($p < 0,05$).
2. Показано, що достовірне стимулювання кінетики росту грам-негативних бактерій в 1,7-2,8 разів ($p < 0,05$) відбувалось після додавання екзотоксину у дозі 0,1 мл на 1,0 мл поживного середовища.
3. Експериментально визначено, що застосування більшої дози екзотоксину (у концентрації 0,3 мл на 1,0 мл поживного середовища) призводило до пригнічення кінетики росту досліджених тест-культур в 2,0-3,4 рази ($p < 0,05$).
4. Дослідження антибіотикочутливості взятих у дослід штамів грам-негативних бактерій показало, що після інкубування з дифтерійним екзотоксином чутливість до деяких протимікробних препаратів зменшувалась, в середньому, в 1,2-1,4 рази у порівнянні з контролем.

Література

1. Склад Н.І. Особливості міжмікробних взаємовідносин в біоценозах гастроуденального тракту // Вісник ХНУ: Медицина. – 2005. - №658. – С. 33-38.
2. Черкасов С.В., Забірова Т.М., Сгибнев А.В., Иванов Ю.Б., Бухарин О.В. Изменение биологических свойств *Staphylococcus epidermidis* и *Escherichia coli* под влиянием метаболитов вагинальных лактобацилл в эксперименте // Журн. микробиол. - 2001. - №4. – С. 114-116.
3. Фильчаков И.В., Зарицкий А.М. Персистенция бактерий: механизмы и иммунная реактивность организма // Сучасні інфекції. – 2003. - №3. – С.71-82.
4. Бухарин О.В., Усвятцов Б.Я., Хуснутдинова Л.М. Межбактериальные взаимодействия // Журн. микробиол. - 2003. - №4. – С. 3-8.
5. Бухарин О.В. Персистенция патогенных бактерий. М.: Медицина, 1999. – 112 с.

6. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология / Под. ред. А.А. Воробьева. – М.: МИА, 2004. – 691 с.
7. S. John Pirt. Principles of Microbe and Cell Cultivation // Blackwell Scientific Publications Oxford London Edinburgh Melburn, 1975. – 331 p.
8. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов. Брилис В.И., Брилене Т.А., Ленцнер Х.П., Ленцнер А.А. // Лабораторное дело. – 1986. - №4. – С. 112-114.
9. Брудастов Ю.А. Анतिकомплементарная активность бактерий. Автореф. дис...канд.мед.наук. – Челябинск, 1992. – 22 с.
10. Сидоренко С.В., Колупаев В.Е. Антибиотикограмма: диско-диффузионный метод. Интерпретация результатов. SANOFI/PAUSTEUR, М.: АРИНА, 1999. – 33 с.
11. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. – Л.: Ленмедгиз, 1962. – 180 с.
12. Гельман В.Я. Медицинская информатика: практикум. – Санкт-Петербург.: Питер, 2002. – 480 с.

УДК: 579.22:57.04:537.811(083.94)

**-СТУПІНЬ ЗМІНИ БІОЛОГІЧНИХ
ВЛАСТИВОСТЕЙ E.COLI, K.PNEUMONIAE ТА
P.AERUGINOSAE ПІД ВПЛИВОМ
ЕКЗОТОКСИНУ C.DIPHTHERIAE**

Бабич Є.М., Калініченко С.В., Рижкова Т.А.

Вивчено вплив різних доз дифтерійного екзотоксину на кінетику росту, чутливість до протимікробних препаратів, адгезивну та антикомплементарну активність грам-негативних бактерій. Встановлено, що адгезивна активність не зазнавала достовірних змін, тоді як антикомплементарна – знижувалась в 1,26-1,52 разів ($p < 0,05$). Достовірна стимуляція кінетики росту грам-негативних бактерій у 1,7-2,8 разів ($p < 0,05$) відбувалась після додання екзотоксину у дозі 0,1 мл на 1,0 мл поживного середовища, вплив більшої дози екзотоксину (0,3 мл на 1,0 мл поживного середовища) призводив до пригнічення кінетики росту досліджених тест-культур у 2,0-3,4 рази ($p < 0,05$). Чутливість до протимікробних засобів зменшувалась, в середньому, в 1,2-1,4 рази до деяких протимікробних препаратів та не залежала від дози екзотоксину.

Ключові слова: дифтерійний екзотоксин, кінетика росту, антибіотикочутливість, адгезивна активність, антикомплементарна активність, грам-негативні бактерії.

УДК: 579.22:57.04:537.811(083.94)

**СТЕПЕНЬ ИЗМЕНЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ
СВОЙСТВ E.COLI, K.PNEUMONIAE ТА
P.AERUGINOSAE ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ
ЭКЗОТОКСИНА C.DIPHTHERIAE**

Бабич Е.М., Калениченко С.В., Рыжкова Т.А.

Изучено действие разных доз дифтерийного экзотоксина на кинетику роста, чувствительность к противомикробным препаратам, адгезивную и антикомплементарную активность грам-отрицательных бактерий. Установлено, что адгезивная активность достоверно не изменялась, тогда как

антикомплементарная – снижалась в 1,26-1,52 раз ($p < 0,05$). Достоверная стимуляция (в 1,7-2,8 раз) кинетики роста грам-отрицательных бактерий отмечена после добавления экзотоксина в питательную среду в дозе 0,1 мл на 1,0 мл среды, добавление экзотоксина в дозе 0,3 мл на 1,0 мл питательной среды приводило к достоверному угнетению кинетики роста (в 2,0-3,4 раза) у исследуемых культур. Чувствительность культур к некоторым противомикробным препаратам уменьшалась, в среднем в 1,2-1,4 раза, и не зависела от дозы экзотоксина.

Ключевые слова: дифтерийный экзотоксин, кинетика роста, антибиотикочувствительность, адгезивная активность, антикомплементарная активность грам-отрицательные бактерии.

UDC: 579.22:57.04:537.811(083.94)

**THE CHANGES OF THE BIOLOGICAL
PROPERTIES OF E.COLI, K.PNEUMONIAE AND
P.AERUGINOSAE FALLING UNDER INFLUENCE
OF C.DIPHTHERIAE EXOTOXIN**

Babych E.M., Kalinichenko S.V., Ryzhkova T.A.

Influence of different doses of diphtheria exotoxin on growth kinetic, antibiotic resistance, adhesive and anticomplementary activity of gram-negative bacteria was studied. It was determined that adhesive activity didn't change but anticomplementary activity was 1,26-1,52 times less. Growth kinetic of gram-negative bacteria increased for certain in 1,7-2,8 times ($p < 0,05$) after 0,1 ml of diphtheria toxin had been added in 1,0 ml of the nutrient medium; influence of lager dose of exotoxin (0,3 ml of exotoxin in 1,0 of the nutrient medium) resulted to growth kinetic depression in 2,0-3,4 times ($p < 0,05$). Antibiotic sensibility decreased on average in 1,2-1,4 times independently of the exotoxin dose.

Key words: diphtheria exotoxin, growth kinetic, antibiotic resistancenegative bacteria.