

© Кузьменко А.М.

УДК: 579.842.11:57.085.2:616-002.3-092

Кузьменко А.М.

Харківський національний медичний університет (пр. Леніна, 4, м. Харків, Україна, 61022)

ВИЗНАЧЕННЯ ФЕРМЕНТІВ ПАТОГЕННОСТІ ШТАМІВ *E. COLI*, ВИЛУЧЕНИХ ПРИ ГНІЙНО-ЗАПАЛЬНОМУ ПРОЦЕСІ

Резюме. Вивчено здатність до продукції факторів патогенності *E. coli*. Виявлено, що з 38 дослідних штамів *E. coli*, високою лецитіназою активністю володіло 73,7 % штамів, з них: 36,8 % ізолятів при гнійно-запальних процесах, 15,9 % штамів, виділених з венфлонів, 21,1 % штамів, виділених з катетерів й дренажних конструкцій. Високий ступень ДНК-азної активності проявляли 57,9 % штамів *E. coli*. Визначено, що високу гемолітичну активність мали 81,6 % виділених штамів *E. coli*. Результати показали наявність прямого кореляційного зв'язку лецитиназної, ДНК-азної та гемолітичної активності дослідних штамів *E. coli*. Проведене дослідження щодо вивчення активності ферментів патогенності показало, що усі дослідні штами *E. coli* продукували ферменти агресії: ДНК-азу, лецитиназу й гемолізину.

Ключові слова: фактори патогенності, ізоляти *E. coli*, гнійно-запальні процеси, катетери, венфлони, дренажні конструкції.

Вступ

Популяції мікроорганізмів, коли вступають у складні взаємовідносини - конкурентні або кооперативні, при заселенні різних частин органів, тканин макроорганізму формують специфічний його "мікросімбіоценоз" [Бухарин и др., 2006]. Зміни важливих характеристик вірулентності учасників мікросімбіоценоза, поряд з їх кількісною оцінкою, можуть істотно впливати на перебіг захворювання [Арутюнян и др., 2001; Черкасов и др., 2001].

В основі механізмів розвитку гнійно-запальних процесів (ГЗП), на думку багатьох дослідників, лежить пригнічення імунної системи, пошкодження природних захисних бар'єрів організму, наявність обструктивних змін, інтоксикації та великих оперативних втручань [Грузина, 2003; Сидоренко, 2001; Яковлев, 2004]. Чутливість до розвитку ГЗП пов'язана не тільки зі зміною імунного статусу організму, а й зі зміною біологічних властивостей бактеріальних патогенів. Тому для ефективного лікування хворих з ГЗП бактеріальної природи крім пошуку нових ефективних антибактеріальних препаратів виникає необхідність вивчити біологічні властивості виділених бактерій, які дозволяють у кожному конкретному випадку визначити етіологічну значимість збудника [Булгаков, 2000; Абрамзон и др., 2004].

У зв'язку з цим, вивчення та аналіз особливостей біології та екології бактерій - збудників ГЗП, залишається актуальною проблемою сучасної мікробіології.

Мета - вивчення активності ферментів патогенності клінічних штамів *E. coli*.

Представлену роботу виконано в рамках теми наукових досліджень кафедри мікробіології, вірусології та імунології Харківського національного медичного університету: "Експериментальне мікробіологічне обґрунтування протимікробної терапії гнійно-запальних захворювань", № державної реєстрації 0114U003390.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження були штами *E. coli* (n=38), ви-

лучені при гнійно-запальних процесах (n=17); з венфлонів (n=8), катетерів й дренажних конструкцій (n=12) після хірургічних втручань та референтний штам *E. coli* (ATCC 25922 F50=NCDC F50), одержаний з Інституту епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України (n=1). Виділення чистої культури *E. coli* та визначення факторів патогенності проводилося згідно загальноприйнятих методик [Наказ СРСР № 535 від 22.04.1985 р.]. Для статистичної обробки результатів використано програму "Statistica" для персонального комп'ютера [Осипов и др., 2002].

Результати. Обговорення

У результаті проведеного дослідження при визначенні лецитіназної активності штамів *E. coli* було виявлено, що з 38 дослідних штамів *E. coli* високою лецитіназою активністю володіло 28 штамів (73,7 %), з них: 14 штамів (36,8 %) - що ізольовані з матеріалу від хворих на ГЗП, 6 штамів (15,9 %) - виділені з венфлонів, 8 штамів (21,1 %) - з катетерів й дренажних конструкцій. Середнім ступенем лецитіназної активності володіли 7 штамів *E. coli* (18,4%), з них: 3 (7,9 %) - які були виділені від хворих на ГЗП, 1 (2,6 %) - з венфлонів, 3 (7,9 %) - з катетерів й дренажних конструкцій (табл.1).

При визначенні ДНК-азної активності культур *E. coli* (табл. 2) встановлено, що високий ступень ДНК-азної активності проявляли 22 штами *E. coli* (57,9 %) з 38 дослідних штамів, з них: 12 штамів (31,5 %) - з матеріалу від хворих на ГЗП, 6 штамів (15,8 %) - з катетерів й дренажних конструкцій та 4 штами (10,6%) - з венфлонів. Середньо та слабоактивними за цією ознакою були 5 штамів *E. coli* (12,2 %) з матеріалу від хворих на ГЗП, 6 штамів (15,8 %) - з катетерів й дренажних конструкцій та 4 штами (10,6 %) - з венфлонів.

На підставі проведених досліджень виявлено (табл. 3), що високу гемолітичну активність мав 31 штам (81,6%) з 38 дослідних штамів *E. coli*, з них: 15 (39,5 %) - ізольованих від хворих на ГЗП. Слабоактивними

Таблиця 1. Лецитиназна активність штамів *E. coli*, виділених при гнійно-запальних процесах.

Штами <i>E. coli</i>	Лецитиназна активність						Разом	
	висока		середня		слабко		n=38	
	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
Гнійне відокремлювальне (n=17)	14	36,8 (n=38) 82,4 (n=17)	3	7,9 (n=38) 17,6 (n=17)	0	0	17	44,7 (n=38) 100,0 (n=17)
ВФ (n=8)	6	15,9 (n=38) 75,0 (n=8)	1	2,6 (n=38) 12,5 (n=8)	1	2,6 (n=38) 12,5 (n=8)	8	21,1 (n=38) 100,0 (n=8)
Катетери, ДК (n=12)	8	21,1 (n=38) 66,7 (n=12)	3	7,9 (n=38) 25,0 (n=12)	1	2,6 (n=38) 8,3 (n=12)	12	31,6 (n=38) 100,0 (n=12)
РФ (n=1)	-	-	-	-	1	2,6 (n=38)	1	2,6 (n=38)
Разом (n=38)	28	73,7	7	18,4	3	7,9	38	100

Таблиця 2. ДНК-азна активність штамів *E. coli*, виділених при гнійно-запальних процесах.

Штами <i>E. coli</i>	ДНК-азна						Разом	
	висока		середня		слабко		n=38	
	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
Гнійне відокремлювальне (n=17)	12	31,5 (n=38) 70,6 (n=17)	3	7,9 (n=38) 17,6 (n=17)	2	5,3 (n=38) 11,8 (n=17)	17	44,7 (n=38) 100,0 (n=17)
ВФ (n=8)	4	10,6 (n=38) 50,0 (n=8)	3	7,9 (n=38) 37,5 (n=8)	1	2,6 (n=38) 12,5 (n=8)	8	21,1 (n=38) 100,0 (n=8)
Катетери, ДК (n=12)	6	15,8 (n=38) 50,0 (n=12)	4	10,5 (n=38) 33,3 (n=12)	2	5,3 (n=38) 16,7 (n=12)	12	31,6 (n=38) 100,0 (n=12)
РФ (n=1)	-	-	-	-	1	2,6 (n=38)	1	2,6 (n=38)
Разом (n=38)	22	57,9	10	26,3	6	15,8	38	100

Таблиця 3. Гемолітична активність штамів *E. coli*, виділених при гнійно-запальних процесах.

Штами <i>E. coli</i>	Гемолітична активність						Разом	
	висока		середня		слабко		n=38	
	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
Гнійне відокремлювальне (n=17)	15	39,5 (n=38) 88,2 (n=17)	2	5,2 (n=38) 11,8 (n=17)	0	0	17	44,7 (n=38) 100,0 (n=17)
ВФ (n=8)	7	18,4 (n=38) 87,5 (n=8)	1	2,6 (n=38) 12,5 (n=8)	0	0	8	21,1 (n=38) 100,0 (n=8)
Катетери, ДК (n=12)	9	23,7 (n=38) 75,0 (n=12)	2	5,3 (n=38) 16,7 (n=12)	1	2,6 (n=38) 8,3 (n=12)	12	31,6 (n=38) 100,0 (n=12)
РФ (n=1)	-	-	-	-	1	2,6 (n=38)	1	2,6 (n=38)
Разом (n=38)	31	81,6	5	13,2	2	5,2	38	100

за цією ознакою виявилися тільки 2 штами *E. coli* (5,3 %): 1 штама (2,6 %) - ізолят з катетеру та референт-штама *E. coli*. Середнім ступенем гемолітичної активності володіли 5 штамів (13,2 %), з них: по 2 штами *E. coli* (по 5,3 %), ізольовані з матеріалу від хворих на ГЗП та з катетерів, та 1 штама (2,6 %) - виділений з венфлону. Аналізуючи отримані дані можна прийти до висновку, що 31 штама з 38 дослідних *E. coli* (81,6%) були високоактивні за гемолітичною активністю, при чому відсоток штамів *E. coli*, ізольованих з ГЗП складав 88,2 %.

Отже, у 12 штамів *E. coli* з 17, які були ізольовані при ГЗП, володіли високою активністю ферментів патогенності, що були визначені у досліді (70,6 %). Результати показали наявність прямого кореляційного

зв'язку лецитиназної, ДНК-азної та гемолітичної активності ($r=0.92$). І тільки 2 штами (ізольований з венфлону та референт-штама *E. coli*) були слабоактивними за показниками, що досліджувалися.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Таким чином, факторами патогенності *E. coli*, які відіграють важливу роль у розвитку інфекційного процесу є ферменти агресії: ДНК-аза, лецитиназа, гемолізину. Проведене дослідження щодо вивчення активності ферментів патогенності показало, що усі дослідні штами *E. coli* продукували ферменти агресії: ДНК-азу, лецитиназу й гемолізину.

Проведення експериментальних досліджень щодо вивчення впливу фізико-біологічних факторів на активність ферментів патогенності кишкової палички вважаю перспективним у пошуках в даному напрямку.

Список літератури

- Арутюнян Н. М. Биологические свойства условно-патогенных энтеробактерий выделенных от здоровых и больных людей / Н. М. Арутюнян, А. А. Лалаян, Ю. Т. Алексанян // Журн. микробиол., эпидемиологии и иммунобиологии. - 2001. - № 2. - С. 124-125.
- Биологические свойства микроорганизмов как основа прогнозирования тяжести гнойно-воспалительных заболеваний легких и плевры / О. М. Абрамзон, О. Л. Карташова, А. В. Вальшев [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 2004. - № 3. - С. 7-10.
- Булгаков А. К. Факторы вирулентности и лекарственной устойчивости некоторых представителей семейства Enterobacteriaceae, и их чувствительность к новому ряду азотсодержащих гетероциклов : автореф. на соискание уч. степени д-ра. мед. наук : 03.00.07 / А. К. Булгаков - Челябинск, 2000. - 47 с.
- Грузина В. Д. Коммуникативные сигналы бактерий / В. Д. Грузина // Антибиотики и химиотерапия. - 2003. - Т. 10, № 48. - С. 32-39.
- Методика статистической обработки медицинской информации в научных исследованиях / [Осипов В. П., Лукьянова Е. М., Антипкин Ю. Г. и др.]. - К. : Планета людей, 2002. - 200 с.
- Методические указания по применению унифицированных микробиологических (бактериологических) методов исследования в клинико-диагностических лабораториях / Приложение 1 к Приказу МЗО СССР № 535 от 22 апреля 1985г. - 123 с.
- Сидоренко С. В. Инфекционный процесс как "диалог" между хозяином и паразитом / С. В. Сидоренко // Клини. микробиол. и антимикробная химиотерапия. - 2001. - Т. 3, № 4. - С. 301-315.
- Черкасов С. В. Изменение биологических свойств Staphylococcus epidermidis и E.coli под влиянием метаболитов лактобацилл в эксперименте / С. В. Черкасов, Т. М. Забирова, А. В. Сгибнев // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 2001. - № 4. - С. 114-116.
- Экология микроорганизмов человека / [Бухарин О. В., Вальшев А. В., Гильмутдинова Ф. Г. и др.]; под ред. О. В. Бухарина. - Екатеринбург : УРО РАН, 2006. - 480 с.
- Яковлев С. В. Госпитальные инфекции, вызванные резистентными грамотрицательными микроорганизмами: клиническое значение и современные возможности терапии / С. В. Яковлев // Инфекция и антимикробная терапия. - 2004. - Т. 6, № 4. - С. 133-136.

Кузьменко А.Н.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕРМЕНТОВ ПАТОГЕННОСТИ ШТАММОВ E.COLI, ВЫДЕЛЕННЫХ ПРИ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНОМ ПРОЦЕССЕ

Резюме. Изучена способность к продукции факторов патогенности *E.coli*. Выявлено, что из 38 исследованных штаммов *E.coli*, высокой лецитиназной активностью владело 73,7 % штаммов, из них: 36,8% изолятов при гнойно-воспалительных процессах, 15,9 % штаммов, выделенных из венфлонов, 21,1 % штаммов, выделенных из катетеров и дренажных конструкций. Высокую степень ДНК-азной активности проявляли 57,9 % штаммов *E.coli*. Выявлено, что высокую гемолитической активность имели 81,6 % выделенных штаммов *E.coli*. Результаты показали наличие прямой корреляционной связи лецитиназной, ДНК-азной и гемолитической активности исследовательских штаммов *E.coli*. Проведенное исследование по изучению активности ферментов патогенности показало, что все клинические штаммы *E.coli* производили ферменты агрессии: ДНК-азу, лецитиназу и гемолизину.

Ключевые слова: факторы патогенности, изоляты *E.coli*, гнойно-воспалительные процессы, катетеры, венфлоны, дренажные конструкции.

Kuzmenko A.M.

DETERMINATION OF PATHOGENICITY ENZYMES IN STRAINS OF E.COLI, ISOLATED DURING PYO-INFLAMMATORY PROCESSES

Summary. In the article the results of determination of pathogenicity enzymes' activity of in clinical strains of *E.coli* were presented. There were isolated 38 strains of *E.coli* in patients with pyo-inflammatory processes from venflons, catheters and drainage structures after surgery. High lecithinase activity was revealed among in 73,7 % strains of *E.coli*, including: 36,8 % isolated during pyo-inflammatory processes, 15,9 % isolated from venflons, 21,1 % isolated from catheters and drainage structures. The high DNA-se activity was showed by 57,9 % of strains of *E.coli*. It was determined that high hemolytic activity had 81,6 % of strains of *E.coli*. The results showed the presence of direct correlation of lecithinase, DNA-se and hemolytic activity in strains of *E.coli*. The research of studying the activity of pathogenicity enzymes showed that all isolated strains of *E.coli* produced such enzymes as lecithinase, DNA-se and hemolysis.

Key words: factors of pathogenicity, isolates of *E.coli*, pyo-inflammatory processes, catheters, venflons, drainage structures.

Рецензент - д.мед.н., проф. Філімонова Н.І.

Стаття надійшла до редакції 11.05.2015 р.

Кузьменко Андрій Миколайович - к.мед.н., доц., кафедри мікробіології, вірусології та імунології Харківського національного медичного університету; +38 057 701-02-67; +38 050 364-270-08; ekomed@ekomed.org.ua