

KEY WORDS: immunity, phagocytes, chronic maxillary sinusitis, insular diabetes

УДК: 615.015.8:579.862.1:616-078(048.8)

АДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА ЭНТЕРОКОККОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ СОДЕРЖИМОГО ТРОФИЧЕСКИХ ЯЗВ БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Е.Г. Перетятко

Институт микробиологии и иммунологии имени И.И. Мечникова АМН Украины, Харьков

РЕЗЮМЕ

В работе приведены результаты изучения адгезивных свойств микроорганизмов рода *Enterococcus*, выделенных из трофических язв больных сахарным диабетом, в сравнении с кишечными штаммами энтерококков. Установлено, что энтерококки характеризуются высокоадгезивными свойствами. Показано, что степень выраженности адгезивных способностей взятых в опыт микроорганизмов зависела от наличия гнойно-септического процесса.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: энтерококки, адгезивные свойства, трофические язвы

Известно, что одним из факторов реализации колонизационной резистентности кишечника является адгезия представителей индигенной микрофлоры [1]. Обладая мощным адгезивным потенциалом, представители нормофлоры, колонизируя экониши естественного обитания, препятствуют адгезии патогенных микроорганизмов. Однако при дисбиотических нарушениях микробиоценозного гомеостаза происходит чаще всего увеличение численности представителей аэробной части микрофлоры и усиление агрессивного потенциала этих бактерий, что способствует преодолению ими барьера приэпителиального слоя кишечника и транслокацию во внутреннюю среду организма. В этом случае адгезивные свойства бактерий выступают в роли фактора патогенности. Наибольшее значение из аэробной части нормофлоры имеют *Escherichia coli* и микроорганизмы рода *Enterococcus*, которые все чаще являются этиологическим фактором возникновения гнойно-септических и нозокомиальных инфекций. Подтверждены данные о тропности энтерококков к клеткам эндокарда, что является основой для инвазии и развития инфекционного эндокардита. Описана способность энтерококков инфицировать мягкие ткани и брюшную полость [2].

Работа выполнена в рамках научной программы института микробиологии и иммунологии им. И.И. Мечникова АМН Украины «Усовершенствование диагностических методов в микробиологии».

Анализ последних исследований и публикаций. В течение многих лет энтерококки рассматривали как клинически малозначимые микроорганизмы. Известно, что оценить патогенетическую значимость условно-патогенной микрофлоры, относящейся к представителям нормальной микрофлоры человека, но выделенной из клинического мате-

риала, представляет определенные трудности. В литературе последних лет появились публикации о пересмотре оценки патогенетической роли энтерококков, об изучении факторов патогенности и вирулентности. В качестве потенциальных факторов вирулентности рассматривают факторы агрегации, ферромоны, цитолизины, адгезины. Установлено, что количество выявляемых детерминант вирулентности выше у штаммов, выделенных из клинического материала [2-4].

В связи с вышеизложенным целью нашей работы было изучение адгезивных свойств энтерококков, выделенных из содержимого трофических язв больных сахарным диабетом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для достижения поставленной цели было обследовано 75 больных с диагнозом: сахарный диабет, синдром диабетической стопы. Среди обследованных – 40 мужчин и 35 женщин, средний возраст которых составил $60 \pm 1,5$ лет. Пациенты находились на стационарном лечении в отделении диабетической стопы городской клинической больницы № 2 г. Харькова.

Материал для исследования – содержимое трофических язв, отбирался до назначения антибиотикотерапии. У больных, из трофической язвы которых выделялся энтерококк, брали материал из содержимого толстого кишечника. Выделение чистой культуры энтерококков проводили общепринятыми методами [4]. Штаммы идентифицировали по комплексу морфологических, культуральных и физиолого-биохимических свойств (Bergey's, 1997). Для биохимической идентификации энтерококков использовали набор EN-COCCUStest (Lachema, Чехия).

Адгезивную способность энтерококков

изучали согласно методике В.И.Брилиса. Смесь формализированных эритроцитов человека 0(I) группы крови Rh+ и одномиллиардной суспензии микроорганизма инкубировали при 37° С в течении 30 минут, регулярно встряхивая смесь. После этого готовили мазок, высушивали, фиксировали и окрашивали по Романовского-Гимза. Изучение адгезии проводили под световым микроскопом, подсчет вели на 50 эритроцитах, учитывая не более 5 эритроцитов в одном поле зрения. При оценке адгезивных свойств использовали показатели СПА (средний показатель адгезии), К (коэффициент адгезии), ИАМ (индекс адгезивности микроорганизмов). Первая характеристика отображает среднее количество микробных клеток прикрепленных к одному эритроциту, вторая – количество эритроцитов из 100, принимавших участие в адгезии, третья – отношение среднего количества микробных клеток расположенных на одном эритроците к величине коэффициента адгезии в пересчете на 100. Микроорганизмы считают неадгезивными при ИАМ \leq 1,75; низкоадгезивными – от 1,76 до 2,5; среднеадгезивными – от 2,51 до 4,0 и высокоадгезивными – \geq 4,0 [5].

Обработка полученных результатов проведена методами вариационной статистики при помощи компьютерных программ Microsoft Excel 2000 и пакета прикладных про-

грамм для обработки медико-биологической информации «Biostat-4» с определением основных статистических показателей ряда (M, m.). Достоверность различий между показателями определяли с использованием критерия (t) Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенных исследований было установлено, что у 31(41,3 \pm 5,7%) больного сахарным диабетом из трофических язв были выделены микроорганизмы рода *Enterococcus*. При этом среди выделенных энтерококков 24(77,4 \pm 7,5%) штамма принадлежали виду *E. faecalis*, 1(3,2 \pm 3,1%) – *E. faecium*, остальные 6(19,3 \pm 7,0%) – *E.spp*.

Для сравнения адгезивных свойств энтерококков, выделенных из трофических язв с энтерококками, изолированными из экологической ниши их естественного обитания, у 24 больных был взят материал из толстого кишечника. Энтерококки, выделенные из толстого кишечника, идентифицированы следующим образом: 10(41,6 \pm 10,06%) отнесены к виду *E. faecalis*, 9(37,5 \pm 9,8%) – *E. faecium*, 1(4,17 \pm 10,06%) – *E.durans*, остальные 4(16,6 \pm 7,6%) – *E.spp*.

Показатели адгезии энтерококков представлены в таблице.

Таблица

Показатели адгезии энтерококков, выделенных у больных сахарным диабетом с синдромом диабетической стопы (M \pm m)

Показатели адгезии	Энтерококки, выделенные:	
	из толстого кишечника (n=24)	из содержимого трофических язв (n=31)
СПА	5,04 \pm 0,46	7,84 \pm 0,66
К(%)	71,17 \pm 3,06	77,35 \pm 3,20
ИАМ	6,77 \pm 0,40	10,22** \pm 0,75

*- различия показателей статистически достоверны, (p<0,01).

** - различия показателей статистически достоверны, (p<0,001).

Анализ проведенных исследований по изучению адгезивных способностей энтерококков, выделенных из толстого кишечника показал, что большинство штаммов обладали высокоадгезивными свойствами. Так, среднее значение ИАМ составило 6,77 \pm 0,40, при этом среднее количество участвующих в адгезивном процессе эритроцитов было 71,17 \pm 3,06 (табл.). Полученные нами данные совпадают с результатами аналогичных исследований других авторов [1, 4]. Однако в доступной нам литературе не описаны адгезивные свойства у представителей разных видов рода *Enterococcus*.

Нами было установлено, что из 24 взятых в опыт штаммов *E.spp*. – 22(91,6 \pm 5,6%) обладали высокоадгезивными свойствами. При этом 11(50,0 \pm 10,6%) штаммов относились к *E. faecalis*, 7(31,8 \pm 9,9%) – *E. faecium*, 1(4,5 \pm 4,4%) – *E. durans*, остальные 3(13,6 \pm 7,3%) –

E.spp. Также следует отметить, что 1(4,2 \pm 4,1%) штамм, относящийся к *E.spp*., характеризовался среднеадгезивными свойствами, 1(4,2 \pm 4,1%) – *E. faecium* – низкими адгезивными свойствами. Таким образом, можно предположить, что адгезивные свойства энтерококков не зависят от видовой принадлежности. Однако для подтверждения этого предположения следует продолжить исследования в данном направлении.

Известно, что процесс адгезии индигенной микрофлоры является одной из основных стадий формирования проэпителиального слоя биопленки кишечника, обеспечивая стабильное заселение макроорганизма нормальной микрофлорой, создающей экологический барьер для инфекционных агентов [7, 8]. При этом большое значение имеют адгезивные свойства микроорганизмов, относящихся к представителям нормофлоры [1].

Выявленная нами в ходе исследований способность энтерококков, выделенных из китов, что микроорганизмы, относящиеся к роду *Enterococcus*, являются одним из важных компонентов индигенной микрофлоры человека. Однако способность энтерококков к адгезии создает условия для последующей инвазии в ткани хозяина. Так, из естественных для них ниш обитания энтерококки через неповрежденный эпителий проникают в фагоциты регионарных лимфоузлов, где пролиферируют и затем гематогенно разносятся во внутренние органы [1, 2]. До настоящего времени остается спорным вопрос об этиологической роли энтерококков в возникновении трофических язв у больных сахарным диабетом и изучение адгезивных свойств на наш взгляд, будет способствовать пересмотру оценки клинической роли энтерококков. В доступной нам литературе мы не нашли публикаций по этому вопросу.

Анализируя данные, полученные при изучении адгезивных свойств энтерококков, изолированных из трофических язв, было установлено, что все штаммы обладали высокоадгезивными свойствами (табл.). Сравнительный анализ показал, что культуры, выделенные из содержимого трофических язв, обладали большей адгезивной активностью по сравнению с культурами, выделенными из толстого кишечника. Так, среднее значение показателя ИАМ у штаммов из трофических язв превышало аналогичный показатель штаммов, выделенных из кишечника в 1,5 раза ($p < 0,001$). При этом среднее количество эритроцитов, участвующих в процессе адгезии достоверно не отличалось ($p > 0,05$).

Таким образом, можно сделать вывод, что степень выраженности адгезивных свойств у изученных штаммов находится в прямой зависимости от наличия гнойно-воспалительного процесса.

В то же время следует отметить, что при попарном сравнении адгезивных свойств штаммов, выделенных из кишечника и трофической язвы у одного и того же больного, установлено, что в 15 (62,5±9,8%) случаях ИАМ штаммов, изолированных из язв, превышал этот же показатель у штаммов, выделенных из кишечника в 1,5 раза, а в 3 (12,5±6,7%) случаях – более чем в 3,5 раза ($p < 0,01$).

ЛИТЕРАТУРА

1. Янковский Д.С. Микробная экология человека: современные возможности ее поддержания и восстановления. -К.:«Эксперт ЛТД». - 2005. - 361 с.
2. Бухарин О.В., Билимова С.И., Чертков К.Л. / ЖМЭИ. - 2002. - № 3. - С.100-106.
3. Колоджиева В.В. Эпидемиологические особенности гнойно – септических инфекций, вызванных энтерококками и стрептококками группы В у пациентов гинекологического стационара и женской консультации. -Санкт –Петербург. - 2006. - 23 с.
4. Eaton T.J., Gasson M.J. // Appl Envir Microbiol. - 2001. - № 67. - P. 1628-1635.

шечника, активно прикрепляться к поверхности эукариотических клеток, доказывает что может свидетельствовать о клинической значимости выделяемых из язв энтерококков. В 6(21,0±8,8%) случаях показатели ИАМ достоверно не изменились, что позволяет нам предположить контаминацию энтерококками трофических язв. Последние утверждения требуют дальнейшего изучения не только адгезивных свойств, но и других персистентных характеристик выделенных энтерококков.

ВЫВОДЫ

1. Микроорганизмы рода *Enterococcus* характеризуются высокими адгезивными свойствами, которые не сопряжены с видовой принадлежностью, но зависят от наличия гнойно-воспалительного процесса.
2. Энтерококки, выделенные из трофических язв, обладают большей способностью к адгезивному процессу, чем энтерококки, выделенные из кишечника.
3. Более выраженная экспрессия адгезивных свойств энтерококков, выделенных из трофических язв, по сравнению с кишечными штаммами, свидетельствует в пользу утверждения некоторых ученых об отнесении персистенции энтерококков к факторам патогенности.

Перспективы дальнейших исследований. Данные о роли энтерококков в патологии человека крайне ограничены и иногда противоречивы как в целом при гнойно-септических инфекциях, так и при раневых инфекциях кожи и мягких тканей (пролежни и диабетические язвы), в частности. Нет единого мнения о клиническом значении энтерококков при раневых инфекциях кожи и мягких тканей (пролежни и диабетические язвы). Есть предположение свидетельствующее о том, что энтерококк оказывает провоспалительный эффект лишь на начальных стадиях развития раневой инфекции, а на дальнейшее течение процесса не влияет. Для решения вопроса патогенетической значимости энтерококков выделенных из трофических язв больных сахарным диабетом с синдромом диабетической стопы необходимо продолжить исследования по изучению и другим факторам патогенности.

5. Методические рекомендации по выделению и идентификации энтерококков МЗ СССР № 2500-81 от 4.12.81г.—Иваново. - 1982. - 19 с.
6. Брилис В.И., Брилене Т.А., Ленцнер Х.П., и др. // Лабораторное дело. - 1986. - № 4. - С. 210-212.
7. Брилис В.И., Брилене Т.А., Левков Л.А. и др. // Антибиотики и химиотер. - 1986.- № 5.- С.353- 357.
8. Маянский А.Н., Воробьева О.Н., Малышева Э.Ф. и др. // Журн. Микробиол. - 2002. - № . - С.18-20.

АДГЕЗИВНІ ВЛАСТИВОСТІ ЕНТЕРОКОКІВ, ЯКІ ВИЛУЧЕНІ ЗІ ЗМІСТУ ТРОФІЧНИХ ВИРАЗОК ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ

О.Г. Перетятко

Інститут мікробіології та імунології імені І.І. Мечникова АМН України, Харків

РЕЗЮМЕ

В роботі наведені результати вивчення адгезивних властивостей мікроорганізмів роду *Enterococcus*, вилучених з трофічних виразок хворих на цукровий діабет, в порівнянні з кишковими штамами ентерококів. Встановлено, що ентерококи характеризуються високоадгезивними властивостями. Показано, що ступень вираженості адгезивних здібностей взятих в дослід мікроорганізмів залежала від наявності гнійно-септичного процесу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ентерококи, адгезивні властивості, трофічні виразки

THE ADHESIVE PROPERTY OF ENTEROCOCCUS WHICH WERE ISOLATED FROM TROPHIC ULCER CONTENTS OF PANCREATIC DIABETES PATIENTS

E.G. Peretyatko

I.I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of AMS of Ukraine, Kharkov

SUMMARY

Results of study of *Enterococcus* stem microorganisms which were isolated from trophic ulcers of pancreatic diabetes patients adhesive properties in comparison with intestinal strain of enterococcus are produced in the paper. It was established that enterococcus defined high-adhesive properties. It was achieved that range of evidence of adhesive abilities of microorganisms taken in the experiment depended on availability of purulent septic process.

KEY WORDS: enterococcus, adhesive properties, trophic ulcers

УДК: 616.21: 616-078

МИКРОФЛОРА НАДГОРТАННИКА БОЛЬНЫХ КАТАРАЛЬНОЙ И НЕКРОТИЧЕСКОЙ ФОРМАМИ ЭПИГЛОТТИТА

Н.Н. Попов, А.В. Савченко, И.П. Высеканцев

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Украина

РЕЗЮМЕ

Мікробіологічне обстеження 100 пацієнтів з острым епіглоттитом показало, що мікробна флора надгортанника представлена більшим количеством патогенних і условно-патогенних бактерій, относящихся к разным таксонам, а также грибами рода *Candida*. У больних некротической формой мікрофлора чаще представлена микобактериальними асоціаціями, чем у больних катаральной формой захворювання, а также асоціаціями состоящими из трех и более видов мікроорганізмів. У пацієнтів с некрозом надгортанника степень его обсемененности значительно выше, чем у больних с катаральным воспалением.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: острый епіглоттит, мікрофлора

Острые инфекционно-воспалительные процессы ЛОР-органов, в том числе острые епіглоттиты, в настоящее время сохраняют высокий удельный вес среди патологии человека. Ранее данная нозология считалась характерной для детского возраста. В последнее