

# THE INFLUENCE OF MILLIMETER ELECTROMAGNETIC WAVES OF EXTREMELY HIGH-FREQUENCY RANGE ON THE ADHESIVE PROPERTIES OF CORYNEBACTERIA

S.V. Kalinichenko

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

## SUMMARY

The investigation of adhesive properties of toxin-forming strains of Corynebacteria after irradiation of electromagnetic waves of extremely high-frequency (EHF) range it was discovered the differentiated changes. It is proved that the treatment of test-cultures of toxin-forming strains of Corynebacteria by electromagnetic waves (42.2 GHz) contributed to the decrease microbes' adhesive activity, whereas the influence of range (61.0 GHz) contributed to the stimulation of above-mentioned activity. The irradiation by electromagnetic waves with frequency 40.0 GHz, 58.0 GHz and 64.5 GHz did not reduce to the changes of observing adhesive properties of Corynebactiria. The dependency of effect of electromagnetic radiation from irradiation's time of test-cultures is established. Evident effects are established only for bacteria irradiated during not less than 8 hours.

**KEY WORDS:** millimeter waves, Corynebacteria, adhesive properties

УДК: 579.841.11:579.61:616-092

## ИЗУЧЕНИЕ АДГЕЗИВНЫХ СВОЙСТВ ШТАММОВ СИНЕГНОЙНОЙ ПАЛОЧКИ

E.B. Port

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

## РЕЗЮМЕ

Изучались адгезивные свойства штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, выделенные в 2003-2004 г. от клинических больных, а также музейных штаммов и штаммов, выделенных от сельскохозяйственных животных и птиц. И определялась взаимосвязь с антибиотикорезистентностью данных штаммов. Отмечена тенденция роста адгезивных свойств, при увеличении антибиотикоустойчивости штаммов *Pseudomonas aeruginosa*.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** адгезивные свойства, штаммы *Pseudomonas aeruginosa*, антибиотикорезистентность

Постановка проблемы в общем виде. Одним из наиболее общих свойств микроорганизмов, способствующих проявлению патогенного потенциала, является адгезия. Она присуща как патогенным так и условно-патогенным микроорганизмам [1, 2]. В инфекционной патологии возбудителями нередко являются микроорганизмы, обладающие достаточно выраженной адгезивностью [4]. Необходимо учитывать, что от адгезии во многом зависят состав, стабильность и защитные свойства микрофлоры организма [5]. Определенная роль в этом отношении принадлежит нормальной микрофлоре, которая давно известна как антагонист патогенных бактерий. Основные механизмы местного иммунитета зависят от совокупности факторов, препятствующих адгезии и размножению бактерий на слизистых оболочках [3]. Известно, что бактериальная адгезия к клеточным поверхностям может ингибироваться антибиотиками, вакцинами, приготовленными на основе адгезинов, секреторными иммуноглобулинами или гликопротеинами, антигенно родственными рецепто-

рами слизистой, так манноза и N-ацетил-D-галактозамин блокируют прилипание кишечной и синегнойной палочек к эпителиальным клеткам [8]. Так как проблема осложнений в камбустиологических, хирургических, реанимационных отделениях, обусловленных синегнойной палочкой, приобретает все большее значение на протяжении последних 20 лет, что связывают с высокой природной и приобретенной полирезистентностью к антибактериальным препаратам [9]. Инфекционный процесс, обусловленный *Pseudomonas aeruginosa* с множественной лекарственной резистентностью, по мнению многих авторов, в 80-84% характеризуется прогрессирующими течением и нередко является причиной сепсиса [7, 9]. Важным моментом в развитии большинства инфекционных заболеваний является цитоадгезия возбудителя заболевания. Учитывая существование веществ, которые способны увеличить или уменьшить величину адгезии и ее блокировку направить на предотвращение развития инфекции[3]. Одним из направлений блокировки механизма адгезии является примене-

ние антибактериальных препаратов в концентрациях, угнетающих прикрепление микроорганизмов к клеткам макроорганизма [7].

Связь проблемы с важными научными и практическими заданиями. Работа выполнена в рамках научной программы Института микробиологии и иммунологии им. И.И. Мечникова АМН Украины «Усовершенствование диагностических методов в микробиологии». Является фрагментом научно-исследовательской работы, посвященной усовершенствованию и лечению больных с гнойно-воспалительными заболеваниями, № госрегистрации 0130U0014004.

Анализ последних исследований и публикаций. Современная проблема внутрибольничной инфекции позволяет объяснить значение механизма адгезии микроорганизмов к клеткам человека [8]. Однако выявление факторов, влияющих на степень адгезии *Pseudomonas aeruginosa*, представляет интерес в отношении механизма развития внутрибольничной инфекции. Вероятно, поэтому нет широкого применения на практике препаратов, влияющих целенаправленно на блокировку механизма адгезии.

Целью исследования явилось изучение адгезивных свойств штаммов синегнойной палочки, выделенных из различных источников, и связь с антибиотикорезистентностью данных штаммов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали штаммы *Pseudomonas aeruginosa*, полученные от клинических больных (102) с гнойно-воспалительными заболеваниями, от сельскохозяйственных животных (29) и из филиала музея микроорганизмов (11) Института микробиологии и иммунологии им. И.И. Мечникова г. Харькова. Всего изучено 142 штамма синегнойной палочки, полученные чистые культуры микроорганизмов идентифицировали общепринятыми методами по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам. Также определяли чувствительность к антимикробным препаратам на твердой питательной среде (МПА, pH 7,2) Оценку результатов определения спектра антибиотикочувствительности проводили по таблице пограничных значений диаметров зон задержки роста для устойчивых, среднечувствительных и чувствительных штаммов по методу [6]. Культуры выращивали в течение 24 часов на скоженном мясе – пептонном агаре. Взвесь микроорганизмов готовили в концентрации  $10^9$  клеток/мл. Адгезивные свойства микроорганизмов, выделенных из различных источников, изучали на формализированных эритроцитах человека 0(I)

Rh(+) группы крови по развернутому методу В.И. Брилис и соавт. [5] по следующим показателям: средний показатель адгезии (СПА), т.е. среднее количество микроорганизмов, прикрепившихся к 1 эритроциту при подсчете не менее 50 эритроцитов; коэффициент участия эритроцитов (КУЭ), т.е. процент эритроцитов, имеющих на своей поверхности адгезированные микроорганизмы; о степени адгезивности штамма судили по индексу адгезивности микроорганизма (ИАМ) – среднему количеству микробных клеток на эритроците, учитывая только участвующие в адгезивном процессе эритроциты. Микроорганизмы считали неадгезивными при ИАМ  $\leq 1,75$ , низкоадгезивными – от 1,76 до 2,5, среднеадгезивными – от 2,51 – до 4,0, высокоадгезивными – при ИАМ  $< 4,00$ . Мазки окрашивали по Романовскому-Гимзе. Для соблюдения стандартных условий в постановке опыта использовали эритроциты только одного донора.

Статистическая обработка результатов исследования была проведена с помощью компьютерной программы для обработки медицинской информации «Biostat»; все исследования проводили троекратно.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что из штаммов *Pseudomonas aeruginosa* высокоадгезивные составляли преимущественно штаммы от клинических больных 56,9% (58 из 102), от сельскохозяйственных животных 17,5% (5 из 29), среди музейных штаммов таких не обнаружено; наибольшее количество штаммов из всех групп обладали средней адгезивной активностью 103,5%, от клинических больных 31,4% (32 из 102), от сельскохозяйственных животных 44,8% (13 из 29), музейные штаммы 27,3% (3 из 11); среди низкоадгезивных штаммов преимущество составляли музейные штаммы 54,5% (6 из 11), от сельскохозяйственных животных 31% (9 из 29), от клинических больных 11,8% (12 из 102); наименьшее количество составляли неадгезивные штаммы, от клинических больных их не обнаружено, от сельскохозяйственных животных 6,9% (2 из 29), из музейных штаммов 18,2% (2 из 11).

О степени адгезивности всех изученных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* свидетельствуют данные, приведенные в таблице 1.

При исследовании адгезивных свойств синегнойной палочки определяется, что они наиболее выражены у штаммов с высокой устойчивостью к противомикробным препаратам (таблица 2), основную часть которых составляют штаммы выделенные от клинических больных (таблица 1). Средняя сте-

пень адгезивности наиболее выражена у штаммов, выделенных от сельскохозяйственных животных. Минимальной адгезивной способностью обладали музейные штаммы,

у которых отмечалась наиболее высокая чувствительность к противомикробным препаратам.

Таблица 1

**Адгезивность и антибиотикочувствительность штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных из различных источников**

Характеристики штаммов				
Адгезивность	Источник выделения	Количество выделенных	ИАМ ( $M \pm m$ )	Чувствительность к антибактериальным средствам
Высокоадгезивные	Клинические больные	58	6,29±3,15	Устойчивые – 42, среднечувствительные – 16
	С/х животные	5	5,1±1,8	Устойчивые – 4, среднечувствительные – 1
	Музейные штаммы	—	—	—
Среднеадгезивные	Клинические больные	32	3,6±1,4	Среднечувствительные – 21, чувствительные – 11
	С/х животные	13	2,7±1,09	Среднечувствительные – 4, чувствительные -9
	Музейные штаммы	3	2,9±1,6	Среднечувствительные – 3
Низкоадгезивные	Клинические больные	12	2,34±0,25	Среднечувствительные – 4, чувствительные – 8
	С/х животные	9	2,11±0,17	Среднечувствительные – 2, чувствительные – 7
	Музейные штаммы	6	1,9±0,48	Чувствительные – 6
Неадгезивные	Клинические больные	—	—	—
	С/х животные	2	1,5±0,4	Чувствительные – 2
	Музейные штаммы	2	1,2±0,65	Чувствительные – 2

Таблица 2

**Спектр антибактериального действия антибиотиков к штаммам *Pseudomonas aeruginosa***

Антибактериальные средства	Коммерческое название	Штаммы, %		
		Чувствительные	Слабо чувствительные	Резистентные
Бета-лактамные пеницилины	Пенициллин	-	-	100
	Оксациллин	-	-	100
	Клоксациллин	-	-	100
	Азлоцеллин	-	2	98
	Пиперациллин	7	12,3	80,7
	Карбенициллин	4	13,1	82,9
Бета-лактамные карбопенемы	Имипенем	94,2	2,6	3,2
	Меропенем	52	30,4	17,6
Аминопенициллины	Ампициллин	-	-	100
Цефалоспорины	Цефалотин	-	9,8	90,2
	Цефалексин	-	5,4	94,6
	Цефазолин	-	4,8	95,2
	Цефтазидим	12,5	50,6	34,9
	Клафоран	-	38,6	61,4
	Цефепим	11,8	18,5	69,7
Макролиды	Эритромицин	-	-	100
	Сумамед	23,1	31,6	43,3
	Рулид	13,4	39,4	47,2
	Олеандомицин	-	-	100
	Ровамицин	-	6,4	93,6
Фторхинолоны	Ципрофлоксацин	95,4	4,6	-
	Ципробай	95,4	4,6	-
Аминогликозиды	Гентамицин	11,2	36,0	52,8
	Тобрамицин	76,2	6,9	16,9
	Амикацин	54,4	36,4	9,2
	Мономицин	24,8	18,2	57,0
	Неомицин	18,4	20,4	61,2
	Канамицин	-	13,1	86,9
Тетрациклины	Окситетрациклин	-	10,4	89,6
	Доксициклин	-	16,3	83,7
Рифампицин	Рифампицин	-	12,3	87,7
Разные группы	Линкомицин	-	6,9	93,1
	Фузидин	-	9,2	90,8
	Ристомицин	-	4,6	95,4
	Полимиксин	24,4	50,4	25,2
	Стрептомицин	20,5	48,2	31,8
	Левомицетин	-	32,4	77,6

При анализе взаимодействия штаммов *Pseudomonas aeruginosa* с эритроцитами в световом микроскопе на поверхности эритроцитов выявляли как отдельные бактериальные клетки, так и группы клеток, объединенных между собой, нередко в виде покровов (рис. 1). Такая картина наблюдалась у высокоадгезивных и иногда среднеадгезивных штаммов синегнойной палочки. Если культуры микроорганизмов были неадгезивными, то на поверхности эритроцитов бактерии не обнаруживались (рис. 2).

Из свежевыделенных штаммов синегной-

ной палочки 90% обладали высокими адгезивными свойствами, остальные 10% обладали средней степенью адгезивности. В ходе исследования было установлено, что высокорезистентные штаммы обладают и высокими адгезивными свойствами. Таким образом, важную роль в патогенезе гнойно-септических заболеваний и их осложнений играют процессы адгезии. Знание механизмов адгезии необходимо для разработки препаратов, предотвращающих эти процессы, т.е. препаратов, обладающих антиадгезивными свойствами.

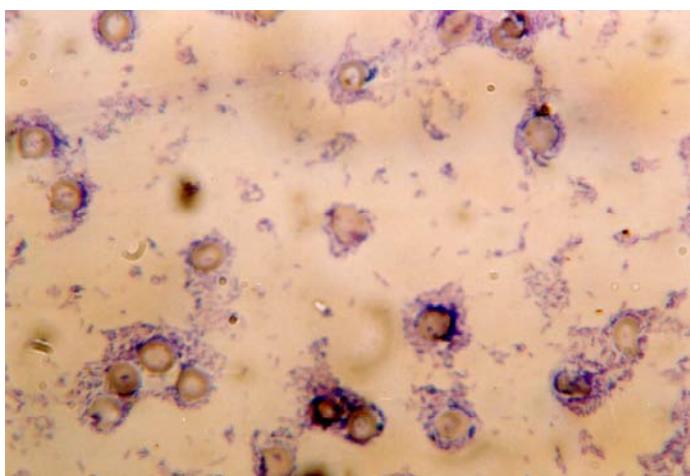


Рис. 1. Взаимодействие высокоадгезивных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* с эритроцитами

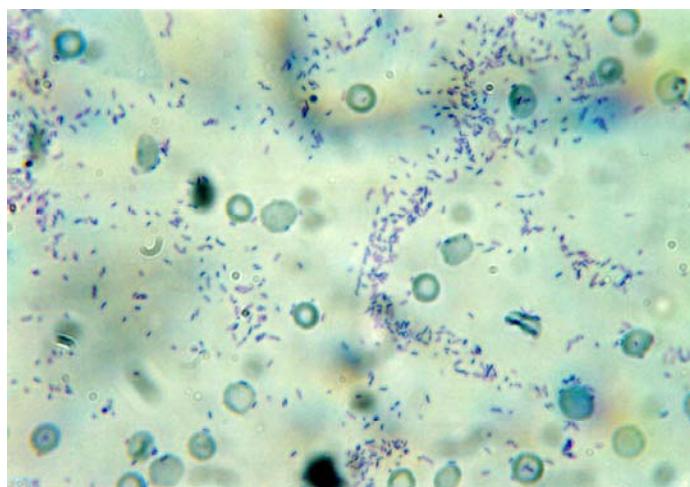


Рис. 2. Взаимодействие низкоадгезивных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* с эритроцитами

## ВЫВОДЫ

1. Выраженными антибиотикрезистентными свойствами обладали штаммы с высокой степенью адгезивности.
2. Штаммам *Pseudomonas Aeruginosa*, выделенным от больных за последнее время, свойственна значительно большая адгезивность, чем музейным штаммам и штаммам, выделенных от сельскохозяйственных животных.

Перспектива развития исследований в

данном направлении. Проведенная работа может послужить основой для дальнейших углубленных и расширенных исследований роли адгезии в патогенезе распространения внутрибольничной инфекции, вызванной синегнойной палочкой, и разработки оптимальных препаратов, максимально подавляющих механизмы адгезии, что позволит в значительной степени повысить эффективность лечения инфекционных осложнений, вызванных данным возбудителем.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Soto Gabriel E, Hultgren Scot // J. Bacteriol. - 1999. - № 4. - P.1059–1071.
2. Карпухина Л.В., Мельникова У.Ю., Соболева Е.Ф., и др. // Микробиология. - 1999. - Т. 68. - № 4. - С. 445-447.
3. Ismaili A, Medding J.B, Ratnam S, et al. // Am. J. Physiol. - 1999. № 277 (1 Pt 1). - P. G201-G208.
4. Boyd A., Chakrabarty A.M. // Environ. Microbiol. - 1994. - Vol. 60. - P. 2355 - 2359.
5. Брилис В.И., Брилине Т.А., Ленцер Х.П., и др. // Лаб. Дело. – 1986. - № 4. - С. 210-212.
6. NCCLS Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Ninth Inform uppl. NCCLS document M 100-S9 // NCCS. -1999. - № 19. - P. 101-104.
7. Bathelot M, Knutton S, Caprioli A., et al. // J. Clin. Microbiol. - 1999. - № 37(12). - P. 3822-3827.
8. Kawasaki Y, Tazume S, Shimizu K, et al. // Biosci-Biotechnol-Biochem. - 2000. - № 64(2). - P.348-354.
9. Калинченко Н.Ф., Дъяченко В.Ф., Старобинец З.Г. и др. // Експерим. і клін. медицина. - 1999. - №2. - Р. 61-62.

## ВИВЧЕННЯ АДГЕЗИВНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ШТАМІВ СИНЬОГНІЙНОЇ ПАЛИЧКИ

*O.V. Port*

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

### РЕЗЮМЕ

Вивчались адгезивні властивості штамів *Pseudomonas aeruginosa*, виделені у 2003-2004 р. від клінічних хворих, а також музеїчних штамів та штамів, виділених від сільськогосподарських тварин та птахів. Виявляється взаємозв'язок з антибіотикорезистентністю цих штамів. Помічена тенденція росту адгезивних властивостей при збільшенні антибіотикостійкості штамів *Pseudomonas aeruginosa*.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** адгезивні властивості, штами *Pseudomonas aeruginosa*, антибіотикорезистентність

## PROPERTIES OF ADHESIVE CHARACTERISTICS OF STRAINS *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

*E.V. Port*

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

### SUMMARY

Adhesive properties strains *Pseudomonas aeruginosa* allocated in 2003-2004 from clinical sick, and also museum strains and strains allocated from agricultural animals and birds were studied. The interrelation with resistance to antibiotics these strains were found. The tendency of growth adhesion properties is marked at increased resistance to antibiotics strains *Pseudomonas aeruginosa*.

**KEY WORDS:** adhesion properties, strains *Pseudomonas aeruginosa*, resistance to antibiotics

УДК: 613.615.616.661-547

## СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ РЕАКТИВНОСТИ У ТЕПЛОКРОВНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ОРГАНИЧЕСКИХ СМЕСЕЙ НА ОСНОВЕ ГЛИКОЛЕЙ

*E.V. Сиренко*

Харьковская медицинская академия последипломного образования

### РЕЗЮМЕ

В эксперименте на теплокровных животных установлена способность ТЖ «Роса» нарушать иммунобиологическое равновесие в дозах 1/100 и 1/100 LD<sub>50</sub>. Выявлено снижение общей клеточности тимуса и селезенки, снижение функциональной активности спленоцитов и усиление плазмоцитарной реакции в селезенке и лимфатических узлах животных. Полученные результаты свидетельствуют о снижении и истощении защитно-приспособительных механизмов организма.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** плазмоцит, иммунная резистентность, органическая смесь на основе гликолей