

**АДГЕЗИВНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА АНТИЛІЗОЦИМНА АКТИВНІСТЬ
СВІЖОВИЛУЧЕНИХ ВІД ХВОРИХ ДІТЕЙ ШИГЕЛ І САЛЬМОНЕЛ**

І.А. Воронкіна, С.А. Деркач, А.І. Носатенко, Л.С. Габишева,
І.Ю. Кучма, Л.А. Білоконова**,*

*Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечнікова,
вул. Пушкінська, 14/16, м. Харків, 61057, Україна;*

**Харківський державний медичний університет,
пр-т Леніна, 4, м. Харків, 61022, Україна;*

***Обласна дитяча інфекційна клінічна лікарня,
пр-т Героїв Сталінграду, 160, м. Харків, 61162, Україна*

Гострі кишкові інфекції (ГКІ) займають чільне місце в сучасній інфектології. Захворюваність на ГКІ останніми роками продовжує зростати не тільки по Україні, але й у багатьох країнах світу. Особливості епідемічного процесу сучасних кишкових інфекцій пов'язані не тільки зі зміною серовара збудників, а й зі зміною самих збудників, їх біологічних властивостей. Зокрема, не виключається зв'язок зростання захворюваності на ГКІ з набуттям збудниками значного арсеналу факторів патогенності – передусім здатності до адгезивності та антилізоцимної активності.

ВСТУП

Гострі кишкові інфекції (ГКІ) займають чільне місце в сучасній інфектології. Серед них провідна роль належить сальмонельозу та шигельозу. При цьому захворюваність на ГКІ останніми роками продовжує зростати не тільки по Україні, але й у багатьох країнах світу [1]. Це пов'язують з еволюцією клінічної картини в бік зростання питомої ваги стертих, атипичних форм, збільшенням кількості невиявлених джерел, зниженням рівня бактеріологічного та серологічного підтвердження діагнозу [2]. Крім цього, деякі автори припускають, що особливості епідемічного процесу сучасних кишкових інфекцій пов'язані не тільки зі зміною серовара збудників, а й зі зміною самих збудників, їх біологічних властивостей. Соціальні умови, які пригнічують активність механізму передачі, призводять до формування популяцій збудника, що мають селективні переваги і намагаються вижити в екстремальних умовах. Зокрема, не виключається зв'язок зростання захворюваності на ГКІ з набуттям збудниками значного арсеналу факторів патогенності – передусім здатності до адгезивності та антилізоцимної активності. Мобільність біологічних властивостей популяції, що виявляється на рівні окремих штамів, є гарантом зберігання виду в умовах організму господаря, які постійно змінюються [3,4].

Колонізація тканин організму патогенним збудником є необхідною умовою для розвитку інфекційного процесу. Адгезія мікроорганізмів до поверхні клітин допомагає протистояти впливу біологічних рідин, передуючи проникненню мікроорганізмів до тканин макроорганізму, забезпечує бактерії можливістю транспортувати токсини безпосередньо до клітинної мембрани [5].

Лізоцим є одним з найголовніших літичних факторів макроорганізму. У зв'язку з чим велике поширення у багатьох мікроорганізмів одержала здатність до інактивації цього фактору, тобто до антилізоцимної активності (АЛА). Продукувати лізоцим можуть і мікроорганізми (наприклад, стафілокок), тому АЛА може проявлятися як проти лізоциму господаря, забезпечуючи можливість персистенції, так і проти лізоциму асоціанта, що дає спроможність до виживання даного мікроорганізму [6,7].

МЕТА РОБОТИ

Метою нашої роботи було визначити адгезивність та антилізоцимну активність циркулюючих штамів шигел і сальмонел та з'ясувати закономірності між ступенем тяжкості хвороби та цими властивостями.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Проведено вивчення адгезивних властивостей 162 штамів шигел та 237 штамів сальмонел, вилучених у 2005-2006рр. у м.Харкові від дітей віком до 14 років, хворих на ГКІ.

Адгезію мікроорганізмів оцінювали за методом В.І.Бріліс зі співавторами [8]. Зокрема, використовували такі показники: середній показник адгезії (СПА) – середня кількість мікробів, що прикріпилися до 1 еритроцита; коефіцієнт участі еритроцитів в адгезії (К) – відсоток еритроцитів, які мають на своїй поверхні адгезовані мікроби; індекс адгезивності мікроорганізмів (ІАМ) – середня кількість мікробних клітин на одному еритроциті, що бере участь в адгезивному процесі. Адгезивність вважали нульовою при СПА від 0 до 1,0; низькою – при СПА від 1,01 до 2,0; середньою – від 2,01 до 4,0; високою – понад 4,0. Неадгезивним вважали мікроорганізм при ІАМ < 1,75; низькоадгезивним – при ІАМ від 1,76 до 2,5; середньоадгезивним – при ІАМ від 2,51 до 4,0 і високоадгезивним при ІАМ вище 4,0.

АЛА мікроорганізмів визначали прискореним методом В.Ю. Соколова [9]. Для цього на попередньо залиті 1,5% м'ясопептонним агаром чашки Петрі з концентрацією лізоциму 1-10 мкг/мл і кроком 1мкг/мл петлею наносили біомасу добової агарової культури, формуючи «п'яточки» діаметром 3-5 мм. Вирослі штами вбивали парами хлороформу і зверху заливали іншим шаром – 0,7% м'ясопептонним агаром, що містив завись тест-штаму *Micrococcus lysodeicticus* 2665 у дозі 10^9 на 1мл агару, і знову інкубували 18-24 год. Підраховували активні штами за ростом колоній мікрокока навколо колоній випробуваних культур. При рівні АЛА менше 2мкг її вважали низькою, від 2 до 3мкг – середньою і більше 3мкг – високою.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Серед *S.flexneri* частка високо- та низькоадгезивних штамів була однаковою і становила $(18,75 \pm 5,7)\%$. Для більшості штамів шигел Зонне була характерна середня адгезивність $(78,9 \pm 3,8)\%$. Частка високоадгезивних штамів *S.sonnei* становила лише $(5,3 \pm 2,1)\%$ (табл.1). При порівнянні адгезивних властивостей шигел статистично достовірну різницю виявлено за показником „висока адгезивність”. Вона характерна для *S.flexneri* ($P < 0,05$).

Бактерії роду *Salmonella* також мають адгезивні властивості. Серед *S.enteritidis* $(67,3 \pm 4,0)\%$ штамів були середньоадгезивними, $(26,6 \pm 3,7)\%$ - високоадгезивними, $(6,1 \pm 2,0)\%$ - низькоадгезивними. Для $(50,0 \pm 6,5)\%$ штамів *S.typhimurium* характерна середня адгезивність і майже для такої ж кількості низькі адгезивні властивості - $(45,0 \pm 6,5)\%$. Штами сальмонел інших видів у $(50,0 \pm 9,3)\%$ мають низьку адгезивність, у $(20,0 \pm 7,4)\%$ - високу. У групі сальмонел відмічається домінантне значення середньої адгезивної активності у штамів *S.enteritidis* та *S.typhimurium* при порівнянні з іншими значеннями адгезії сальмонел, але в плані вилучення штамів з високою адгезивною властивістю достовірно лідирує *S.enteritidis* $(26,6 \pm 3,7)\%$. Оскільки адгезія, як було зазначено вище, є фактором патогенності, то цим можна пояснити домінування *S.enteritidis* у сучасній структурі захворюваності на сальмонельоз, яка становить за даними обласної санітарно-епідеміологічної станції, від 36,4 до 40,7 на 100 тис. населення за останні п'ять років, причому частка сальмонельозів, викликаних *S.enteritidis*, становила 79%-90,1% у 2005-2006 рр. Звертає на себе увагу і наявність значного відсотка $(20,0 \pm 7,4)$ високоадгезивних штамів так званих „рідких груп”, які помічені у таблиці терміном „інші” (табл.1).

Таблиця 1 – Частота виділення шигел та сальмонел з різною адгезивною та АЛА активністю (%)

Назва штаму	Адгезивність						АЛА					
	низька		середня		висока		низька		середня		висока	
	абс. число	(M±m)	абс. число	(M±m)	абс. число	(M±m)	абс. число	(M±m)	абс. число	(M±m)	абс. число	(M±m)
S. flexneri (n=48)	9	(18,75±5,7)	30	(62,5±7,1)	9	(18,75±5,7)	-	-	39	(81,25±5,7)	9	(18,75±5,7)
S. sonnei (n=114)	18	(15,8±3,4)	90	(78,9±3,8)	6	(5,3±2,1)	-	-	99	(86,8±3,2)	15	(13,2±3,2)
S. enteritidis (n=147)	9	(6,1±2,0)	99	(67,3±4,0)	39	(26,6±3,7)	6	(4,1±1,7)	105	(71,4±3,7)	36	(28,5±3,6)
S.typhimurium (n=60)	27	(45,0±6,5)	30	(50,0±6,5)	3	(5,0±2,8)	-	-	52	(86,7±4,4)	8	(13,5±4,4)
Інші* (n=30)	15	(50,0±9,3)	9	(30,0±8,5)	6	(20,0±7,4)	-	-	11	(36,7±9,0)	19	(63,3±9,0)
*– S.tchiongwe, S.saintpaul, S.chincol, S.caledon, S.lago												

Таблиця 2. – Залежність тяжкості хвороби від адгезивної та АЛА виділених мікроорганізмів ($M \pm m$)

Ступінь тяжкості шигельозу	Адгезивність						АЛА					
	низька		середня		висока		низька		середня		висока	
	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%
Легкий (n=18)	6	(33,3±11,4)	12	(66,7±11,4)	0	-	0	-	15	(83,3±9,0)	3	(16,7±9,0)
Середній (n=93)	18	(19,4±4,1)	75	(81,6±4,0)	0	-	0	-	90	(97,0±1,8)	3	(3,0±1,8)
Тяжкий (n=51)	3	(5,9±3,3)	33	(64,7±6,8)	15	(29,4±6,4)	0	-	29	(57,0±7,0)	22	(43,0±7,0)

Ступінь тяжкості сальмонельозу	Адгезивність						АЛА					
	низька		середня		висока		низька		середня		висока	
	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%
Легкий (n=54)	24	(34,8 ±6,5)	30	(65,2±6,5)	0	-	6	(4,1±1,7)	105	(71,4±3,7)	36	(24,5±3,6)
Середній (n=99)	21	(21,2 ±4,1)	60	(60,6 ±4,9)	18	(18,2±3,9)	0	-	52	(86,7±4,4)	8	(13,3±4,4)
Тяжкий (n=84)	6	(7,1±2,8)	48	(57,1 ±5,4)	30	(35,8±5,3)	0	-	11	(36,7±9,0)	19	(63,3±9,0)

При дослідженні АЛА серед штамів шигел, виділених від хворих на ГКІ, було виявлено, що для даної групи мікроорганізмів більш характерні середні та високі показники (табл.1). Серед *S.flexneri* у (81,25±5,7)% спостерігався середній рівень АЛА, у (18,75±5,7)% – високий, для шигел Зонне - (86,8±3,2)% та (13,2±3,2)% відповідно. Штами шигел з низькою АЛА (з концентрацією лізоциму <2 мкг/мл) в даному дослідженні не спостерігалися.

При аналізі АЛА сальмонел виявлено, що низькі значення її були притаманні лише для *S.enteritidis* – (4,1±1,7)%. Для інших мікроорганізмів роду *Salmonella* були характерні середні та високі рівні цього показника.

Аналізуючи закономірності між ступенем тяжкості хвороби, адгезивністю та АЛА бактерій було встановлено, що шигельоз легкого ступеня у (66,7±11,4)% спричиняли мікроорганізми з середньою адгезивністю та з середньою і високою АЛА (табл.2). Сальмонельоз легкого ступеня у (65,2±6,5)% також викликали середньоадгезивні мікроорганізми, які мали низьку, середню або високу АЛА. В обох випадках не було жодного штаму з високою адгезивністю. Середній ступінь тяжкості як при шигельозах, так і при сальмонельозах викликали мікроорганізми з різними адгезивними та антилізоцимними властивостями, але домінуючими були штами з середніми значеннями цих показників (близько 60% та 80% відповідно). Тяжкий ступінь хвороби при обох інфекціях викликали, як правило, високоадгезивні штами з високими показниками АЛА.

ВИСНОВКИ

Таким чином, отримані нами результати відповідають даним літератури про зв'язок між патогенними властивостями бактерій та ступенем тяжкості хвороби. Але ця залежність все ж таки не є абсолютно 100%, що свідчить про наявність багатьох інших факторів, властивих як мікро-, так і макроорганізму, які і визначають саму можливість розвитку інфекційного процесу, тяжкість перебігу та формування ускладнень у кожному конкретному випадку захворювання на ГКІ. Серед таких факторів найбільше значення відіграє преморбідний стан макроорганізму, де не остання роль належить нормальній мікрофлорі.

SUMMARY

Peculiarities of epidemic process of modern enteric infections are connected not only with changing of pathogens serologic variant, but with the changes of pathogens themselves and their biological properties. The connection between AEI morbidity rise and pathogens acquisition of adhesive ability and antilysozyme activity must not be excluded. Among S.flexneri the part of high- and low-adhesive stains was the same (18,75±5,7)%. Significant difference in characteristic "high adhesive activity" was discovered by comparing of Shigella adhesive properties. It was significant for S.flexneri (P<0,05). Among S.enteritidis (67,3±4,0)% stains were with medium adhesive activity. Studing of antilysozyme activity (ALA) among Shigella and Salmonella stains, it was found that medium and high characteristics were typical for this group of microorganisms. It was found that mild course shigellosis in (66,7±11,4)% were caused by microorganisms with medium adhesive activity and medium or high antilysozyme activity. Mild course salmonellosis were also caused by medium-adhesive microorganisms with low, medium or high ALA. The results of investigations correspond to the facts given in the literature about the connection between pathogenic properties of bacteria and clinical course of disease. But this connection is not absolute because of a lot of other reasons.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Деркач С.А., Носатенко А.И., Крилова И.А. Острые кишечные инфекции у детей: эпидемиологические особенности и новые направления лабораторной диагностики // Материалы Российского съезда врачей-инфекционистов.-Санкт-Петербург, 2004.-С.106.
2. Петренко Т.Е., Головчак Г.С. Результаты оперативной оценки уровня заболеваемости дизентерией в Московском районе г.Харькова // Сб. материалов 5-й итог. регион. науч.-практ. конф. "Эпидемиология,экология и гигиена". - Харьков, 2002.-С.117-119.

3. Деркач С.А., Носатенко А.І., Копча В.С. та ін. Фактори патогенності ентеробактерій, виділених від хворих на змішані кишкові інфекції // Інфекційні хвороби.-2002.-№2.-С.41-44.
4. Обгольц А.А. Механизмы персистенции бактерий // Журн. микробиол.-1992.-№4.-С.70-72.
5. Горская Е.М., Ленцер Х.П., Ленцер А.А. и др. Адгезивные свойства бактерий кишечного происхождения // Журн. микробиол.-1991.-№10.-С.5-8.
6. Бухарин О.В., Усвятцов Б.Я., Хуснутдинова Л.М. Межбактериальные взаимодействия // Журн. микробиол.-2003.-№4.-С.3-8.
7. Бухарин О.В., Вальшев А.В., Елагина Н.Н. Антилизосимная активность анаэробных бактерий фекальной микрофлоры // Журн. микробиол.-2000.-№5.-С.20-22.
8. Брилис В.И., Брилис Т.А., Ланцнер Х.Г., Ланцнер А.А. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов // Лабор. дело. - 1986. - № 4. - С.210-212.
9. Соколов В.Ю. Ускоренный метод определения антилизосимной активности микроорганизмов // Лабор. дело. - 1991. - № 6. - С.64-65.

І.А. Воронкіна, аспірант Інституту мікробіології та імунології ім. І.І. Мечнікова, м. Харків;

С.А. Деркач, канд. мед. наук, зав. лабораторії, ст. наук. співр. Інституту мікробіології та імунології ім. І.І. Мечнікова, м. Харків;

А.І. Носатенко, канд. мед. наук, ст. наук. співр. Інституту мікробіології та імунології ім. І.І. Мечнікова, м. Харків;

І.Ю. Кучма, канд. мед. наук, доцент кафедри клінічної імунології та мікробіології Інституту мікробіології та імунології ім. І.І. Мечнікова, м. Харків;

Л.С. Габишева, канд. мед. наук, доцент кафедри мікробіології Харківського державного медичного університету, м. Харків;

Л.А. Білоконова, канд. мед. наук, зав. відділення Обласної дитячої інфекційної клінічної лікарні, м. Харків

Надійшла до редакції 15 травня 2007 р.