

УДК 576.80.73.3:615.28:546.89

**І.Ю. Кучма**

*ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України», м. Харків*

## **БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ЕШЕРИХІЙ, ВИЛУЧЕНИХ ПРИ ХРОНІЧНИХ РЕЦИДИВУЮЧИХ ЦИСТИТАХ У ЖІНОК**

Обстежено 210 жінок з хронічним бактеріальним циститом. Проведено серотипування *E. coli* та визначено їх чутливість до протимікробних засобів. Встановлено що у 67 % хворих з хронічними циститами бактеріурія виявляється на рівні формально нормативних показників (нижче  $10^5$  КУО/мл). У *E. coli* – ведучого збудника хронічних циститів – визначено високу антилізоцимну активність і адгезивність. При хронічних циститах вилучено переважно уропатогенні серотипи *E. coli*. Наявність патогенних властивостей, перш за все антилізоцимної активності та високої адгезивності *E. coli*, навіть при бактеріурії  $10^2$ – $10^3$ , свідчить про етіологічну роль *E. coli* та потребує ерадикації збудника.

**Ключові слова:** хронічні цистити, *E. coli*, чутливість до антибактеріальних засобів, антилізоцимна активність, адгезивність.

Неспецифічні бактеріальні цистити – найбільш розповсюджені інфекції сечових шляхів. Серед хворих на цистити переважають жінки, що обумовлено особливістю анатомічної будови сечостатевої системи у жінок. На гострий цистит впродовж життя хворіє до 25 % жінок. У 10–20 % хворих цистит переходить в хронічну форму. Актуальність проблеми інфекцій сечових шляхів обумовлена не лише їх поширеністю, але й помітною зміною клінічної картини. За останні десятиліття збільшилося у декілька разів число малосимптомних і латентних форм захворювання. При циститі в період клінічного одужання в 40–50 % випадків не відбувається повної елімінації збудників, спостерігається лише зниження ступеня бактеріурії в 10–1000 разів до формально нормативних показників [1–12]. Загальновідомо, що серед збудників гнійно-запальних хвороб в урологічній клініці преважує кишкова паличка. За даними міжнародного дослідження 1998–2005 рр. ECO-SeNS (проведені на основі аналізу клініко-лабораторних даних 252 клінік 16 країн Європи і Канади), *E. coli* є провідним збудником циститів (77 %).

Метою роботи було визначити ступінь бактеріурії, найбільш розповсюджені серо-

типи, чутливість до антибактеріальних засобів, антилізоцимну активність та адгезивні властивості *E. coli* – збудників хронічних циститів у жінок м. Харкова.

**Матеріал і методи.** Обстежено 210 жінок з хронічним циститом, які спостерігалися протягом 2009–2011 рр. Клініко-лабораторне обстеження хворі проходили на базі Харківської міської поліклініки № 28; мікробіологічні, серологічні дослідження, визначення чутливості та патогенних властивостей *E. coli* виконано в лабораторії протимікробних засобів Інституту мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова. Виділено та ідентифіковано культури мікроорганізмів, вилучених із сечі, проведено серотипування штамів *E. coli*, вивчено чутливість до антибактеріальних засобів і продукції беталактамаз розширеного спектра, антилізоцимну активність та адгезивні властивості *E. coli*.

Мікробіологічні дослідження виконано у відповідності до Наказу МОЗ України № 500 від 28.12.2002 «Про затвердження примірних положень в бактеріологічній службі МОЗ України» та ДСП-9.9.5–2001 МОЗ України «Правила влаштування і безпеки в лабораторіях мікробіологічного профілю». Для посіву матеріалу та ідентифікації культур викорис-

© І.Ю. Кучма, 2012

товували методики, що викладені в Наказі № 535 від 22.04.1985 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораторных лечебно-профилактических учреждениях». Чутливість до антибіотиків та продукцію беталактамаз розширеного спектра (БЛРС) визначали відповідно до Наказу № 167 від 05.04.2007 «Методичні вказівки по визначенню чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів. МВ 9.9.5-143– 2007». Приготування реактивів, поживних середовищ проводили згідно з ГОСТ 10444.1– 84 (СТ СЗВ 3833–82) «Приготовление растворов, реактивов, красок, индикаторов и питательных сред, применяемых в микробиологическом анализе» та ГОСТ 4919.1–77 «Методические рекомендации по организации хранения, учёта и применения химических реактивов в лабораториях санэпидстанций для внедрения в работу бактериологических лабораторий».

Ідентифікацію бактерій здійснювали згідно з Визначником бактерій Берджі (2007), виділення та ідентифікацію культур ентеробактерій – згідно з «Настановою з лабораторної діагностики ешерихіозу» (Київ, 1996). Для культивування ешерихій і вивчення їх гемолітичних і біологічних властивостей використовували поживні середовища МПБ, МПА, МПА з 5 % дефібрированої крові барана, Ендо, Гіса, Хоттінгера.

Визначення антилізоцимної активності проведено за рекомендаціями О.В. Бухаріна (1984). Для визначення антилізоцимної активності розчин лізоциму (в концентрації від 10 до 100 мкг/мл) змішували з живильним агаром, засівали досліджувану добову культуру і інкубували 18–24 год при 37 °С. Культуру інактивували парами хлороформу протягом 30 хв, а потім заливали другим шаром агару, який містив 1-мільярдну суспензію добової індикаторної культури *M. luteus var. lysodeikticus* АТСС 2665. Інактивацію лізоциму визначали за ростом на середовищі індикаторної культури біля колоній антилізоцимоактивних штамів *E. coli*. Кількісну оцінку антилізоцимної активності ізоляту проводили по максимальній концентрації інактивованого лізоциму.

Визначення адгезивних властивостей проведено згідно з рекомендаціями В.І. Бріліс (1986). Наявність адгезивних властивостей у

бактерій давно вважається підтвердженням їх патогенності і є важливою для оцінки біологічної активності симбіонта. Для цього використовували формалізовані еритроцити людини I (0) групи крові Rh<sup>+</sup>. На предметне скло наносили суспензію досліджуваної культури в буферному розчині, змішували з еритроцитами, після інкубації у вологій камері протягом 30 хв при 37 °С суміш фіксували і забарвлювали за Романовським–Гімзою. Реєстрацію наявності/відсутності адгезивних властивостей проводили за допомогою світлового мікроскопа. При оцінці адгезивних властивостей у *E. coli* враховували середній показник адгезії (СПА, середню кількість мікробів, що прикріпилися до одного еритроциту), коефіцієнт адгезії (КА, відсоток еритроцитів, які мають на своїй поверхні адгезивні мікроби) та індекс адгезивності мікроорганізмів (ІАМ, середня кількість мікробних клітин на одному еритроциті, що бере участь в адгезивному процесі). Критерії оцінки адгезивних властивостей: мікроорганізм вважали неадгезивним при ІАМ = 1,75; з низькою адгезивністю – при ІАМ = 1,76–2,5; з середньою – при ІАМ = 2,51–4,0; високоадгезивним – при ІАМ > 4,0.

**Результати.** З сечі жінок, хворих на хронічний рецидивуючий цистит, вилучено, ідентифіковано та досліджено 95 ізолятів (45 % від масиву виділених патогенів) бактерій роду *Escherichia*, які за культуральними, тинкторіальними та біохімічними ознаками віднесені до типового виду *E. coli*.

Оцінено ступінь бактеріурії: у кількості 10<sup>6</sup> мікроорганізмів на 1 мл *E. coli* вилучено у 5 хворих (5,3 %), 10<sup>5</sup> – у 25 (26,3 %), 10<sup>4</sup> – у 33 (34,7 %), 10<sup>3</sup> – у 22 (23,2 %), 10<sup>2</sup> – у 10 (10,5 %).

У 67 хворих *E. coli* вилучено в монокультурі (70,5 %), у 28 хворих – в асоціаціях: з *E. faecalis* (у 12 випадках/12,6 %), з *P. mirabilis* (у 8 випадках /8,5 %), з *S. epidermidis* (3/3,2 %), *K. pneumoniae* (3/3,2 %), *K. oxytoca* (1/1 %), *P. aeruginosa* (1/1 %).

З вилучених ізолятів *E. coli* β-гемоліз давало 59 штамів (62 %).

Всі культури *E. coli* диференційовано за антигенною структурою. Відомо, що до уропатогенних відносять переважно серотипи O1, O2, O4, O6, O7, O11, O18, O25, O75. В наших дослідженнях за полісахаридним

O-антигеном превалювали кишкові палички O1 (15 культур/15,8 %), O2 (14/14,7 %), O6 (13/13,7 %), O25 (9/9,5 %) і O9 (7/7,4 %) серотипів, у порядку зменшення зустрічались культури з антигенними детермінантами O4 (6/6,3 %), O75 (5/5,3 %), O22 (2/2,1 %). За даними Визначника бактерій Берджі, серотип O22 зустрічається переважно при бактерієміях. Означено наявність ентеротоксигенної O128 (1/1 %) та ентероінвазивної O144 (1/1 %) кишкових паличок. Не типувались O-сироватками стандартного набору 22 культури *E. coli* (23,2 %).

Визначено чутливість ізолятів кишкової палички до антибактеріальних препаратів (таблиця).

зоцимної активності і рівень адгезивності. Багаточисленні дослідження показали, що ступінь антилізоцимної активності корелює із вірулентністю і здатністю бактерій до внутрішньоклітинного паразитування і цей показник може використовуватися як маркер уропатогенності.

При дослідженні антилізоцимної активності виявлено високий рівень у 23 ізолятів *E. coli* (35,4 %), середній – у 35 (53,8 %) і низький – лише у 7 культур (10,8 %).

При дослідженні адгезивності встановлено, що високоадгезивних штамів було майже половину – 32 (49,2 %), середньоадгезивних – 19 (29,2 %), низькоадгезивних – 14 (21,6 %).

#### Чутливість *E. coli* до антибактеріальних препаратів

Препарат	Ізоляти					
	резистентні		помірно-чутливі		чутливі	
	абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	%
Ампіцилін	76	80,0±9,7	6	6,3±9,5	13	13,7±3,7
Амоксиклав	36	38,0±6,1	8	8,4±2,8	51	53,6±7,3
Ко-тримоксазол	58	61,0±7,8	12	12,6±9,7	25	26,3±9,7
Норфлуксацин	11	11,5±11,7	17	17,8±9,7	67	72,0±9,3
Ципрофлоксацин	11	11,5±11,7	13	13,6±9,7	71	74,7±9,7
Фосфоміцин	21	22,1±9,7	9	9,5±9,7	65	68,4±9,7
Нітрофурантоїн	28	29,4±9,7	7	7,3±9,7	60	63,15±9,7
Цефуроксим	33	34,7±9,7	11	11,5±9,7	51	53,7±9,7
Цефтриаксон	3	3,1±9,7	7	7,2±9,7	85	89,4±9,9
Гентаміцин	48	48,5±9,7	11	11,5±9,7	36	38,0±6,1
Амікацин	6	6,3±9,5	5	5,2±5,1	84	89,4±9,9

У 32 культур *E. coli* виявлено полірезистентність (резистентність до п'яти і більше антибактеріальних препаратів). У 10 ізолятів *E. coli*, резистентних і помірно-чутливих до цефтриаксону (цефалоспорину 3-го покоління), визначали продукцію БЛРС методом «подвійних дисків». У шести штамів виявлено наявність продукції БЛРС. У полірезистентних штамів *E. coli* та штамів продуцентів БЛРС визначали чутливість до меропенему (100 % чутливі) й азтреонаму (100 % чутливі).

У 65 хворих з бактеріурією нижче  $10^5$  визначено деякі фактори патогенності – антилі-

#### Висновки

1. У 67 % хворих з хронічними циститами бактеріурія виявляється на рівні формально нормативних показників – нижче  $10^5$  мікроорганізмів на 1 мл.

2. Серед збудників бактеріальних хронічних циститів у жінок превалює *E. coli* (45 % від загальної кількості збудників).

3. При хронічних циститах вилучено переважно уропатогенні серотипи *E. coli* O1, O2, O4, O6, O25, O75; однак зустрічаються серотипи O9, O22 та навіть ентеропатогенні O128 і O144.

4. Чутливість до Ко-тримоксазолу (препарату, який рекомендовано для лікування та профілактичного прийому при рецидивуючих циститах) дуже низька (чутливі лише 26 % штамів). Чутливість до нітрофурантоїну значно вища (63 % штамів). До ципрофлоксацину клінічні ізоляти кишкової палички достатньо чутливі. Із рекомендованих препаратів ефективними є цефтріаксон і амікацин; до меро-

пенему та азтреонаму чутливі 100 % досліджених ізолятів. У хворих з полірезистентністю до антибактеріальних препаратів з метою запобігання рецидивів і ускладнень циститу (пієлонефриту тощо) бажано проводити ерадикацію *E. coli* названими антибіотиками.

5. Збудникам хронічних циститів *E. coli* притаманні патогенні властивості: висока антилізоцимна активність і адгезивність.

### Список літератури

1. Клініко-мікробіологічна характеристика інфекцій сечової системи у жінок / Н. М. Степанова, А. В. Руденко, В. Т. Кругликов [та ін.] // Клин. антибиотикотерапия. – 2005. – Т. 38, № 6. – С. 33–35.
2. Зиновьев А. С. Эпителиальный барьер слизистых оболочек в динамике хронического воспаления / А. С. Зиновьев, А. В. Кононов // Архив патологии. – 1994. – Т. 56, № 6. – С. 32–37.
3. Иремашвили В. В. Инфекции мочевыводящих путей: современный взгляд на проблему / В. В. Иремашвили // РМЖ. – 2007. – Т. 15, № 29. – С. 43–47.
4. Кочетова Т. В. Активність лізоциму як критерій ефективності лікування хворих з хламідійними цервіцитами / Т. В. Кочетова // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2003. – № 2. – С. 91–93.
5. Кругликов В. Т. Диагностическое значение иммуноферментного анализа при урологических и гинекологических заболеваниях воспалительного генеза / В. Т. Кругликов, А. В. Руденко, О. В. Ромащенко // Лаб. диагностика. – 2000. – № 1. – С. 39–42.
6. Макарова М. А. Биологические свойства *E. coli* серологических групп O1, O144 и O157, регистрируемых как возбудители острых кишечных инфекций : автореф. дис. ... канд. мед. наук : спец. 03.00.07 «Микробиология» / М. А. Макарова. – СПб, 2007. – 21 с.
7. Маянский Д. Н. Хроническое воспаление : монография / Д. Н. Маянский. – М. : Медицина, 1991. – 272 с.
8. Рафальский В. В. Резистентность возбудителей амбулаторных инфекций мочевыводящих путей по данным многоцентровых микробиологических исследований UTIAP-I и UTIAP-II / В. В. Рафальский, Л. С. Страчунский, О. И. Кречикова // Урология. – 2004. – № 2. – С. 13–17.
9. Медицинская микробиология : монография / под ред. В. И. Покровского, О. К. Поздеева. – М. : ГЭОТАР-Медицина, 1999. – 1220 с.
10. Стан місцевого імунітету статевих та сечовивідних шляхів у жінок в нормі та за наявності патології / О. В. Ромащенко, А. В. Руденко, Л. О. Лебідь [та ін.] // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2005. – № 5. – С. 93–97.
11. Руденко А. В. Стан епітеліальних клітин слизових оболонок сечовивідних та статевих шляхів у хворих, що страждають на урогенітальні інфекції / А. В. Руденко, А. Є. Кузьменко // Лаб. діагностика. – 2006. – Т. 35, № 1. – С. 49–56.
12. Dieterle S. Urogenital infections in reproductive medicine / S. Dieterle // Andrologia. – 2008. – № 2. – P. 117–119.

### И.Ю. Кучма

#### БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭШЕРИХИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ РЕЦИДИВИРУЮЩИХ ЦИСТИТАХ У ЖЕНЩИН

Обследовано 210 женщин с хроническим бактериальным циститом. Проведено серотипирование *E. coli* и определена их чувствительность к антибактериальным средствам. Установлено что у 67 % больных с хроническими циститами бактериурия определяется на уровне формально нормативных показателей (ниже 10<sup>5</sup> КОЕ/мл). У *E. coli* – ведущего возбудителя хронических циститов – выявлено высокую антилизоцимную активность и адгезивность. При хронических циститах выделены преимущественно уропатогенные серотипы *E. coli*. Наличие патогенных свойств, прежде

всего антилизоцимной активности и высокой адгезивности *E. coli*, даже при бактериурии  $10^2$ – $10^3$ , свидетельствует об этиологической роли *E. coli* и требует эрадикации возбудителя.

**Ключевые слова:** хронические циститы, *E. coli*, чувствительность к антибактериальным средствам, антилизоцимная активность, адгезивность.

*I. Yu. Kuchma*

#### **BIOLOGICAL PROPERTIES OF ESHERICHIA, SELECTED AT CHRONIC CYSTITISES FOR WOMEN**

210 women are inspected with a chronic bacterial cystitis. The serotyping of *E. coli* is conducted and determination of their sensitiveness to antiinfectives facilities. It is showed, that in 67 % patients with chronic cystitises bacteriuria appears at level legalistically normative indexes (below  $10^5$  CFU/ml). In *E. coli* – exciter of chronic cystitises – certainly high antiliscim activity and adgesial activity. At chronic cystitises it is withdrawn mainly uropathogenic serotypes of *E. coli*. Presence of pathogenic properties, foremost to antiliscim activity and high adgesial of *E. coli*, even at  $10^2$ – $10^3$  testifies to the etiologic role of *E. coli* and needs the eradication of exciter.

**Key words:** chronic cystitises, *E. coli*, sensitiveness to the anti-infectives, antiliscim activity, adgesial activity.

*Поступила 03.04.12*