

## ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ESCHERICHIA COLI, ВЫДЕЛЕННОЙ ОТ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКОГО

О.П. Бочкарева<sup>1</sup>, Е.П. Красноженов<sup>1</sup>, В.Е. Гольдберг<sup>2</sup>, С.В. Дубовцева<sup>1</sup>,  
Д.М. Подоплекин<sup>2</sup>, Е.И. Симолина<sup>2</sup>

*Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск<sup>1</sup>  
ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН, г. Томск<sup>2</sup>  
634050, г. Томск, Московский тракт, 2, e-mail: kepavl@mail.ru<sup>1</sup>*

Низкий уровень функциональных свойств *E. coli*, выделенной из ротовой полости у больных раком легкого, указывает на нарушение симбиотических взаимоотношений эшерихий с макроорганизмом. Данные явления сопровождаются усилением биологических свойств кишечной палочки, обуславливающих паразитизм и патогенность бактерий.

**Ключевые слова:** рак легкого, кишечная палочка.

### FUNCTIONAL AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF ESCHERICHIA COLI ISOLATED FROM LUNG CANCER PATIENTS

O.P. Bochkareva<sup>1</sup>, E.P. Krasnozhenov<sup>1</sup>, V.E. Goldberg<sup>2</sup>, C.B. Dubovtseva<sup>1</sup>, D.M. Podoplekin<sup>2</sup>, E.I. Simolina<sup>2</sup>

*Siberian State Medical University, Tomsk<sup>1</sup>  
Cancer Research Institute, SB RAMS, Tomsk<sup>2</sup>  
2, Moskovsky tract, 634050-Tomsk, Russia, e-mail: kepavl@mail.ru<sup>1</sup>*

A low level of functional properties of *E. coli* isolated from the mouth cavity of lung cancer patients indicated the disturbed symbiotic relationship between *Escherichia* and macro-organism. This evidence is followed by intensification of biological properties of *E. coli*, causing the parasitism and bacterial pathogenicity.

**Key words:** lung cancer, *Escherichia coli*.

Разработка эффективных методов диагностики, лечения и профилактики инфекционных осложнений и дисбиотических расстройств является одной из актуальных проблем в онкологии. Изучается диагностическая эффективность тестов, которые могли бы быть использованы для оценки состояния микрофлоры – основного компонента колонизационной резистентности организма. Результаты ранее проведенных исследований позволили рекомендовать полость рта в качестве биотопа для оценки микрoэкологических нарушений в организме человека, что повышает доступность и достоверность бактериологического метода [1]. Однако для более точного и достоверного установления состояния дисбиоза недостаточно диагностировать «синдром избыточного роста» микроорганизмов, необходимы исследования функциональных и биологических свойств выделенных штаммов бактерий, нарушения которых могут также приводить к патофизиологическим проявлениям в организме больных. Согласно литературным данным, *Escheri-*

*chia coli* является частой причиной инфекционных осложнений у онкологических больных [4].

**Целью исследования** явилась оценка функциональных и биологических свойств кишечной палочки, выделенной из полости рта больных раком легкого (РЛ).

#### **Материал и методы**

Исследование проводилось на базе кафедры микробиологии и вирусологии Сибирского государственного медицинского университета и отделения химиотерапии ФГБУ «НИИ онкологии СО РАМН». Обследовали 13 мужчин и 6 женщин с морфологически подтвержденным диагнозом рак легкого II–IV стадий. Группу сравнения составили мужчины и женщины без онкологической патологии.

Материалом для исследования явились мазки со слизистой оболочки полости рта. Выделение культур бактерий и определение их биохимических свойств производили с помощью бактериологического метода, в соответствии с

приказом МЗ № 535 «Об унификации микробиологических методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (2006). Идентификацию выделенных культур проводили по морфологическим, тинкториальным, культуральным и ферментативным свойствам согласно руководству по систематике Берджи.

Для оценки подвижности кишечной палочки использовали темнопольную микроскопию. Исследовали хемотаксическую активность кишечной палочки [5]. Адгезивные свойства кишечной палочки определяли по методу В.И. Брилис с соавт. [2]. Антилизозимную активность бактерий оценивали чашечным методом [3]. Антагонизм выделенных культур кишечной палочки исследовали к 3 тест-штаммам: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Proteus mirabilis* ГКПМ 160140 46 и *Candida albicans* 254611 NCPF 3255 ATCC 2091. Определение чувствительности кишечной палочки к дезинфицирующим веществам оценивали методом разведений с высевом на питательную среду.

#### Результаты исследования

Высеваемость *E.coli* из ротовой полости больных раком легкого была несколько выше ( $2,1 \pm 0,12$ ), нежели в группе пациентов без онкологической патологии ( $1,1 \pm 0,10$ ). При изучении функциональных свойств кишечной палочки были выявлены изменения фенотипических признаков бактерий: неспособность ферментировать глюкозу с образованием газа (44%), вызывать гидролиз лактозы с образованием кислоты (57%), осуществлять протеолиз с выделением индола (50%); потеря подвижности (48%) (табл. 1).

Важной отличительной особенностью живых систем является их способность реагировать на изменения окружающей среды, которая проявля-

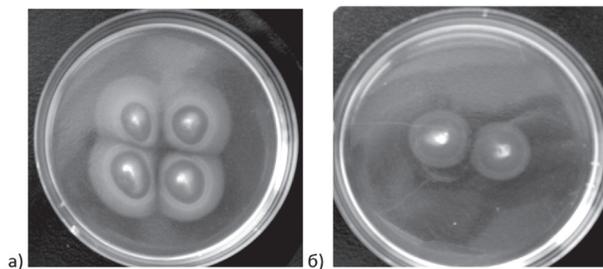


Рис. 1. Формирование хемотаксисной волны в культуре *E. coli*:  
а) культура, выделенная от пациентов группы сравнения;  
б) культура, выделенная от больных раком легкого

ется в форме таксиса – направленного движения особей по отношению к внешнему воздействию. Таксис является одним из условий возникновения бактериальных популяционных волн и, кроме того, оказывает влияние на формирование клеточных агрегаций наряду с такими факторами, как процессы метаболизма и внешние воздействия [5].

Результаты наблюдений за ростом популяции *E. coli* показали, что через 3 и 4 ч распространения микроорганизмов (хемотаксических волн) не наблюдалось. Через 6 ч вокруг места инокуляции культуры кишечной палочки появлялся мутный ореол с четко очерченными границами – хемотаксическая волна (рис. 1). Причем у колоний бактерий, выделенных из группы сравнения, диаметр ореола составил 3,9 см, а у культуры, высеянной из ротовой полости больных раком легкого, – 1,5 см. Кроме этого, было выявлено, что культуре бактерий, выделенной от больных раком легкого, требуется большее время для адаптации на питательной среде и начала движения, чем кишечной палочке, полученной у пациентов без онкологической патологии (табл. 2).

Антагонизм индигенных бактерий является одним из основных факторов колонизационной

Таблица 1

#### Показатели функциональной и биохимической активности кишечной палочки, выделенной от больных раком легкого

Показатель	Группа сравнения (n=18)	Больные РЛ (n=19)
Высеваемость из ротовой полости, IgКОЕ/г	$1,1 \pm 0,10$	$2,1 \pm 0,12$ $p < 0,05$
Глюкоза – образование газа	98 %	44 %
Лактоза – образование кислоты	92 %	57 %
Образование индола	98 %	50 %
Подвижность	81 %	48 %

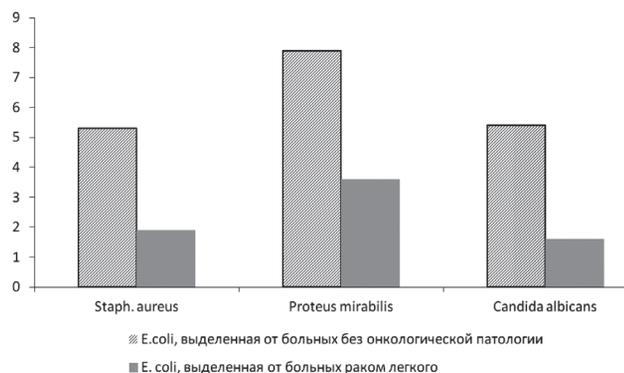


Рис. 2. Антагонистические свойства E. coli

резистентности организма. Анализ антагонистической активности культур кишечной палочки к тест-штаммам стафилококка, протей и грибка Кандида выявил более низкую степень антагонизма у E. coli, выделенной из полости рта больных раком легкого, – 1,9–3,6–1,6 мм, нежели у эшерихий в группе сравнения, – 5,3–7,9–5,4 мм соответственно (рис. 2).

Адгезия является ведущим механизмом формирования в организме биопленки на слизистых оболочках. Биопленкообразование у патогенных и условно-патогенных микроорганизмов играет важную роль в генезе внутрибольничных инфекций. Анализ результатов по определению адгезивного потенциала кишечной палочки показал, что индекс

адгезии микроорганизмов (ИАМ) E. coli, выделенной от больных раком легкого, –  $4,48 \pm 1,54$ , почти в 2 раза превышал таковые значения в группе сравнения –  $2,58 \pm 0,73$ . Эти различия в значительной степени зависели от среднего показателя адгезии – количества бактериальных клеток, адгезированных на одном эритроците, которые составили  $3,9 \pm 1,21$  у больных раком легкого и  $1,9 \pm 2,56$  – в группе сравнения. Менее значима была разница в коэффициентах участия эритроцитов (табл. 3).

Противостояние бактерий защитным факторам макроорганизма способствует их персистенции. Одним из важных факторов такого противодействия является синтез ингибитора лизоцима. Средний уровень антилизоцимной активности у штаммов E. coli, выделенных от больных раком легкого, составил  $5 \pm 0,7$ , в то время в культурах микроорганизмов, изолированных от неонкологических больных, этот показатель был в 2,5 раза ниже –  $2 \pm 0,7$ .

### Обсуждение

Резистентность к дезинфицирующим веществам и антисептикам является одной из характеристик госпитальных микроорганизмов, поэтому оценка их устойчивости позволяет прогнозировать распространение условно-патогенной флоры в стационаре. Нами исследована чувствительность кишечной палочки к хлоргексидину – широко применяемому в хирургии препарату с целью асептики и антисептики. При сравнении МПК (минимально

Таблица 2

### Изменение хемотаксисной активности E. coli, выделенной от больных раком легкого

Группы больных	Диаметр хемотаксической волны колоний E.coli, см					
	1 ч	2 ч	3,5 ч	4,5 ч	5,5 ч	7 ч
Группа сравнения	$0,2 \pm 0,01$	$0,2 \pm 0,02$	$0,3 \pm 0,01$	$2,5 \pm 0,04$	$3,8 \pm 0,03$	$4,2 \pm 0,03$
Больные РЛ	$0,2 \pm 0,02$	$0,2 \pm 0,01$	$0,2 \pm 0,02$	$0,7 \pm 0,02$	$1,4 \pm 0,01$	$1,6 \pm 0,04$

Таблица 3

### Биологические свойства E. coli, выделенной из полости рта больных раком легкого

Группы больных	Адгезивная активность			Антилизоцимная активность	Устойчивость к дезинфектантам (МПК)
	СПА	КУА	ИАМ		
Группа сравнения (n=10)	$1,9 \pm 0,56$	$76 \pm 8,1$	$2,58 \pm 0,73$	$2 \pm 0,65$	$0,13 \pm 0,05$
Больные РЛ (n=10)	$3,9 \pm 1,2$	$89 \pm 5,6$	$4,48 \pm 1,54$	$5 \pm 0,65$	$0,36 \pm 0,12$

Примечание: СПА – количество бактериальных клеток, адгезированное на одном эритроците; КУА – коэффициент участия эритроцитов; ИАМ – индекс адгезии микроорганизмов; МПК – минимально подавляющая концентрация.

подавляющей концентрации) антисептика для разных штаммов кишечной палочки можно сделать вывод, что популяция *E. coli*, выделенная у больных раком легкого, более устойчива к действию препарата, нежели эшерихии, высеянные у больных группы сравнения.

Таким образом, нами выявлены незначительные количественные изменения содержания *E. coli* в ротовой полости у больных раком легкого. В то же время отмечено снижение функциональных свойств эшерихий (биохимической активности, подвижности, способности к хемотаксису, антагонистических признаков), что указывает на нарушение симбиотических и синергических взаимоотношений бактерий с макроорганизмом. Данные явления сопровождаются усилением биологических свойств кишечной палочки (способности к адгезии, антилизоцимной активности, резистентности к дезинфектантам), обуславливающих паразитизм и патогенность бактерий. Можно утверждать, что для правильной интерпретации результатов бактериологического исследования, вскрытия патогенетических механизмов развития микробиологических нарушений и их коррекции необходимы комплексные исследования состояния резидентной микрофлоры разных биотопов организма пациента с учетом ее функциональных и биологических свойств.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бочкарева О.П., Красноженов Е.П., Гольдберг В.Е., Попова Н.О., Новикова Е.В., Дудникова Е.А., Подоплекин Д.М. Микрофлора полости рта как индикатор дисбиотических расстройств у больных раком молочной железы // Сибирский онкологический журнал. 2013. № 5. С. 24–26.
2. Брилис В.И., Брилене Т.А., Ленцнер Х.П., Ленцнер А.А. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов // Лабораторное дело. 1986. № 4. С. 210–212.
3. Бухарин О.В., Вальшев А.В., Елагина Е.Е. Антилизоцимная активность анаэробных бактерий фекальной микрофлоры человека // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2000. № 5. С. 20–22.
4. Грузина В.Д. Коммуникативные сигналы бактерий // Антибиотики и химиотерапия. 2003. Т. 48, № 10. С. 32–39.
5. Цыганов М.А., Бикташев В.Н., Бриндли Дж., Холден А.В., Иваницкий Г.Р. Волны в кросс-диффузионных системах – особый класс нелинейных волн // Успехи физических наук. 2007. Т. 117, № 3. С. 275–300.

Поступила 10.05.14

#### REFERENCES

1. Bochkareva O.P., Krasnozhenov E.P., Gol'dberg V.E., Popova N.O., Novikova E.V., Dudnikova E.A., Podoplekin D.M. Oral microflora as an indicator of disbiotic disorders in breast cancer patients // Sibirskij onkologicheskij zhurnal. 2013. № 5. P. 24–26. [in Russian]
2. Brilis V.I., Brilene T.A., Lencner H.P., Lencner A.A. Study techniques of adhesive process of microorganisms // Laboratornoe delo. 1986. № 4. P. 210–212. [in Russian]
3. Buharin O.V., Valyshev A.V., Elagina E.E.. Antilysozyme activity of anaerobic bacteria from fecal microflora in man // Zhurnal mikrobiologii, jepidemiologii i immunologii. 2000. № 5. P. 20–22. [in Russian]
4. Gruzina V.D. Bacteria communicative signals // Antibiotiki i himioterapija. 2003. Vol. 48 (10). P. 32–39. [in Russian]
5. Cyganov M.A., Biktashev V.N., Brindli Dzh., Holden A.V., Ivaniickij G.R. Waves in systems with cross-diffusion as a new class of nonlinear waves // Uspehi fizicheskikh nauk. 2007. Vol. 117 (3). P. 275–300. [in Russian]