

## ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА *ESCHERICHIA COLI*, ВЫДЕЛЕННОЙ ОТ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Бочкарева О.П.<sup>1</sup>, Красноженов Е.П.<sup>1</sup>, Гольдберг В.Е.<sup>2</sup>, Ахременко Я.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия, e-mail: kepavl@mail.ru

<sup>2</sup>ГУ «НИИ онкологии Томского научного центра СО РАМН», г. Томск, Россия

<sup>3</sup>Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, г. Якутск, Россия

---

Выявлено повышение высеваемости *E.coli* из ротовой полости онкологических больных с различной локализацией опухолевого процесса (рак молочной железы, рак легкого, рак толстого кишечника). Данные явления сопровождаются снижением функциональных свойств эшерихий (биохимической активности, подвижности, способности к хемотаксису, антагонистических признаков), что указывает на нарушение симбиотических и синергических взаимоотношений бактерий с макроорганизмом. Наряду с этим наблюдается усиление биологических свойств кишечной палочки (способности к адгезии, антилизосимной активности, резистентности к дезинфектантам), обуславливающих патогенность и персистенцию бактерий. Указанные изменения более выражены у больных колоректальным раком. Можно утверждать, что для правильной интерпретации результатов бактериологического исследования, вскрытия патогенетических механизмов развития микроэкологических нарушений и их коррекции необходимы комплексные исследования состояния резидентной микрофлоры организма пациента с учетом ее функциональных и биологических свойств.

---

Ключевые слова: рак молочной железы, рак легкого, колоректальный рак, кишечная палочка.

## FUNCTIONAL AND BIOLOGICAL PROPERTIES *ESCHERICHIA COLI* ISOLATED FROM CANCER PATIENTS

Bochkareva O.P.<sup>1</sup>, Krasnozhenov E.P.<sup>1</sup>, Goldberg V.E.<sup>2</sup>, Akhremenko Y.A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Siberian State Medical University, Tomsk, Russia, e-mail: kepavl@mail.ru;

<sup>2</sup>Cancer Research Institute, SB RAMS, Tomsk, Russia;

<sup>3</sup>North-Eastern Federal University named after M.K.Ammosov, Russia

---

The increase of *E.coli* inoculation of oral cancer patients with different localization of tumor (breast cancer, lung cancer, colon cancer). These phenomena are accompanied by a decrease in the functional properties of *E. coli* (biochemical activity, mobility, ability to chemotaxis, antagonistic traits), which indicates the violation of symbiotic and synergistic relationships with bacterial microorganism. Along with this, there has been increasing biological properties of *Escherichia coli* (capacity for adhesion, anti-lysozyme activity, resistance to disinfectants) that determine the pathogenicity and persistence of bacteria. These changes were more pronounced in patients with colorectal cancer. It can be argued that the correct interpretation of the results of bacteriological examination, autopsy pathogenetic mechanisms of development microecological disorders and their correction requires comprehensive research on the state of the resident microflora of the patient with regard to its functional and biological properties.

---

Keywords: breast cancer, lung cancer, colorectal 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 микроэкологических нарушений в организме человека, что повышает доступность и корректность забора исследуемого материала для проведения

бактериологического анализа [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, *Escherichia coli* является частой причиной инфекционных осложнений у онкологических пациентов [4].

**Целью исследования** явилась оценка функциональных и биологических свойств кишечной палочки, выделенной из полости рта онкологических больных.

### **Материал и методы**

Исследование проводилось на базе кафедры микробиологии и вирусологии Сибирского государственного медицинского университета и отделения химиотерапии ФГБУ «НИИ онкологии СО РАМН». Обследовали пациентов с морфологически подтвержденными диагнозами рак молочной железы (20), рак легкого (19) и колоректальный рак (18) 2–4 стадии. Группу сравнения составили мужчины и женщины без онкологической патологии (20).

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 клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (2006). Идентификацию выделенных культур проводили по морфологическим, тинкториальным, культуральным и ферментативным свойствам согласно руководству по систематике микроорганизмов Берджи.

Для оценки подвижности кишечной палочки использовали темнопольную микроскопию. Исследовали хемотаксисную активность [5] и адгезивные свойства кишечной палочки [2]. Антилизозимная активность бактерий оценивалась 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 осуществляли методом разведений с высевом на питательную среду.

### **Результаты и обсуждение**

Высеваемость *E. coli* из ротовой полости онкологических больных была выше, нежели в группе пациентов без онкологической патологии. Так, в группе больных раком толстого

кишечника она в 2 раза превышала содержание эшерихий в полости рта пациентов группы сравнения (табл. 1).

При изучении функциональных свойств кишечной палочки были выявлены следующие изменения фенотипических признаков бактерий: неспособность ферментировать глюкозу с образованием газа (41-44%), вызывать гидролиз лактозы с образованием кислоты (45-75%), осуществлять протеолиз с выделением индола (34-56%), потеря подвижности (48-65%).

Таблица 1

**Показатели функциональной и биохимической активности кишечной палочки, выделенной от онкологических больных**

Группы пациентов	Группа сравнения, n=20	Больные РМЖ, n=20	Больные РЛ, n=19	Больные КРР, n=18
Высеваемость из ротовой полости, lgКОЕ/г(M±m)	1,1±0,10	1,8±0,11 p<0,05	2,1±0,12 p<0,05	2,2±0,12 p<0,05
Глюкоза – образование газа (%)	98	43	44	41
Лактоза – образование кислоты (%)	92	75	57	45
Образование индола (%)	98	56	50	34
Подвижность (%)	81	65	48	56

Примечание. Здесь и в следующих таблицах: РМЖ – рак молочной железы; РЛ – рак легкого; КРР – колоректальный рак; p - уровень достоверности результатов между группой сравнения и группой больных.

Важной отличительной особенностью живых систем является их способность реагировать на изменения окружающей среды, которая проявляется 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 ч выраженного распространения микроорганизмов (хемотаксических волн) не наблюдалось. Через 5 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 3,8 см, а у культур, высеянных из ротовой полости больных РМЖ, РЛ и КРР, – 1,2-1,4-1,2 см соответственно.

Кроме этого, нами было выявлено, что культуре бактерий, выделенной от онкологических больных, требуется большее время для адаптации на питательной среде и

начала движения, чем кишечной палочке из группы пациентов без онкологической патологии (табл. 2).

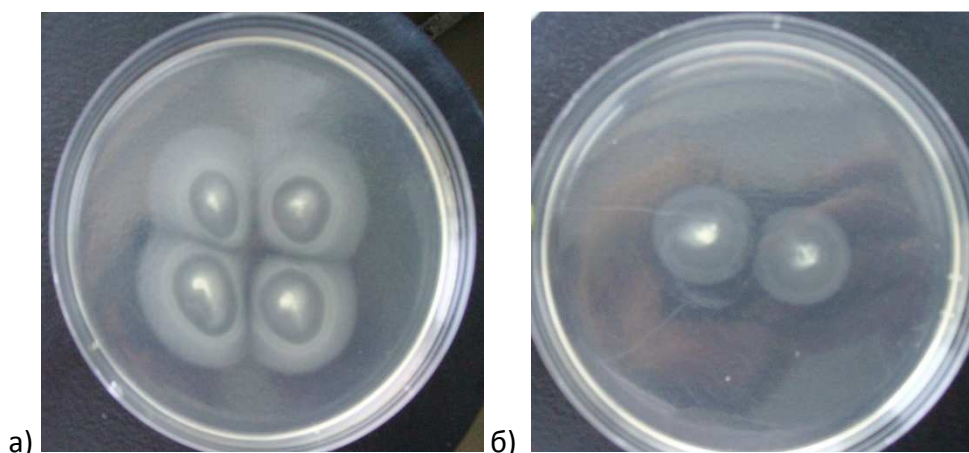


Рис. 1. Формирование хемотаксисной волны в культуре *E. coli*, выделенной от: а) пациентов группы сравнения; б) больных раком легкого

Таблица 2

**Изменение хемотаксисной активности *E. coli*, выделенной от онкологических больных**

Группы пациентов	Диаметр хемотаксической волны колоний <i>E. coli</i> , см					
	1 ч	2 ч	3 ч	4 ч	5 ч	7 ч
Группа сравнения n=20	0,2± 0,01	0,2±0,02	0,3±0,01	2,5±0,04	3,8±0,03	4,2±0,03
Больные РМЖ n=18	0,2±0,02 p>0,05	0,2±0,02 p>0,05	0,2±0,02 p<0,05	0,5±0,01 p<0,05	1,2±0,01 p<0,05	2,2±0,01 p<0,05
Больные РЛ n=19	0,2±0,02 p>0,05	0,2±0,01 p>0,05	0,2±0,02 p<0,05	0,7±0,02 p<0,05	1,4±0,01 p<0,05	1,6±0,04 p<0,05
Больные КРР n=20	0,2±0,02 p>0,05	0,2±0,02 p>0,05	0,2±0,01 p<0,05	0,6±0,01 p<0,05	1,2±0,01 p<0,05	1,2±0,01 p<0,05

Антагонизм индигенных бактерий является одним из основных факторов колонизационной резистентности организма. Оценка антагонистической активности культур кишечной палочки к тест-штаммам стафилококка, протейя и грибка Кандида выявила более низкую степень антагонизма у *E. coli*, выделенной из полости рта онкобольных. Так, у больных раком легкого она составляла 1,9-3,6-1,6 мм, в группе сравнения соответственно 5,3-7,9-5,4 мм (рис. 2).

Биопленкообразование у патогенных и условно-патогенных микроорганизмов играет важную роль в генезе внутрибольничных инфекций. Ведущим механизмом формирования в организме биопленки на слизистых оболочках является адгезия. Анализ результатов по определению адгезивного потенциала кишечной палочки показал, что индекс адгезии микроорганизмов (ИАМ) *E. coli*, выделенной от онкологических больных, в 2 раза

превышает таковые значения в группе сравнения ( $2,58 \pm 0,73$ ). Эти различия в значительной степени зависят от среднего показателя адгезии (СПА) – количества бактериальных клеток, адгезированных на одном эритроците ( $4,9 \pm 0,7$  – у больных раком молочной железы;  $1,9 \pm 0,5$  – в группе сравнения). Менее значима была разница в коэффициентах участия эритроцитов (КУА) (табл. 3).

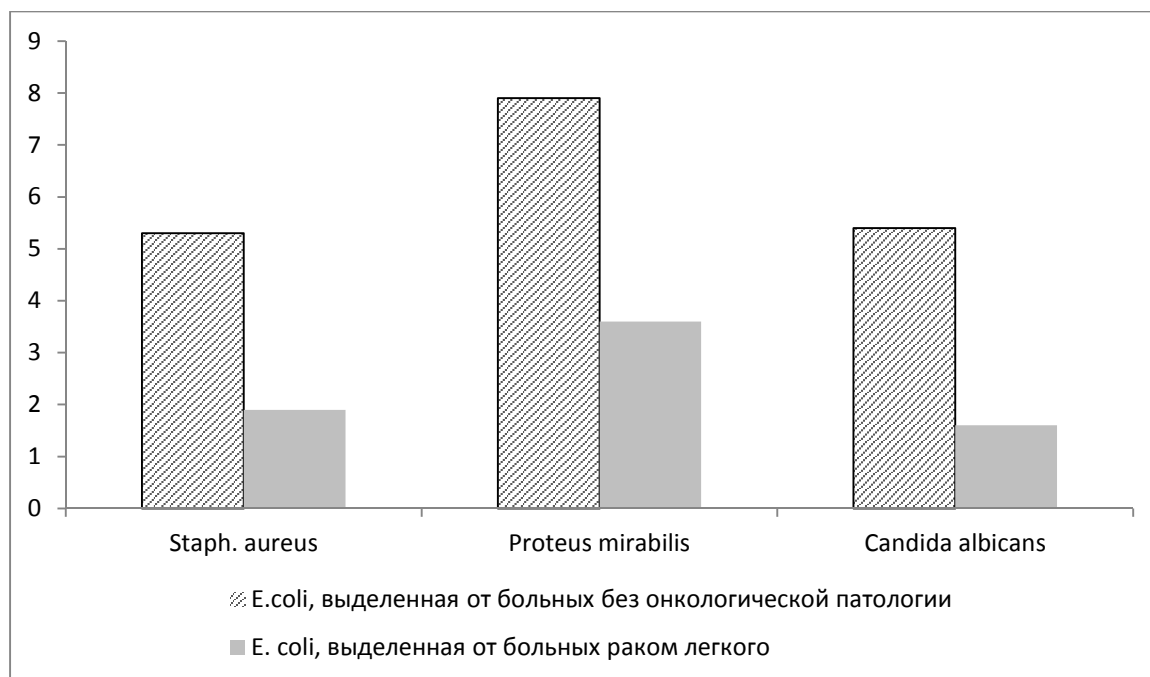


Рис. 2. Антагонистические свойства *E. coli*, выделенной от больных раком легкого (на оси ординат отображена зона подавления роста тест-культур в мм)

Таблица 3

**Биологические свойства *E. coli*, выделенной из полости рта онкологических больных**

	Адгезивная активность			Антилизоцимная активность (мм)	Устойчивость к хлоргексидину (МПК)
	СПА	КУА	ИАМ		
Группа сравнения n=20	$1,9 \pm 0,5$	$76 \pm 3,1$	$2,58 \pm 0,73$	$2 \pm 0,65$	$0,13 \pm 0,05$
Больные РМЖ n=18	$4,9 \pm 0,7$ p<0,05	$88 \pm 3,4$ p<0,05	$5,56 \pm 0,67$ p<0,05	$6 \pm 0,54$ p<0,05	$0,28 \pm 0,04$ p<0,05
Больные РЛ n=19	$4,9 \pm 1,2$ p<0,05	$89 \pm 3,6$ p<0,05	$5,48 \pm 0,54$ p>0,05	$5 \pm 0,65$ p<0,05	$0,36 \pm 0,12$ p<0,05
Больные КРР n=20	$4,4 \pm 1,1$ p<0,05	$88 \pm 3,6$ p<0,05	$5,45 \pm 0,43$ p<0,05	$6 \pm 0,56$ p<0,05	$0,44 \pm 0,13$ p<0,05

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

Противостояние бактерий защитным факторам макроорганизма способствует их персистенции. Одним из важных факторов такого противодействия является синтез ингибитора лизоцима. Средний уровень антилизоцимной активности (АЛА) у штаммов *E. coli*, выделенных от больных РМЖ, РЛ, РК, составлял соответственно  $6 \pm 0,54$  -  $5 \pm 0,65$  -  $6 \pm 0,56$ , в то время как культуры, изолированные от неонкологических больных, обладали АЛА в 2-3 раза ниже ( $2 \pm 0,7$ ).

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

Таким образом, нами выявлено повышение высеваемости *E. coli* из ротовой полости онкологических больных с различной локализацией опухолевого процесса (рак молочной железы, рак легкого, рак толстого кишечника). Данные явления сопровождаются снижением функциональных свойств эшерихий (биохимической активности, подвижности, способности к хемотаксису, антагонистических признаков), что указывает на нарушение симбиотических и синергических взаимоотношений бактерий с макроорганизмом. Наряду с этим наблюдается усиление биологических свойств кишечной палочки (способности к адгезии, антилизоцимной активности, резистентности к дезинфектантам), обуславливающих патогенность и персистенцию бактерий. Указанные изменения более выражены у больных колоректальным раком. Можно утверждать, что для правильной интерпретации результатов бактериологического исследования, вскрытия патогенетических механизмов развития микробиологических нарушений и их коррекции необходимы комплексные исследования состояния резидентной микрофлоры организма пациента с учетом ее функциональных и биологических свойств.

## Список литературы

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. Антилизосимная 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.

### Рецензенты:

Миллер С.В., д.м.н., ведущий научный сотрудник торако-абдоминального отделения ФГБНУ «Томский НИИ онкологии», г. Томск;

Захарова Ф.А., д.м.н., профессор кафедры нормальной и патологической физиологии Медицинского института СВФУ им. М.К. Аммосова, г. Якутск.