

УДК 579.61+547.83+615.11

**Ступінь впливу просторово розгалужених похідних фенолу на адгезивні і протилізоцимні властивості клінічно значущих патогенів**  
Руденко Л.М.

**Полтавська обласна санітарно-епідеміологічна станція**

На тлі екологічних та економічних негараздів в країні існує ціла низка проблем, пов'язаних з здоров'ям населення. Одна з найважливіших з них – інфекційні та гнійно-запальні захворювання, які за останнє десятиріччя не мають тенденції до зниження, а деякі з них (дифтерит, холера, туберкульоз, СНІД) проявляють себе ще більш агресивно. З року в рік підвищується рівень захворюваності на гнійно-запальні хвороби, обумовлені умовно патогенними мікроорганізмами [1,2]. Впровадження в медичну практику антибіотиків і сульфамідів в другій половині ХХ сторіччя на початку було вельми обнадійливим, та в подальшому навіть інтенсивне розширення їх арсеналу і поява препаратів самих нових поколінь не призвели до бажаних результатів і вирішення проблеми остаточно.

Одним з основних факторів, що обумовлюють зниження ефективності хіміопрепаратів є постійно прогресуюча резистентність збудників до них. Формування та інтенсивне розповсюдження в умовах лікувально-профілактичних закладів антибіотикостійких мікроорганізмів пов'язано також з підвищенням їх адаптаційних властивостей, адгезивності і вірулентності, конкурентноздатності, що підсумково надає їм селективну перевагу в мікробіоценозах [3,4]. Суттєвим негативним наслідком нераціональної хіміотерапії є відмічене вченими і практиками різке підвищення темпів еволюції патогенних і умовно-патогенних для людини мікробів, відчутна зміна етіологічної структури збудників гнійно-запальних захворювань, перш за все в сторону зниження долі облігатних патогенів і не уклінного розширення спектру та підвищення питомої ваги умовно-патогенних мікробів [5]. Звертають на себе увагу не тільки зміни в останнє десятиріччя етіологічної структури захворювань мікробного генезу, а й поступовий каскадний процес заміни бактеріальних збудників гнійно-запальних процесів в напрямку "гноєтворні коки → ентеробактерії і псевдомонади → аспорогенні анаероби". Вказане ставить нові перепони для хіміотерапевтів, оскільки збудники вищого щабелю еволюції генетично більш стійкі до протимікробних препаратів, та й арсенал факторів протидії антибіотикам, антисептикам і дезінфектантам в них значно ширший.

В умовах сучасної клініки суттєво знижуються можливості монопольного використання антибіотиків і нагально підвищується актуальність пошуку нових методологічних підступів, засобів та методів хіміотерапії. Вельми перспективним в останні десятиріччя виявився напрям в розробці антисептиків і дезінфектантів на основі загальновідомого та широковикористовуваного в практиці фенолу. Пошук нових більш ефективних та менш токсичних сполук в цьому

ряду органічних речовин продовжується. На основі фенолів при їх взаємодії з ефірами і карбоновими кислотами синтезовано 32 сполуки з підвищеними кислотними властивостями (при введенні в основну структуру фенолу електронноакцепторних замісників – NO<sub>2</sub>, COOH тощо). В попередніх дослідях доведено виражену їх протимікробну активність, визначено токсичність (V – VI група небезпечності). Вельми цікавим, на наш погляд, може бути вивчення впливу деяких з них на ступінь прояву мікробами властивостей щодо колонізації та адгезії. Вказане стало предметом виконаного експериментального дослідження.

Здатність збудників інфекційних та гнійно-запальних захворювань до колонізації в зоні первинного інфікування є одним з базисних факторів їх хвороботворності. Разом з схильністю до інвазії (вихід за межі зони первинної колонізації), властивістю продукувати токсини та персистувати в організмі господаря адгезія серед багатфакторних ознак хвороботворності патогену є чи не одним із визначальних, оскільки являє собою початковий етап взаємодії мікро- і макроорганізмів.

Для захворювань, збудники яких первинно локалізуються на слизових оболонках (а їх більшість), першим і необхідним їх завданням є подолання колонізаційної резистентності мукоїдної системи. Процес взаємодії звичайно розпочинається з адгезії, обумовленої вибірковою закріпленням бактерій на епітеліоцитах і/або муцинах, що покривають епітеліоцити. Деякі мікроорганізми (коринебактерії, бацили) активно підготовлюють зони адгезії за допомогою ферментів типу нейрамінідаз, оголюючи рецептори клітин, а також цитокінів, індукованої експресії епітеліальних рецепторів, сорбції мікроба-збудника на бактеріях, що вегетують в біотопі, взаємодії з розчинними білками (наприклад, фібронектином, вібропектином, тощо), які опосередковано сприяють фіксації патогену на клітинних рецепторах, матриці і з'єднуючій тканині. Спектр бактеріальних адгезинів вельми широкий, що визначає полівалентність феномену навіть в межах одного виду мікроорганізмів. Так, у грампозитивних бактерій перш за все процес обумовлюється взаємодією бактерій з мікрворсинками, білками і ліпополісахаридами зовнішньої мембрани клітин, у грамнегативних – з білками клітинної стінки, ліпотейхоєвими кислотами; у капсульних бактерій в процес адгезії включаються полісахариди капсул. Не дивлячись на те, що більшістю дослідників процес адгезії вивчався з використанням клітинних культур, що тільки умовно відображає характер взаємодії бактерій і організму в реальних ситуаціях, все ж сам факт особливої патогенетичної значущості адгезії сумнівів не викликає. Більш того, в ряді випадків адгезія виходить за рамки чисто фізико-хімічної взаємодії, обумовлюючи негативний вплив на функціональний стан клітин господаря і підготовку їх до сприйняття токсичних продуктів збудника хвороби.

**Матеріали і методи**

В роботі використано 7 похідних фенолу. Адгезивні властивості тест-мікробів означували за рівнем індексу адгезивності щодо еритроцитів людини, ентероцитів кролів та клітин лімфоїдної тканини мигдаликів [6,7]. Вплив похідних фенолу на протилізоцимну активність бактерій визначено за методиками О.В. Бухаріна і співавт. [8] в модифікації В.І. Білозерського. [9]. Результати досліджень статистично оброблено за В.Ю. Урбахом [10].

#### Результати та їх обговорення

В попередніх досліджах визначено природну ступінь адгезивності збудників гнійно-запальних процесів, вилучених в м.м. Полтаві, Сумах та Харкові в період 2003-2007р.р. (табл. 1).

Звертає на себе увагу досить високий індекс адгезивності по відношенню до еритроцитів людини клінічно значущих штамів клебсієл, золотистого стафілококу, нейсерій і кандид; по відношенню до ентероцитів кролів - ентеропатогенних кишкових паличок, ентеробактерів і протеїв; щодо клітин лімфоїдної тканини мигдаликів - клебсієл, псевдомонад, золотистого стафілококу, гноєродного стрептококу, менінгококів і кандид. Вказане свідчить за виражену

гетерогенність адгезивів бактерій в залежності від їх виду та від типу клітин – мішеней.

В подальших досліджах означено ступінь впливу похідних фенолу в суббактеріостатичних дозах (25% від мінімальної затримуючої рiст мікробів концентрації) на адгезивність збудників гнійно-запальних процесів (табл. 2). Достатньо виражено інгібували адгезивну активність похідні фенолу, які вміщують в ароматичному ядрі СН<sub>2</sub>СН (сполуки 3 і 5), дихлоретилен- (сполуки 11 і 16), дибромметилен- (сполука 24) та дийодметилен- (сполука 27) аміногрупи.

Таблиця 1. Ступінь адгезивності мікроорганізмів, вилучених при гнійно-запальних захворюваннях

| Штами мікроорганізмів               | Кількість штамів | Індекс адгезивності до |                    |                                      |
|-------------------------------------|------------------|------------------------|--------------------|--------------------------------------|
|                                     |                  | ерритроцитів людини    | ентероцитів кролів | клітин лімфоїдної тканини мигдаликів |
| <i>Escherichia coli</i>             | 7                | 3,64±0,07              | 4,38±0,14          | 1,57±0,06                            |
| <i>Enterobacter cloacae</i>         | 5                | 2,72±0,05              | 4,21±0,07          | 1,42±0,02                            |
| <i>Citrobacter freundii</i>         | 5                | 2,11 ±0,09             | 2,74±0,04          | 1,12±0,03                            |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>        | 8                | 5,84±0,16              | 1,32±0,07          | 4,18±0,09                            |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>       | 6                | 4,19±0,09              | 2,56±0,09          | 4,36±0,08                            |
| <i>Pseudomonas cepacia</i>          | 4                | 1,63±0,06              | 4,22±0,11          | 4,84±0,11                            |
| <i>Proteus mirabilis</i>            | 5                | 3,52±0,08              | 3,05±0,05          |                                      |
| <i>Micrococcus luteus</i>           | 7                | 1,74±0,07              | 1,34±0,04          | 3,94±0,06                            |
| <i>Staphylococcus aureus</i>        | 11               | 5,32±0,11              | 2,04±0,07          | 5,16±0,17                            |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i>   | 5                | 3,10±0,06              | 1,08±0,03          | 3,18±0,11                            |
| <i>Staphylococcus saprophyticus</i> | 5                | 2,48±0,03              | 1,37±0,06          | 3,02±0,08                            |
| <i>Streptococcus pyogenes</i>       | 7                | 5,41±0,17              | 2,16±0,09          | 5,27±0,19                            |
| <i>Neisseria meningitidis</i>       | 10               | 4,82±0,13              | 1,24±0,03          | 5,48±0,14                            |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i>        | 5                | 5,92±0,15              | 1,02±0,03          | 3,36±0,09                            |
| <i>Candida albicans</i>             | 12               | 4,65±0,09              | 1,48±0,05          | 4,46±0,11                            |

Примітка: до 1,75 – неадгезивні; 1,76 – 2,5 – низькоадгезивні; 2,51 - 4,0 - середньоадгезивні; > 4,0 - високоадгезивні.

Порівняно низьку нейтралізуючу адгезивну дію мікробів по критерію рівнів індексу адгезивності щодо еритроцитів людини проявила себе сполука 19, вміщуюча в кільці фенолу електроноакцепторний замісник СООН.

Загальновідомий зв'язок наявності і ступеню антилізоцимної дії мікробів з їх вірулентністю, процесами адгезії та колонізації, а також здатністю подовженої персистенції в організмі господаря. В умовах *in vitro* вивчено рівні антилізоцимної активності патогенів, що найбільш часто зустрічаються в якості збудників гнійно-запальних захворювань в сучасній клініці (табл. 3). Найбільш вираженою здатністю нейтралізувати лізоцим володіли псевдомонади, стафілококи, клебсієли, гемофіли, пептострептококи, протеї, бактероїди і лістерії. Наведені дані знаходяться в деякому протиріччі з результатами інших авторів [11] та в основному підтверджують сам факт наявності механізмів протидії лізоциму у переважній більшості патогенних та умовнопатогенних мікроорганізмів з селективними перевагами при існуванні і розвитку їх популяцій в чітко означених екологічних нішах.

Виходячи з поняття основного механізму дії лізоциму (розщеплення 1,4-глікозидних зв'язків в глікановій структурі полімерної молекули пептидоглікану клітинної стінки), з одного боку, та загальновідомих даних щодо механізмів протимікробної активності поверхнево-активних речовин (вплив на окремі компоненти клітинної стінки, цитоплазматичну мембрану і систему дегідрогеназ), - з другого, цілком логічно висловити припущення щодо можливості в принципі фенолових похідних в низьких дозах нейтралізувати протилізоцимну активність мікроорганізмів. В прямому досліді *in vitro* означено ступінь нейтралізації антилізоцимної дії деяких клінічно значущих збудників гнійно-запальних хвороб (табл.4).

Всі використані в досліді сполуки дещо в різній мірі проявили нейтралізуючу дію щодо протилізоцимної активності стафілококів, стрептококів, псевдо монад, клебсієл, менінгококів і кандид. Більш виражена інактивуюча дія притаманна сполукам під шифрами 11, 19 і 27 з фрагментами диетаноліл-, дихлоретилен- та диброметиленаміногруп відповідно.

Аналіз в комплексі одержаних даних про ступінь впливу просторово розгалужених похідних фенолу на адгезивну властивість збудників гнійно-запальних захворювань по відношенню до різних клітин-мішеней та їх антилізоцимну активність дозволяє зробити висновок про наявність у досліджуваних речовин протиадгезивних і антиколонізаційних властивостей. Вказане розкриває одну із сторін механізму протимікробної дії фенольних сполук і окреслює перспективу можливого застосування їх в низьких дозах з метою пониження селективних переваг клінічно значущих мікроорганізмів в умовах персистенції в мікробіоценозах різних екологічних ніш.

#### Список літератури

1.Бойко В.М., Палій Г.К. Мікробіологічна характеристика антимікробних препаратів, що застосовують при профілактиці та лікуванні нозокоміальних інфе-

кцій//Вісник Вінницького медичного університету. - 2005.-Т.9.-№1.- С.8-11.

2. Борисов И.В. Антибактериальная терапия при остеомиелите (систематизированный обзор) // Антибиотики и химиотерапия.- 2007.-Т.48.-№9.- С.37-40.

3. Гудзь О.В. Современные подходы к дезинфекции медицинских инструментов и эндоскопов // Провизор.-2006.-№11.-С.39-43.

4.Kramer A., Hingst V. Klinisch Antiseptik. Berlin, Heidelberg, 1998.-P.450-468

5. Mariap Mc.G., Kleger A.S. Toxyty of Staphylococceae alpha toxin for rabbit alveolar macrophages // Infect. and Immun.- 2005.-Vol.39.-N10.-P.439-444.

6. Брилене Т.А., Брилис В.И., Онищенко П.Н. О влиянии пенициллина на адгезивность лактобацилл // Тр. IV съезда ЭМИ.- Таллин.- 1992.- С.81-90.

7. Брилис В.И., Брилене Т.А., Ленцнер Х.П., Ленцнер А.А. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов // Лабораторное дело -1996.-№4.- С.210-212.

8. Бухарин О.В., Курлаев П.П., Чернова О.Л. Факторы персистенции стафилококков в прогнозировании течения гнойно-воспалительных заболеваний // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии.- 1998.- №5.-С.27-30.

9. Белозерский В.И. Модификация метода определения антилизоцимной активности штаммов менингококка // Микробиологический журнал.- 1999.-Т.6.-№3.-С.57-61.

10. Урбах В.Ю. Математическая статистика для биологов и медиков. М.: Медицина, 1968.- 429 с.

11. Шевчук Н.М. Порівняльне дослідження антимікробної активності і властивостей нових антисептичних препаратів : Автореф. дис. ...канд. мед. наук.- Харків, Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України ,2004.-25с.

**579.61+547.83+615.11**

#### **СТУПІНЬ ВПЛИВУ ПРОСТОРОВО РОЗГАЛУЖЕНИХ ПОХІДНИХ ФЕНОЛУ НА АДГЕЗИВНІ І ПРОТИЛІЗАЦІЙНІ ВЛАСТИВОСТІ КЛІНІЧНО ЗНАЧУЩИХ ПАТОГЕНІВ** **Руденко Л.М.**

В дослідях *in vitro* означено наявність у деяких просторово розгалужених фенолів в суббактеріостатичних дозах антиадгезивних і протилізаційних властивостей.

**Ключові слова:** похідні фенолу, колонізація, адгезія, лізоцим.

**УДК 579.61+547.83+615.11**

#### **СТЕПЕНЬ ВЛИЯНИЯ ПРОСТРАНСТВЕННО РАЗВЕТВЛЕННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФЕНОЛА НА АДГЕЗИВНЫЕ И ПРОТИВОЛИЗАЦИОННЫЕ СВОЙСТВА КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧАЩИХ ПАТОГЕНОВ**

**Руденко Л.М.**

В исследованиях *in vitro* определено наличие у некоторых пространственно разветвленных фенолов в

суббактериостатических дозах антиадгезивных и  
противолизацимных свойств.

**Ключевые слова:** производные фенола,  
колонизация, адгезия, лизоцим.

**Таблиця 2. Ступінь впливу просторово розгалужених похідних фенолу в суббактеріостатичних дозах на адгезивну дію деяких збудників гнійно-запальних захворювань (по рівням індексу адгезивності щодо еритроцитів людини)**

| Мікроорганізми        | Індекс адгезивності мікроорганізмів щодо еритроцитів людини |                       |                 |             |             |            |            |            |
|-----------------------|---|-----------------------|-----------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|
|                       | Контроль  | Шифр хімічної сполуки |                 |             |             |            |            |            |
|                       |   | 3                     | 5               | 11          | 16          | 19         | 24         | 27         |
| <i>E. coli</i>        | 3,64±0,07   | 1,59±0,07*            | 2,14±0,08*      | 1,32±0,04*  | 1,04±0,02** | 2,06±0,09  | 2,35±0,05  | 2,01±0,06  |
| <i>K. pneumoniae</i>  | 5,84±0,16   | 2,26±0,04*            | 1,35±0,04*<br>* | 1,16±0,06** | 1,22±0,04** | 2,32±0,11* | 3,71±0,06* | 2,15±0,07* |
| <i>P. aeruginosa</i>  | 4,19±0,09   | 2,38±0,07*            | 1,50±0,06*      | 1,84±0,04*  | 1,53±0,03*  | 2,96±0,05* | 3,14±0,07* | 2,06±0,04* |
| <i>P. mirabilis</i>   | 3,52±0,08   | 1,92±0,05*            | 1,69±0,06*      | 1,37±0,07*  | 1,06±0,07*  | 1,80±0,07  | 1,98±0,04  | 2,14±0,09  |
| <i>S. aureus</i>      | 5,32±0,11   | 2,48±0,09*            | 2,11±0,07*      | 1,68±0,05** | 1,48±0,05** | 3,14±0,09* | 3,76±0,02* | 2,38±0,07* |
| <i>S. pyogenes</i>    | 5,41±0,17   | 2,54±0,09*            | 2,30±0,05*      | 2,04±0,09*  | 1,91±0,05*  | 3,76±0,06* | 3,58±0,11* | 2,11±0,05  |
| <i>N. meningitis</i>  | 4,82±0,13   | 1,67±0,06*            | 2,07±0,08*      | 1,58±0,03*  | 1,64±0,08*  | 3,08±0,05* | 2,36±0,09  | 2,06±0,07* |
| <i>N. gonorrhoeae</i> | 5,92±0,15   | 1,38±0,04*<br>*       | 1,98±0,04*      | 2,02±0,07*  | 1,88±0,06*  | 3,54±0,08* | 3,94±0,08* | 2,37±0,09* |
| <i>C. albicans</i>    | 4,65±0,09   | 1,49±0,05*            | 2,04±0,07*      | 1,17±0,05*  | 1,24±0,07*  | 2,14±0,07* | 2,28±0,08* | 2,40±0,08  |

Примітка: \* - P<0,05  
\*\* - P<0,01

**Таблиця 3 Ступінь антилізоцимної активності мікроорганізмів, вилучених від хворих на гнійно-запальні захворювання**

| Мікроорганізми (група, рід) | Кількість шта-мів (n) | Усереднені дані нейтралізації лізоциму, мкг/мл (M±m) |
|-----------------------------|-----------------------|--|
| Група 4                     |                       |  |
| <i>Acinetobacter</i>        | 3                     | 1,6 ±0,07  |
| <i>Neisseria</i>            | 8                     | 3,9 ±0,1   |
| <i>Pseudomonas</i>          | 11                    | 6,5 ± 0,15   |
| <i>Bacteroides</i>          | 12                    | 4,5 ± 0,09   |
| Група 5                     |                       |  |
| <i>Enterobacter</i>         | 8                     | 3,6 ±0,12  |
| <i>Echerichia</i>           | 12                    | 1,5 ±0,07  |
| <i>Klebsiella</i>           | 9                     | 5,3 ±0,10  |
| <i>Proteus</i>              | 6                     | 4,6 ±0,12  |
| <i>Haemophilus</i>          | 11                    | 5,2 ±0,13  |
| Група 6                     |                       |  |
| <i>Fusobacterium</i>        | 7                     | 2,4 ± 0,09   |
| Група 17                    |                       |  |
| <i>Peptococcus</i>          | 5                     | 2,7 ± 0,08   |
| <i>Peptostreptococcus</i>   | 7                     | 5,3 ±0,11  |
| <i>Staphylococcus</i>       | 19                    | 5,6 ±0,14  |
| <i>Streptococcus</i>        | 14                    | 6,1 ±0,17  |
| Група 18                    |                       |  |
| <i>Bacillus</i>             | 6                     | 2,4 ±0,006   |
| Група 19                    |                       |  |
| <i>Listeria</i>             | 7                     | 4,8±0,12   |
| Група 20                    |                       |  |
| <i>Corynebacterium</i>      | 15                    | 1,8 ±0,03  |
| <i>Acetobacterium</i>       | 8                     | 2,7 ± 0,09   |

**Таблиця 4** Ступінь впливу похідних фенолу в суббактеріостатичних дозах на протилізоцимну активність клінічно значущих патогенів (n=5 кожного виду)

| Мік-<br>роорганізми | Рівень лізоциму, мкг /мл (M+m) |                       |           |            |           |            |           |            |
|---------------------|--------------------------------|-----------------------|-----------|------------|-----------|------------|-----------|------------|
|                     | Конт-<br>роль                  | Шифр хімічної сполуки |           |            |           |            |           |            |
|                     |                                | 3                     | 5         | 11         | 16        | 19         | 24        | 27         |
| P. aeruginosa       | 6,5±0,15                       | 3,0±0,05*             | 4,1±0,07  | 2,1±0,06** | 3,6±0,09  | 1,8±0,05** | 3,8±0,04  | 1,2±0,04** |
| N. meningitis       | 4,3±0,09                       | 2,1±0,04*             | 3,0±0,05  | 1,6±0,06** | 2,7±0,07  | 1,9±0,03*  | 2,4±0,06* | 1,0±0,06** |
| Kl. Pneumoniae      | 5,6±0,11                       | 2,4±0,07*             | 3,1±0,11  | 1,9±0,03** | 2,4±0,05* | 2,1±0,07*  | 2,7±0,05  | 1,8±0,03** |
| S. aurena           | 5,1±0,14                       | 1,9±0,04**            | 2,9±0,06* | 2,2±0,07*  | 2,8±0,07  | 1,9±0,05*  | 2,4±0,09* | 1,6±0,05** |
| S. pyogenes         | 6,1±0,17                       | 3,1±0,09*             | 4,6±0,09  | 1,8±0,11** | 3,4±0,06  | 2,4±0,03** | 2,8±0,06* | 2,3±0,07** |
| C. albicans         | 4,7±0,08                       | 1,6±0,03**            | 3,5±0,07  | 1,6±0,08** | 3,1±0,09  | 1,3±0,06** | 2,0±0,03* | 1,5±0,04** |

Примітка: \* -  $P < 0,05$   
\*\* -  $P < 0,01$

**UDC 579.61+547.83+615.11**  
**DEGREE OF INFLUENCE OF REGIONALLY**  
**BRANCHED OUT DERIVATIVES OF PHENOLUM**  
**ON ADHESIVE AND ANTILYSOZYME**  
**PROPERTIES CLINICALLY MEANING**  
**PATHOGENS**

**Rudenko L.M.**

In researches in vitro presence at some regionally branched out Phenolums in subbacteriostatic doses antiadhesive and antilysozyme properties is certain.

**Keywords:** derivatives of Phenolum, colonization, adhesion, a lysozyme.