

УДК 613.1:543.39:576.858

Н.Г. Малыш, В.Н. Голубничая, Н.Д. Чемич

Сумский государственный университет, г. Сумы

ул. Римского-Корсакова, 2, Сумы, 40007, Украина

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ, ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

*Преобладающие возбудители острых кишечных инфекций *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* и *Enterobacter cloacae*, характеризовались выраженной фенотипической гетерогенностью. У (85,0 ± 5,6) % исследованных штаммов *Klebsiella pneumoniae*, (30,0 ± 7,2) % *Enterobacter cloacae*, (20,0 ± 5,6) % *Staphylococcus aureus* выявлены факторы патогенности, обеспечивающие их способность к адгезии и персистенции (антиинтерфероновая и антикомплементарная активности).*

***Ключевые слова:** острые кишечные инфекции, условно-патогенные микроорганизмы, адгезия, персистенция.*

В настоящее время существенно изменилась структура возбудителей инфекционных заболеваний, что связано с постоянной эволюцией бактерий и вовлечением в патологические процессы условно-патогенных микроорганизмов (УПМ). Имея выраженную биологическую и экологическую пластичность, эти микроорганизмы способны к широкому распространению в окружающей среде и долговременной персистенции в организме человека [1, 10]. УПМ могут быть причиной многих заболеваний, возрастает их роль и как возбудителей острых кишечных инфекций (ОКИ). Большинство диарейных заболеваний вызываются УПМ семейства *Enterobacteriaceae*: *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens* и др. [4, 8, 12].

Факт выделения оппортунистических микроорганизмов из испражнений больных ОКИ, не является безусловным доказательством их этиологической роли. Расшифровка этиологии ОКИ должна базироваться на комплексе достоверных критериев. Доказано, что наличие в выделенных культурах микроорганизмов факторов патогенности, является более существенным диагностическим критерием, чем их количество [2, 5, 7, 9].

Цель работы – изучение факторов патогенности УПМ, возбудителей ОКИ.

Материалы и методы исследования

Используя данные отраслевой статистической отчетности за 2007-2011 гг., проведен ретроспективный эпидемиологический анализ заболеваемости населения Сумской области ОКИ.

Этиологическую структуру ОКИ изучали по материалам бактериологических и вирусологических лабораторий лечебно-профилактических учреждений г. Сумы и Сумской областной СЭС за 2007-2011 гг. Всего было выделено и идентифицировано 3233 штаммов УПМ. Материалом для бактериологических исследований служили испражнения пациентов. Забор материала от больных ОКИ, а также установление количественного содержания УПМ в исследованном материале проводили общепринятыми методами [13].

С целью изучения биологических свойств УПМ, исследовали 40 штаммов *K. pneumoniae*, 40 - *E. cloacae* и 50 - *S. aureus*. Адгезию УПМ определяли по методу В.И. Брилиса с соавт. [11] и оценивали в средних показателях адгезии (СПА). Адгезивность считали нулевой при СПА от 0 до 1,0, низкой - при СПА от 1,01 до 2,0, средней - от 2,01 до 4,0, высокой - более 4,0. Изучая уровень антиинтерфероновой активности (АИА) и антикомплементарной активности (АКА) в клинических изолятах, использовали препарат человеческого лейкоцитарного интерферона (ЗАТ «Биолек», г. Харьков) в разведениях (10, 5, 2, 1 у. е.) и комплемент (ЗАТ «Биолек», г. Харьков) в концентрациях 20, 10, 5 гем. ед / мл [3].

Для анализа эпидемиологической обстановки по ОКИ применяли аналитический прием эпидемиологического метода исследований [6]. Статистическую обработку эпидемиологических данных и результатов микробиологических исследований проводили с применением общепринятых параметрических и непараметрических критериев статистики [14].

Результаты и обсуждение

Анализ заболеваемости ОКИ в Сумской области за период 2007-2011 гг. выявил ее рост ($p < 0,05$). Показатели инцидентности увеличились от 159,8 на 100 тыс. нас. в 2007 г. до 193,9 и 180,4 в 2010 и 2011 гг. соответственно.

Изучение спектра микроорганизмов, выделяемых при диарейных заболеваниях, показало преобладание ($p < 0,01$) УПМ, которые обуславливали 51,6 % в 2007 г., 41,2 % в 2008; 55,8 % в 2009; 47,3 % и 60,8 % соответственно в 2010 и 2011 гг., всех ОКИ. Среди условно-патогенных возбудителей абсолютно доминировали представители семейства *Enterobacteriaceae* (около 85 %). Удельный вес клебсиеллезов в структуре ОКИ, вызванных УПМ составлял от 28,3 до 37,2 %, энтеробактериозов от 12,6 до 23,6 %, протеозов от 5,7 до 8,9 %, цитробактериозов от 5,9 до 9,8 %. *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Morganella morg.* вызывали более 10 % острых кишечных инфекций. Значимой (от 16,3 до 25,2 %) была доля кишечных гастроэнтеритов стафилококковой этиологии.

Показатели заболеваемости ОКИ, где этиологическими факторами были клебсиеллы, энтеробактерии и *Staphylococcus aureus* превышали уровни инцидентности сальмонеллезом (12,4 на 100 тыс. нас. в 2007 г., 14,2 в 2008 г., 17,5 в 2009 г., 17,4 в 2010 г., 16,4 в 2011 г.) и шигеллезом (3,8 на 100 тыс. нас. в 2007 г., 11,1 в 2008 г., 2,2 в 2009 г., 1,5 в 2010 г., 0,8 в 2011 г.). Кроме того, заболеваемость ОКИ, клебсиеллезной и энтеробактерной этиологии, за исследуемый период, увеличилась соответственно в 1,7 и 1,8 раза (рис. 1).

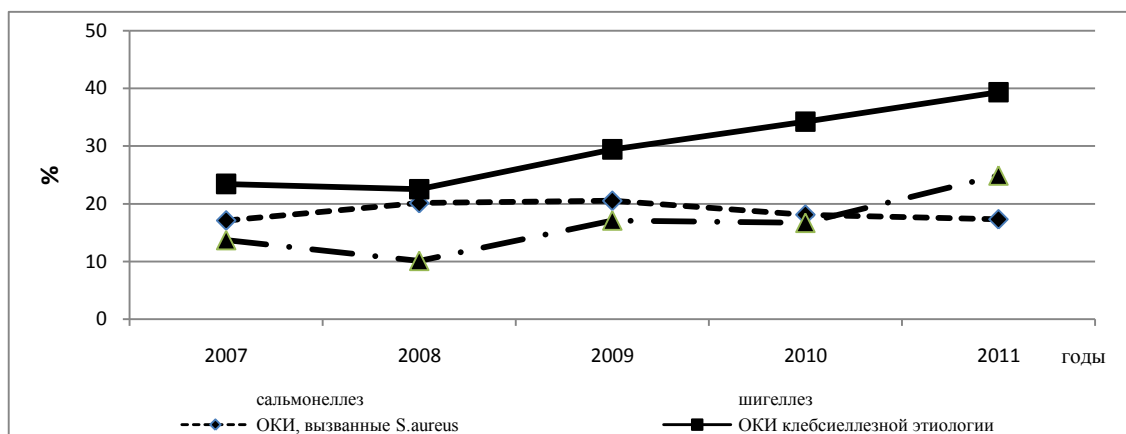


Рисунок 1. Уровни заболеваемости сальмонеллезом, шигеллезом, ОКИ, вызванными клебсиеллами, энтеробактерами и *S. aureus*

Таким образом, оппортунистические микроорганизмы в этиологической структуре возбудителей ОКИ в Сумской области, преобладали. Наиболее часто ($p < 0,05$) диарейные заболевания вызывали бактерии рода *Klebsiellae*.

По-видимому, сложившаяся ситуация объясняется тем, что в настоящее время наблюдается максимальное исключение непосредственного участия человека (потенциальный источник инфекции) в технологических цепочках приготовления продуктов питания, предъявляются высокие требования к качеству и безопасности как пищевых продуктов, так и питьевой воды, массово используются технологии пастеризации и консервации, что в конце концов и привело к сокращению числа классических бактериальных кишечных инфекций (прежде всего антропонозов) и увеличению количества острых диарейных заболеваний, вызванных УПМ.

Для развития инфекционного процесса необходимо, чтобы возбудители обладали факторами патогенности, при наличии которых они смогут не только реализовать свой патогенный потенциал, но и длительно персистировать в восприимчивом макроорганизме.

Адгезия микроорганизмов является первичным этапом в развитии инфекционного процесса и предшествует инвазии патогена. В результате проведенных нами исследований установлено, что $(85,0 \pm 5,6) \%$ штаммов *K.*

pneumoniae, $(35,0 \pm 7,5)$ % *E.cloacae*, $(36,0 \pm 6,8)$ % *S. aureus*, имели повышенную способность к адсорбции на клетках эпителиоцитов с последующей колонизацией кишечника. При этом, штаммов с высоким показателем адгезивности нами выявлено не было, средний - установлен у $(10,0 \pm 4,7)$ % клебсиелл, низкий – у $(75,0 \pm 6,8)$ % штаммов *K. pneumoniae*, $(35,0 \pm 7,5)$ % *E. cloacae* и $(36,0 \pm 6,8)$ % *S. aureus*.

Таким образом, подавляющему большинству клинических изолятов *K. pneumoniae* и больше трети *S. aureus* и *E. cloacae* присущи адгезивные свойства. В структуре адгезивных штаммов доминировали бактерии с низкой адгезивностью.

С целью изучения у патогенов факторов персистенции, направленных на деградацию механизмов резистентности хозяина, мы определяли АИА (способность бактерий инактивировать антибактериальный фрагмент препарата человеческого лейкоцитарного интерферона) доминирующих ОКИ.

Полученные нами данные свидетельствовали, что исследованным клиническим изолятам УПМ свойственна АИА. Наиболее высокий уровень АИА имели выделенные из фекалий штаммы *K. pneumoniae*. Рост индикаторного штамма *Corynebacterium xerosis* наблюдался при рабочем разведении интерферона - 5 у. е. в $(40,0 \pm 7,8)$ % случаев, 10 у. е. - $(60,0 \pm 7,8)$ %. У *E. cloacae* и *S. aureus* интенсивность экспрессии АИА была меньшей. Средние (5 у. е.) и низкие (1-2 у. е.) показатели АИА были присущи соответственно $(40,0 \pm 7,8)$ и $(15,0 \pm 5,6)$ % энтеробактеров. Высокий уровень АИА (10 у. е.) имели $(45,0 \pm 7,9)$ % штаммов *E. cloacae*. Распределение стафилококков выглядело следующим образом: низкие значения АИА (1-2 у. е.) – имели $(32,0 \pm 6,6)$ % штаммов, средние (5 у. е.) - $(30,0 \pm 6,5)$ %, высокие (10 у. е.) - $(36,0 \pm 6,8)$ % .

Наличие у бактериальных патогенов фенотипически проявляющейся резистентности к бактерицидным механизмам хозяина является универсальным средством увеличить шансы возбудителя на выживание,

персистирование и реализацию патогенного потенциала. С этих позиций сам феномен выживания бактерий в макроорганизме рассматривается как одна из важных частей в патогенезе инфекционного процесса, а их способность к инактивации комплемента, - существенной составляющей персистентных потенциалов патогенов.

С целью изучения способности УПМ, возбудителей ОКИ, инактивировать систему комплемента мы определяли их АКА. Нами установлено, что комплементактивными было 72,3 % исследованных штаммов. При этом *K. pneumoniae*, *S. aureus* и *E. cloacae* обладали разного уровня АКА. Самый высокий – у клинических изолятов *K. pneumoniae*. Инактивация комплемента (наблюдался рост индикаторного штамма *E. coli* 212) происходила при его конечной концентрации в агаре 10 гем. ед / мл в 100 % случаев исследований, а при концентрации 20 гем. ед / мл - в (55,0 ± 7,9) % случаев. Рост тест-культуры, вокруг исследуемых золотистых стафилококков и энтеробактерий, наблюдался при конечной концентрации комплемента 5 гем. ед / мл соответственно в (64,0 ± 6,8) и (55,0 ± 7,9) % случаев, 10 гем. ед / мл - в (20,0 ± 5,7) и (25,0 ± 6,8) %.

Таким образом, подавляющему большинству исследованных условно-патогенных бактерий, возбудителей ОКИ, свойственны АИА и АКА.

Кроме количественных и качественных значений указанных факторов патогенности УПМ, на наш взгляд, интересным был характер их экспрессии у разных штаммов. Оказалось, что все подвергнутые исследованию УПМ (100 %), обладали теми или иными изучаемыми факторами патогенности. АКА, АИА и адгезивные свойства имели (85,0 ± 5,6) % *K. pneumoniae*, (30,0 ± 7,2) % *E. cloacae*, (20,0 ± 5,6) % *S. aureus*. АИА и АКА – все 100 % исследованных штаммов клебсиелл, (64,0 ± 6,8) % стафилококков, (30,0 ± 7,2) % энтеробактеров. АИА и способность к адгезии имели (85,0±5,6) % *K. pneumoniae*, (50,0 ± 7,1) % *E. cloacae*, (36,0 ± 6,8) % *S. aureus*.

Итак, оценивая этиологию острых диарейных заболеваний, мы подтвердили тенденции, которые характерны для современных ОКИ: в

настоящее время преобладающими возбудителями являются УПМ ($p < 0,01$). Условно-патогенные бактерии (*K. pneumoniae*, *S. aureus*, *E. cloacae*), выделенные от больных ОКИ, характеризовались широким спектром факторов патогенности. АИА обладали 100 % исследованных клинических изолятов микроорганизмов, АКА - ($72,3 \pm 3,9$) %, адгезивной активностью - ($50,8 \pm 4,4$) %.

Удельный вес клебсиеллезов в этиологической структуре ОКИ был самым высоким и достигал 37,2 %. При этом, и исследованные штаммы *K. pneumoniae* характеризовались значимо более частой (по сравнению с *S. aureus* и *E. cloacae*) частотой встречаемости факторов патогенности. АИА, АКА и адгезивную активность клебсиеллы проявляли в 2,8 раза чаще, чем энтеробактеры и в 4,3 раза чаще, чем стафилококки.

Литература:

- 1 *Ахтариева А.А.* Иммунобиологические свойства термолабильного энтеротоксина бактерий рода *Enterobacter* в системе взаимодействия "патоген-хозяин": Автореф. дис. докт. мед. наук: 03.02.03. – Челябинск, 2010. – 45с.
- 2 *Бондаренко В.М., Лиходед В.Н.* Идеи И.И. Мечникова и современная микроэкология кишечника человека // Журнал микробиологии. – 2008. - №5. – С. 23-29.
- 3 *Брилис В.И., Брилис Т.А., Ланцнер Х.Г., Ланцнер А.А.* Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов // Лабораторное дело. – 1986. - №4. – С. 210-212.
- 4 *Возианова Ж.И.* Диареегенные кишечные палочки // Сучасні інфекції. – 2008. - №3. – С.4-9.
- 5 *Габидуллин З.Г., Ахтариева А.А., Туйгунов М.М.* Факторы патогенности бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, обеспечивающие выживание в организме хозяина // Медицинский вестник Башкортостана. – 2009. – Т. 4, №5. – С.86-94.

- 6 *Зуева Л.П., Яфаев Р.Х.* Эпидемиология // учебник. – Санкт-Петербург: Фолиант, 2005. – 748с.
- 7 *Егорова С.А., Макарова М.А., Кафтырева Л.А.* Некоторые аспекты дисбактериоза кишечника и чувствительности к антибактериальным препаратам представителей факультативной микрофлоры // Современные проблемы медицинской микробиологии: мат. XXXX Рос. науч. конф. «Хлопинские чтения» (СПб., 2007). – СПб., 2007. – С. 190-191.
- 8 *Малый В.П.* Общая характеристика острых кишечных инфекций // Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. - 2010. - №7 (36). – С. 14-32.
- 9 *Марков Ю.А., Беловежец Л.А., Баров М.Ю.* Возможности адаптации условно-патогенных энтеробактерий к различным температурам // Журнал микробиологии. – 2009. - №2. – С.15-19.
- 10 *Михайлова Л.В.* Роль условно-патогенных микроорганизмов в структуре заболеваемости острыми кишечными инфекциями в условиях крупного промышленного города // Вестник Российского государственного медицинского университета. - № 2 (61). - Москва, 2008. – С. 314.
- 11 Методические рекомендации Департамента госсанэпиднадзора Минздрава РФ "Диагностика и санация стафилококковых бактерионосителей". – Москва. – 2001. -14с.
- 12 *Полов'ян К.С., Чемич М.Д.* Гострі кишкові інфекції, викликані умовно патогенною мікрофлорою: перспективи досліджень // Сучасні інфекції. – 2010. - № 2. – С. 91-100.
- 13 Приказ МЗ СССР от 22.04.85 г. № 535 "Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений". – Москва. – 1985. – 126с.

14 Савилов Е.Д., Астафьев В.А., Жданова С.Н., Заруднева Е.А.
Эпидемиологический анализ. Методы статистической обработки
материала. – Новосибирск: Наука-Центр, 2011. – 156 с.

Н.Г. Малиш, В.М. Голубнича, М.Д. Чемич

Сумський державний університет, вул. Римського-Корсакова 2, Суми,
40007, Україна

БИОЛОГИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ УМОВНО-ПАТОГЕННИХ БАКТЕРІЙ, ЗБУДНИКІВ ГОСТРИХ КИШКОВИХ ІНФЕКЦІЙ

Резюме

Превалуючі збудники гострих кишкових інфекцій *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* і *Enterobacter cloacae*, характеризувалися вираженою фенотиповою гетерогенністю. У $(85,0 \pm 5,6)$ % досліджених штамів *Klebsiella pneumoniae*, $(30,0 \pm 7,2)$ % *Enterobacter cloacae*, $(20,0 \pm 5,6)$ % *Staphylococcus aureus* виявлені чинники патогенності, що забезпечують їх здатність до адгезії і персистенції (антиінтерферонова і антикомплементарна активність).

Ключові слова: гострі кишкові інфекції, умовно патогенні мікроорганізми, адгезія, персистенція.

N.G. Malysh, V.M. Golubnichaya, M.D. Chemych

Sumy state university, 2 Rymkogo-Korsakova St., Sumy, 40007, Ukraine

**BIOLOGICAL PROPERTIES of OPPORTUNISTIC
MICROORGANISMS, EXCITERS of ACUTE INTESTINAL INFECTIONS**

Summary

Predominating exciters of acute intestinal infections *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Enterobacter cloacae*, characterized the expressed to phenotypical heterogeneity. In $(85,0 \pm 5,6)\%$ investigational cultures *Klebsiella pneumoniae*, $(30,0 \pm 7,2) \%$ *Enterobacter cloacae*, $(20,0 \pm 5,6) \%$ *Staphylococcus aureus* pathogenicity factors identified to ensure their capacity for adhesion and persistence (antiinterferon and antikomplement activity).

Key words: acute intestinal infections, opportunistic microorganisms, adhesion, persistence.

Малыш, Н.Г. Биологические свойства условно-патогенных микроорганизмов, возбудителей острых кишечных инфекций [Текст] / Н.Г. Малыш, В.Н. Голубничая, Н.Д. Чемич // Мікробіологічний журнал. – 2013. – Том 75, № 6. – С. 36-41.