

## ОЦЕНКА ПЕРСИСТЕНТНОГО ПОТЕНЦИАЛА ДОМИНИРУЮЩИХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

<sup>1</sup>Голубничая В.Н., <sup>1</sup>Малыш Н.Г., <sup>1</sup>Чемич Н.Д., <sup>2</sup>Доан С.И.

<sup>1</sup>Сумский государственный университет, г. Сумы, Украина

<sup>2</sup>ГУ "Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В. Громашевского НАМН Украины", г. Киев, Украина

Структура возбудителей острых кишечных инфекций (ОКИ) в последнее время существенно изменилась. Чаще всего диарейные заболевания вызывают условно-патогенные микроорганизмы (УПМ) семейства *Enterobacteriaceae*: *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens* и др. [9, 10]. Эти микроорганизмы, имея выраженную биологическую и экологическую пластичность, широко распространены в окружающей среде и способны к персистенции в организме человека [3, 7].

Известно, что факт выделения условно-патогенных микроорганизмов из испражнений больных ОКИ, не является безусловным доказательством их этиологической роли. Верификация этиологии диарейных заболеваний должна базироваться на комплексе достоверных критериев. Установлено, что наличие у микроорганизмов факторов патогенности является более существенным диагностическим критерием, чем интенсивность осеменения ими исследуемого материала [1, 6].

Цель работы - определить распространенность, этиологическую структуру ОКИ, исследовать наличие и выраженность факторов патогенности у доминирующих возбудителей.

**Материалы и методы.** Для установления эпидемиологических особенностей ОКИ на территории Северо-Восточного региона Украины нами был проведен ретроспективный анализ заболеваемости населения Сумской области ОКИ за период 2006-2011 гг. с использованием данных отраслевой статистической отчетности (государственная статистическая отчетность ф. № 1, месячная, государственная статистическая отчетность ф. № 2) Сумской областной санитарно-эпидемиологической станции (СЭС).

Этиологическую структуру ОКИ изучали по отчетам бактериологических и вирусологических лабораторий лечебно-профилактических учреждений г. Сумы и

Сумской областной СЭС. Было выделено и идентифицировано 3233 штамма УПМ. Бактериологическое исследование фекалий, а также установление количественного содержания УПМ в материале проводили по общепринятым методикам [4].

С целью изучения биологических свойств УПМ, были исследованы 40 штаммов *K. pneumoniae*, 40 - *E. cloacae* и 50 - *Staphylococcus aureus*. Антилизозимную активность (АЛА) клинических изолятов микроорганизмов определяли по методике О. В. Бухарина и соавт. в диапазоне концентрации лизоцима (производство фармкомпания «Fisher Bio Reagents») от 5 до 25 мкг / мл (в качестве тест-культуры использовали штамм *Micrococcus lysodecticus* (ATCC 10240) [2]. Показатели антиинтерфероновой активности (АИА) УПМ исследовали с использованием человеческого лейкоцитарного интерферона (ЗАО «Биолек», г. Харьков) в разведениях - 10, 5, 2, 1 усл. ед., в присутствии *Corynebacterium xerosis* (NC 12078). Антикомплемментарную активность (АКА) определяли с использованием комплемента (ЗАО «Биолек», г. Харьков) в концентрациях - 20, 10, 5 гем. ед / мл (индикаторный штамм *Escherichia coli* ATCC (F-80) №25922 ) [5]. В работе применяли дескриптивные и аналитические приемы эпидемиологического метода исследований, статистические методы [8].

**Результаты и их обсуждение.** При проведении ретроспективного эпидемиологического анализа заболеваемости ОКИ населения Сумской области, нами установлена умеренная тенденция к ее росту (за исследуемый период  $T_{пр.ср.} = 1,3\%$ ) (рис. 1). Инцидентность в Украине, имела аналогичные изменения уровней ( $T_{пр.ср.} = 1,5\%$ ).

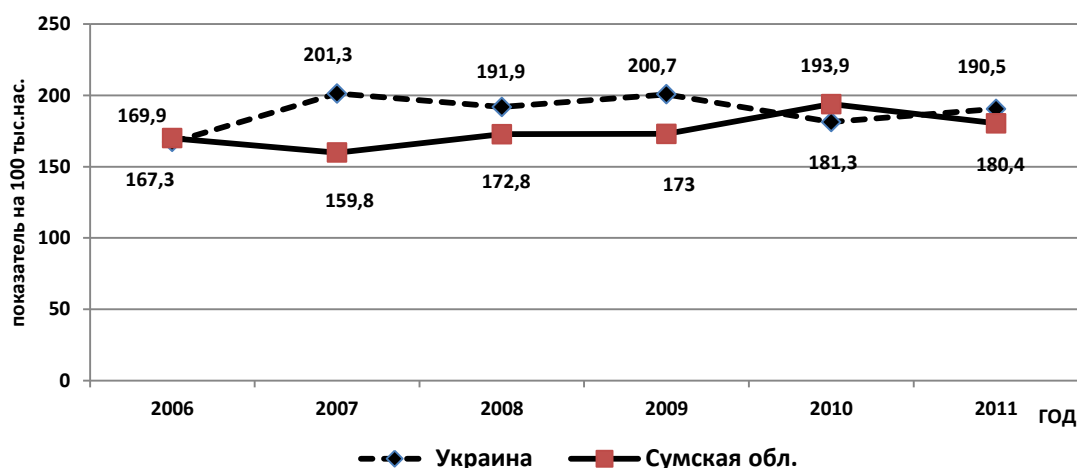


Рис. 1. Уровень заболеваемости ОКИ в Сумской области и Украине (2006-2011 гг.)

Удельный вес ОКИ, вызванных УПМ, в нозологической структуре острых диарейных заболеваний, был доминирующим и составлял в среднем 51,7 %, снижаясь до минимального значения 41, 2 % в 2008 г. и возрастая до максимального - 60,8 % в 2011 г. Спектр, УПМ, выделяемых от больных за последние 6 лет практически не менялся. Доля

клебсиеллезов находилась в пределах 28,3-37,2 %, стафилококкозов - 16,3-25,2 %, энтеробактериозов - 12,6-23,6 %. Меньшим был удельный вес протеозов (5,7-8,9 %) и цитробактериозов (5,9-9,8 %). *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Morganella morganii* вызвали более 10 % острых диарейных заболеваний.

Заболеваемость сальмонеллезом и шигеллезом была меньше чем ОКИ, вызванными бактериями родов *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Staphylococcus* ( $p < 0,01$ ) (табл. 1). К тому же, следует отметить, что за исследуемый период, инцидентность ОКИ, клебсиеллезной и энтеробактерной этиологии, возросла соответственно в 1,9 и 2,4 раза.

Таблица 1. Заболеваемость сальмонеллезом, шигеллезом и другими ОКИ (показатель на 100 тыс. нас.) в Сумской области

Годы	Сальмонеллез	Шигеллез	ОКИ		
			клебсиеллезной этиологии	стафилококковой этиологии	энтеробактерной этиологии
2006	15,8	3,9	20,8	17,6	10,2
2007	12,4	3,8	23,4	17,1	13,7
2008	14,2	11,1	22,5	20,1	10,1
2009	17,5	2,2	29,4	20,5	17,1
2010	17,4	1,5	34,2	18,1	16,7
2011	16,4	0,8	39,3	17,3	24,9

Как видим, глобализация индустрии питания, высокие требования к качеству и безопасности пищевых продуктов и питьевой воды, массовое использование технологий пастеризации и консервации и т.п., привели к значительному изменению структуры инфекционных заболеваний, передающихся алиментарным путем. Человек, как потенциальный источник инфекции, на сегодняшний день максимально исключен из технологической цепочки приготовления пищевых продуктов. Одним из следствий этих изменений стало, в частности, значительное сокращение числа классических бактериальных кишечных инфекций в общей структуре верифицированных ОКИ. Образовавшуюся «экологическую нишу» достаточно быстро заполнили острые кишечные заболевания, возбудители которых высокоустойчивы во внешней среде, не столь требовательны к факторам передачи и способны к реализации инфекции через самые разнообразные механизмы и пути заражения.

Анализ динамики заболеваемости по региону (2006-2011 гг.) в сравнении с показателями инцидентности по Украине в целом, выявил однотипность кривых, что свидетельствовало об общих закономерностях действующих на территориях с

различными социально-экономическими и природными условиями, что скорее всего являлось отражением внутренних, а не внешних влияний. Очевидно, выявленные тенденции были обусловлены изменениями элементов, которые происходят в современных условиях, в самой паразитарной системе. К тому же, под влиянием антропогенных факторов снижается эффективность функционирования иммунной системы, увеличивается количество лиц с различными формами иммунодефицитов, что также способствует изменению эпидемического процесса ОКИ.

Анализ сезонного распределения заболеваемости различными нозологическими формами ОКИ позволяет своевременно установить время риска их максимального распространения, что необходимо для своевременного усиления профилактических и противоэпидемических мероприятий. Инцидентность ОКИ, вызванных УПМ, не укладывалась в классическую сезонность острых диарейных инфекций. Заболеваемость ОКИ клебсиеллезной и энтеробактерной этиологии достигала своего максимума в весенне-летний период (рис. 2).

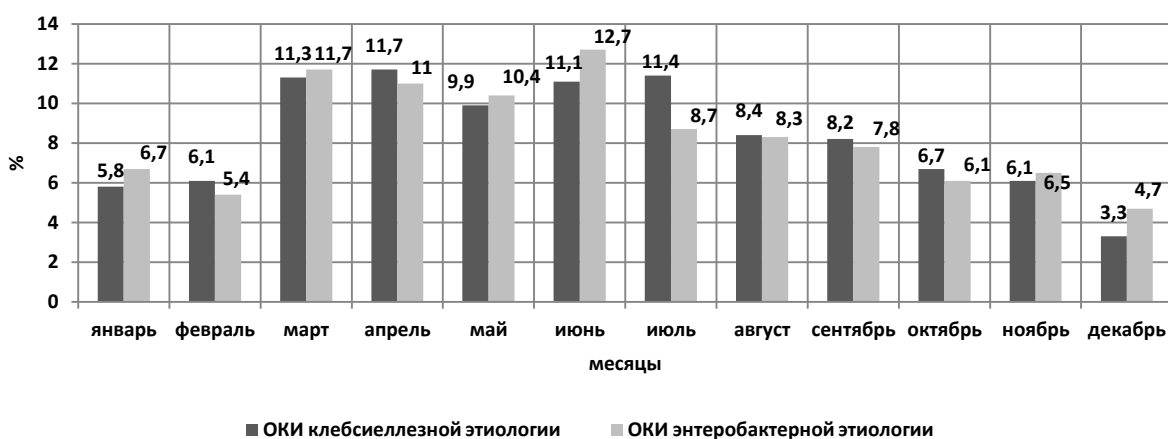


Рис. 2. Сезонность ОКИ клебсиеллезной и энтеробактерной этиологии (2006-2011 гг.)

Инцидентность стафилококковой этиологии имела дискретный характер. Наиболее часто такие случаи заболеваний регистрировали в феврале (10,9 %), апреле (14,6 %), июне (12,1 %) и августе – (9,2 %).

То есть, эволюция коснулась не только этиологической структуры ОКИ, но и характера их помесячного распределения.

При этом, следует отметить, что вышеупомянутое годовое распределение инцидентности острых диарейных заболеваний, косвенно указывало также и на их полиэтиологичную природу, поскольку рост заболеваемости в весенне-летний период характерен для ОКИ вирусно-бактериальной этиологии. В условиях практического

здравоохранения в Украине для установления этиологии ОКИ в основном используется только бактериологический метод. Широкое внедрение методик направленных на выявление вирусов позволило бы установить долю вирусных диарей в структуре диарейных инфекций, выявить факторы способствующие их распространению, и при этом, безусловно, усовершенствовать ныне существующие профилактические и противоэпидемические мероприятия.

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 макроорганизме.

Нами было установлено, что среди исследованных микроорганизмов все 100 % штаммов *E. cloacae*,  $85,0 \pm 5,6$  % *K. pneumoniae*,  $76,0 \pm 6,0$  % *S. aureus* были способны инактивировать лизоцим в диапазоне от 5 до 25 мкг / мл. Наиболее высокий уровень ( $p < 0,05$ ) АЛА был присущ энтеробактерам  $90,0 \pm 4,7$  % - 25 мкг / мл,  $10,0 \pm 4,7$  % - 20 мкг / мл). У штаммов *K. pneumoniae* и *S. aureus* экспрессия этого признака была меньше. При концентрации лизоцима в среде 25 мкг / мл, АЛА проявляли  $80,0 \pm 6,3$  % штаммов клебсиелл и  $52,0 \pm 7,1$  % золотистых стафилококков. У  $15,0 \pm 5,6$  % штаммов *K. pneumoniae* и  $24,0 \pm 6,0$  % *S. aureus* данный фактор персистенции не был выявлен.

Исследованным клиническим изолятам УППМ была присуща также АИА. Самый высокий уровень АИА обнаружен у *K. pneumoniae*. При концентрации в среде интерферона в количестве 1, 2, 5 усл. ед. вокруг всех исследуемых штаммов клебсиелл наблюдался рост индикаторного штамма *Corynebacterium xerosis*, а при рабочем разведении интерферона 10 усл. ед. – у  $60,0 \pm 7,8$  % штаммов. Уровень АИА у *S. aureus* и *E. cloacae* был достоверно меньшим ( $p < 0,05$ ) по сравнению с таковым у *K. pneumoniae*.

С целью изучения способности инактивировать систему комплемента, мы определяли наличие АКА у возбудителей ОКИ. Нами установлено, что 100 % исследованных изолятов *K. pneumoniae* инактивировали комплемент в концентрации 5 и 10 гем. ед / мл, а  $55,0 \pm 7,9$  % – в концентрации 20 гем. ед / мл. Вокруг исследуемых золотистых стафилококков и энтеробактеров рост тест-культуры наблюдался при концентрации комплемента 5 гем. ед / мл соответственно у  $64,0 \pm 6,8$  и  $55,0 \pm 7,9$  % штаммов, 10 гем. ед / мл у –  $20,0 \pm 5,7$  и  $25,0 \pm 6,8$  % штаммов.

Проведенные нами исследования показали, что штаммы *K. pneumoniae*, *S. aureus* и *E. cloacae*, выделенные из фекалий больных ОКИ, характеризовались широким спектром факторов персистентности. АИА проявляли 100 % исследованных клинических изолятов микроорганизмов, АЛА –  $87,3 \pm 2,9$  %, АКА –  $72,3 \pm 3,9$  %. 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 со *S. aureus* и *E. cloacae*) встречаемостью факторов патогенности. В тоже время, возбудители ОКИ (*K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *S. aureus*) были неоднородными, по частоте встречаемости и интенсивности факторов персистенции. Таким образом, исследованные нами факторы персистенции (АЛА, АИА, АКА) не являются специфичными и достаточными для того, чтобы вызывать развитие патологического процесса в кишечнике человека, однако, при этом они могут быть использованы в качестве эпидемиологических маркеров для дифференциации патогенности микроорганизмов.

**Выводы.** Проведенные нами исследования показали, что штаммы *K. pneumoniae*, *S. aureus* и *E. cloacae*, выделенные из фекалий больных ОКИ, характеризовались широким спектром факторов персистентности. АИА проявляли 100 % исследованных клинических изолятов микроорганизмов, АЛА –  $87,3 \pm 2,9$  %, АКА –  $72,3 \pm 3,9$  %. 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 со *S. aureus* и *E. cloacae*) встречаемостью факторов патогенности. В тоже время, возбудители ОКИ (*K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *S. aureus*) были неоднородными, по частоте встречаемости и интенсивности факторов персистенции. Таким образом, исследованные нами факторы персистенции (АЛА, АИА, АКА) не являются специфичными и достаточными для того, чтобы вызывать развитие патологического процесса в кишечнике человека, однако, при этом они могут быть использованы в качестве эпидемиологических маркеров для дифференциации патогенности микроорганизмов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Анганова Е.В. Условно-патогенные энтеробактерии: доминирующие популяции, биологические свойства, медико-экологическая значимость: Автореф. дис. д-ра мед. наук. Иркутск, 2012.
2. Бухарин О.В., Усвяцов Б.Я., Малышкин А.П. Метод определения антилизотимной активности микроорганизмов. Микробиология. 1984; 27: 27-28.
3. 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: 86-94.
4. Диагностика, профилактика и лечение дисбактериозов кишечника. Метод. реком. МЗ СССР. 10-11/4. М. 1991.

5. Диагностика и санация стафилококковых бактерионосителей. Метод. реком. Департамента госсанэпиднадзора Минздрава РФ, М., 2001.
6. Нилова Л.Ю. Характеристика условно-патогенных микроорганизмов, выделенных при диагностике дисбактериоза толстого кишечника: Автореф. дис. канд. мед. наук. СПб., 2009.
7. Михайлова Л.В. Биология условно-патогенных микроорганизмов, вызывающих кишечные инфекции: Автореф. дис. канд. мед. наук. Волгоград, 2011.
8. Савилов Е.Д., Астафьев В.А., Жданова С.Н. Эпидемиологический анализ. Методы статистической обработки материала. Новосибирск, Наука-Центр, 2011.
9. Малый В.П. Общая характеристика острых кишечных инфекций. Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. 2010; 7 (36): 14-32.
10. Чемич М.Д., Малиш Н.Г., Полов'ян К.С., Зайцева Г.С. Захворюваність і етіологічна структура гострих кишкових інфекцій на сучасному етапі. Інфекційні хвороби. 2012; 3(69): 36-42.

Оценка персистентного потенциала доминирующих возбудителей острых кишечных инфекций / Н.Г. Малыш, В.Н. Голубничая, Н.Д. Чемич, С.И. Доан // Georgian Medical News. – 2013. - №5(218). – С.54-58.