

УДК 616.34-022-036.12-008.87:579.253.4

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

## **НЕКОТОРЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ДОМИНИРУЮЩИХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ**

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

*<sup>2</sup>ГУ "Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В.*

*Громашевского НАМН Украины", г. Киев*

На современном этапе наблюдается активизация условно-патогенных микроорганизмов (УПМ). Бактерии данной группы, с одной стороны, являются представителями нормальной микрофлоры человека, а с другой, возбудителями инфекционных заболеваний [1, 3, 4]. Доля острых кишечных инфекций (ОКИ), вызванных УПМ, в общей структуре ОКИ установленной этиологии, по данным разных авторов, варьирует от 55,3 до 98,6 % [2, 16].

Согласно действующим нормативным документам, диагностика диарейных инфекций базируется на клинических и лабораторных данных, включающих идентификацию и количественную характеристику выделенных микроорганизмов. Исследователи считают, что при установлении этиологической значимости УПМ, необходимо учитывать другие критерии - наличие факторов патогенности [6, 7, 11].

Недостаточная изученность и незначительное количество работ, посвященных исследованию эпидемиологии и биологических свойств возбудителей ОКИ, обусловили выполнение данной работы.

**Цель работы** – установить этиологическую структуру и частоту заболеваемости острыми диарейными инфекциями в Северо-Восточном регионе Украины, определить распространенность у доминирующих возбудителей факторов, способствующих их патогенности и персистенции.

## Материалы и методы исследования

Используя данные отраслевой статистической отчетности ГУ Госсанэпидслужбы в Сумской области проведен ретроспективный эпидемиологический анализ заболеваемости населения Сумской области ОКИ в 2003 – 2012 гг.

Этиологическую структуру диарейных инфекций изучали по отчетам бактериологических и вирусологических лабораторий лечебно- профилактических учреждений г. Сумы и ГУ "Сумский областной лабораторный центр Госсанэпидслужбы Украины". Из фекалий больных ОКИ было выделено и идентифицировано 6518 штаммов УПМ .

С целью изучения биологических свойств, исследовали 130 штаммов УПМ (40 образцов культур - *K. pneumoniae*, 40 - *E. cloacae* и 50 - *S. aureus*), выделенных из фекалий больных диарейными инфекциями и 128 штаммов (*46 - K. pneumoniae*, 38 - *E. cloacae*, 44 - *S. aureus*) изолированных из испражнений лиц контрольной группы (пациенты, без проявлений ОКИ, которые находились на лечении в Сумской областной детской клинической больнице). Забор материала от пациентов (в течении 2011-2012 гг.), а также установление количественного содержания УПМ в исследованном материале, проводили используя стандартный комплекс микробиологических методов [14]. Первичный посев материала и идентификацию изолятов осуществляли общепринятыми бактериологическими методами, согласно методическим указаниям [13] .

Адгезию определяли по методу В.И. Брилиса с соавт. [5] 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 .

Уровень антиинтерфероновой активности (АИА) и антикомплементарной активности (АКА) в клинических изолятах микроорганизмов исследовали с использованием человеческого лейкоцитарного интерферона (ЗАО "Биолек", г. Харьков) в разведениях – 10; 5; 2; 1 усл. ед. в присутствии *Corynebacterium xerosis* (NC 12078) и комплемента (ЗАО "Биолек", г. Харьков) в концентрациях – 20; 10; 5 гем. ед/мл (индикаторный штамм *Escherichia coli* ATCC (F -80) № 25922) [10].

Антилизосимную активность (АЛА) определяли по методике А.В. Бухарина с соавт. в диапазоне концентрации лизоцима (производство фармкомпания "Fisher BioReagents") от 5 до 25 мкг/мл, используя в качестве тест - культуры *Micrococcus lysodecticus* (ATCC 10240) [9].

В работе использовали дескриптивные и аналитические приемы эпидемиологического метода исследований. Статистическую обработку полученных результатов проводили с применением общепринятых параметрических (частота инцидентности, показатель среднего темпа снижения ( $T_{\text{сн.}}^{\text{cp.}}$ ) / прироста ( $T_{\text{пр.}}^{\text{cp.}}$ ) заболеваемости, коэффициент корреляции, средняя ошибка коэффициента корреляции, коэффициент вероятности) критериев статистики [15]. В качестве минимально допустимого использовали уровень значимости ( $p < 0,05$ ).

### Результаты исследования и их обсуждение

При проведении эпидемиологического анализа заболеваемости острыми диарейными инфекциями, нами было установлено, что 2003-2012 гг. уровни заболеваемости острыми кишечными инфекциями в Северо-Восточном регионе Украины находились в диапазоне 159,8-193,9 на 100 тыс. нас. ( $T_{\text{пр.}}^{\text{cp.}} = 0,04$  %). При этом, удельный вес ОКИ, вызванных УПМ, увеличился с 33,2 % в 2003 г. до 48,6 % в 2012 г. ( $T_{\text{пр.}}^{\text{cp.}} = 3,6$  %).

*K. pneumoniae*, *S. aureus* и *E. cloacae* - были доминирующими этиологическими агентами острых диарейных инфекций (их удельный вес в структуре ОКИ, находился соответственно в пределах от 17,3 до 34,6 %, от 29,2 до 39,4 % и от 7,2 до 24,9 %). Доля протеев, цитробактеров, псевдомонад и морганелл, соответственно варьировала от 6,5 до 11,4 % ; от 7,5 до 10,7 %; от 1,3 до 5,4 % ; от 0,6 до 3,1 %.

На современном этапе развития медицинской науки, накопились данные о том, что одной из причин увеличения масштабов медицинской значимости УПМ, является рост их патогенного потенциала. Мы исследовали наличие и выраженность факторов патогенности в УПМ - доминирующих возбудителей диарейных инфекций, и в аналогичных штаммах, выделенных из фекалий пациентов, не имевших диарейного синдрома, которые находились на обследовании и лечении по поводу той или иной соматической патологии.

Адгезию микроорганизмов к поверхности эпителия, можно рассматривать как начальный этап колонизации различных биотопов организма, предшествующего инвазии патогена. Именно степень агрессии, при взаимодействии между патогеном и клеткой-мишенью, в результате бактериальной адгезии является определяющим этапом в развитии инфекционного процесса.

Нами было установлено, что адгезивность свойственна преобладающему числу (85,0±5,6) % штаммов *K. pneumoniae*, и более трети *S. aureus* ((36,0 ± 6,8) %) и *E. cloacae* ((35,0 ± 7,5) %), выделенных от больных ОКИ (табл. 1). Данный фактор патогенности у микроорганизмов, изолированных из испражнений пациентов контрольной группы, выявлялся достоверно ( $p < 0,05$ ) меньше в энтеробактерий, а именно в (21,7±6,1) % случаев исследованных *K. pneumoniae* и у (10,5±4,9) % *E. cloacae*.

**Таблица 1**

**Распределение УПМ по степени адгезивности (M±m) %**

УПМ		Уровень адгезивности			
		адгезивные	низкий	средний	высокий
<i>S. aureus</i>	ОКИ	36,0±6,8	30,0±6,5*	5,0±3,1	0
	контроль	25,0±6,5	15,9±5,5	9,1±4,3	0
<i>K. pneumoniae</i>	ОКИ	85,0±5,6*	75,0±6,8*	10,0±4,7	0
	контроль	21,7±6,1	17,4±5,6	4,3±2,9	0
<i>E. cloacae</i>	ОКИ	35,0±7,5*	35,0±7,5	0	0
	контроль	10,5±4,9	5,3±3,6	5,2±3,6	0

Примечание\*-  $p < 0,05$ , относительно контрольной группы

Стафилококки имели более низкое сродство к рецепторам клеток слизистой биотопа. Мы установили, что (36,0±6,8) % *S. aureus*, выделенных от больных ОКИ и (25,0±6,5) % *S. aureus*, изолированных из фекалий лиц контрольной группы, были способны к адгезии.

Данные научных исследований последних лет свидетельствовали о том, что факторы, которые инактивируют механизмы естественной резистентности организма, обеспечивают патогенам возможность длительного персистирования в организме хозяина. Примером такого механизма персистенции может быть АЛА, внедрение методов регистрации которой, по мнению исследователей, позволило бы существенно повысить качество решения диагностических и прогностических задач инфекционной клиники [2, 12].

Нами было установлено, что подавляющему количеству исследуемых штаммов, выделенных из фекалий пациентов обеих групп свойственна АЛА (табл. 2). Данным фактором патогенности владели (86,2±3,0) % изолированных культур УПМ,

выделенных из испражнений больных ОКИ и (96,9±1,5 ) % штаммов УПМ из контрольной группы.

При концентрации лизоцима 5 мкг/мл, в 100 % случаев АЛА проявляли *S. aureus* и *K. pneumoniae*, выделенные у пациентов из контрольной группы и *E. cloacae*, изолированные из фекалий больных ОКИ. Рост *Micrococcus lysodecticus* наблюдали достоверно чаще ( $p<0,05$ ) при инаktivации 10 мкг/мл лизоцима *S. aureus* - возбудителями диарейных инфекций и *E. cloacae*, изолированных от лиц контрольной группы.

Таблица 2

## Антилизоцимная активность УПМ (M±m) %

УПМ		Уровень антилизоцимной активности				
		0	5 мкг/мл	10 мкг/мл	20 мкг/мл	25 мкг/мл
<i>S. aureus</i>	ОКИ	100	76,0 ± 6,0*	76,0 ± 6,0*	52,0±7,1	24,0±6,0
	контроль	100	100	45,5±7,5	45,5±7,5	22,7±6,3
<i>K. pneumoniae</i>	ОКИ	100	85,0±5,6*	80,0±6,3	80,0±6,3	15,0±5,6
	контроль	100	100	69,6±6,8	69,6±6,8	17,4±5,6
<i>E. cloacae</i>	ОКИ	100	100*	100*	90,0±4,7	10,0±4,7
	контроль	100	89,5±4,9	84,2±5,9	84,2±5,9	7,9±4,4

Примечание\*-  $p<0,05$ , относительно контрольной группы

Исследуя факторы персистенции УПМ, направленные на деградацию механизмов резистентности организма, мы прежде всего исследовали АКА УПМ, поскольку система комплемента является не только ключевым фактором неспецифической резистентности, она задействована в различных гуморальных и клеточных реакциях макроорганизма, направленных на поддержание его гомеостаза.

Нами было установлено, что высокий уровень АКА имели *K. pneumoniae* - возбудители ОКИ, поскольку инактивация комплемента данным микроорганизмами (наблюдался рост индикаторного штамма *E. coli* 212) происходила при конечной концентрации комплемента в агаре 5 и 10 гем. ед/мл в 100 % исследований, а при концентрации 20 гем. ед/мл в (55,0±7,9) % (табл. 3). Удельный вес штаммов *S. aureus* и *E. cloacae*, выделенных из испражнений пациентов, страдающих диарейными инфекциями, и проявляли АКА, был меньше, и существенно не отличался ( $p>0,05$ ) от частоты выявления аналогичных комплемент - активных штаммов из контрольной группы.

Таблица 3

**Антикомплементарная активность УПМ (M±m) %**

УПМ		Уровень антикомплементарной активности			
		0 усл. ед.	5 усл. ед.	10 усл. ед.	20 усл. ед.
<i>S. aureus</i>	ОКИ	100	64,0±6,8	20,0±5,7	0
	контроль	100	70,1±6,9	9,1±4,3	9,1±4,3
<i>K. pneumoniae</i>	ОКИ	100	100*	100*	55,0±7,9
	контроль	100	69,6±6,8	52,2±7,4	52,2±7,4
<i>E. cloacae</i>	ОКИ	100	55,0±7,9	25,0±6,8	0
	контроль	100	42,1±8,0	31,6±7,5	21,1±6,6

Примечание\*-  $p<0,05$ , относительно контрольной группы

Мы установили, что выделенным, от больных ОКИ и от лиц контрольной группы, изолятам УПМ не только присуща АИА, но и ее уровень в обеих исследуемых группах существенно не отличался. Самый высокий уровень АИА имели культуры *K. pneumoniae*. При концентрации 1; 2; 5 усл. ед. все 100 % клебсиелл инактивировали интерферон (наблюдался рост индикаторного штамма *Corynebacterium xerosis*).

Достоверно ( $p < 0,05$ ) чаще, штаммы *K. pneumonia*, выделенные из фекалий больных ОКИ, проявляли АИА и при концентрации интерферона 10 усл. ед. (табл. 4).

Таблица 4

**Антиинтерфероновая активность УПМ (M±m) %**

УПМ		Уровень антиинтерфероновой активности				
		0 усл. ед.	1 усл. ед.	2 усл. ед.	5 усл. ед.	10 усл. ед.
<i>S. aureus</i>	ОКИ	100	100	96,0±7,1	68,0±6,6	36,0±6,8
	контроль	100	90,9±4,3	79,5±6,1	52,3±7,5	40,9±7,4
<i>K. pneumoniae</i>	ОКИ	100	100	100	100	60,0±7,8*
	контроль	100	100	100	100	13,0±4,9*
<i>E. cloacae</i>	ОКИ	100	100	95,0±3,1	85,0±5,1	36,0±6,8
	контроль	100	94,7±3,6	94,7±3,6	94,7±3,6	52,6±8,1

Примечание\*-  $p < 0,05$ , относительно контрольной группы

Таким образом, нами было установлено, что в 2003-2012 гг. темп прироста заболеваемости ОКИ, вызванных УПМ, составил 3,6 %. В этиологической структуре диарейных инфекций преобладали *S. aureus*, *K. pneumonia*, *E. cloacae*. Их удельный вес варьировал от 70,5 до 81,6 %. УПМ, выделенные из фекалий больных ОКИ и лиц контрольной группы (без проявлений диарейного синдрома) характеризовались наличием широкого спектра факторов патогенности. Способность к адгезии проявляли (50,8±4,4) % исследованных культур УПМ, выделенных из испражнений пациентов с проявлениями диарейной инфекции, и (19,5±3,5) % аналогичных штаммов изолированных из фекалий пациентов контрольной группы, АИА соответственно в (86,2±3,0) и (96,9±1,5) % случаев, АКА в (70,8±3,9) и (61,7±4,3) %, АИА в 100 и (95,3±1,9) %. Считаем, что определение адгезивной активности в *E. cloacae*,



антикомплементарной и адгезивной активностей в *K. pneumoniae* могут быть использованы в практической медицине при установлении этиологии диареи, поскольку их уровни в культурах микроорганизмов выделенных из фекалий больных ОКИ достоверно превышали ( $p < 0,05$ ) значение лиц из контрольной группы.

### Литература

1. Анганова Е.В. Острые кишечные инфекции у детей на фоне выделения условно-патогенных микроорганизмов // Казанский медицинский журнал. - 2009. – Т.90. - №1. – С.111-112.
2. Анганова Е.В. Условно-патогенные энтеробактерии: доминирующие популяции, биологические свойства, медико-экологическая значимость: Автореф. дис. докт. мед. наук. – Иркутск, 2012. – 35с.
3. Бондаренко В.М. Роль условно-патогенных бактерий кишечника в полиорганной патологии человека. – Тверь: Триада, 2007. – 63с.
4. Бондаренко В.М. Роль условно-патогенных бактерий при хронических воспалительных процессах различной локализации. – Тверь: Триада, 2011. – 88с.
5. Брилис В.И., Брилис Т.А., Ланцнер Х.Г., Ланцнер А.А. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов // Лабораторное дело. – 1986. - №4. – С. 210-212.
6. Воронкіна І.А. Особливості біологічних властивостей збудників гострої кишкової інфекції у дітей: Автореф. дис. канд. мед. наук. – Харків, 2009. – 21с.
7. 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.

8. Егорова С.А. Характеристика бактерий рода *Klebsiella*, выделенных при дисбиозах кишечника: Автореф. дис. канд. мед. наук. – Санкт-Петербург, 2007, - 19с.
9. Бухарин О.В., Усвяцов Б.Я., Малышкин А.П., Немцов Н.В. Метод определения антилизоцимной активности микроорганизмов // Микробиология. – 1984. - №27. – С.27-28.
10. Методические рекомендации Департамента госсанэпиднадзора Минздрава РФ "Диагностика и санация стафилококковых бактерионосителей". – Москва. – 2001. - 14с.
11. Михайлова Л.В., Крамарь О.Г. Биологические свойства условно-патогенных микроорганизмов, вызывающих острые кишечные инфекции // Фундаментальные науки и практика. Сборник научных работ с материалами трудов 2-ой международной телеконференции. – Т.1, №2.– Томск, 2010. – С. 80.
12. Михайлова Л.В. Биология условно-патогенных микроорганизмов, вызывающих кишечные инфекции: Автореф. дис. канд. мед. наук. –Волгоград, 2011. - 21с.
13. Савицкая К.И. Правила и техника работы с материалом, поступающим для исследования в микробиологическую лабораторию: метод. указ. – М., 1999.
14. 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.
15. Савилов Е.Д., Астафьев В.А., Жданова С.Н., Заруднева Е.А. Эпидемиологический анализ. Методы статистической обработки материала. – Новосибирск: Наука-Центр, 2011. – 156 с.

16. Чемич М.Д., Малиш Н.Г., Полов'ян К.С., Зайцева Г.С., Черняк О.М. Захворюваність і етіологічна структура гострих кишкових інфекцій на сучасному етапі // Інфекційні хвороби. – 2012. - №3. – С.36-42.

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

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ  
БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ДОМИНИРУЮЩИХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ  
ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ**

*<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*

**Резюме**

*В 2003-2012 гг. темп роста заболеваемости острыми кишечными инфекциями, вызванными условно-патогенными микроорганизмами, составил 3,6 %. В этиологической структуре преобладали *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* и *Enterobacter cloacae*. Их удельный вес варьировал от 70,5 до 81,6 %. Условно-патогенные микроорганизмы, изолированные с фекалий больных острыми кишечными инфекциями и лиц контрольной группы, характеризовались наличием широкого спектра факторов патогенности. Адгезивные свойства проявляли (50,8±4,4) % исследованных культур, выделенных от пациентов с проявлениями диарейной инфекции, и (19,5±3,5) % из контрольной группы, антилизоцимную активность соответственно (86,2±3,0) и (96,9±1,5) % штаммов, антикомплементарную активность - (70,8±3,9) и (61,7±4,3) %, антиинтерфероновую активность - 100 и*

(95,3±1,9) %. Уровни адгезивной активности в *Enterobacter cloacae* ((35,0±7,5) %) и антикомплемментарной и адгезивной активностей в *Klebsiella pneumoniae* (соответственно 100 и (85,0±5,6) %), выделенных из фекалий больных острыми кишечными инфекциями, достоверно превышали ( $p < 0,05$ ) значение лиц из контрольной группы.

**Ключевые слова:** острые кишечные инфекции, условно-патогенные микроорганизмы, факторы патогенности.

Малыш Н.Г. Некоторые биологические свойства доминирующих возбудителей острых кишечных инфекций [Текст] / Н.Г. Малыш, В.Н. Голубничая, Н.Д. Чемич, С.И. Доан // Клиническая лабораторная диагностика. – 2014. - №10. – С. 45-48.