

**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**

Изучена этиологическая роль условно патогенных бактерий при острых кишечных инфекциях в Сумской области. Установлено, что штаммы *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* и *Enterobacter cloacae*, выделенные от больных с острой кишечной инфекцией, характеризовались фенотипической гетерогенностью. У 85,0±5,6 % исследованных штаммов *K. pneumoniae*, 30,0±7,2 % штаммов *E. cloacae*, 20,0±5,6 % штаммов *S. aureus* выявлены факторы патогенности, обеспечивающие их способность к адгезии и персистенции (антиинтерфероновая и антикомплементарная активности).

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

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 длительной персистенции в организме человека [1, 10]. Условно патогенные микроорганизмы являются этиологическим фактором различных нозологических форм оппортунистических, в том числе 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].

Однако факт выделения оппортунистических микроорганизмов из испражнений больных ОКИ не является безусловным доказательством их этиологической роли. Верификация диагноза ОКИ должна базироваться на комплексе достоверных критериев. Доказано, что наличие у выделенных штаммов микроорганизмов факторов патогенности является более существенным диагностическим критерием, чем их количество в исследуемом биологическом материале [2, 5, 7, 9].

Поэтому целью данной работы было изучение биологических свойств условно патогенных микроорганизмов, являющихся основными возбудителями острых кишечных инфекций.

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

Для изучения биологических свойств УПМ было отобрано 40 штаммов *K. pneumoniae*, 40 штаммов *E. cloacae* и 50 штаммов – *Staphylococcus aureus*. Адгезивные свойства УПМ определяли методом Брилиса В.И. с соавт. [11] и оценивали в средних показателях адгезии (СПА). Адгезивность считали нулевой при СПА от 0 до 1,0, низкой – от 1,01 до 2,0, средней – от 2,01 до 4,0, высокой – более 4,0. При изучении уровня антиинтерфероновой активности (АИА) и антикомплементарной активности (АКА) исследуемых штаммов, использовали препарат человеческого лейкоцитарного интерферона (ЗАТ «Биолек», г. Харьков) в разведениях (10, 5, 2 и 1 усл. ед.) и комплемент (ЗАТ «Биолек», г. Харьков) в концентрациях 20, 10 и 5 гем. ед / мл [3].

© Н.Г. Малыш, В.Н. Голубничая, Н.Д. Чемич, 2013

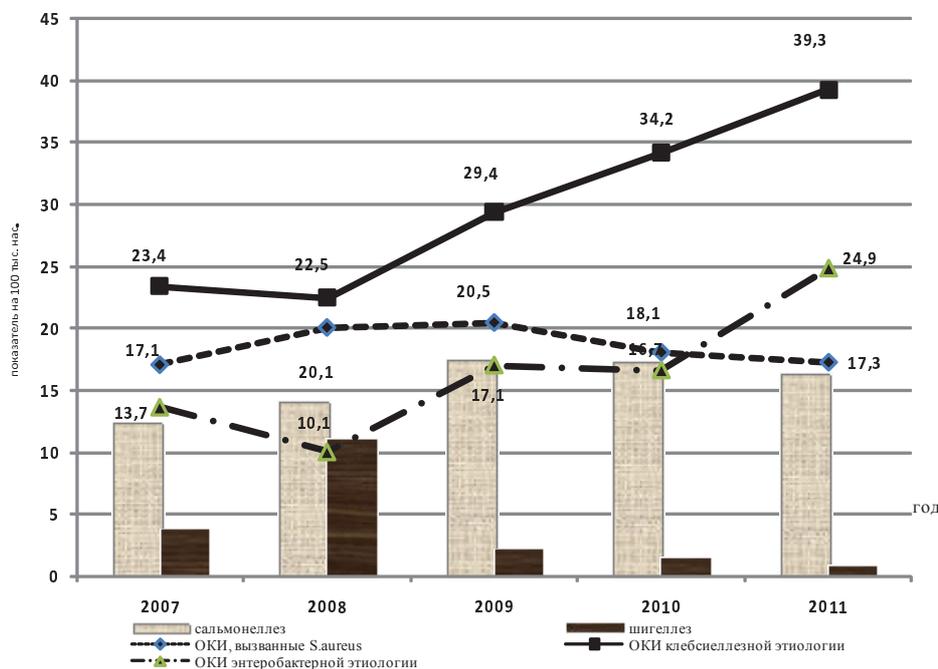
Для анализа эпидемической ситуации по ОКИ применяли аналитический приём эпидемиологического метода исследований [6]. Эпидемиологический анализ заболеваемости населения Сумской области ОКИ за 2007–2011 гг. проведен ретроспективно по данным отраслевой статистической отчетности.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с применением общепринятых параметрических и непараметрических критериев статистики [14].

**Результаты и их обсуждение.** Ретроспективный анализ данных отраслевой статистической отчетности показал, что на протяжении 2007–2011 гг. происходил рост уровня заболеваемости ОКИ в Сумской области ( $p < 0,05$ ). Так, показатели инцидентности увеличились от 159,8 на 100 тыс. населения в 2007 г. до 193,9 и 180,4 в 2010 и 2011 гг. соответственно.

При изучении спектра микроорганизмов, выделенных при диарейных заболеваниях, установлено преобладание УПМ ( $p < 0,01$ ), которые были причиной 51,6 % ОКИ в 2007 г., 41,2; 55,8; 47,3 и 60,8 % – в 2008 г., 2009 г., 2010 и 2011 гг. соответственно. Среди условно патогенных возбудителей ОКИ доминировали представители семейства *Enterobacteriaceae* ( $p < 0,01$ ). Удельный вес клебсиеллезов в структуре ОКИ, вызванных УПМ, колебался в пределах 28,3–37,2 %, энтеробактериозов – 12,6–23,6 %, протеозов – 5,7–8,9 %, цитробактериозов – 5,9–9,8 %. Более 10 % случаев заболеваний ОКИ были обусловлены *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Morganella morganii*. Значимой (от 16,3 до 25,2 %) была доля диарейных заболеваний стафилококковой этиологии.

Показатели инцидентности ОКИ, этиологическими факторами которых были клебсиеллы, энтеробактерии и стафилококки, превышали уровни заболеваемости сальмонеллезом, которые составляли 12,4 на 100 тыс. нас. в 2007 г., 14,2 в 2008 г., 17,5 в 2009 г., 17,4 в 2010 г. и 16,4 в 2011 г., а также 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, за исследуемый период заболеваемость ОКИ клебсиеллезной и энтеробактерной этиологии увеличилась соответственно в 1,7 и 1,8 раза (рисунок).



**Рисунок. Уровни заболеваемости ОКИ в Сумской области**

Таким образом, в этиологической структуре возбудителей ОКИ в Сумской области преобладали УПМ. Наиболее часто диарейные заболевания вызывали бактерии рода *Klebsiella* ( $p < 0,05$ ). По-видимому, сложившаяся ситуация объясняется тем, что в настоящее время на-

блюдается максимальное исключение непосредственного участия человека (потенциальный источник инфекции) в технологии приготовления продуктов питания. Кроме того, предъявляются высокие требования к качеству и безопасности как пищевых продуктов, так и питьевой воды, массово используются технологии пастеризации и консервации, что привело к сокращению числа классических бактериальных кишечных инфекций, прежде всего антропонозов, и увеличению количества острых диарейных заболеваний, вызванных УПМ.

Для развития инфекционного процесса необходимо наличие у возбудителей факторов патогенности, позволяющих УПМ не только реализовать свой патогенный потенциал, но и длительно персистировать в 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*,  $35,0 \pm 7,5$  % штаммов *E. cloacae* и  $36,0 \pm 6,8$  % штаммов *S. aureus* имели адсорбционную способность к клеткам эпителиоцитов (таблица).

**Таблица**  
**Адгезивные свойства условно патогенных микроорганизмов (M±m) %**

Микроорганизмы	Степень адгезии		
	низкая	средняя	Высокая
<i>K. pneumoniae</i>	75,0±6,8	10,0±4,7	0
<i>E. cloacae</i>	35,0±7,5	0	0
<i>S. aureus</i>	30,0±6,5	5,0±3,1	0

Средний и низкий показатель адгезивности установлен у  $10,0 \pm 4,7$  и  $75,0 \pm 6,8$  % штаммов *K. pneumoniae* соответственно, низкий показатель адгезивности установлен у  $35,0 \pm 7,5$  % штаммов *E. cloacae* и  $36,0 \pm 6,8$  % штаммов *S. aureus*. Однако штаммов с высоким показателем адгезивности нами выявлено не было.

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

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

Установлено, что исследованные клинические изоляты УПМ обладали АИА. Наиболее высокий уровень АИА проявляли штаммы *K. pneumoniae*. Рост индикаторного штамма *Corynebacterium xerosis* наблюдался при рабочем разведении интерферона 5 усл. ед. в  $40,0 \pm 7,8$  % случаев, 10 усл. ед. в  $60,0 \pm 7,8$  %. У штаммов *E. cloacae* и *S. aureus* интенсивность экспрессии АИА была меньшей. Максимальный уровень АИА (10 усл. ед.) имели  $45,0 \pm 7,9$  % клинических изолятов *E. cloacae*. Интерферон в концентрациях 5 усл. ед. и 1–2 усл. ед. нейтрализовали  $40,0 \pm 7,8$  и  $15,0 \pm 5,6$  % штаммов энтеробактеров соответственно. Среди стафилококков АИА при концентрации интерферона 1–2 усл. ед. проявляли  $32,0 \pm 6,6$ ; 5 у.е. –  $30,0 \pm 6,5$ ; 10 усл. ед. –  $36,0 \pm 6,8$  % исследуемых штаммов.

Фенотипически проявляющаяся резистентность условно патогенных бактерий к защитным механизмам хозяина является универсальным средством увеличения их шансов на выживание, персистирование и реализацию патогенного потенциала. С этих позиций сам феномен выживания бактерий в макроорганизме рассматривается как одно из важных звеньев в патогенезе инфекционного процесса, а их способность к инаktivации комплемента – существенной составляющей персистентных потенциалов патогенов.

С целью изучения способности УПМ – возбудителей ОКИ, инаktivировать систему комплемента определяли их АКА. Нами установлено, что комплементактивными было  $72,3$  % исследованных штаммов. При этом *K. pneumoniae*, *S. aureus* и *E. cloacae* проявляли АКА разного уровня. Самый высокий был у клинических изолятов *K. pneumoniae*. Инаktivация комплемента (наблюдался рост индикаторного штамма *E. coli* 212) происходила при его конечной концентрации в агаре 10 гем. ед / мл в 100 % случаев, а при концентрации 20 гем. ед / мл – в  $55,0 \pm 7,9$  % случаев. Рост тест-культуры *E. coli* 212 вокруг золотистых стафилококков и энте-

робактерий наблюдался при конечной концентрации комплемента 5 гем. ед/мл соответственно в  $64,0 \pm 6,8$  и  $55,0 \pm 7,9$  % случаев, при 10 гем. ед / мл – в  $20,0 \pm 5,7$  и  $25,0 \pm 6,8$  % случаев.

Кроме количественных и качественных значений указанных факторов патогенности УПМ, на наш взгляд, интересным был характер их экспрессии у разных штаммов. Оказалось, что все исследованные штаммы УПМ проявляли те или иные изучаемые факторы патогенности. Так, АКА, АИА и адгезивные свойства одновременно имели  $85,0 \pm 5,6$  % *K. pneumoniae*,  $30,0 \pm 7,2$  % *E. cloacae* и  $20,0 \pm 5,6$  % *S. aureus*. Два из этих свойств, а именно АИА и АКА проявляли все исследованные штаммы *K. pneumoniae*,  $64,0 \pm 6,8$  % *S. aureus* и  $30,0 \pm 7,2$  % *E. cloacae*. Только АИА или способность к адгезии имели  $85,0 \pm 5,6$  % *K. pneumoniae*,  $50,0 \pm 7,1$  % *E. cloacae* и  $36,0 \pm 6,8$  % *S. aureus*.

Таким образом, результаты наших исследований согласуются с данными литературы о доминировании УПМ в этиологической структуре современных ОКИ [4, 8, 10]. Наиболее частыми возбудителями этих заболеваний в Сумской области были *K. pneumoniae*, *E. cloacae* и *S. aureus*. Удельный вес клебсиеллёзов в этиологической структуре ОКИ был самым высоким и достигал 37,2 %. При этом, исследованные штаммы *K. pneumoniae* характеризовались значительно более частой встречаемостью факторов патогенности по сравнению со штаммами *S. aureus* и *E. cloacae* – АИА, АКА и адгезивную активность одновременно клебсиеллы проявляли в 2,8 раза чаще, чем энтеробактеры и в 4,3 раза чаще, чем стафилококки.

Полученные данные свидетельствуют о том, что определение фенотипических признаков у условно патогенных микроорганизмов позволяет проводить не только мониторинг патогенности бактерий, но и является одним из критериев их этиологической значимости.

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

*Сумський державний університет, Суми, Україна*

## **БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ УМОВНО ПАТОГЕННИХ БАКТЕРІЙ – ЗБУДНИКІВ ГОСТРИХ КИШКОВИХ ІНФЕКЦІЙ**

### **Резюме**

Вивчена етіологічна роль умовно патогенних бактерій у виникненні гострих кишкових інфекцій у Сумській області. Встановлено, що штами *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* і *Enterobacter cloacae* характеризувалися вираженою фенотиповою гетерогенністю. У  $85,0 \pm 5,6$  % досліджених штамів *K. pneumoniae*,  $30,0 \pm 7,2$  % *E. cloacae*,  $20,0 \pm 5,6$  % *S. aureus* виявлені фактори патогенності, що забезпечують їх здатність до адгезії та персистенції (антиінтерферона і антикомплемента активність).

**К л ю ч о в і с л о в а:** гострі кишкові інфекції, умовно патогенні мікроорганізми, адгезія, персистенція.

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

*Sumy State University, Sumy, Ukraine*

## **BIOLOGICAL PROPERTIES OF OPPORTUNISTIC MICROORGANISMS – AGENTS OF ACUTE INTESTINAL INFECTIONS**

### **Summary**

The etiological role of conditionally pathogenic bacteria in acute intestinal infections in the Sumy region has been studied. It is established, that the strains of *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Enterobacter cloacae* isolated from patients with acute intestinal infection were characterized by phenotypic heterogeneity. In  $85,0 \pm 5,6$  % of the studied strains of *K. pneumoniae*,  $30,0 \pm 7,2$  % of *E. cloacae*,  $20,0 \pm 5,6$  % *S. Aureus* the authors have identified pathogenicity factors, which ensure their ability to adhesion and persistence (antiinterferon and anticomplement activity).

The paper is presented in Russian.

**К е у w o r d s:** acute intestinal infections, opportunistic microorganisms, adhesion, persistence.

**The authors address:** Malysh N.G., Sumy State University; 2 Rymskogo-Korsakova St., Sumy, 40007, Ukraine.

1. *Ахтариева А.А.* Иммунобиологические свойства термолabileного 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 // *Микробиология*. – 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.* Диареогенные 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. – 4, № 5. – С. 86–94.
6. *Зуева Л.П., Яфаев Р.Х.* Эпидемиология: Учебник. – СПб: 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 // *Микробиология*. – 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*. – 2008. – № 2 (61). – С. 314.
11. *Методические рекомендации* Департамента госсанэпиднадзора Минздрава РФ «Диагностика и санация стафилококковых бактерионосителей». – Москва, 2001. – 14 с.
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 клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений». – Москва, 1985. – 126 с.
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.

Отримано 27.11.2012