

ИЗМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ИММУНОГЛОБУЛИНА G В РЕЗУЛЬТАТЕ БИОХИМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ШТАММОВ КЛЕБСИЕЛЛ

Гудинская Н.И.¹, Бисалиева Р.А.¹, Кривенцев Ю.А.¹, Доценко Ю.И.², Костенко М.Ю.²,
Алексашина Л.И.², Галигрова Е.А.²

¹ГБОУ ВПО «Астраханский государственный медицинский университет», Астрахань, e-mail: jktczb@inbox.ru;

²Российская академия народного хозяйства и государственной службы при Президенте РФ, Астраханский филиал, Астрахань

Целью нашей работы являлось определение антииммуноглобулиновой активности штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных у детей первого года жизни, находящихся на лечении в стационаре. Все культуры были идентифицированы согласно общепринятым методам и имели типичные для клебсиелл характеристики. Антииммуноглобулиновая активность определялась стандартным методом Манчини. Статистическая обработка данных проводилась с использованием параметрических критериев в программе Excel. В результате проведенных нами исследований была определена не только антииммуноглобулиновая активность выделенных культур, но и достоверно установлена сезонная изменчивость этого признака у внутрибольничных штаммов на протяжении ряда лет. Результаты работы, которые изложены в этой статье, свидетельствуют о существующем селективном отборе и эволюции микроорганизмов, циркулирующих в условиях урбанизированной экосистемы на примере медицинского стационара.

Ключевые слова: клебсиеллы, Ig G, антииммуноглобулиновая активность, внутрибольничные инфекции.

CHANGE IMMUNOGLOBULIN G CONCENTRATION IN THE BIOCHEMICAL ACTIVITY OF A STRAIN OF KLEBSIELLA

Gudinskaia N.I.¹, Bisaliev R.A.¹, Kriventsev Y.A.¹, Dotcenko Y.I.², Kostenko M.Y.²,
Aleksashina L.I.², Galigrova E.A.²

¹Astrakhan State Medical University, Astrakhan, e-mail: jktczb@inbox.ru;

²Russian Academy of National Economy and Public Administration under the President of Russian Federation, Astrakhan branch, Astrakhan

The aim of our work was to determine the anti-immunoglobulin activity strains *Klebsiella pneumoniae*, isolated from infants being treated in hospital. All cultures have been identified according to conventional methods and have the typical characteristics of *Klebsiella*. Anti-immunoglobulin activity was determined by the standard method of Mancini. Statistical analysis was performed using a parametric criteria Excel program. As a result of our studies it was defined not only anti-immunoglobulin activity of isolated cultures, but also reliably set the seasonal variability of this trait in nosocomial strains over the years. The results, which are presented in this article, show the existing selective selection and evolution of microorganisms circulating in the conditions of the urban ecosystem on the example of a medical hospital.

Keywords: klebsiella, Ig G, anti-immunoglobulin activity, nosocomial infections.

Несмотря на имеющиеся успехи, достигнутые в борьбе с внутрибольничными инфекциями (ВБИ), уровень заболеваемости ими остается высоким. Эта патология составляет от 2 до 30 % с летальностью от 3,5 до 60 % всех инфекционных заболеваний. Среди основных факторов, определяющих тенденцию роста ВБИ, следует назвать распространение в стационаре антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов. Полагают, что причиной ВБИ могут быть более 300 видов патогенных, либо условно-патогенных микроорганизмов, иногда устойчивых одновременно к 4–5 антибактериальным и дезинфицирующим препаратам и циркулирующим в больницах десятки лет. Важнейшим

предрасполагающим фактором является также инвазивная агрессия, характерная для современной медицины, включающая более 3000 видов манипуляционных вмешательств. К этому необходимо добавить формирование у пациентов вторичных иммунных расстройств, чаще всего иммунной недостаточности в результате основного заболевания, а также двукратное увеличение численности пожилого населения с ослабленной иммунной реактивностью из-за возраста, частого применения фармакологических препаратов и других причин, нарушивших естественный биоценоз [10].

ВБИ, имеющие широкий спектр клинических проявлений и отличающиеся от классических инфекций отсутствием цикличности процесса и полиэтиологичностью, сохраняют свою актуальность во всех экономически развитых странах. Так, в США, например, ежегодно регистрируется более 2 млн случаев ВБИ. Присоединение ВБИ увеличивает продолжительность пребывания пациента в стационаре в среднем на 6 койко-дней. При стоимости одного случая ВБИ 4449 долларов общий экономический ущерб составляет 4,5 млрд долларов в год. Клиническая микробиология в существующих условиях является одним из ключевых звеньев в целостной системе противостояния госпитальной инфекции. Подбор объективных и доступных тестов для установления эпидемической значимости выделяемых у пациентов микроорганизмов совершенно необходим, так как силами современных технологий полностью ликвидировать причины многих инфекционных заболеваний в настоящее время не представляется возможным. Однако потенциально опасные возбудители на ранних этапах эпидемического процесса локализовать вполне возможно и путем направленного воздействия на них предотвратить возможную вспышку инфекции [1, 2, 3, 8, 10].

Цель исследования – определение способности к антииммуноглобулиновой активности штаммов *Klebsiella pneumoniae*.

Материалы и методы

В работе были использованы штаммы *Klebsiella pneumoniae*, выделенных у детей первого года жизни, находящихся на лечении в стационаре. Все использованные культуры изолированы и идентифицированы с помощью стандартных дифференциально-диагностических сред и наборов Entero Test («Lachema», Чехия). Все выделенные культуры были типичны по своим морфологическим, биохимическим и культуральным характеристикам. Бактерии высеивали на протяжении пяти сезонов (1-й сезон – лето, 2-й сезон – зима и т.д.).

Антииммуноглобулиновую активность (анти-Ig G) бактерий определяли методом иммунодиффузии по Манчини.

Результаты и обсуждение

Изучая биологические свойства клебсиелл, выделенных у детей первого года жизни, находящихся на лечении в стационаре, мы обратили внимание на колебание антииммуноглобулиновой активности на протяжении нескольких лет. В принципе само наличие анти-Ig G активности у *Klebsiella pneumoniae* безусловно свидетельствует о значимости данного свойства в биологии микроорганизма, местообитанием которого является человек. Хотя в доступной нам литературе сведений о наличии анти-IgG-активности у клебсиелл не встречалось, тем не менее антииммуноглобулиновая активность у других видов микроорганизмов известна, и большинство исследователей относят ее к характерным проявлениям патогенности у носителей этого признака. Сведения из немногочисленной литературы по вопросу механизмов взаимодействия бактерий и иммуноглобулинов позволяют заключить, что в основе данного феномена лежит либо адсорбционный характер, либо он осуществляется посредством специализированных бактериальных субстанций, выделяемых экзоклеточно [4, 9].

Неспецифическое связывание бактериями различных классов иммуноглобулинов имеет под собой определенное материальное подтверждение. Существуют различные механизмы его реализации. Ряд работ подтверждает наличие бактериальных рецепторов и к Fab-фрагменту иммуноглобулинов [3, 7, 9]. В первую очередь, это относится к Ig M. Достаточно обстоятельно описано и образование внеклеточных протеаз Ig A, которые продуцируют многие виды микроорганизмов, преимущественно колонизирующие слизистые оболочки. Более подробно описан тип Fc-рецепции, при котором происходит связывание микроба с Fc-частью Ig. Такой тип адсорбции известен у стафилококков, стрептококков, т.е. представителей Грам-положительной флоры, связывающих Ig G. Считают, что структурами микроба, ответственными за подобный характер связывания, являются протеин A клеточной стенки – адсорбент Ig G, пептидогликаны и тейхоевые кислоты – компоненты Грам-положительных бактерий.

Довольно разноречивые данные имеются в литературе о взаимодействии некоторых белков стрептококков группы В с иммуноглобулинами. В частности, была описана способность В-протеина связывать иммуноглобулины классов G и M. Учитывая чрезвычайную важность данного феномена не только для характеристики биологических свойств самого В-протеина, но и оценки его патогенетической роли в инфекционном процессе, были получены подтверждающие эти предположения данные в экспериментальной инфекции. В опытах на линейных мышах 7-кратное внутривенное введение В-протеина на фоне сублетальной инфекции, вызванной интраперитонеальным введением стрептококков группы В, было достаточно, чтобы в течение 24 ч трансформировать инфекцию в

смертельную септицемию. Иммунологические и иммуноморфологические исследования подтвердили присутствие В-протеина не только экстрацеллюлярно в биологических жидкостях организма, но и в тканях. Также были выявлены анти-В-протеиновые антитела в сыворотке инфицированных животных, что свидетельствует о формировании их в процессе инфекции.

В связи с изложенным, актуальным представляется изучение анти-Ig G-активности у бактерий *K. pneumoniae*. Последние относятся к Грам-негативным микроорганизмам и обладают способностью вызывать самый широкий спектр нозоформ, в том числе и в условиях циркуляции возбудителя в лечебном учреждении. Ранее было показано, что Fс-рецепторы стрептококка отрицательно действуют на естественные защитные силы макроорганизма, обуславливая, вероятно, развитие иммунопатологических процессов [5].

Штаммы клебсиелл, выделенные в летние месяцы, в среднем инактивировали в мг/мл в лето угасания вспышки 3,23 мг/мл, следующее – 3,58 мг/мл, далее 5,51 мг/мл; в зимние же месяцы уровень деградации Ig G составил 2,66 мг/мл и 4,60 мг/мл. Таким образом, испытуемые штаммы клебсиелл в разные сезоны обладали способностью к разрушению от 33 % до 56 % количества иммуноглобулина, задействованного в опыте. Учитывая, что в норме содержание Ig G в сыворотке крови человека составляет 12 мг/мл, патогенетические потенции обследованных штаммов трудно переоценить.

В настоящее время является общепризнанным факт периодической ротации возбудителей ВБИ с течением времени в каждом конкретном стационаре. В частности, на основании 20-летних (1980–1990 гг.) эпидемиологических исследований выявлена пятилетняя периодичность смены возбудителя: переход от золотистого стафилококка к псевдомонадам, далее к коагулазоотрицательным стафилококкам и т.д. [4, 5, 10]. Однако существует ряд возбудителей, стабильно входящих в первую пятерку микроорганизмов, потенциально постоянно опасных с точки зрения возникновения вспышки ВБИ в отделениях практически любого профиля. Периодически теряясь за массивным выделением бактерий, актуальных в данный конкретный момент, они, поражая меньшее число пациентов, тем не менее присутствуют в стационаре всегда. Изменяясь и многократно проходя через организм разных людей, они становятся более устойчивыми как к влиянию антибактериальных препаратов, так и к действию иммунной системы. Постепенно под селективным давлением среды отбираются самые жизнеспособные культуры с все более выраженными патогенными качествами. Безусловно, они так и остаются в категории условно-патогенных, но любого, даже незначительного ослабления иммунитета у пациентов достаточно, чтобы эти бактерии включились в развитие эпидемического процесса и послужили причиной нового подъема заболеваемости, обладая при этом качественно

измененными и более высокими проявлениями патогенности. К группе таких видов относятся и изучаемые нами внутрибольничные штаммы *K. pneumoniae*.

Было достоверно установлено, что происходят периодические колебания антииммуноглобулиновой активности штаммов клебсиелл, циркулирующих в условиях стационара. Статистически подтверждено, что в течение 3 лет анти-Ig G-активность изменялась. Однако в течение одного года сезонные колебания (лето-зима) незначительны и недостоверны. Подъем на качественно новый уровень в каждый год происходит в летние месяцы. Можно сказать, что именно летом формируется более высокая «установочная точка», незначительно отклоняясь от которой и будет определяться антииммуноглобулиновая активность в течение всего года. Статистически это можно проиллюстрировать следующим образом: средний показатель за 1-й изученный год составил 3,13 мг/мл, за 2й год – 5,12 мг/мл ($p < 0,01$). При этом в зимние месяцы различия недостоверны, а в летние достоверны ($p < 0,05$). Наблюдается следующая закономерность: в летние месяцы, приходящиеся на затухание вспышки и следующий за ним год, наблюдается снижение активности в зимние месяцы и некоторый подъем летом: лето-зима-лето в цифрах выражается как 3,23 – 2,66 – 3,58 мг/мл. Отличия недостоверны, но тем не менее они отражают тенденцию. Лето следующего года отличается принципиально – антииммуноглобулиновая активность составила 5,51 мг/мл. Показатели в зимнее время колебались от 2,66 до 4,60 мг/мл, что недостоверно. Таким образом, лето 2-го года с высокой достоверностью ($p < 0,05$) отличается от лета 1-го года и с еще более высокой степенью достоверности ($p < 0,01$) отличается от лета сразу после вспышки.

Как нам представляется, высказанное ранее предположение об эволюционировании условно-патогенных культур в условиях стационара имеет под собой реальное подтверждение, если допустить наличие сезонных и годовых колебаний конкретных биологических свойств возбудителей. Подобное же допущение кажется нам позволительным, так как изменения антииммуноглобулиновой активности были точно установленными и постоянными. Тем более что аналогичные факты уже находили свое подтверждение: в частности, ранее была продемонстрирована подверженность сезонным изменениям энтеропатогенных свойств и способности к токсинообразованию холерных и НАГ-вибрионов [3].

В заключение хотелось бы еще раз подчеркнуть, что, безусловно, в числе причин, влияющих на возникновение ВБИ, ведущую роль оказывают роль такие факторы, как санитарно-эпидемиологический режим лечебного учреждения, проводимая антибиотикополитика, количество инвазивных процедур и др. Однако, часто рассматривая различные аспекты такого многопланового явления, как ВБИ, мы встречаемся с новыми

обстоятельствами, которые, вызывая дискуссии, требуют своего настоящего изучения. Нам представляется, что результаты работы, которые изложены в этой статье, свидетельствуют о существующем селективном отборе и эволюции микроорганизмов, циркулирующих в условиях стационара. Вектор этого процесса, по-видимому, может быть направлен и в неблагоприятную для человека сторону.

Список литературы

1. Бойко О.В., Ахминеева А.Х., Гудинская Н.И. и др. Биохимические и иммунохимические маркеры в диагностике патологических состояний // *Фундаментальные исследования*. – 2013. – № 9. – С.327-329.
2. Бойко О.В., Ахминеева А.Х., Гудинская Н.И., Бойко В.И., Козак Д.М. Возрастные изменения иммунологических, морфологических и биохимических показателей репродуктивной системы мужчин // *Успехи геронтологии*. – 2014. – Т. 27. – № 1. – С.50-53.
3. Бойко О.В., Терентьев А.А., Ахминеева А.Х. Метаболическая активность микроорганизмов, выделенных у больных хроническим простатитом // *Проблемы репродукции*. – М., 2014. – № 6. – С.6-9.
4. Бухарин О.В., Усвяцов Б.Я. Бактерионосительство. – Екатеринбург, 1996. – 207 с.
5. Ведьмина Е.А., Пастернак Н.А., Андрусенко И.П. и др. Сезонные колебания энтеропатогенных свойств у вибрионов // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. – 1980. – № 9. – С.34-39.
6. Караулов А.В. Клиническая иммунология. – М.: Медицинское информационное агентство, 1999. – 603 с.
7. Кривенцев Ю.А. Гемоглобины человека: иммунобиохимическая характеристика и медико-биологическое значение: автореферат дис. ... д-ра мед. наук. – Москва, 2009. – 42 с.
8. Мартова О.В., Салько В.Н., Бойко О.В. и др. Медико-социальные аспекты профилактики гепатитов В и С у молодых людей и подростков // *Гигиена и санитария*. – 2002. – № 1. – С.45-47.
9. Михайлова Е.А., Лунда А.П., Бигеев М.И. Антииммуноглобулиновая активность бактерий и ее диагностическая ценность // *Персистенция бактерий: сб. научн. тр.* [Под ред. О.В. Бухарина]. – Куйбышев, 1990. – С.107-113.
10. Щербо А.П. Больничная гигиена. – Санкт-Петербург, 2000. – 484 с.