

ИЗУЧЕНИЕ КАЧЕСТВЕННЫХ И КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК КУЛЬТУР СТАФИЛОКОККА, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАЗНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ ЧЕЛОВЕКА

Бакшеева С.С.¹, Сергеева И.В.²

¹ФГБОУ ВПО «Красноярский аграрный университет», Красноярск, e-mail: info@kgau.ru;

²ФГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения России, Красноярск, e-mail: rector@krasgmu.ru

Актуальность инфекций, вызванных стафилококками, возрастает во всем мире. Стафилококки являются возбудителями значительной части внебольничных и нозокомиальных бактериемий, пневмоний, инфекций кожи и мягких тканей, костей и суставов. Целью исследования было изучение характера доминирования отдельных видов стафилококка в биотопе слизистых оболочек переднего отдела носа у детей, проживающих в районах с различной антропогенной нагрузкой. Для анализа характеристики структуры стафилококка проводился отбор проб со слизистой оболочки переднего отдела носа у 521 ребенка в возрасте 8–12 лет. Обследуемые дети проживали в трех районах г. Красноярска с разной экологической обстановкой: 1 – Октябрьский (экологическая обстановка удовлетворительная), 2 – Кировский (экологическая обстановка неудовлетворительная), 3 – Советский (экологическая обстановка неудовлетворительная). Со слизистой оболочки носа у детей, проживающих в первом исследуемом районе, выделялись культуры *S. aureus*, имеющие крупные размеры бактериальных клеток и средние объемы грозди. Во втором исследуемом районе преобладали культуры более мелкие в диаметре и имеющие средние объемы. В третьем же районе выделенные культуры стафилококка были мелкие и имели крупные объемы грозди, что характерно для патогенных штаммов.

Ключевые слова: стафилококк, дети, экология, патогенные штаммы.

STUDY QUALITATIVE AND QUANTITATIVE CHARACTERISTICS CROPS AUREUS ISOLATED FROM DIFFERENT ECOLOGICAL CONDITIONS OF HUMAN LIFE

Baksheeva S.S.¹, Sergeeva I.V.²

¹Krasnoyarsk Agrarian University, Krasnoyarsk, e-mail: info@kgau.ru;

²Krasnoyarsk State Medical University. V.F. Voyno-Yasensky, Krasnoyarsk, e-mail: rector@krasgmu.ru

The relevance of infections caused by staphylococci, is increasing worldwide. Staphylococci are the causative agents of a significant part of community-acquired and nosocomial bacteremia, pneumonia, infections of the skin and soft tissues, bones and joints. The aim of study was to investigate the nature of the dominance of certain Staphylococcus species in the biotope of the mucous membranes of the front of the nose in children living in areas with varying anthropogenic load. To analyze the characteristics of Staphylococcus structures were sampled from the mucosa of the nose at the front 521 children aged 8–12 years. Surveyed children living in three districts of Krasnoyarsk with different environmental conditions: 1 – The October (ecological situation is satisfactory), 2 – Kirov (unsatisfactory environmental conditions), 3 – Soviet (unsatisfactory environmental conditions). With the nasal mucosa in children living in the first study area, allocated Culture *S. aureus*, having a large size of the bacterial cells and the average volume of the bunch. In the second study area was dominated cultures smaller in diameter and having average volume. In the third area aureus isolates were small and had large amounts of clusters, which is typical for pathogenic strains.

Keywords: Staphylococcus aureus, children, ecology, pathogenic strains.

Система «здоровье-окружающая среда» является одним из наиболее сложных для изучения разделов экологии. Это связано как с разнообразием антропогенных и техногенных воздействий (физические, химические, микробные, паразитарные загрязнения), так и с полиморфизмом их изолированного, комбинированного, комплексного, сочетанного эффектов на организм, способностью ряда из них к трансформации в окружающей среде под воздействием многих природных факторов или вследствие их взаимодействия между собой

[1,2,5]. Проблема изучения влияния факторов окружающей среды на состояние здоровья населения занимает одно из центральных мест среди других актуальных задач экологии окружающей среды. Медицинское значение этой проблемы определяется необходимостью диагностики начальных неблагоприятных изменений в состоянии здоровья, связанных с действием факторов окружающей среды, их своевременной коррекцией, что составляет основу первичной профилактики заболеваний [3,4].

Цель. Изучение таксономической структуры микробиоценоза слизистой оболочки переднего отдела носа является одним из важнейших этапов его микроэкологической характеристики. Исходя из этого положения, представлялось важным изучение характера доминирования отдельных видов стафилококка в биотопе слизистых оболочек переднего отдела носа у детей, проживающих в районах с различной антропогенной нагрузкой.

Известно, что в состав микробиоценоза слизистой оболочки переднего отдела носа входят популяции различных видов микроорганизмов, но у детей доминируют представители кокковой микрофлоры, в основном различные виды рода *Staphylococcus*. Слизистая оболочка носа является основным биотопом стафилококка, где его персистенция протекает в виде бактерионосительства [1,4]. По мнению Д.Г. Дерябина [1], основными источниками стафилококковой инфекции являются носители, рост числа которых прямо пропорционально зависит от подъема заболеваемости.

Материалы и методы. Для анализа характеристики структуры стафилококка проводился отбор проб со слизистой оболочки переднего отдела носа у 521 ребенка в возрасте 8–12 лет. Обследуемые дети проживали в трех районах г. Красноярска с разной экологической обстановкой: 1 – Октябрьский (экологическая обстановка удовлетворительная), 2 – Кировский (экологическая обстановка неудовлетворительная), 3 – Советский (экологическая обстановка неудовлетворительная).

Обсуждение результатов. Проведенные микробиологические исследования показали, что у 454 (87,1 %) из 521 обследованного ребенка со слизистой оболочки переднего отдела носа высевалась кокковая микрофлора – представители рода *Staphylococcus*, у 38 (7,3 %) обследованных – палочковидная микрофлора и 29 (5,6 %) ребенка при первичном посеве рост отсутствовал.

У большинства обследованных детей, проживающих в Красноярске, со слизистой оболочки переднего отдела носа высевались коагулазоположительный золотистый стафилококк (58,6 %), коагулазоотрицательный эпидермальный стафилококк (16,5 %) и в 6,1 % случаях был идентифицирован коагулазоположительный *S.intermedius*. Распределение по районам проживания детей выглядело следующим образом. В первом районе золотистые стафилококки высевались в 37,6 % случаев, эпидермальный стафилококк – в 11,9 % и

S.intermedius – в 8,4 %. Во втором и третьем районах превалировал *S.aureus* – 63,2 и 56,8 % соответственно; *S. epidermidis* встречался в 17,0 и 16,5 % случаев соответственно, *S. intermedius* регистрировался у 4,4 % обследованных из второго района и у 6,1 % из третьего.

Другие коагулазоотрицательные представители рода *Staphylococcus* представлены следующими видами: *S. hyicus*, *S. xylosus*, *S. saprophyticus*, *S. capitis*, *S. caprae*, *S. warneri*, *S. hemolyticus*, *S. cohnii*, *S. simulans* и высевались в 13,4 % случаев. Соотношение штаммов данных видов стафилококка, выделенных со слизистой оболочки переднего отдела носа у детей города Красноярска, представлено в таблице 1. Из данных таблицы следует, что помимо коагулазоотрицательных *S.epidermidis* на слизистой оболочки переднего отдела носа у детей города Красноярска встречаются *S. saprophyticus* (7,3 %), *S. hyicus* (2,3 %), *S. capitis* (1,1 %) и в менее 1 % случаев *S. xylosus*, *S. caprae*, *S. warneri*, *S. hemolyticus*. Распространенность коагулазоотрицательных культур стафилококка в зависимости от района выделения выглядит следующим образом. Во всех трех исследуемых районах на слизистой оболочке носа у детей из КОС преобладал *S. saprophyticus*, в первом районе данный вид стафилококка встречался в 4,9 %, во втором высевался у 8 % обследуемых, и в третьем районе у 9,3 %. Кроме *S. saprophyticus*, в первом районе микробиоценоз верхних дыхательных путей у детей был представлен *S. hyicus* (4,9 %), *S. capitis* (3 %), *S. xylosus* (2 %), *S. hemolyticus* (1,5 %), *S. caprae*, *S. simulans* (1 %) и в менее 1 % случаев встречались *S. warneri* и *S. cohnii*. Микробиоценоз слизистой оболочки верхних дыхательных путей у детей, проживающих во втором исследуемом районе, был представлен *S. hyicus* (1,5 %) и *S.warneri* (0,7 %). В третьем исследуемом районе микробиоценоз слизистой оболочки носа у детей был менее разнообразен и помимо *S. saprophyticus* из КОС другие виды не регистрировались.

Таким образом, микробиоценоз верхних дыхательных путей у детей, проживающих в первом исследуемом районе, более разнообразен и представлен 12 видами стафилококка, во втором и третьем районах количество встречаемых видов стафилококка значительно меньше – 6 и 4 соответственно.

Таблица 1

Соотношение штаммов разных видов коагулазоотрицательных стафилококков (КОС) в зависимости от района выделения

Вид КОС	1-й		2-й		3-й		Итого	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
<i>S.hyicus</i>	10	4,9	2	1,5	0	-	12	2,3
<i>S.xylosus</i>	4	2,0	0	-	0	-	4	0,7
<i>S.saprophyticus</i>	10	4,9	11	8,0	17	9,3	38	7,3

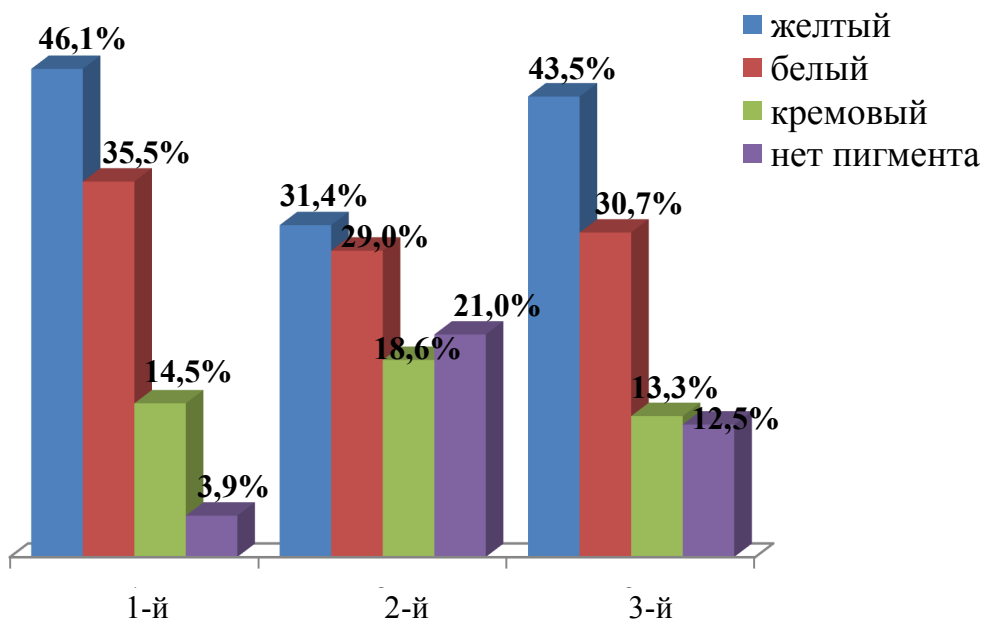
<i>S.capitis</i>	6	3,0	0	-	0	-	6	1,1
<i>S.caprae</i>	2	1,0	0	-	0	-	2	0,4
<i>S.warneri</i>	1	0,5	1	0,7	0	-	2	0,4
<i>S.hemolyticus</i>	3	1,5	0	-	0	-	3	0,6
<i>S.cohnii</i>	1	0,5	0	-	0	-	1	0,2
<i>S.simulans</i>	2	1,0	0	-	0	-	2	0,4

Исследования последних лет свидетельствуют о том, что загрязнение окружающей среды приводит не только к широкому распространению экологически обусловленных заболеваний, угнетению иммунобиологической реактивности организма, нарушению репродуктивной функции и другим многочисленным негативным сдвигам в состоянии здоровья макроорганизма [1,2,4], но к качественному и количественному изменению микрофлоры организма человека [3,4]. В частности, по мнению Б.А. Шендорова (1998), различные поллютанты в порядке индукции защитных реакций у микробов могут вызывать существенные изменения в их патогенности. Поэтому изучение свойств патогенности у золотистых стафилококков, колонизирующих слизистые оболочки такого слабо адаптированного контингента, как младшие школьники, имеет важное научно-практическое значение [4].

Для более полной оценки микроэкологической характеристики биоценоза очень важно исследовать биологические свойства отдельных штаммов микроорганизмов, входящих в этот биоценоз. На первом этапе бактериологического исследования при индикации стафилококков обращали внимание на пигментообразование колоний. Большинство исследуемых штаммов *S.aureus* синтезируют пигмент: белый – 31,6 %, желтый – 41,0 %, кремовый – 14,6 % и только 12,8 % колоний стафилококка пигмента не имели. Распределение пигментообразования у культур золотистого стафилококка в зависимости от района выделения выглядело следующим образом: во всех трех исследуемых районах города Красноярска преобладали культуры стафилококка, продуцирующие желтый пигмент (46,1, 31,4 и 45,3 % соответственно), продукция белого пигмента была характерна для 35,5 % культур стафилококка, встречающихся в микробиоценозе слизистой оболочки носа у детей, проживающих в первом исследуемом районе, и в 29,0 и 30,7 % у культур, выделенных во втором и третьем районах соответственно. Наличие кремового пигмента или отсутствие пигментирования у культур золотистого стафилококка встречалось реже. Во втором исследуемом районе у 21,0 % изученных культур отсутствовало пигментообразование, в третьем районе таких культур было 12,5 %, а в первом только у 3,9 % выделенных культур золотистого стафилококка наличие

пигмента не регистрировалось. Возможно, пигментообразование зависит от генотипа *S.aureus*, детерминирующего синтез различных реакций, а вместе с ним – цвет пигмента.

Таким образом, большинство изученных культур золотистого стафилококка (87,2 %), входящих в состав микробиоценоза слизистой оболочки верхних дыхательных путей у детей города Красноярска, продуцировали тот или иной пигмент (рисунок).



Частота пигментообразования штаммов стафилококка, выделенных со слизистой оболочки носа детей, проживающих в районах с различной антропогенной нагрузкой, %

Среди косвенных индикаторов патогенности большое значение имеют скорость и интенсивность биосинтетических и репродуктивных процессов. Частота появления дочерних клеток, характер их деления и накопления в пространстве отражается на размере и плотности грозди микроорганизмов. Для патогенных штаммов характерно быстрое деление и наличие мелких бактериальных клеток с одновременным формированием весьма массивных гроздей. По мнению авторов [1,4], подобное состояние микробного сообщества типично для микроорганизмов в неблагоприятных условиях, когда идет борьба за сохранения вида. В благоприятной обстановке, напротив, биосинтетические процессы в популяции протекают спокойно, полноценно, ускоренного преждевременного деления клеток нет, поэтому грозди малокомпонентны, микробные особи довольно крупные.

Используя окуляр и объектив микрометра, были проведены замеры особей в гроздях, учитывая компонентность последних.

Анализ полученных данных показал, что размеры клеток стафилококка и объемы гроздей варьируют в достаточно широких пределах в зависимости от района выделения. В первом исследуемом районе преобладали штаммы золотистого стафилококка, имеющие крупные клетки более 1,0 мкм в диаметре – 55,3 %; 36,8 % культур имели средние размеры микробных клеток (0,5–1,0 мкм в диаметре) и только у 7,9 % исследуемых культур *S. aureus*, выделенных со слизистой оболочки переднего отдела носа у детей, проживающих в первом исследуемом районе, имело клетки менее 0,5 мкм в диаметре, т.е. были мелкие.

Во втором исследуемом районе со слизистой оболочки переднего отдела носа у детей выделялись культуры золотистого стафилококка среднего (60,4 %) и мелкого размера (24,5 %), 15,1 % исследуемых культур имели диаметр бактериальных клеток более 1,0 мкм. В третьем исследуемом районе более 50 % изученных культур золотистого стафилококка имели мелкие размеры (51 %), средними размерами обладали 40,3 % культур, и только 8,7 % бактериальных клеток имели крупные размеры (более 1,0 мкм).

Изучив такой показатель, как объем формирующейся грозди стафилококковых культур, выделенных со слизистой оболочки переднего отдела носа у детей, проживающих в трех исследуемых районах города Красноярска, получили следующие результаты.

В первых двух исследуемых районах преобладали грозди культур стафилококка средние (67,1 и 68,6 % соответственно), а в третьем районе – крупные (51, %). В первом исследуемом районе крупные бактериальные грозди регистрировались у 11,8 % изученных культур, а во втором районе у 18,6 %. В третьем районе в 40,3 % встречались клетки стафилококка, имеющие средние объемы, и в 8,7 % – мелкий.

Заключение. Таким образом, со слизистой оболочки носа у детей, проживающих в первом исследуемом районе, выделялись культуры *S. aureus*, имеющие крупные размеры бактериальных клеток и средние объемы грозди. Во втором исследуемом районе преобладали культуры более мелкие в диаметре и имеющие средние объемы. В третьем же районе выделенные культуры стафилококка были мелкие и имели крупные объемы грозди, что характерно для патогенных штаммов.

Анализ данных количественной характеристики стафилококкового сообщества слизистой оболочки переднего отдела носа у детей, проживающих в исследуемых районах, показал, что к числу свойств, влияющих на формирование микробного биоценоза, а также определяющих потенциальную эпидемиологическую опасность штаммов, относится показатель микробной обсемененности.

Полученные данные свидетельствуют о высокой микробной обсемененности стафилококком слизистой оболочки переднего отдела носа у детей (10^3 - 10^4 КОЕ/мл), при которой происходит массивное выделение возбудителя во внешнюю среду, а носители

являются основными источниками распространения стафилококков среди восприимчивых лиц в человеческой популяции.

Высокая микробная обсемененность (более 50 %) наблюдалась в посевах со слизистой оболочки носа у детей, проживающих во втором и третьем исследуемых районах (63,2 и 56,8 % соответственно), тогда как в посевах со слизистой оболочки носа у детей, проживающих в первом районе, высокая микробная обсемененность составила лишь 37,6 %. В посевах со слизистой носа наблюдался у 29,2 % детей из первого района незначительный рост (10^1 - 10^2 КОЕ/мл), у 33,2 % обследуемых детей рост культуры стафилококка отсутствовал. Во втором исследуемом районе при первичном посеве со слизистой оболочки переднего отдела носа у детей незначительный рост наблюдался у 31,6 % и у 5,14 % обследованных рост отсутствовал. Исследования, проводимые в третьем районе, показали, что у 7,6 % обследованных рост при первичном посеве со слизистой носа отсутствовал, а у 35,5 % при посеве исследуемого материала обсемененность была незначительной. Результаты исследования представлены в таблице 2.

Таблица 2

Микробная обсемененность стафилококком слизистой оболочки переднего отдела носа у детей, проживающих в экологически неравнозначных районах, %

Исследуемый район	Кол-во обследуемых	Рост отсутствует		10^1 - 10^2 КОЕ/мл		10^3 - 10^4 КОЕ/мл	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%
1-й	202	67	33,2	59	29,2	76	37,6
2-й	136	7	5,14	43	31,6	86	63,2
3-й	183	14	7,6	65	35,5	104	56,8
Итого	521	88	15,3±2,07	167	32,1±3,02	266	52,5±4,2

Учитывая высокую частоту обнаружения стафилококкового бактерионосительства у детей (особенно проживающих во втором и третьем исследуемых районах города), нам было интересно изучить факторы, способствующие колонизации и персистенции стафилококков в макроорганизме. Для этой цели у выделенных культур *S. aureus* были определены и изучены факторы адгезии, персистенции и патогенности.

Список литературы

1. Бакшеева С.С. Мониторинг резидентного стафилококкового бактерионосительства у

детей города Красноярска / С.С. Бакшеева, В.В. Гребенникова // Сибирское медицинское обозрение. – 2010. – № 3 (63). – С. 68-71.

2. Дерябин Д.Г., Фот Н.П. Видовое разнообразие стафилококков в воздушной среде и организме носителей в условиях техногенного химического воздействия / Д.Г. Дерябин, Н.П. Фот // Гигиена и санитария. – 2005. – № 5. – С.36–39.

3. Крамарь В.О. Эколого-гигиенические аспекты бактерионосительства стафилококков у детей, проживающих в районах крупного промышленного города с различной антропогенной нагрузкой: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Волгоград, 2008. – 22 с.

4. Кучма В.Р. Состояние здоровья и проблемы медицинского обеспечения подростков / В.Р. Кучма // Здоровье населения и среды обитания. – 2003. – № 9. – С.3–8.

5. Оценка потенциального риска развития заболеваний органов дыхания в различных районах г. Волгограда // Проблемы и перспективы современной науки: сб. науч. тр. – Томск, 2008. – Т.1. – Вып. 2. – С.27–28.