

МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО ПЕРСИСТИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ У ДЕТЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ В РАЗНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

¹Гребенникова В.В., ²Бакшеева С.С., ³Сергеева И.В.

¹Министерство здравоохранения Московской области, Красногорск, e-mail: minzdrav@mosreg.ru;

²ФГБОУ ВПО «Красноярский аграрный университет», Красноярск, e-mail: info@kgau.ru;

³ФГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения России, Красноярск, e-mail: rector@krasgmu.ru

В условиях длительного паразитирования возбудителя возможно изменение его клональной структуры по целому комплексу факторов, определяющих условия персистенции. В последнее десятилетие предприняты попытки систематизации механизмов персистенции бактерий. Для оценки факторов персистенции была изучена антилизозимная, антикомплементарная и антиинтерфероновая активность 209 штаммов *S. aureus*, выделенных со слизистой оболочки детей, проживающих в районах города с разной экологической ситуацией. Полученные результаты изучения персистентных свойств (антилизозимная, антиинтерфероновая и антикомплементарная активности) показали, что золотистые стафилококки, колонизирующие слизистые оболочки переднего отдела носа детей, проживающих в Кировском и Советском районах Красноярска, имели более высокие персистентные показатели, чем выделенные от детей, проживающих в Октябрьском районе, что подтверждено наличием статистически достоверных различий в анализируемых параметрах. Вместе с тем показатели факторов персистенции изученных культур стафилококков, выделенных у детей из Кировского и Советского районов, отличались между собой только по уровню антикомплементарной активности.

Ключевые слова: микроорганизм, стафилококк, дети, персистенция, экология

MECHANISM OF FORMATION OF BACTERIAL PERSISTENCE OF MICROORGANISMS ISOLATED IN CHILDREN LIVING IN DIFFERENT ECOLOGICAL CONDITIONS

¹Grebennikova V.V., ²Baksheeva S.S., ³Sergeeva I.V.

¹Moscow Region Ministry of Health, Krasnogorsk, e-mail: minzdrav@mosreg.ru;

²Krasnoyarsk Agrarian University, Krasnoyarsk, e-mail: info@kgau.ru

³Krasnoyarsk State Medical University V.F.Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, e-mail: rector@krasgmu.ru

In the context of long-term parasitism of the pathogen may change its clonal structure on a range of factors that determine the persistence of conditions. In the past decade, attempts to systematize the persistence of bacterial mechanisms. To assess the persistence of factors were studied anti-lysozyme, and antiinterferonovaya anticomplementary activity of 209 strains of *S. aureus*, isolated from the mucosa of children living in areas of the city with different environmental situation. The results of studying persistent properties (anti-lysozyme, antiinterferonovaya and anticomplementary activity) showed that *Staphylococcus aureus* colonize the mucous membranes of the anterior children Nose living in Kirov and the Soviet district of Krasnoyarsk, had higher persistence rates than isolated from children living in the Oktyabrsky district that is confirmed by the presence of statistically significant differences in the parameters analyzed. However, the persistence of performance factors studied cultures of staphylococci isolated from children from the Kirov and the Soviet areas, differed from each other only by the level of anticomplementary activity.

Keywords: organism, *Staphylococcus aureus*, children, persistence, ecology

Длительное проживание возбудителя в организме хозяина имеет очевидную биологическую целесообразность для патогена и обусловлено рядом факторов, способствующих адгезии микробов в экологической нише. Используя хозяина как среду обитания и питательный субстрат, паразит стремится как можно дольше находиться в ней без манифестных проявлений, что является вариантом сбалансированной патогенности [1, 4].

Известно, что в основе инфекционного процесса лежит взаимодействие разных элементов – популяций паразита и хозяина, определяющих законы поведения данной системы, контролируемой по принципу обратной связи. При этом систему «паразит—хозяин» можно рассматривать как саморегулирующуюся, постоянно самосовершенствующуюся, в которой отношения между партнерами находятся в состоянии запрограммированного подвижного равновесия [4].

Антилизозимный признак бактерий является конструктивным, секретируемым фактором, его появление у микроорганизмов неслучайно, что, по-видимому, обусловлено широким кругом хозяев, располагающих лизоцимом как средством защиты. Поскольку присутствие лизоцима характерно для живого организма и во внешней среде встречается редко, можно определить данный признак как свойственный тем бактериям, экологической нишей существования которых является макроорганизм. Изучение возможности регуляции этого свойства микроорганизмов показало, сколь большое значение для селекции наиболее стойких клонов (с высоким уровнем антилизозимной активности) имеет среда обитания, включая фагоцитирующие клетки организма [1, 4].

Смысловая нагрузка приобретения этого фактора бактериями заключается в обеспечении себя дополнительным механизмом выживания путем вытеснения нормальных симбионтов биоценоза из занимаемой ими экологической ниши [2, 3, 5]. Данное явление становится особенно понятным, если принять во внимание, что существенным условием формирования резидентного бактерионосительства является способность многих патогенных видов бактерий паразитировать внутри клеток [1, 2]. С учетом биологической роли антилизозимного признака, определяющего персистентно-вирулентные характеристики бактерий, антилизозимный фактор можно рассматривать в качестве специфического маркера паразитического образа существования микроорганизмов, что подтверждается имеющимися клиническими разработками [1, 3, 4].

Изучение химической природы антилизозимного фактора позволило установить, что среди ингибиторов лизоцима можно выделить две группы активных веществ. Первая представляет собой блокаторы полипептидов, инактивирующихся под действием протеаз, вторая включает ингибиторы, относящиеся к сложным олигосахаридам с олигопептидным компонентом [1, 4]. Подобная двойственность химического строения антилизозимного фактора не является исключением среди ингибиторов ферментов, выделяемых микроорганизмами. Так, установлено, что блокаторы амилаз, выделяемых различными бактериями, представляют собой также две группы активных веществ: полипептиды и олигосахариды. Исследование в культуре перитонеальных макрофагов морских свинок показало, что антилизозимный признак сообщает устойчивость к внутриклеточному

перевариванию бактерий [1, 4, 5]. Следовательно, можно предположить, что антилизоцимная активность тесно связана со способностью микроорганизмов к внутриклеточному паразитированию.

Способность паразита уклоняться от встречи с профессиональными фагоцитами хозяина общеизвестна [4], но в этом случае микробы пытаются проникнуть в иммунологически слабо защищенные клетки. Такой мишенью для них служат различные эпителиальные клетки внутренних органов, содержащих лизоцим. Доказано внутриклеточное выживание стафилококков, менингококков в эпителии носоглотки хозяина, что согласуется с наличием у этих микроорганизмов антилизоцимного фактора. Изучение длительности персистенции микроорганизмов с различной выраженностью антилизоцимного фактора показало, что срок бактерионосительства возрастает при увеличении исходного уровня антилизоцимной активности [4]. Показатели антилизоцимной активности возбудителя коррелируют с длительностью и тяжестью течения гнойно-воспалительных заболеваний в инфекционных и неинфекционных клиниках [1, 2, 3]. При этом возможность перехода заболеваний в затяжную и хроническую формы, равно как и реконвалесцентного носительства, определялась экспрессией антилизоцимного фактора у микроорганизмов [4, 5].

К секреторирующим началам, обеспечивающим персистирование микробной клетки, следует также отнести способность инактивировать бактериальную составляющую препарата интерферон – антиинтерфероновый признак, обнаруженный В.Ю. Соколовым у большой группы патогенных бактерий, а также антикомплементарную, антиглобулиновую, антилактоферриновую, антикарнозиновую активность, которые среди прочих фенотипических характеристик до настоящего времени являются исследованными в меньшей степени [4].

Цель исследования. Для оценки факторов персистенции была изучена антилизоцимная, антикомплементарная и антиинтерфероновая активность 209 штаммов *S. aureus*, выделенных со слизистой оболочки детей, проживающих в районах города с разной экологической ситуацией.

Лизоцим является одним из важнейших факторов естественной резистентности организма человека и животных, оказывая антимикробное действие в отношении большого круга микроорганизмов [47, 91].

Результаты исследования. При оценке антилизоцимной активности культур *S. aureus*, выделенных со слизистой оболочки носа у детей, проживающих в Октябрьском районе (1-й район), получены следующие результаты: четыре культуры (5,3%) не обладали АЛА, 60 культур (78,9%) показали минимальную антилизоцимную активность (1 мкг/мл), остальные 12 культур (15,8%) показывали среднее значение АЛА (2–3 мкг/мл). Высокой

антилизоцимной активностью культуры стафилококка, выделенные в Октябрьском районе, не обладали.

Среди *S. aureus*, колонизирующих слизистые оболочки носа детей, проживающих в Кировском районе (2-й район), штаммов с отсутствием и минимальными значениями АЛА было 5 и 13 (5,8 и 15,1% соответственно). Средние показатели активности зарегистрированы у 47 штаммов (54,6%), у 21 культуры (24,4%) АЛА имела высокие значения (более 4 мкг/мл).

Антилизоцимная активность стафилококков, выделенных в Советском районе (3-й район), значительно отличалась от таковой в Октябрьском районе сравнения. Так, штаммов с отсутствием АЛА не было обнаружено, 6,7% (7 культур) имели низкие значения АЛА, высокие и средние регистрировались у 27,9% (29 культур) и 65,4% (68 культур) соответственно.

Таким образом, показатели АЛА стафилококков, выделенные от детей, проживающих в Октябрьском районе, были минимальные ($1,18 \pm 0,57$ мкг/мл) и достоверно отличались от таковых в группах сравнения (Кировский и Советский районы) ($p < 0,05$). Значения АЛА стафилококков, выделенных в Кировском и Советском районах, статистически значимых отличий не показывали ($2,49 \pm 0,76$ и $2,8$ мкг/мл соответственно) ($p < 0,05$).

Среди прочих факторов иммунологической защиты большое значение принадлежит взаимодействию стафилококков с интерфероном (интерферонами), что объясняется выраженной ролью последних в патогенезе стафилококковой инфекции. В частности, интерфероны повышают функциональную активность макрофагов и устойчивость эукариотических клеток к токсинам стафилококков [4]. Интерферон также ингибирует пролиферацию Т-лимфоцитов после их стимуляции суперантигенами стафилококков через подавление продукции интерлейкина-2 и угнетение экспрессии рецепторов. В этой связи особое внимание привлекли к себе сообщения об обнаружении феномена прямого антистафилококкового (бактерицидного и бактериостатического) действия препаратов человеческого лейкоцитарного интерферона [4]. В свою очередь у многих микроорганизмов, в том числе представителей рода *Staphylococcus*, была установлена способность к подавлению подобного антибактериального действия препарата интерферона, так называемая антиинтерфероновая активность [4]. С этих позиций представляется интерес оценить антиинтерфероновую активность (АИА) стафилококков, выделенных со слизистой оболочки носа детей, проживающих в районах с различной экологической нагрузкой, как способность к инактивации бактерицидного компонента человеческого лейкоцитарного интерферона. Это обосновывает интерес к его изучению как одного из свойств, направленных на инактивацию факторов естественной противоифекционной защиты организма хозяина.

Анализируя полученные данные по изучению антиинтерфероновой активности культур стафилококков, выделенных со слизистой оболочки переднего отдела носа у детей, проживающих в городе Красноярске, установлено, что все изученные культуры в разной степени проявляли антиинтерфероновую активность. В Октябрьском районе преобладали культуры стафилококка с низкой антиинтерфероновой активностью (63,2%), тогда как во втором и третьем районах – с средней АИА (55,8 и 70,2% соответственно). Установлено, что в Кировском районе было зарегистрировано максимальное количество штаммов с высокими значениями АИА (20,9%), в Советском районе количество штаммов стафилококков с высокими значениями АИА незначительно отличалось от предыдущего района – 16,3%, а в Октябрьском районе таких культур не регистрировалось совсем.

Распределение культур стафилококков по АИА, выделенных от детей, проживающих в Октябрьском районе, выглядело следующим образом: отсутствие АИА – 31,5%; низкие значения АИА (1–2 усл.ед.) – 63,2%; средняя активность – 5,3% и высокая АИА – 0 культур. Для Кировского и Советского районов эти показатели составили: 8,1%, 15,2, 55,8 и 20,9, 2,9, 10,6, 70,2, 16,3% соответственно.

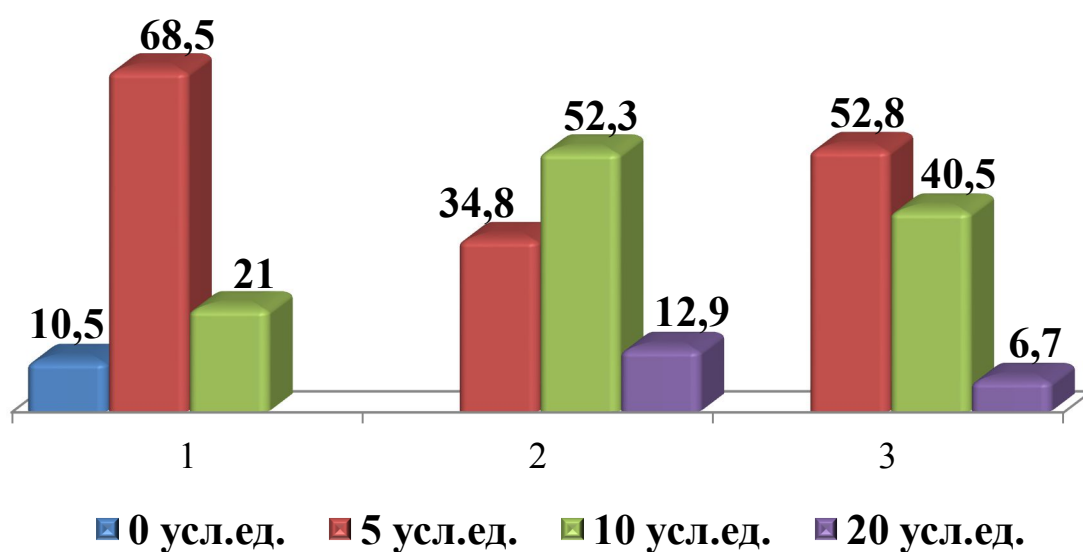
Таким образом, антиинтерфероновая активность культур стафилококка, выделенных со слизистой оболочки носа детей, проживающих в Кировском и Советском районах, была выше, чем в Октябрьском. Это положение нашло подтверждение при сравнении усредненных показателей АИА для оцениваемых популяций *S. aureus*. Так, среднее значение признака у стафилококков, колонизирующих слизистые оболочки носа детей, проживающих в Октябрьском районе, было определено как $1,2 \pm 0,94$ усл. ед., что было достоверно ниже, чем в Кировском и Советском районах, и равнялось $5,1 \pm 2,15$ (2-й район) и $5,3 \pm 1,70$ (3-й район) ($p < 0,05$).

Возможность стафилококков обезвреживать гуморальный фактор иммунологической защиты – систему комплемента и его отдельных компонентов — определяется рядом авторов как антикомплементарная активность [4]. Данное свойство бактерий предположительно связано с особенностями липополисахаридов клеточной стенки, их экранированием, присутствием специализированных антикомплементарных белков на ней. Значительную роль в антикомплементарном действии *S. aureus* может играть декомплементирующий антиген, выделяемый микроорганизмами во внешнюю среду и вызывающий быстрое и эффективное истощение начальных компонентов системы комплемента (до C5 включительно) без вовлечения в этот процесс терминальных C7–C9 компонентов [4].

При оценке антикомплементарной активности (АКА) культур стафилококков выявлено, что 10,5% культур на слизистой оболочке переднего отдела носа здоровых детей, проживающих в Октябрьском районе, не обладали данной активностью. Штаммов с высокой

антикомплементарной активностью среди данных культур также не обнаружено. Большинство из исследуемых культур (68,5%) давали низкую и только 21,0% – умеренную антикомплементарную активность.

Наибольшее число культур с высоким показателем АКА зарегистрировано в Кировском районе (12,9%), в Советском районе таких штаммов было меньше (6,7%). В Кировском районе количество культур с минимальным значением АКА составило 34,8%, со средними показателями – 52,3%, тогда как в Советском районе их обнаружено 52,8 и 40,5% соответственно. Среднепопуляционная АКА изученных культур стафилококка была низкой и не превышала 10 усл. ед., составляя в Октябрьском районе $5,5 \pm 1,79$ усл. ед., в Кировском и Советском районах – $9,5 \pm 2,07$ усл. ед. и $8,03 \pm 3,01$ усл. ед. соответственно (рис.).



Антикомплементарная активность культур S. aureus, выделенных от детей, проживающих в районах с различной антропогенной нагрузкой

Заключение

Полученные результаты изучения персистентных свойств (антилизоцимная, антиинтерфероновая и антикомплементарная активности) показали, что золотистые стафилококки, колонизирующие слизистые оболочки переднего отдела носа детей, проживающих в Кировском и Советском районах Красноярска, имели более высокие персистентные показатели, чем выделенные от детей, проживающих в Октябрьском районе, что подтверждено наличием статистически достоверных различий в анализируемых параметрах. Вместе с тем показатели факторов персистенции изученных культур стафилококков, выделенных у детей из Кировского и Советского районов, отличались между собой только по уровню антикомплементарной активности.

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 Д.Г., 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.