

РОЛЬ ГЕМОЛИЗИНОВ *SERRATIA MARCESCENS* В РАЗВИТИИ ИНФЕКЦИИ

Блиева Л.З.

ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова», Нальчик, e-mail: mouette@yandex.ru

Цель данного исследования заключалась в анализе гемолитической способности клинических изолятов бактерий вида *Serratia marcescens*, выделенных из различных патологических образцов, и в определении роли гемолизина этого микроорганизма в развитии инфекционных процессов. В рамках работы было изучено 43 клинических штамма, идентифицированных как вид *Serratia marcescens*. Гемолитическую активность бактерий исследовали на мясо-пептонном агаре, используя кроличьи эритроциты, предварительно очищенные в растворе Хенкса с концентрацией 3–5%. Для обнаружения тиолзависимых гемолизина применяли мясо-пептонный агар с добавлением 0,002% L-цистеина. Посевы осуществляли методом укола, а оценку гемолиза проводили спустя 24–48 часов инкубации в термостате при температуре 37°C. Большинство исследованных штаммов серраций, выделенных из испражнений и из гнойного экссудата, продемонстрировали гемолитическую активность: они синтезировали как α -гемолизины, так и тиолзависимые гемолизины. Особенно заметна была гемолитическая активность среди штаммов *Serratia marcescens*, которые были выделены из испражнений. Большинство изученных штаммов серраций обладали способностью продуцировать α -гемолизины. Благодаря гемолитическим свойствам вирулентные штаммы *Serratia marcescens* становятся очень устойчивыми к иммунным механизмам человека. Гемолизины, вырабатываемые серрациями во время инфекции, в сочетании с другими факторами вирулентности могут в большой степени угрожать жизни человека.

Ключевые слова: серрации, внутрибольничные инфекции, гемолитическая способность, α -гемолизины, тиолзависимые гемолизины.

THE ROLE OF *SERRATIA MARCESCENS* HEMOLYSINS IN THE DEVELOPMENT OF INFECTION

Blieva L.Z.

Kabardino-Balkarien State University Berbekov`s named, Nalchik, e-mail: mouette@yandex.ru

This research aimed to investigate the hemolytic characteristics of clinical bacterial strains of *Serratia marcescens*, sourced from pathological samples, and to determine the influence of *Serratia marcescens* hemolysins in the progression of the infectious process. For this study, a total of 43 clinical strains were utilized, which were categorized based on their biological properties as *Serratia marcescens*. The hemolytic ability of bacteria was determined on nutrient agar with 3-5% of rabbit erythrocytes washed in Hanks solution. A nutrient agar with 0.002% L-cysteine was used to detect thiol-dependent hemolysins. Cultures were seeded with an injection, hemolysis was taken into account after 24–48 hours of incubation in a thermostat. Most strains of serrations, isolated from feces and from purulent discharge had hemolytic ability both in relation to α -hemolysins and thiol-dependent hemolysins. Hemolytic ability is most pronounced among the strains of *Serratia marcescens* isolated from stool. Most of the studied serration strains had the ability to produce α -hemolysins. Due to the hemolytic properties, pathogenic strains of *Serratia marcescens* become very resistant to human immune mechanisms. Hemolysins produced by *Serratia* during infection, in combination with other virulence factors, can greatly threaten human life.

Keywords: Serratia, nosocomial infections, hemolytic ability, α -hemolysins, thiol-dependent hemolysins.

Введение

Род *Serratia* включает условно-патогенные микроорганизмы, которые могут обитать на слизистых оболочках дыхательных путей, желудочно-кишечного и мочеполового трактов. Эти бактерии способны вызывать гнойно-воспалительные заболевания различной локализации.

Серрации являются грамотрицательными палочками, они подвижные (перитрихи), спор не образуют, имеют капсулу, обладают каталазной активностью, синтезируют дезоксирибонуклеазу, но не разлагают сорбит, фенилаланин и аргинин.

Самым известным представителем является *Serratia marcescens*, ранее известный как *Bacterium prodigiosum*. В современных научных публикациях бактерии этого вида описываются как возбудители различных заболеваний (включая диарею у людей, инфекции урогенитального тракта), воспалений мозговых оболочек, суставных воспалительных процессов, генерализованной инфекции [1, 2, 3].

Бактерии рода *Serratia marcescens* могут стать причиной гнойных инфекций среднего уха, а также провоцировать воспалительные процессы в роговице, бронхах, мочевом тракте, поврежденной коже и ранах. Эти микроорганизмы также способны вызывать такие инфекции, как эндокардит, остеомиелит и менингит, особенно у людей с ослабленным иммунитетом. *Serratia marcescens* признаны важными патогенами в контексте нозокомиальных инфекций, которые часто встречаются в отделениях интенсивной терапии и неонатологии [4].

В педиатрических отделениях наблюдались случаи менингита, инфекций, связанных с ранами, и артрита, вызванные бактериями *Serratia marcescens* [5].

Бактерии *Serratia marcescens* обладают довольно низкими требованиями к условиям своего роста: они способны развиваться на различных универсальных средах, таких как мясо-пептонный бульон и мясо-пептонный агар. Эти микроорганизмы могут активно размножаться даже в окружающей среде при комнатной температуре. По своему метаболическому типу *S. marcescens* является факультативным анаэробом, что означает, что для жизнедеятельности не требуется строго кислородная среда.

Поскольку бактерии *S. marcescens* синтезируют пигменты, они получили название «чудесная палочка». Колонии бактерий этого вида могут вырасти в виде кроваво-красных пятен на отсыревших церковных тканях и хлебах. Благодаря этой особенности в средневековой Италии колонии серраций расценивали как «капли крови господина». *S. marcescens* часто обитает во влажных местах жилых помещений, в мелких водоемах, а также на влажных тканях. Иногда эти бактерии обнаруживают в испражнениях здоровых детей. Бактерии *S. marcescens* нередко выделяют из увлажнительных камер реанимационной аппаратуры, растворов для парентерального введения, с поверхности катетеров, детских сосок, бронхофиброскопов, кисточек для бритья, влажных участков полов и раковин и даже из слабых растворов дезинфектантов. *Serratia marcescens* резистентна к большинству антибиотиков – пенициллину, ампициллину, линкомицину, карбенициллину, тетрациклину, макролидам, колимицину, цефалотину, оксациллину, а также ко многим дезинфицирующим препаратам [3].

Пигмент под названием «продигиозин», который синтезируется штаммами *Serratia marcescens*, относится к категории биоактивных цветных молекул, возникающих в процессе микробного обмена веществ [6].

Продигиозин получен в 1961 году Г.Е. Вайсбергом и З.В. Ермольевой по модифицированному методу Уэбстера (M. Webster) из *Serratia marcescens*. Глубокий анализ, проведенный З.В. Ермольевой и Г.Е. Вайсбергом, показал, что введение в организм биологически активных веществ приводит к активизации эндокринной системы «аденогипофиз – кора надпочечников». Эти структуры играют ключевую роль в формировании защитных реакций организма, что объясняет скорость действия данных веществ. После того как был введен продигиозин, резко увеличивались количество фагоцитов и эффективность внутриклеточного киллинга фагоцитов. Также существенно повышались бактерицидная активность кожи и барьерная функция лимфатических узлов [7].

Способность бактерий рода *Serratia* быстро размножаться в организме человека и инициировать инфекционный процесс зависит от наличия у этих микроорганизмов множества факторов, влияющих на их адгезивные свойства, возможность колонизации поверхностей, а также на их цитотоксическую и энтеротоксическую активность. Таким образом, исследование этих факторов может дать возможность выработать критерии для оценки этиологической значимости, опираясь на анализ данных биологических характеристик этих патогенов, что, в свою очередь, поможет улучшить диагностику инфекций, вызванных бактериями рода *Serratia*. Существует множество клинических штаммов бактерий рода *Serratia*, большинство из которых демонстрируют выраженные вирулентные характеристики, действуя через различные механизмы. Изучение адгезивных свойств различных видов *Serratia* показало, что большинство проанализированных штаммов обладают этими характеристиками, при этом индекс адгезивности превышает 2,5. Большинство исследованных клинических изолятов серратий способны связываться с конго красным. Наибольшее выражение адгезивной активности наблюдается у бактериальных культур рода *Serratia*, выделенных из испражнений и гнойных выделений [3].

У значительной доли клинических штаммов *Serratia marcescens* была обнаружена способность агглютинировать человеческие эритроциты. Среди большинства рассматриваемых штаммов выявлены маннозрезистентные гемагглютинины. Способность к агглютинации эритроцитов овец у исследуемых бактерий этого вида проявлялась еще более выражено. У подавляющего числа проанализированных бактериальных изолятов *Serratia marcescens* наблюдается эта особенность. Гемагглютинины у большинства клинических штаммов *Serratia marcescens* также имеют маннозрезистентные свойства. Антилизозимная активность, которая обозначает способность блокировать действия лизоцима,

рассматривается как фактор выживания для клинических штаммов рода *Serratia*. Эта активность чаще всего наблюдается у бактерий, способных прикрепляться к слизистым оболочкам различных органов. Значительное число изученных штаммов *Serratia marcescens* демонстрируют способность к антилизоцимному действию. Подавляющая часть исследованных штаммов *Serratia marcescens* демонстрируют способность к гемолизу. Наибольшая гемолизирующая способность наблюдается у штаммов, изолированных из гнойных экссудатов [3, 8].

Ключевыми характеристиками главных патогенов, вызывающих нозокомиальные инфекции, являются их высокая патогенность и стойкость к антибиотикам и дезинфицирующим средствам [9, 10].

Формирование биопленок служит ключевым фактором, способствующим развитию лекарственной устойчивости у бактерий вида *Serratia marcescens*. В частности, особое фенольное соединение, известное как флоретин, обнаруживается в кожуре и коре корней таких сочных фруктов, как яблоки и груши. Это вещество эффективно ингибирует процесс образования биопленок и уменьшает вирулентность данных бактерий [11].

Исследования, проведенные в последние годы, продемонстрировали, что *Serratia marcescens* становится все более значимым компонентом микробиоты лечебных учреждений. Это связано с ее выраженными патогенными свойствами, естественной устойчивостью к ряду антибиотиков, включая колистин, а также с высокой возможностью приобретения резистентности к антимикробным средствам. Углубленное изучение вирулентности этой бактерии может способствовать лучшему пониманию ее характеристик и значительно снизить ее влияние и распространение в условиях больницы [12, 13].

Учитывая все вышесказанное, исследование динамично изменяющихся характеристик бактерий, изолированных из клинических образцов, представляет собой важную задачу.

Одним из ключевых аспектов вирулентности патогенов является их способность вызывать гемолиз. Некоторые виды микробов, как патогенные, так и условно-патогенные, обладают активностью, основанной на производстве белковых веществ, приводящих к разрушению эритроцитов, что сопровождается высвобождением гемоглобина. Литическая активность определенных гемолизинов может существенно влиять на процесс усвоения питательных компонентов. Один из механизмов, при помощи которых гемолизины разрушают эритроциты, заключается в создании пор в двуслойной клеточной мембране. В других случаях гемолизины осуществляют гидролиз фосфолипидов, что также ведет к разрушению мембран эритроцитов. Эти белки воздействуют не только на красные кровяные клетки, но и на другие компоненты крови, такие как лейкоциты и тромбоциты.

Множество бактерий вырабатывают гемолизины, которые можно выявить в лабораторных условиях благодаря их способности разрушать эритроциты *in vitro*.

Цель данного исследования заключалась в анализе гемолитической способности клинических изолятов бактерий вида *Serratia marcescens*, выделенных из различных патологических образцов, и в определении роли гемолизина этого микроорганизма в развитии инфекционных процессов.

Материалы и методы исследования

В этом исследовании были проанализированы 43 клинических штамма, идентифицированных как вид *Serratia marcescens* на основе их биологических характеристик. Эти бактерии были извлечены из различных патологических образцов пациентов: 29 штаммов *Serratia marcescens* из испражнений и 14 штаммов *Serratia marcescens* из гнойного экссудата.

Для роста изучаемых штаммов использовали плотную питательную среду (1,5-процентный мясо-пептонный агар), полужидкую питательную среду (0,7-процентный мясо-пептонный агар) и мясо-пептонный бульон. Культивирование проводили в термостате при температуре 37⁰С в течение 18–24 часов [8].

Гемолитическую активность бактерий исследовали на мясо-пептонном агаре, используя кроличьи эритроциты, предварительно очищенные в растворе Хенкса с концентрацией 3–5%. Для обнаружения тиолзависимых гемолизина применяли мясо-пептонный агар с добавлением 0,002% L-цистеина. Посевы осуществляли методом укола, а оценку гемолиза проводили спустя 24–48 часов инкубации в термостате при температуре 37⁰С. Полученные данные подвергали статистическому анализу с использованием стандартных методик [8].

Результаты исследования и их обсуждение

Все исследованные штаммы демонстрировали морфологические характеристики, характерные для рода *Serratia*, и представляли собой подвижные грамтрицательные палочки.

При инкубации на мясо-пептонном агаре у 35 штаммов (81,4%) был зафиксирован рост красно-розового пигмента. Этот пигмент чаще всего встречался у бактерий, полученных из фекальных образцов, – 28 штаммов *S. marcescens* (65,1%). В то же время лишь 7 штаммов *S. marcescens* (16,3%), изолированных из гнойных выделений, проявили способность к образованию пигмента (табл. 1).

Таблица 1

Пигментообразование изученных штаммов *Serratia marcescens*

Штаммы <i>Serratia marcescens</i>	Число штаммов	Пигментообразование
Из испражнений	29	28 (65,1%)

Из гнойного отделяемого	14	7 (16,3%)
Всего	43	35 (81,4%)

Среди факторов вирулентности бактерий *Serratia marcescens* основное внимание привлекает способность большинства штаммов производить продигиозин. Этот пигмент известен своими иммуносупрессивными свойствами и может вызывать апоптоз у клеток эукариот. Тем не менее, значение этих характеристик для развития заболеваний, вызванных серрациями у человека, остается до сих пор недостаточно изученным.

Гемолитическая активность является ключевым элементом патогенности бактерий рода серрации. Штаммы *Serratia marcescens*, которые вызывают острые кишечные заболевания, производят гемолизин, способствующий возникновению диареи. Гнойно-септические заболевания, обусловленные серрациями, представляют собой серьезные затруднения для процессов восстановления и регенерации у пациентов хирургического профиля [13].

Гемолитическая способность была выявлена у большинства изученных бактерий вида *Serratia marcescens*. Гемолитической активностью обладали 39 культур из 43 исследованных штаммов (90,7%). Определяли у серраций гемолизинны двух типов: α -гемолизинны и тиолзависимые гемолизинны. α -гемолизинны выявлены у 34 штаммов *S. marcescens* (79,1%), из которых: 25 штаммов *S. marcescens* (86,2%), выделенных из испражнений, и 9 штаммов *S. marcescens* (64,3%), выделенных из гнойного отделяемого. У пяти культур серраций (11,6%) были выявлены тиолзависимые гемолизинны. Среди них три штамма *S. marcescens* (10,3%) были изолированы из фекальных образцов, а два штамма *S. marcescens* (14,3%) выделены из гнойного экссудата (табл. 2).

Таблица 2

Гемолитическая способность штаммов *Serratia marcescens*

Штаммы <i>Serratia marcescens</i>	Число штаммов	Гемолитическая способность		Всего
		α -гемолизинны	Тиолзависимые гемолизинны	
Из испражнений	29	25 (86,2%)	3 (10,3%)	28 (96,5%)
Из гнойного отделяемого	14	9 (64,3%)	2 (14,3%)	11 (78,6%)
Всего	43	34 (79,1%)	5 (11,6%)	39 (90,7%)

Наиболее заметная гемолитическая активность наблюдается среди штаммов *S. marcescens*, полученных из фекальных образцов. Большинство из этих штаммов продуцировали α -гемолизинны. Способность к секреции тиолзависимых гемолизиннов у

культур данной группы проявляется в меньшей степени. Один из штаммов *Serratia marcescens*, выделенный из испражнений, не проявлял гемолитической активности.

Среди штаммов *S. marcescens*, выделенных из гнойного экссудата, была отмечена высокая частота их способности к синтезу α -гемолизина. В то же время производить тиолзависимые гемолизины они способны значительно реже. Из всех исследованных клинических штаммов *Serratia marcescens*, которые были получены из гнойного экссудата, лишь три культуры не проявили гемолитической активности.

Учитывая, что все образцы *Serratia marcescens* получены из патологического материала у пациентов, очевидна значимость гемолизина в процессе инфекции. Эти гемолизины могут повышать проницаемость сосудов через воспалительные медиаторы, способствуя возникновению отеков и накоплению гранулоцитов. Корреляция между экспрессией гемолизина и тяжестью инфекции также подтверждает их роль в патогенезе.

Заключение

Исследование собранных данных позволяет сделать вывод, что большинство штаммов бактерий *Serratia marcescens*, выделенных из испражнений и гнойных выделений, демонстрировали гемолитическую активность как по отношению к α -гемолизу, так и по отношению к тиолзависимым гемолизинам.

Гемолитическая активность *Serratia marcescens* может иметь серьезные последствия. Известно, что эти бактерии обладают антилизосомными свойствами, что в сочетании с их способностью к производству гемолизина способствует их долгому выживанию в человеческом организме. Посредством этих агрессивных факторов *Serratia marcescens* оказывает цитотоксическое воздействие на эпителиальные клетки человека, что, в свою очередь, приводит к нарушениям водно-солевого баланса.

В силу своих характеристик патогенные штаммы *Serratia marcescens* демонстрируют высокую устойчивость к иммунным реакциям организма человека, что позволяет им вызывать инфекции разнообразной локализации и степени тяжести.

Известно, что бактерии данного вида обладают многофакторной устойчивостью к антибиотикам, что связано с наличием трансферабельных R-плазмид. Полирезистентные штаммы *Serratia marcescens* могут быть выделены из различных патологических образцов, что увеличивает их персистентный потенциал.

Гемолизины, продуцируемые серрациями, способны наносить вред жизненно важным органам человека. Освобожденный гемоглобин может быть токсичен и повлечь за собой осложнения, что часто ведет к развитию хронических инфекционных заболеваний. Гемолизины, вырабатываемые *Serratia marcescens* в процессе инфекционного процесса, в сочетании с другими вирулентными факторами могут значительно угрожать жизни человека.

Список литературы

1. Габидуллин З.Г., Савченко Т.А., Габидуллин Ю.З., Туйгунов М.М., Булгаков А.К., Давлетшина Г.К., Суфияров Р.С., Усманова И.Н., Хуснаризанова Р.Ф. Условно-патогенные грамотрицательные и грамположительные бактерии: учебное пособие для студентов. Уфа: Издательство ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России. 2014. С. 7-11.
2. Abreo E., Altier N. Pangenome of *Serratia marcescens* strains from nosocomial and environmental origins reveals different populations and the links between them // *Sci Rep*. 2019. Vol. 9(1). P. 46. DOI: 10.1038/s41598-018-37118-0.
3. Хараева З.Ф., Блиева Л.З., Накова Л.В., Барокова Е.Б. Патогенные свойства бактерий рода *Serratia* // *Современные проблемы науки и образования*. 2018. № 6. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=28334> (дата обращения: 24.09.2024).
4. Cilli F., Nazli-Zeka A., Arda B., Sipahi O.R., Aksit-Barik S., Kepeli N., Ulusoy S. *Serratia marcescens* sepsis outbreak caused by contaminated propofol // *American Journal of Infection Control*. 2018. P. 1-3. DOI:10.1016/j.ajic.2018.10.014.
5. Piccirilli A., Cherubini S., Brisdelli F., Fazii P., Stanziale A., Di Valerio S., Chiavaroli V., Principe L., Perilli M. Molecular Characterization by Whole-Genome Sequencing of Clinical and Environmental *Serratia marcescens* Strains Isolated during an Outbreak in a Neonatal Intensive Care Unit (NICU) // *Diagnostics (Basel)*. 2022. Vol. 12(9). P. 2180. DOI: 10.3390/diagnostics12092180.
6. Han R., Xiang R., Li J., Wang F., Wang C. High-level production of microbial prodigiosin: A review // *J. Basic Microbiol*. 2021. Vol. 61(6). P. 506-523. DOI: 10.1002/jobm.202100101.
7. Горшенин А.В. Из истории исследования З.В. Ермольевой действия иммуностимулирующего препарата продигиозана в оториноларингологии // *Международный журнал гуманитарных и естественных наук*. 2021. № 5-1 (56). С. 126-128. DOI: 10.24412/2500-1000-2021-5-1-126-128.
8. Блиева Л.З. Фаги в эпидемиологическом маркировании серраций: автореф. дис. ... канд. биол. Нальчик, 1997. 23 с.
9. Sader H.S., Castanheira M., Farrell D.J., Flamm R.K., Jones R.N. Ceftazidime-avibactam activity when tested against ceftazidime-nonsusceptible *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Serratia marcescens*, and *Pseudomonas aeruginosa* from United States medical centers (2011-2014) // *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2015. Vol. 83. Is. 4. P. 389-394. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2015.06.008.
10. Amao-Ruiz E., Correa-Fernandez A.M., de la Fuente Galan L. *Serratia marcescens* septic sternoclavicular joint arthritis: A case report // *Reumatol. Clin*. 2016. Vol. 12. Is. 4. P. 238-239. DOI: 10.1016/j.reuma.2015.10.003.

11. Qi Yueheng, Ji Pengcheng, Yin Kunyuan, Zheng Yi, Niu Jiangxiu, Jia Aiqun, Zhou Jinwei, Li Jingguo. Phloretin Inhibits Quorum Sensing and Biofilm Formation in *Serratia marcescens* // *Molecules* (Basel, Switzerland). 2023. Vol. 28 (24). P. 8067. DOI:10.3390/molecules28248067.
12. Садеева З.З., Новикова И.Е., Алябьева Н.М., Лазарева А.В. *Serratia marcescens*: микробиологическая характеристика, резистентные свойства, вирулентность и клиническая значимость // *Российский педиатрический журнал*. 2023 Т. 26(3). С. 222–226. DOI: 10.46563/1560-9561-2023-26-3-222-226.
13. Ferguson D., Ryder R., Lunsford R., Dash A., Kamali A., Kimura A., Crandall J., Mukhopadhyay R., Dowless H., Ortiz N. *Serratia marcescens* Outbreak at a Correctional Facility: Environmental Sampling, Laboratory Analyses and Genomic Characterization to Assess Sources and Persistence // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2023. Vol. 20. P. 6709. DOI: 10.3390/ijerph20176709.