

АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ УСЛОВНО ПАТОГЕННЫХ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ ПРИ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ И ДИСБИОТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ КИШЕЧНИКА

Избуллаева Нигора Умриллаевна

БИМУ, ассистент

Аннотация: Проведена детекция факторов патогенности у 67 штаммов *K. pneumoniae*, выделенных из фекалий. Определяли гены, кодирующие факторы вирулентности возбудителей кишечных инфекций (*Shigella*, *Salmonella*, *Escherichia coli*). Исследование показало, что штаммы *Klebsiella* не имеют генов, кодирующих: способность к адгезии (*sfa*, *afa*, *aaf/1*, *eae*), инвазии (*iraH*, *ial*), продукции термолабильных (*elt*, LTII), термостабильных (*st1*, *st2*) и Шига-токсинов (*stx1*, *stx2*). *Klebsiella spp.* хорошо известны как возбудители оппортунистических инфекций мочевыводящих путей, крови, ран, дыхательных путей. В тоже время, этот микроорганизм не имеет факторов вирулентности диареегенных энтеробактерий и не способен вызывать диарею и другую патологию желудочно-кишечного тракта.

Ключевые слова: условно патогенные энтеробактерии, *klebsiella*, факторы патогенности, острые кишечные заболевания.

Введение. В настоящее время вопрос об этиологической значимости условно патогенных энтеробактерий (УПЭ), включая *Klebsiella spp.*, при возникновении острых кишечных заболеваний (ОКЗ) в нашей стране является спорным. Согласно существующим нормативным документам (МУ № 11-33/6-40, Москва, 1987), диагностика ОКЗ, вызванных условно патогенными энтеробактериями, включает идентификацию микроорганизма и количественную характеристику, выраженную в КОЕ/1,0 г испражнений.

Согласно современным представлениям о патогенности бактериальных возбудителей ОКЗ, они должны иметь определенный набор факторов патогенности (специфических и неспецифических), обеспечивающих выживание, размножение и развитие патологического процесса в ЖКТ человека. Энтеробактерии как возбудители ОКЗ могут содержать различные факторы патогенности: адгезии, инвазии, персистенции, токсины и токсические продукты, бактериальные модулины, индуцирующие синтез цитокинов и медиаторов воспаления и др. [1]. Официально признанные патогенные энтеробактерии (*Shigella*, *Salmonella*, *E. coli*) имеют специфические факторы патогенности, определяющие патогенез ОКЗ. Так, *Shigella* и энтероинвазивные *E. coli* (ЭИКП) обладают способностью к внутриклеточной инвазии, энтеропатогенные *E. coli* (ЭПКП) вызывают изменение cito-скелета энтероцитов и слущивание кишечного эпителия, энтеротоксигенные *E. coli* (ЭТКП) продуцируют энтеротоксины, энтерогеморрагические *E. coli* (ЭГКП) способны к продукции шига-подобных токсинов [12, 13, 16, 27]. Кроме специфических факторов, обуславливающих собственно специфический патологический процесс, патогенные энтеробактерии обладают набором неспецифических факторов, необходимых для адгезии и персистенции в организме хозяина [1]. По современным данным многие виды УПЭ могут обладать десятью и более факторами патогенности. Вероятно, с этим связано отсутствие нозологической специфичности вызываемых ими заболеваний, отличающее их от официально признанных патогенных микроорганизмов [5, 10]. УПЭ являются признанными возбудителями гнойно-воспалительных заболеваний (пневмоний, менингитов, конъюнктивитов, сепсиса, инфекций мочевыводящих путей [МВП]), в основном возникающих у пациентов, находящихся в стационарных условиях [2, 6, 7, 11, 18].

Важным направлением современных исследований является выявление ведущих факторов патогенности УПЭ и кодирующих их генов, оценка их

влияния на развитие ОКЗ и дисбиотических состояний кишечника, а также на выраженность клинических проявлений.

Целью данного исследования была детекция генов, кодирующих факторы патогенности, характерные для признанных возбудителей ОКЗ, у штаммов *K. pneumoniae* — УПЭ энтеробактерий, часто выделяющихся при бактериологическом исследовании испражнений.

Материалы и методы

Материалом исследования служили 67 штаммов *K. pneumoniae*, выделенных при бактериологическом исследовании испражнений пациентов, которые не имели признаков ОКЗ и предъявляли жалобы на различные дисбиотические проявления со стороны ЖКТ: неоформленный стул, запоры, боли в животе, повышенное газообразование. Группу сравнения составили штаммы патогенных энтеробактерий (*S. sonnei*, *E. coli* O:124, *E. coli* O:148, *E. coli* O:142, *E. coli* O:157:H7), выделенные от пациентов с выраженными клиническими проявлениями ОКЗ (синдромами колита или энтерита).

Наличие ведущих факторов патогенности у штаммов энтеробактерий изучали путем детекции кодирующих их генов методом ПЦР со специфическими праймерами. Выявляли гены, кодирующие адгезины (*sfa*, *afa*, *aaf/1*, *eaeA*), инвазины (*ial*, *ipaH*), продукцию термолabileного (*elt1*, *elt2*), термостабильного (*st1*, *st2*) и шига-подобного (*stx1*, *stx2*) токсинов. Исползованные праймеры, а также соответствующие им температуры отжига, указаны. Выделение тотальной ДНК проводили с использованием набора реагентов InstaGene matrix (BioRad, Франция) согласно инструкции производителя. Амплификацию проводили согласно разработанным протоколам [16, 19] в DNAThermal Cycler (PTC-100, MJ Research, Inc.). Амплифицированные фрагменты идентифицировали путем электрофореза в 1,2% агароз-ном геле с добавлением бромистого этидия при 100 В в течение 45 мин и визуализировали в ультрафиолетовом свете при длине волны 200

нм. В качестве маркера молекулярного веса использовали DNA Ladder 100 bp (Fermentas, Латвия).

Результаты: Молекулярно-генетическими методами нам не удалось обнаружить гены, кодирующие конкретные адгезины, присущие многим патогенным и УПЭ: S-пили, агрегативно-адгезивные фимбрии, белок интимин, афим-бриальный адгезин. Также не были обнаружены генетические детерминанты, кодирующие инвазины, энтеротоксины и шига-подобные токсины, определяющие патогенез ОКЗ у «классических» возбудителей.

В то же время, в геноме классических энтеро-ропатогенов удалось подтвердить наличие генов, кодирующих ведущие факторы патогенно-сти. Так, у штаммов *S. flexneri* и *S. sonnei*, а также энтероинвазивных *E. coli* O:124 идентифицированы гены, отвечающие за продукцию плазмидных и хромосомных факторов инвазии *ipaH* и *ial*. У штаммов *E. coli* O157:H7 выявлены гены факторов патогенности, по которым они относятся к группе энтерогеморрагических эшерихий: гены шига-подобных токсинов (*stx1* и *stx2*) и *eaeA* ген, ответственный за синтез белка ин-тимина. Штаммы *E. coli* O:148, принадлежащие к группе энтеротоксигенных эшерихий, имели гены, ответственные за продукцию термолабильного и термостабильного энтеротоксинов (*elt1*, *elt2* и *st1*, *st2*).

Однако только этих факторов недостаточно для того, чтобы микроорганизмы вызвали ОКЗ. Различные фимбриальные и нефимбриальные адгезины способствуют адгезии микроорганизма к слизи и эпителию кишечного тракта, МВП и дыхательных путей, а также к абиотическим поверхностям, покрытым коллагеном [14, 15]. Это обеспечивает персистенцию условно патогенных микроорганизмов в кишечнике, развитие патологических процессов в биотопах, в норме не являющихся постоянным местом обитания этих микроорганизмов (МВП и респираторный тракт), а также формирование биопленок на поверхностях различных инструментов, используемых при проведении инвазивных процедур.

Для более полного суждения об УПЭ как о возбудителях ОКЗ необходимо углубленное сравнительное изучение биологических свойств штаммов, выделенных от больных при различных патологических состояниях, с применением современных молекулярно-генетических методов.

Список литературы

1. Бондаренко В.М., Петровская В.Г., Потатуркина-Нестерова Н.И. Проблема патогенности клеб-сиелл. — Ульяновск: УлГУ, 1996. — 132 с.
2. Воробьева О.Н. Этиологическая структура возбудителей внутрибольничных раневых инфекций // Современные проблемы медицинской микробиологии: мат. XXXX юбилейной науч. конф. «Хлопинские чтения» (СПб., 2007). — СПб., 2007. — С. 178-179.
3. Егорова С.А., Забровская А.В., Лавреница И.С. Характеристика микрофлоры при дисбиозе кишечника и способы ее коррекции // Современные средства иммунодиагностики, иммуно- и экстренной профилактики актуальных инфекций: материалы науч. конф. с междунар. участием (ВМА, СПб., 2004). — СПб., 2004. — С. 179-181.
4. Егорова С.А. Обнаружение клебсиелл при дис-бактериозах кишечника // Актуальные вопросы инфекционной патологии — 2005: материалы Всеросс. науч. конф. молодых ученых с между-нар. участием (СПб., 27-28 января 2005). — СПб., 2005. — С. 58.
5. Жеребцова Н.Ю., Баймиев А.Х., Валишин Д.А., Мавзютов А.Р. Генетические маркеры патогенности условно патогенных энтеробактерий, выделенных у детей и подростков при острых кишечных инфекциях // Журн. микробиол. — 2007. — № 2. — С. 3.
6. Камачкова И.М. Этиологическая значимость условно-патогенных бактерий в развитии инфекции мочевыделительной системы // Материалы VIII съезда Всеросс. общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. — М., 2002. — Т. 1. — С. 182.
7. Красноголовец В.Н., Киселева Б.С. Клебсиеллезные инфекции. — М.: Медицина, 1996. — 256 с.
8. Леванова Л.А., Алешкин В.А., Воробьев А.А., Афанасьев С.С., Сурикова Е.В., Рубальский О.В., Алешкин А.В. Становление микрофлоры кишечника у детей первого года жизни // Журн. микро-биол. — 2001. — № 4. — С. 47-50.

9. Леванова Л.А., Алешкин В.А., Воробьев А.А., Афанасьев С.С., Зинин-Бернес Н.Н., Алешкин А.В. Микробиоценоз кишечника в критические периоды развития ребенка // Журн. микро-биол. — 2001. — № 6. — С. 69-73.
10. Мавзютов А.Р. Факторы патогенности оппортунистических энтеробактерий и их роль в развитии диареи // Журн. микробиол. — 2007. — № 1. — С. 89-97.