

Дохтукаева Айна Магомедовна

канд. биол. наук, доцент

Усаева Яхита Саидовна

канд. биол. наук, доцент

Шаипова Шовда Магомедовна

магистрант

ФГБОУ ВО «Чеченский государственный университет»

г. Грозный, Чеченская Республика

НЕКОТОРЫЕ ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА KLEBSIELLA

Аннотация: в представленной статье исследованы штаммы клебсиелл на некоторые факторы патогенности, в частности биохимические свойства, адгезивные свойства, агглютинация, гемагглютинация. У клебсиелл по факторам патогенности определены 16 патоваров.

Ключевые слова: клебсиелла, факторы патогенности, биохимические свойства, адгезивные свойства, агглютинация, гемагглютинация, патовары.

Бактерии рода *Klebsiella* играют существенную роль в возникновении внутрибольничных инфекций, поэтому актуальной проблемой является исследование их факторов патогенности [9, с. 39–40]. Нами были изучены следующие факторы патогенности клебсиелл: биохимические, адгезивные свойства, способности к агглютинации и гемагглютинации.

При исследовании клебсиелл на определение факторов патогенности были использованы 136 штаммов клебсиелл. Культуры клебсиелл по своему происхождению распределены в 4 группы.

1 группу составили 33 музейных штамма, из которых 18 являются типовыми культурами различных капсульных сероваров клебсиелл и получены из Минского медицинского института. 2 штамма (K59 и 405) – индикаторные для фагов Нальчинской коллекции, а 13 – индикаторные для типовых фагов Английской

коллекции (получены из лаборатории госпитальных инфекций Центральной лаборатории общественного здоровья в Лондоне от проф. Т. Pitt).

II группа клебсиелл представлена 36 культурами, выделенными из различного клинического материала (моча, мокрота, гной и др.). В их число включены 4 штамма, выделенные из смывов с рук, пеленки, перевязочного материала в детском отделении. Культуры этой группы были изолированы в различных регионах (Москва, Нальчик, Грозный).

В III группу включены 39 культур клебсиелл, выделенных из испражнений больных со спорадическими случаями кишечных инфекций и при дисбактериозах в Москве, Вильнюсе, Дели (Индия).

В VI группу составили 27 штаммов, выделенных из различного клинического материала при вспышках внутрибольничных инфекций: 15 штаммов выделены в Москве в родильном доме), 12 – в Грозном в детском отделении.

Разграничение бактерий внутри рода и вида имеет большое значение для выяснения путей циркуляции возбудителей, в первую очередь внутрибольничных инфекции, поэтому поиск эпидемиологических маркеров бактерий представляет большой интерес [4, с. 14–47].

Биохимический профиль (биовар) того или иного штамма дает ценную информацию для его идентификации. Особенности биохимических реакций лежат в основе тестов, используемых для межродовой и внутривидовой дифференциации. Наибольшее распространение получила диагностическая схема, разработанная Cowan и соавт [13, с. 601–612], учитывающая 20 биохимических тестов. На основании этой схемы может осуществляться разграничение клебсиелл на биотипы, соответствующие видам этих бактерии. Для определения биовара у 60 штаммов клебсиелл, выделенных из различного материала, использована модифицированная схема Ричарда, включающая 4 признака: ферментацию дульцита, сорбита и d – тартрата, ассимиляцию цитрата. Денными признаками, позволяющими дифференцировать штаммы *K. pneumoniae*, оказались ферментация

дульцита и сорбозы, продукция уреазы. Полагают, что отрицательный тест ферментации дульцита и сорбозы можно использовать для идентификации *K. pneumoniae* определенного калсультного типа.

В.М. Бондаренко и соавт [5, с. 28–32] описали гемагглютинирующую и адгезивную способность 290 штаммов *Klebsiella* и *Enterobacter*, среди которых 118 культур *K. pneumoniae*, а 59 штаммов *K. pneumoniae* – от здоровых детей. Гемагглютинирующей способностью обладали 94,9% штаммов, выделенных от больных, и 69,5% штаммов, изолированных от здоровых детей. Адгезивная способность установлена у 90,7% культур, изолированных от больных, и у 62,7% – от здоровых. Маннозочувствительные гемагглютинины отмечены у 57,6% штаммов от больных детей и у 34% – от здоровых, а маннозорезистентные – у 56,9% штаммов от больных и у 16,9% – от здоровых. Имеются данные, что адгезия клебсиелл на клеточных линиях HEP-2 и HELA опосредована пдазмидами [8, с. 3–6].

При изучении способности образовывать гемагглютинины клебсиеллами, выделенными из мочи, установлены три основных типа гемагглютининов: маннозочувствительные (выявлены у 99% исследованных штаммов), маннозорезистентные клебсиеллаподобные (обнаружены у всех культур.) и маннозорезистентные протейные, которые синтезировали 45% изученных штаммов [8, с. 3–6].

Одним из факторов, повышающих толерантность бактерий к действию сывороточного лизоцима животных и человека, является антилизоцимная активность. Имеются отдельные указания на распространение этого свойства среди культур клебсиелл. Среди 142 изученных штаммов клебсиелл антилизоцимкой активностью обладали 38 (61,9%). Однако, имеются данные о наличии такой способности у всех 150 исследованных штаммов клебсиелл [9, с. 210–212].

У клебсиелл и энтеробактеров установлена способность продуцировать токсины и различные токсические продукты. Среди 234..у – х «изученных культур *Klebsiella* и *Enterobacter* энтеротоксигенная активность выявлена у 119. Из этих 119 культур *K. pneumoniae* составили 40,3%, *K. oxytoca* – 12,6%, *E. cloacae* –

27,4%, *E.aerogenes* – 19,7% [5, с. 28–32]. Энтеротоксин *K.pneumoniae* лучше образуется в анаэробных и стационарно аэробных условиях, чем при встряхивании. Термостабильный энтеротоксин клебсиелл представляет собой белок с молекулярной массой 10000–15000 Д [7, с. 28–32].

К числу важных токсических веществ энтеробактерии относятся гемолизины. У энтеробактерии выделяют три типа гемолизин: « α , β , γ . α – Гемолизины обуславливают цитотоксическую активность бактерий и являются внеклеточными. β – Гемолизины связаны с микробной клеткой, γ – Гемолизины гемолизуют лишь эритроциты лошади и не действуют на эритроциты человека и кролика. У клебсиелл выявлена способность образовывать особую группу гемолизин – тиолактивируемые или тиолазависимые гемолизины. Авторами выделены два препарата таких гемолизин с молекулярными массами 8,4 и 19 КД/84/. Гемолизины бактерий рода *Enterobacter* почти не изучались. Установлено только их наличие в некоторых штаммов [16, с. 733–734].

Исследованные штаммы клебсиелл обладали в основном типичными характеристиками этих бактерий. Они представляли собой грамотрицательные палочки с капсулой, выраженной в разной степени, что проявлялось в различной степени выраженности слизистого роста на плотных питательных средах.

Биохимические свойства клебсиелл были типичными и соответствовали общепринятым критериям (таблица 1).

Таблица 1

Биохимические свойства клебсиелл

Свойство	Число/процент штаммов с положительной реакцией				
	Всего	I группа	II группа	III группа	IV группа
1	2	3	4	5	6
<i>Ферментация:</i>					
лактозы	71/52,6	16/48,5	22/61,1	18/46,1	15/55,5
<i>Образование:</i>					
β -галактозидазы	110/81,5	26/84,8	30/83,3	31/79,5	23/65,2
сероводорода	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
индола	18/13,3	3/9,1	6/16,6	6/15,4	3/11,1
<i>Продукция:</i>					

лизиндекар- боксилазы	127/94,0	31/93,9	35/97,2	36/92,3	25/92,6
орнктинде- карбоксилазы	8/5,9	1/3,0	3/8,3	3/7,7	1/3,7
фенилаланин- дезамиказы	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
уреазы	30/22,2	5/15,1	9/25,0	10/25,6	5/22,2
<i>Утилизация:</i>					
цитрата	78/57,7	16/48,5	23/63,9	24/61,5	15/55,5
малоната	87/64,4	20/60,6	23/63,9	26/66,6	18/66,6

Подавляющее большинство исследованных культур клебсиелл продуцировали декарбоксилазу лизина и не продуцировали декарбоксилазу оркитина. Ни один из изученных штаммов не образовывал сероводород и не продуцировал фенилаланиндезаминазу. Между отдельными штаммами клебсиелл имелись различия по ферментации лактозы, а также по утилизации цитрата и малоната – такими свойствами обладали соответственно 52,6, 57,7, 64,4% испытанных культур. Данное обстоятельство не позволяет провести разграничение клебсиелл по биохимическим свойствам.

Следует отметить, что по основным биохимическим свойствам заметных различий между выделенными группами клебсиелл не наблюдалось.

У исследованных штаммов клебсиелл проведено определение факторов патогенности. Исследовались ряд факторов патогенности, представляющих разные типы по механизму их действия: обеспечивающие адгезивность бактерий, персистенцию их и токсичность бактерий.

Об адгезивной способности бактерий судили по комплексу свойств: адгезивности на эритроцитах человека группы 0(1) Rh⁺, агглютинации эритроцитов человека и барана, способности адсорбировать краситель конго красный. Результаты этих определений представлены в таблице 2. При исследовании адгезии клебсиелл на эритроцитах человека к адгезивноактивным (IAM > 2,5) были отнесены 48 штаммов, что составляет 34,8 ± 4,1%. Меньше всего таких культур было среди музейных штаммов – всего 4, или 12,1 ± 5,7%, что достоверно ниже, чем

во II и III группах ($P < 0,01$). При этом высокоадгезивные штаммы ($IAM > 4.0$) среди культур I группы не отмечены, а в остальных группах их было мало – во II группе – 4, в III и IV – по 2.

Таблица 2

Адгезивные свойства клебсиелл (число/процент штаммов)

Группа штаммов	Число штаммов	Адгезивно активные штаммы	Агглютинация эритроцитов человека	Агглютинация эритроцитов барана	Адсорбция конго красного
I	33	4/12,1	15/45,4	18/54,5	1/3,0
II	36	20/55,5	10/27,7	11/30,5	17/47,2
III	39	16/41,0	19/48,7	16/41,0	4/10,2
IV	27	7/25,9	4/14,8	7/25,9	6/22,2
Всего:	135	47/34,8	48/35,5	52/38,5	28/20,7

.Средние значения IAM у клебсиелл составляли $2,41 \pm 0,08$, т.е. находились на уровне низкоадгезивных штаммов. Культуры II и III групп имели несколько более высокие показатели IAM ($2,66 \pm 0,12$ и $2,55 \pm 0,09$), соответствующие средней степени адгезивности. Штаммы IV группы имели значения IAM $2,49 \pm 0,11$. У культур I группы средние показатели IAM составили $1,92 \pm 0,1$, что было достоверно ниже, чем в остальных группах ($P < 0,05$).

Способностью агглютинировать эритроциты человека группы I(O)Rh⁺обладали 48 штаммов, или 35,5%. Такие штаммы относительно чаще встречались среди культур I и III групп ($45,47 \pm 3,6\%$ и $48,7 \pm 8,0\%$), что достоверно превышало показатели IV группы ($14,2 \pm 8,8\%$) и недостоверно отличалось от данных, полученных по II группе клебсиелл ($27,7 \pm 7,4\%$). Гемагглютинины клебсиелл были большей частью маннозочувствительными (26 штаммов), причем в отдельных группах культур число штаммов с маннозочувствительными и маннозорезистентными гемагглютининами было близким: 8 и 7 штаммов в I группе, 4 и 8 – во II. 10 и 9 – в III группе соответственно. Лишь в IV группе культур все 4 гекагглютинирующие штамма обладали маннозочувствительными гемагглютининами.

Гемагглютинационная способность в отношении эритроцитов барана была примерно такой же, как в отношении эритроцитов человека. Эритроциты барана

агглютинировали 52 штамма клебсиелл (38,5%). Такие культуры также чаще встречались среди штаммов I и III групп (54,5% и 41,0%). Однако, в IV группе культур, агглютинирующих эритроциты барана, было относительно больше, чем агглютинирующих эритроциты человека (таблица В).

У большинства штаммов клебсиелл и эти гемагглютинины были маннозочувствительными (у 34 культур из 52). Такие гемагглютинины преобладали у культур I и III групп (13 и 12 против соответственно 5 и 4).

У клебсиелл выявлено 16 патоваров. Кроме того, с учетом образования тиолзависимых гемолизинов можно выделить целый ряд патоваров.

Наиболее выраженными патогенными свойствами обладают штаммы, относящиеся к патовару 1, у которых имеются факторы патогенности всех 3 групп. Таких штаммов было всего 4 (2,3%), причем 3 из них представляли культуры II группы. У 2 штаммов этого патовара выявлена множественная устойчивость к антибиотикам и они отнесены к патовару 1г.

Патовары 2, 3 и 4 характеризовались наличием факторов патогенности 2 групп. Таких штаммов было 43 (31,8%).

Патовары 5, 6 и 7 обладали каким-либо одним фактором патогенности. Среди изученных культур клебсиелл они составили 42,2% (57 штаммов). Наконец, патовар 8 включал штаммы, у которых не выявлены факторы патогенности – таких культур было 31 (22,3%).

Больше всего клебсиелл было отнесено к патовару 6–45 штаммов (31,1%), причем 18 штаммов обладали множественной устойчивостью к антибиотикам, а 27 не обладали этим свойством. Эти культуры характеризовались выраженной актилизационной активностью и составляли около 1/3 культур во всех 4 группах штаммов.

Список литературы

1. Антипенко Б.П. Роль условно-патогенных бактерий в развитии хронических бронхитов и пневмонии / Б.П. Антипенко, А.П. Красильников // Проблемы клинической микробиологии в неинфекционной клинике. – М., 1983. – С. 86–87.

2. Батуро П.П. Характеристика микрофлоры (энтеробактерий) кишечника, обнаруженной в испражнениях от больных с острыми кишечными инфекциями / П.П. Батуро, В.П. Рагинская, И.Н. Улиско [и др.] // Актуальные вопросы профилактики острых кишечных заболеваний. – Таллин, 1985. – С. 55–66.

3. Бозиев В.Б. Антилизоцимная активность условно-патогенных энтеробактерий // Актуальные вопросы инфекционной патологии. – Нальчик, 1993. – С. 42–44.

4. Бондаренко В.М. Разработка критериев этиологической значимости штаммов так называемых условно-патогенных бактерий / В.М. Бондаренко, О.С. Аладьева, И.А. Руднев, А.Л. Яблочков // Вопросы физиологии, метаболизма и идентификации микроорганизмов. – М., 1987. – С. 14–17.

5. Бондаренко В.М. Энтеротоксигенная способность штаммов родов *Klebsiella*, *Enterobacter*, выделенных при острых кишечных заболеваниях у детей / В.М. Бондаренко, М.М. Баркус, Вл.М. Бондаренко // Ж.микробиол. – 1986. – №7. – С. 28–32.

6. Бондаренко В.М. Гемагглютинирующая и адгезивная способности штаммов *Клебсиелла* и энтеробактер / В.М. Бондаренко, М.М. Баркус, В.И. Бршшс, А.А. Ленцнер // Ж. микробиол. – 1987. – №7. – С. 3–6.

7. Бондаренко В.М. Характеристика плазмиды *Klebsiella pneumoniae*, несущей маркеры лекарственной устойчивости и антилизоцимной активности / В.М. Бондаренко, А.Л. Яблочков, Ю.М. Романова, В.Г. Петровская // Ж.микробиол. – 1988. – №3. – С. 28–32.

8. Бондаренко В.М. Гемагглютинирующая и адгезивная способности штаммов *Клебсиелла* и энтеробактер / В.М. Бондаренко, М.М. Баркус, В.И. Бршшс, А.А. Ленцнер // Ж. микробиол. – 1987. – №7. – С. 3–6.

9. Брилис В.И. *Kl. Pneumonia* и *Enterobacterspp.* как потенциальные возбудители внутрибольничных инфекций / В.И. Брилис, М.М. Баркус, Е.И. Тюри, А.А. Ленцнер // Актуальные проблемы нозоком.инфекции и лекарственной устойчивости микроорганизмов. – Минск, 1986. – С. 39–40.

10. Брилис В.И. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов / В.И. Брилис, Т.А. Брилене, Х.П. Ленцнер, А.А. Ленцнер // Лаб. дело. – 1986. – №4. – С. 210–212.

11. Бухарин О.В. Лизоцим микроорганизмов / О.В. Бухарин, Н.В. Васильев, Б.Я. Усвяцов. – Томск, 1985. – 214 с.

12. Бухарин О.В. Метод определения антилизоцимной активности микроорганизмов / О.В. Бухарин, Б.Я. Усвяцов, А.П. Малышкин, Н.В. Немцева // Ж.микробиол. – 1984. – №27. – С. 27–28.

13. Яблочков А.Л. Выделение и характеристика антилизоцимного фактора *Klebsiella pneumoniae* // Ж.микробиол. – 1989. – №3. – С. 11–14.

14. Cowan S.T. A classification of the *Klebsiella* group / S.T. Cowan, K. J. Steel, C. Shaw, J.P. Duguid // J.Gen.Microbiol. – 1960. – V.23. – P. 601–612

15. Fujita S. Latex agglutination test for serogrouping of *Klebsiella* species / S. Fujita, F. Matsuhara // Microbiol, and Immunol. – 1984. – V. 28. – P. 733–734.