

УДК 576.851.252

## ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОПУЛЯЦИИ *S.AUREUS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ РАЗЛИЧНЫХ КАТЕГОРИЙ НОСИТЕЛЕЙ

Крамарь Л.В., Жадченко Ю.В., Хлынина Ю.О., Родионова Н.В.

ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Волгоград, e-mail: [lubov-kramar@yandex.ru](mailto:lubov-kramar@yandex.ru)

Проведено изучение 78 штаммов *S. aureus*, выделенных со слизистых оболочек носовых ходов здоровых людей. У всех культур были изучены лизоцимная и антилизоцимная активности, способность инактивировать бактериальную составляющую препарата интерферон и антикомплементарную активность. Установлено, что среди изолятов, колонизирующих носовые ходы лиц, не занятых в медицине, преобладали штаммы, очень вариабельные по набору изучаемых признаков, тогда как у *S. aureus*, колонизирующих носовые ходы медицинского персонала многопрофильного соматического стационара, в 65,9% регистрировали культуры полным набором изучаемых признаков. Это свидетельствовало о том, что наибольшая степень фенотипического полиморфизма характерна для стафилококков, колонизирующих носовые ходы обычных бактерионосителей. Комплексное влияние госпитальной среды проявляется в модификации *S. aureus*. Популяция стафилококков, выделенных от медицинского персонала, характеризуется низким биологическим разнообразием и высоким вирулентным потенциалом, что обеспечивает им высокие возможности для сукцессии в другие экологические ниши организма человека.

**Ключевые слова:** стафилококки, *S. aureus*, бактерионосительство, факторы бактериальной персистенции

## PHENOTYPIC CHARACTERISTICS OF *S.AUREUS* POPULATIONS ISOLATED FROM DIFFERENT CATEGORIES OF CARRIERS

Kramar L.V., Zhadchenko Y.V., Khlynina Y.O., Rodionova N.V.

Volgograd State Medical University, Volgograd, e-mail: [lubov-kramar@yandex.ru](mailto:lubov-kramar@yandex.ru)

The study tested 78 strains of *S. aureus* isolated from the mucous membranes of nares of healthy people. Lysozymic and antilysozymic activity, the ability to inactivate the bacterial component of the drug interferon and anticomplementary activity were studied in all samples. It was found that isolates colonizing the nares of persons not employed in medicine, were very variable on a set of all the studied signs. Among species, colonizing the nasal mucosa of hospital staff, dominated culture with a full range of studied traits – 65,9%. This fact confirmed that the highest degree of phenotypic polymorphism was characteristic for *S. aureus* population colonizing the nares of conventional carriers. Complex influence of hospital environment is expressed in the modification of the phenotypic characteristics of *S. aureus*. The population of *S. aureus* isolated from medical staff characterized by low biodiversity and high virulence potential. Those properties give them the advantages and high potential for biological succession to other ecological regions of the human body.

**Keywords:** Staphylococcus, *S. aureus*, healthy carrier state, factors of bacterial persistence

Регуляция микробного биоценоза в экологической нише обеспечивается множеством фактов, в том числе явлениями микробного антагонизма, продукцией антибиотиков, бактериоцинов, лизоцима и др. [1]. Но основным из них является феномен биологического разнообразия, особенно важный для убиквитарных бактерий, к которым относятся стафилококки, чей жизненный цикл сопряжен с миграционными процессами и периодической сменой хозяина и экологических ниш [7, 8].

Для сохранения вида стафилококки должны постоянно приспосабливаться к существованию в конкретных условиях, определяющихся целой совокупностью факторов среды обитания [6]. Освоение микроорганизмами колонизируемых биотопов должно сопровождаться изменением не одного признака, а целого набора фенотипических характеристик, т.е. их био профиля [2, 5].

**Целью работы** явилось изучение биологических свойств *S. aureus* в зависимости от источника выделения.

### Материалы и методы исследования

Для определения особенностей внутривидового фенотипического разнообразия были изучены секретируемые факторы 78 штаммов *S. aureus*, полученных со слизистых оболочек носовых ходов 2 категорий здоровых бактерионосителей. Выделение и идентификацию культур осуществляли общепринятыми методами [4]. Первую группу (I) составили 37 культур, колонизирующих носовые ходы людей, не занятых в медицине (обычные бактерионосители), вторую (II) – 41 изолят от персонала соматических стационаров, имеющих стаж практической работы 3 и более лет. В процессе исследования у всех культур были изучены лизоцимная (ЛА), антилизоцимная (АЛА) и антикомплементарная активность (АКА), а также способность инактивировать бактериальную составляющую препарата интерферон (анти-БИ) [4].

### Результаты исследования и их обсуждение

Проведенные исследования выявили широкое распространение исследуемых признаков у стафилококков. Нами были установлены достоверные различия, как по частоте встречаемости, так и по уровню

выраженности изучаемых признаков. Полученные данные представлены в табл. 1.

Из данных таблицы следует, что у культур, выделенных от бактерионосителей I группы, наиболее часто регистрировали наличие продукции лизоцима (62,2%) с высокими средними значениями при-

знака ( $5,08 \pm 4,00$  у.е.). Напротив штаммы, полученные от медицинского персонала, утрачивали данную способность. Так, ЛА обладали только 53,6% культур, а уровень секреции лизоцима был достоверно ниже, чем в группе сравнения, составляя  $1,75 \pm 1,73$  у.е. ( $p < 0,05$ ).

**Таблица 1**

Распространенность и выраженность факторов персистенции стафилококков, выделенных со слизистой оболочки носовых ходов здоровых людей

Исследуемый фактор персистенции	Категория носителей			
	обычный контингент I группа		медицинский персонал II группа	
	частота обнаружения, %	выраженность признака, M ± m	частота обнаружения, %	выраженность признака, M ± m
Лизоцимная активность (у.е.)	62,2	$5,08 \pm 4,00$	53,6	$1,75 \pm 1,73^*$
Антилизоцимная активность (мкг/мл)	45,9	$1,05 \pm 1,13$	97,6	$5,02 \pm 1,59^*$
Способность инактивировать бактериальную составляющую препарата интерферон (у.е.)	48,6	$0,81 \pm 0,65$	82,9	$2,24 \pm 1,26^*$
Антикомплементарная активность (мкг/мл)	40,5	$2,56 \pm 3,05$	82,9	$6,34 \pm 1,61^*$

Примечание: \* достоверность установленных различий.

Напротив, другие тестируемые субстанции показывали увеличение признака и характеризовались высокими персистентными характеристиками, направленными на деградацию факторов неспецифической резистентности. Так, абсолютное большинство обладало способностью деградировать лизоцим (97,6%) (45,9% в группе сравнения), при этом способность стафилококков продуцировать данный фактор увеличивалась в 5 раз ( $5,02 \pm 1,59$  против  $1,05 \pm 1,13$  мкг/мл) ( $p < 0,05$ ).

Общеизвестно, что деградация лизоцима – антилизоцимная активность, является важным условием, способствующим закреплению микроорганизмов в экологической нише. Она сообщает бактериям устойчивость к фагоцитозу, действию внеклеточного лизоцима и создает селективные преимущества в биоценозе перед микробами-антагонистами, продуцирующими мурамидазу [3]. Наличие данного признака у *S.aureus* закономерно и биологически целесообразно. Стафилококки, находящиеся на слизистых оболочках, прежде всего, преодолевают местный иммунитет, напряженность которого во многом зависит от уровня тканевого лизоцима.

Несколько реже регистрировали способность инактивировать бактериальную составляющую интерферона и антикомплементарную активность.

При анализе данных табл. 1 видно, что способность инактивировать бактериаль-

ную составляющую препарата интерферон была зарегистрирована у 82,9% изолятов II группы (48,6% в группе сравнения), при этом среднее значение признака было  $2,24 \pm 1,26$  у.е. С такой же частотой выявляли *S.aureus*, обладающих антикомплементарной активностью, при этом среднее значение составило  $6,34 \pm 1,61$  мкг/мл. В группе сравнения эти показатели были достоверно ниже ( $0,81 \pm 0,65$  и  $2,56 \pm 3,05$  мкг/мл соответственно) ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, в популяции *S. aureus*, колонизирующих слизистые оболочки бактерионосителей II группы, преобладали штаммы с высокими показателями АЛА, анти-БИ и АКА, тогда как в первой активности секреции факторов персистенции была низкой.

Не подлежит сомнению факт, что для сохранения вида микроорганизмы должны постоянно приспосабливаться к существованию в конкретных экологических нишах, обладающих уникальными специфическими свойствами. Это проявляется в модификации или появлении у них целого комплекса особых фенотипических характеристик, т.е. определенного биопрофиля [2].

В связи с этим представлялось интересным изучение экологической детерминированности фенотипической вариабельности и направленности полиморфизма *S. aureus* по факторам персистенции.

Сравнительный анализ характеристик выделенных культур позволил говорить

о существовании ряда закономерностей, характеризующих политипичность золотистых стафилококков в зависимости от категории бактерионосителей. Полученные данные представлены в табл. 2.

**Таблица 2**  
Встречаемость фенотипических признаков *S.aureus* в зависимости от категории бактерионосителей

Сочетания изучаемых признаков			Здоровые бактерионосители I группа		Медицинский персонал II группа	
			абс.	%	абс.	%
АЛА	анти-БИ	АК				
-	-	-	5	13,5	0	0
+	-	-	9	24,3	1	2,4
-	+	-	5	13,5	0	0
-	-	+	3	8,1	0	0
+	+	-	3	8,1	6	14,6
+	-	+	3	8,1	6	14,6
-	+	+	6	16,2	1	2,4
+	+	+	3	8,1	27	65,9

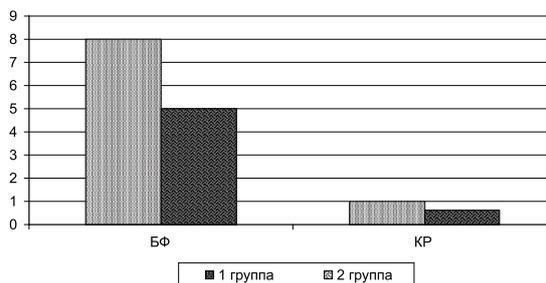
Из данных табл. 2 следует, что у стафилококков, выделенных со слизистых оболочек здоровых людей, распределение выделенных культур по наличию факторов персистенции было равномерным. Среди них регистрировали как штаммы с отсутствием таковых (13,5%), так и полным набором последних (8,1%). У 45,9% обнаруживалось по 1 признаку, а по 2 фактора в различных сочетаниях – у 32,4% изолятов. Таким образом, популяция стафилококков, колонизирующих обычных бактерионосителей, была очень вариабельна по возможности продукции персистентных факторов.

У стафилококков, выделенных от медицинского персонала, преобладали штаммы с полным набором изучаемых признаков – 65,9%, а 29,2% – имели 2 из них. Только 1 изолят *S.aureus* обладал антилизоцимной активностью как монопризнаком, а культур с отсутствием секретируемых факторов обнаружено не было.

Таким образом, наибольшая степень фенотипического полиморфизма была установлена для стафилококков, выделенных со слизистых оболочек обычных бактерионосителей, тогда как у медицинского персонала популяция характеризовалась низким биологическим разнообразием с преобладанием штаммов с высоким вирулентным потенциалом.

Данное положение нашло подтверждение в сравнении индексов богатства фе-

нотипа (БФ) и коэффициенте реализации фенотипа (КР) изучаемых групп [2]. Полученные данные представлены на рисунке.



Значения коэффициентов богатства фенотипов (БФ) и реализации фенотипов (КР) популяции *S. aureus* в зависимости от экологии выделения

Количество потенциальных вариантов фенотипов на основе изучаемых признаков составляло 8. Все эти варианты были полностью реализованы в популяции *S.aureus*, выделенных от обычных бактерионосителей (индекс БФ – 8,0). Тогда как в группе сравнения его значения были меньше, составляя 5,0. Коэффициент реализации фенотипов, рассчитанный как отношение числа выявленных вариантов к их теоретическому количеству, также был выше в I группе (1,0), тогда как во II – 0,62. Все это свидетельствовало об обеднении фенотипического разнообразия стафилококков у медицинского персонала.

Данные рисунка наглядно демонстрируют различия в степени фенотипического разнообразия *S.aureus* в зависимости от экологии выделения. Для группы стафилококков, заселяющих слизистые оболочки лиц I группы, были характерны более высокие показатели индексов, отражающих как число возможных фенотипов, так и богатство доминирующих биопрофилей. В организме людей, постоянно пребывающих в условиях медицинского стационара, происходит обеднение их биологического разнообразия по сравнению с «оптимальной» эконишей. Подобные изменения, с одной стороны, свидетельствуют об усилении патогенных свойств микроорганизмов, с другой, являются следствием направленной селекции клонов, более адаптированных к конкретным условиям обитания.

Таким образом, слизистые оболочки носовых ходов здоровых бактерионосителей являются оптимальной эконишей для *S. aureus*, в которой поддерживается высокая степень их гетерогенности. Это обеспечивает высокие возможности для их транслкации в другие экологические ниши.

Стафилококки, колонизирующие медицинский персонал, подвергаются действию

селективных факторов, вследствие чего они модифицируют свою фенотипическую структуру, обеспечивающую им динамическое равновесие со средой обитания.

### Выводы

1. Комплексное влияние факторов госпитальной среды приводит к модификации популяции *S.aureus*, колонизирующих носовые ходы здоровых бактерионосителей, что проявляется в появлении у них целого комплекса особых фенотипических характеристик, т.е. определенного био-профиля.

2. Популяция стафилококков, выделяемых со слизистых оболочек медицинского персонала, характеризуется низким биологическим разнообразием с преобладанием штаммов с высоким вирулентным потенциалом, что может являться фактором, обеспечивающим им высокие возможности для транслокации в другие экологические ниши.

3. Изучение факторов персистенции *S.aureus* позволяет проводить дифференциацию источника изолятов и оценивать его эпидемиологическую значимость.

### Список литературы

1. Бондаренко В.М. Секретируемые факторы патогенности / В.М. Бондаренко, А.Р. Мавзютов, Е. Golkocheva // ЖМЭИ. – 2002. – № 1. – С. 84–90.
2. Бухарин О. В., Гриценко В. А., Дерябин Д. Г. Место внутривидового разнообразия в экологии *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* // Журн. микробиол. – 1997. – № 3. – С. 34–39.
3. Бухарин О.В. Персистенция патогенных бактерий: теория и практика // Журн. микробиол. – 2000. – №4. – С. 4–7.
4. Диагностика и санация стафилококковых бактерионосителей: Методические рекомендации / О.В.Бухарин, Б.Я. Усвяцов, О.Л. Карташов и др. (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 06.04.2001). – М., 2001.
5. Крамарь Л.В. Микроэкология кишечника здоровых людей в условиях техногенного воздействия крупного промышленного города // Вестник РАМН. – 2002. – №8. – С. 37–40.

6. Крамарь О.Г., Савченко Т.Н. Внутрибольничные инфекции // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2010. – №2. – С. 3–8.

7. Deurberg R.H., Stobberingh E.E. The evolution of *Staphylococcus aureus* // *Infect. Genet. Evol.* – 2008. – Vol. 8. – P. 747–763.

8. Kluytmans J., van Belkum A., Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks // *Clin. Microb. Rev.* – 1997. – Vol. 10, №3. – P. 505–520.

### References

1. Bondarenko V.M., Mavzyutov A.R., Golkocheva E. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2002, no. 2, pp. 84–90.
2. Bukharin O.V., Gritsenko V.A., Deryabin D.G. *Journal of Microbiology*, 1997, no. 3, pp. 34–39.
3. Bukharin O.V. *Journal of Microbiology*, 2000, no. 4, pp. 4–7.
4. Bukharin O.V., Usvyatsov B.Ya., Kartashov O.L., Kirgizov S.B., Parshuta L.I. *Diagnostica i sanatsiya stafilokokkovykh nositeley: metodicheskie rekomendatsii* [Guidelines: Diagnostic and Rehabilitation of staphylococcal carriers], Moscow, 2001.
5. Kramar L.V. *Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2002, no. 8, pp. 37–40.
6. Kramar O.G., Savchenko T.N. *Bulletin of Volgograd State Medical University*, 2010, no.2, pp. 3–7.
7. Deurberg R.H., Stobberingh E.E. *Infect. Genet. Evol.*, 2008, Vol.8, pp.747-763.
8. Kluytmans J., van Belkum A., Verbrugh H. *Clin. Microb. Rev.*, 1997, Vol. 10, no. 3, pp. 505–520.

### Рецензенты:

Иоанниди Е.А., д.м.н., заведующая кафедрой инфекционных болезней с эпидемиологией, тропической медициной ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития РФ», г. Волгоград;

Волчанский Е.И., д.м.н., профессор, профессор кафедры детских болезней педиатрического факультета ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития РФ», г. Волгоград.

Работа поступила в редакцию 22.02.2012.