

Чуенко Э.А.*, Усвяцов Б.Я.**

*Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, г. Оренбург

**Оренбургская государственная медицинская академия, г. Оренбург

ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИКАРНОЗИНОВОЙ АКТИВНОСТИ РАЗНЫХ ВИДОВ СТАФИЛОКОККОВ

Изучена антикарнозиновая активность (АкрА) патогенных и условно-патогенных стафилококков, выделенных со слизистой оболочки носа здоровых людей и бактерионосителей. Установлено, что степень выраженности и частота АкрА зависит от видовой принадлежности микроорганизмов и источника выделения. В группе условно-патогенных стафилококков выявлена прямая связь АкрА с факторами колонизации и персистенции, но обратная зависимость с факторами вирулентности. У патогенного вида *S. aureus* определяется прямая зависимость между экспрессией АкрА и частотой встречаемости факторов колонизации, персистенции и вирулентности.

Ключевые слова: стафилококки, антикарнозиновая активность, факторы патогенности.

Введение

Стафилококки являются этиологическим фактором возникновения инфекционного процесса. Трудности лечения и профилактики стафилококковых инфекций связаны с наличием различных факторов персистенции у этих микроорганизмов [6]. Бактериальная клетка располагает секретлируемыми факторами, направленными на инактивацию механизмов иммунитета хозяина: антилизоцимная, антииммуноглобулиновая, антиинтерфероновая, антикомплементарная активности [4]. Большой интерес представляют появившиеся сведения об инаktivации стафилококками гистидинового дипептида-карнозина (β -аланил-L-гистидин) [8]. Наибольшее содержание карнозина наблюдается в обонятельном эпителии носовой полости [13].

К настоящему времени установлены важные биологические функции, выполняемые этим природным дипептидом, такие как антиоксидантные свойства, направленные на подавление свободно радикальных реакций, противоаллергическое, антистрессорное, противовоспалительное действие [3]. Также обнаружена антибактериальная активность карнозина [12]. О.Л. Чернова установила, что микроорганизмы обладают АкрА, являющейся одним из механизмов персистенции бактерий в эпителиальных клетках слизистой носа [11]. Описана местная реакция тканей организма в ответ на воздействие микроорганизмов, отличающихся по антикарнозиновому признаку [10].

Вместе с тем недостаточно изучены характеристики АкрА среди стафилококков и роль этого признака в микробной экологии.

Целью настоящей работы явилось изучение частоты распространения АкрА у разных видов стафилококков, связь АкрА с другими факторами патогенности (ФП) стафилококков, обитающих на слизистой оболочке носа в норме и при бактерионосительстве.

Материалы и методы

В работе использован 261 штамм стафилококков: *S. aureus* (n = 36), *S. epidermidis* (n = 114), *S. hylosus* (n = 26), *S. cohnii* (n = 18), *S. hominis* (n = 30), *S. capitis* (n = 14), *S. warneri* (n = 11), *S. haemolyticus* (n = 12). Штаммы стафилококков были выделены со слизистой оболочки носовых ходов здоровых лиц (неносителей) и бактерионосителей. Было обследовано 150 человек, выявлено 78 бактерионосителей. Взятие исследуемого материала проводили из передних отделов носа стерильным ватным тампоном. Исследуемый материал засеивали на чашки с желточно-солевым агаром и инкубировали при 37°C в течение 24-48 часов. Для выделения чистых культур отдельные колонии рассеивались на скошенный агар. Идентификацию микроорганизмов проводили по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам с использованием системы STAPHYtest фирмы «Lachema» (Чехия). Лецитовителлазная (ЛецА), гемолитическая (ГА) активности определялись по общепринятым методикам [2]. Лизоцимная (ЛА) и антилизоцимная (АЛА) активности оценивались по известным тестам [7]. АкрА изучалась по ранее разработанной методике [9]. В работе использовали карнозин фирмы «Sigma».

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием критерия Стьюдента [1].

Результаты

Изучение распространенности АкрА среди стафилококков показало, что более 50% этих микроорганизмов обладали АкрА (от 57% до 84%), средний уровень АкрА колебался от 1,3 мг/мл до 2,4 мг/мл. (таблица 1).

Из исследованных 261 штаммов стафилококков карнозин инактивировался в 75,8% случаев. Средний уровень АкрА составил 1,8 мг/мл. Высокая частота АкрА обнаружена у следующих видов стафилококков: *S.epidermidis* – 84,2%, *S.aureus* – 80,5%, *S.hominis* – 80%, *S.hylosus* – 77%, *S.haemolyticus* – 75%. АкрА реже обладали виды: *S.cohnii* – 66,7%, *S.capitis* – 58%. АкрА не была обнаружена у *S.warneri*.

От бактерионосителей чаще, чем от здоровых лиц, выделялись штаммы с АкрА. У бактерионосителей от 63% до 91% штаммов выделялись с АкрА, тогда как у здоровых лиц – от 16% до 76% штаммов с АкрА.

Сравнительный анализ распространения АкрА среди разных видов стафилококков с учетом источника выделения (таблица 2), показал, что от бактерионосителей чаще, чем от здоровых лиц, выделяли штаммы с АкрА у следующих видов стафилококков: *S.epidermidis* (91,3% против 76%), *S.cohnii* (71,4 против 63,6%), *S.hylosus* (84,2% против 57,1%), *S.hominis* (86,9% против 57,1%), *S.haemolyticus* (88,8% против 22,3%). *S.aureus* выделялся только от бактерионосителей и в 80,5% случаев инактивировал карнозин. *S.capitis* выявлен только от здоровых лиц и в 57,0% случаев характеризовался АкрА. Связь между экспрессией АкрА и распространенностью ФП представлена в таблице 3. Как видно из табл. 3 в группе условно-патогенных стафилококков установлена прямая связь между экспрессией АкрА и частотой экспрессии АЛА, ЛА. Среди штаммов стафилококков с АкрА распространенность АЛА составила от 70% до 88,8%, ЛА – от 50% до 73,8%. Среди штаммов, необладающих АкрА, частота экспрессии АЛА от 57,1% до 66,6%, ЛА – от 33,3% до 54,5%. У вида *S.aureus* наблюдается прямая зависимость экс-

прессии АкрА и ЛецА. Штаммы с АкрА обладали ЛецА в 86,2% случаев. Штаммы без АкрА – в 71,4% случаев. Наблюдается обратная корреляция экспрессии АкрА с частотой проявления ГА среди условно-патогенных видов стафилококков: *S.epidermidis*, *S.hominis*. Распространенность ГА среди этих видов стафилококков с АкрА от 16,6% до 45,4%, штаммы без АкрА от 25% до 61,2%. Исключение составляет *S.haemolyticus*, у которого частота ГА среди штаммов с наличием и отсутствием АкрА составляет 100%.

В отличие от условно-патогенных видов у патогенного вида *S.aureus* наблюдается прямая зависимость между экспрессией АкрА и частотой проявления ГА. Среди штаммов *S.aureus*, инактивирующих карнозин, распространенность ГА составила 79,3%, штаммы *S.aureus* без АкрА обладали ГА в 57,1% случаев.

Обсуждение

Проведенные исследования показали, что частота и степень выраженности АкрА зависит от источника выделения и видовой принадлежности микроорганизмов. Высокий процент распространения был выявлен у штаммов, выделенных от бактерионосителей.

В группе условно-патогенных стафилококков (за исключением *S.haemolyticus*) наблюдается прямая зависимость между экспрессией АкрА и частотой распространения факторов персистенции и колонизации (АЛА, ЛА), но одновременно выявлена обратная зависимость между экспрессией АкрА и частотой выявляе-

Таблица 1. Распространение АкрА среди разных видов стафилококков

Таксоны	Всего штаммов	Из них % АкрА	Средний уровень АкрА в мг/мл
<i>S. aureus</i>	36	80,5±1,1	2,3±0,3
<i>S. epidermidis</i>	114	84,2±0,3	1,5±0,2
<i>S. hylosus</i>	26	77±1,6	2,4±0,3
<i>S. cohnii</i>	18	66,7±2,6	1,4±0,4
<i>S. hominis</i>	30	80±1,3	2,2±0,2
<i>S. capitis</i>	14	57±3,5	1,3±0,3
<i>S. warneri</i>	11	–	–
<i>S. haemolyticus</i>	12	75±3,6	1,5±0,4
Всего	261	75,8±0,16	1,8±0,2

ния ГА. S.haemolyticus обладает достаточно сложно организованным мембраноповреждающим комплексом трехкомпонентного гемолизина [14] и возможно этим объясняется у данного вида стафилококков прямая связь между проявлением АкрА и ГА. Что касается патогенного вида S.aureus, выявлена прямая зависимость между АкрА и частотой экспрессии факторов персистенции, колонизации и вирулентности: АЛА, ЛА, ГА, ЛецА. Данное

явление, по-видимому, можно объяснить тем, что для нормальной микрофлоры АкрА является фактором персистенции, помогающим колонизации биотопа и созданию устойчивого эубиоза [5]. Тогда как АкрА патогенного вида S.aureus коррелирует не только с факторами персистенции и колонизации, но с фактором вирулентности, что способствует формированию бактерионосительства, как формы инфекционного процесса.

Список использованной литературы:

1. Ашмарин И.П. Статистические методы в микробиологических исследованиях / И.П. Ашмарин, А.А. Воробьев. – Л., 1962. – 179с.
2. Биргер М.О. Справочник по микробиологическим и вирусологическим исследованиям /М.О. Биргер. – М., 1982. – 254с.
3. Болдырев А.А. Карнозин (биологическое значение и возможности применения в медицине) /А.А. Болдырев. – Москва: Изд-во московского университета, 1988. – 319с.
4. Бухарин О.В. Персистенция патогенных бактерий /О.В. Бухарин. – М.: Медицина; Екатеринбург: УрО РАН, 1999. -366с.
5. Бухарин О.В. Бактерионосительство (медико-экологический аспект) /О.В. Бухарин, Б.Я. Усвяцов. – Екатеринбург: УрО РАН, 1996. – 206с.
6. Бухарин О.В. Биология патогенных кокков /О.В. Бухарин, Б.Я. Усвяцов, О.Л. Карташова – М.: Медицина; Екатеринбург: УрО РАН, 2002. – 281с.
7. Бухарин О.В. Метод определения антилизотической активности микроорганизмов /О.В. Бухарин, Б.Я. Усвяцов, А.П. Малышкин, Н.В. Немцева //Журн.микробиол.-1984. – №2. – С.27-29.
8. Бухарин О.В. Способность стафилококков к инаktivации карнозина /О.В. Бухарин, О.Л. Чернова, С.Б. Матюшина // Бюл.-экспер.биол.мед. – 1999. – №5. – С.545-546.
9. Бухарин О.В. Способ определения антикарнозиновой активности микроорганизмов /О.В. Бухарин, О.Л. Чернова, С.Б. Матюшина // Патент №2132879. – 1998.
10. Стадников А.А. Влияние карнозина на морфофункциональное состояние клеток слизистой оболочки мягкого неба крыс при стафилококковой инфекции /А.А. Стадников, О.Л. Чернова, Л.В. Ковбык, Н.Н. Шевлюк // Журн.микробиол. – 2000. – №4. – С.59-62.
11. Чернова О.Л. Персистенция стафилококков как модель системы «паразит-хозяин»: Автореф.дис...докт.биол.наук /О.Л. Чернова; Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – Пермь, 1999. – 42с.
12. Fujii A. Antistaphylococcal and antifibrinolytic activities of ω -aminoacids and their L-histidine dipeptides /A. Fujii, K.Tanaha, Y.Tsuchiya, E.Cook // Journal of Medicinal Chemistry. – 1971. – V. 14, №4. – P.354-357.
13. Margolis F. Carnosine in the primary olfactory pathway / F. Margolis // Science. – 1974. – V. 184, №4139. – P. 909-911.
14. Seigny G. Detection and purification of a potential precursor protein or a prohaemolysin produced by Staphylococcus haemolyticus / G. Seigny, R.Beaudet, G. Mc Sween // Microbius. – 1992. – V. 71. – P. 203-215.