

© Е.А. Соколова¹, Э.С. Горовиц¹, О.А. Тимашева², Г.Г. Фрейнд¹

*ГБОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия
им. ак. Е.А. Вагнера» Минздрава РФ,
ФГБУН «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН»,
г. Пермь, Россия*

ВИДОВОЙ СОСТАВ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИЙ РОДА STAPHYLOCOCCUS, ВЫДЕЛЕННЫХ ПРИ ВНУТРИУТРОБНЫХ ПНЕВМОНИЯХ

Аннотация: обсуждается этиологическая значимость и биологические свойства различных коагулозоотрицательных видов стафилококков (КОС), выделенных от детей, больных внутриутробными пневмониями. У 40,2 % детей из 55, находящихся на стационарном лечении из зева, носа и трахеобронхиальных аспиратов (ТБА) при бактериологическом обследовании выделено 37 штаммов бактерий рода *Staphylococcus*. Они были представлены достаточно широким видовым спектром, преобладали *S. haemolyticus* (43,2 %). Некоторые штаммы КОС обладали рядом факторов вирулентности (лецитовителлазной, ДНКазной активностью, гемолизинами). Определение высоких концентраций КОС в ТБА и тем более во всех трех локусах в 18,2 % случаев позволило констатировать их этиологическую значимость.

Ключевые слова: внутриутробные пневмонии, этиология, стафилококки, факторы вирулентности.

© E.A. Sokolova, E.S. Gorovits, O.A. Timasheva, G.G. Freund

*Perm State Academy of Medicine named after E.A. Vagner,
Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms,
Ural Branch of the Russian Academy of Sciences,*

Perm, Russia

SPECIES COMPOSITION AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF STAPHYLOCOCCUS GENUS BACTERIA ISOLATED IN INTRAUTERINE PNEUMONIAS

Abstract: The etiological significance and biological properties of various types of coagulase-negative staphylococci (CoNS) isolated from children with intrauterine pneumonia are discussed. 37 strains of bacteria of *Staphylococcus* genus were isolated from the throat, nose and tracheobronchial aspirates (TBA) by the bacteriological examination (40.2 % of 55 hospitalized children). They were presented with a broad range of species, *S. haemolyticus* being dominated (43.2 %). Some CoNS strains had a number of virulence factors (lecithinase, DNase activity, hemolysins). In 18.2 % of cases it was possible to state the etiological significance of CoNS by their high concentrations in TBA and especially in all three loci.

Keywords: intrauterine pneumonia, etiology, staphylococci, virulence factors.

Введение. Стафилококки относятся к числу широко распространенных микроорганизмов. Они могут колонизировать различные биотопы человека,

выступая как в качестве нормальных обитателей организма, так и возбудителей различных гнойно-септических заболеваний. Их этиологическая значимость особенно существенна в условиях иммунокомпромиссных состояний, в том числе при иммунологической незрелости, что характерно для новорожденных, и прежде всего для недоношенных детей.

Известно, что представители рода *Staphylococcus* могут являться причиной внутриутробных пневмоний, как в виде монокультур, так и различных микробных ассоциаций [6, 7, 1]. Однако большинство исследователей лишь констатируют факт присутствия этих микроорганизмов при внутриутробных пневмониях, не останавливаясь на характеристике их биологических свойств и этиологической значимости.

Цель работы – изучить видовой спектр стафилококков, их биологические свойства и возможную этиологическую роль в развитии внутриутробных пневмоний.

Материалы и методы. Проведено бактериологическое обследование 55 детей с диагнозом «внутриутробная пневмония» в первые часы после рождения. Критериями включения в группу наблюдения были: наличие симптомов выраженной дыхательной недостаточности в первые часы после рождения, необходимость интубирования трахеи, развитие пневмонии, подтвержденной рентгенологическим исследованием в первые сутки жизни. Критерии исключения: наличие гнойно-септических заболеваний, клинические проявления пневмонии в более поздние сроки, врожденные пороки развития органов. В качестве материала для исследования использовали мазки из зева и носа, а также трахеобронхиальные аспираты (ТБА). Выполнено также бактериологическое исследование 94 образцов ткани легкого детей, умерших от внутриутробных пневмоний, подтвержденных гистологическим исследованием. Группу сравнения составили 18 практически здоровых новорожденных. Взятие материала и

посев осуществляли в соответствии с положениями приказа № 535, а также методическими рекомендациями [5, 2]. Выделение стафилококков осуществляли на желточно-солевом агаре (ЖСА), их видовую идентификацию проводили на основании биохимических свойств (Стафитест 24 производства фирмы «PLIVA-Lachema», Чехия). Для учета результатов использовали бактериологический анализатор Multiscan – Ascent (производство фирмы «ТЕРМО-Labsystems», Финляндия) и компьютерную программу «Микроб-автомат», с помощью которой проводили автоматическое считывание идентификационных тест-систем. Исследовали следующие биологические свойства: наличие плазмокоагулазы, гемолитической, лецитовителлазной и ДНКазной активности [4]. Концентрацию условно-патогенных микроорганизмов считали этиологически значимой для ТБА $> 10^3$ КОЕ/мл, для полости носа и зева – $>10^4$ КОЕ/мл. При этом руководствовались существующими инструктивными материалами [5], тем, что бактериологическое обследование новорожденных проводили в первые часы жизни ребенка, а также на результатах обследования детей контрольной группы (концентрация изолированных культур в этой группе ни в одном случае не превышала 10^3 КОЕ/мл). Для оценки достоверности различий величин использовали непараметрические критерии, в частности, критерий χ^2 (компьютерная программа «STATISTICA 6»).

Результаты и их обсуждение. При бактериологическом обследовании практически здоровых детей из зева и полости носа выделено 20 штаммов микроорганизмов – представителей различных таксонов. В подавляющем большинстве случаев это была резидентная нормофлора, лишь в 1 случае слизистая зева была колонизирована *E. faecalis*. На долю коагулазоотрицательных стафилококков (КОС) приходилось 40,2 % культур. Концентрация всей выделенной условно-патогенной микрофлоры не превышала 10^3 КОЕ/мл.

В результате бактериологического обследования больных детей, у 44 из них (80,0 %) из зева, полости носа и ТБА были выделены различные микроорганизмы. Всего было изолировано 92 штамма – представителей различных таксономических групп, из которых на долю бактерий рода *Staphylococcus* приходилось 40,2 % (табл. 1).

Таблица 1

Микроорганизмы, изолированные из зева, полости носа и ТБА при бактериологическом обследовании детей с внутриутробными пневмониями, закончившимися выздоровлением

Выделенные микроорганизмы	Исследованный материал						Количество штаммов	
	мазок из зева		отделяемое носа		ТБА		абс. цифры	%
	абс. цифры	%	абс. цифры	%	абс. цифры	%		
<i>Enterococcus</i> spp.	8	20	2	8,3	4	14,3	14	15,2
<i>Enterobacter</i> spp.	1	2,5	-	-	-	-	1	1,1
<i>Escherichia</i> spp.	1	2,5	-	-	-	-	1	1,1
<i>Acinetobacter</i> spp.	3	7,5	5	20,8	2	7,1	10	10,9
<i>Klebsiella</i> spp.	3	7,5	2	8,3	4	14,3	9	9,8
<i>Bacillus</i> spp.	1	2,5	-	-	-	-	1	1,1
<i>Staphylococcus</i> spp.	13	32,5	14	58,3	10	35,7	37	40,2
<i>Streptococcus</i> spp.	7	7,5	-	-	6	21,4	13	14,1
<i>Candida</i> spp.	3	7,5	1	4,2	2	7,1	6	6,5
Итого	40		24		28		92	

Как следует из представленных данных, всего было выделено 92 штамма, из них 37 различных видов стафилококков. Их видовой спектр и основные факторы вирулентности представлены в таблице 2.

Таблица 2

Факторы вирулентности различных видов стафилококков, изолированных из зева, полости носа и ТБА детей с внутриутробными пневмониями с благоприятным исходом

Виды микроорганизмов	Количество штаммов	Количество штаммов, обладающих признаком		
		гемолизины	ДНКказа	лецитовителлаза
<i>S. haemolyticus</i>	16	16	3	3
<i>S. epidermidis</i>	11	3	2	3
<i>S. cohnii</i>	9	6	2	1
<i>S. capitis</i>	1	1	-	-
Итого	37	26	7	7

Приведенные данные свидетельствуют о том, что среди выделенных штаммов стафилококков преобладали *S. haemolyticus* и *S. epidermidis*. Следует подчеркнуть, что ни в одном случае не был изолирован *S. aureus*. Выделенные штаммы обладали определенным набором фактором вирулентности. Чаще это были гемолизины (70,3 %). Некоторые культуры обладали ДНКазной и лецитовителлазной активностью. Как правило, это были одни и те же штаммы. Поскольку КОС принято относить к условно-патогенным микроорганизмам [3], то мы провели определение их количества в исследуемом материале. У 8 детей из 44 (18,2 %) в ТБА выявлены высокие концентрации стафилококков. В зеве этот процент составил 20,5 %, в полости носа – 13,6 %. Учитывая, что бактериологическое обследование проводили в первые 2 часа жизни ребенка, а также результаты, полученные у детей группы сравнения, в качестве этиологически значимых концентраций рассматривали следующие показатели: для ТБА – $>10^3$ КОЕ/мл, для полости носа и зева – $>10^4$ КОЕ/мл. Чаще высокие концентрации были характерны для *S. haemolyticus*. Важно отметить, что практически во всех этих случаях одни и те же виды стафилококков изолировали из всех трех биотопов.

Самостоятельный интерес представляют результаты бактериологического обследования секционного материала. В этих случаях бактерии рода *Staphylococcus* были выделены из 15 (16,0 %) образцов легочной ткани из 94 исследованных, причем от 7 детей (7,4 %) изолирован *S. aureus*, тогда как при благоприятном исходе этот вид стафилококков обнаружен не был. Что касается КОС, то статистически значимых различий в частоте выделения этих видов в зависимости от исхода заболевания не установлено.

Выводы

1. При бактериологическом обследовании 55 детей, больных внутриутробной пневмонией, у 40,2 % из зева, носа и ТБА выделены бактерии рода *Staphylococcus*. Чаще их изолировали из зева.

2. Выделен достаточно широкий видовой спектр микроорганизмов, независимо от исхода пневмонии преобладали *S. haemolyticus*. В то же время в группе детей с благоприятным исходом *S. aureus* не был изолирован ни в одном случае.

3. Определение высоких концентраций КОС в ТБА и тем более во всех трех указанных локусах позволило констатировать их этиологическую значимость в 18,2 % случаев.

Список литературы

1. *Абрамова И.В.* Клинико-лабораторные критерии диагностики внутриутробных инфекций у новорожденных: автореф. ... дис. канд. мед. наук. – Саратов, 2010. – 120 с.

2. *Волкова Э.О., Маркович Н.И., Авдеева Н.С., Савельева А.М., Горовиц Э.С., Карпунина Т.И., Сергевнин В.И.* Алгоритм отбора проб клинического материала для бактериологического исследования с целью идентификации возбудителей гнойно-септических инфекций. Методические рекомендации. – Пермь, 2006. – 30 с.

3. *Дерябин Д.Г.* Стафилококки: экология и патогенность. – Екатеринбург, 2000. – 239 с.

4. *Лабинская А.С., Блинкова Л.П., Ещина А.С.* Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований. – М.: Медицина, 2004. – 576 с.

5. Приказ Минздрава СССР от 22.04.85 N 535. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений.

6. *Таточенко В.К., Середа Е.В., Федоров А.М., Катосова А.К., Дементьева Г.М., Самсыгина Г.А., Страчунский Л.С.* Антибактериальная терапия пневмоний у детей // Антибиотики и химиотерапия. – 2000. – № 5. – С. 33–39.

7. *Черствый Е.Д.* Лекции по патологической анатомии: учебное пособие / под ред. Е.Д. Черствого, М.К. Недзьведя. – Асар, 2006. – 464 с.

References

1. Abramova I.V. Kliniko-laboratornye kriterii diagnostiki vnutriutrobynykh infektsiy u novorozhdennykh: avtoref. dis. kand. med. Nauk [Clinical-laboratory criteria of diagnostics of intrauterine infections in newborns: summary of the thesis ... of Cand. of med. Sciences]. Saratov, 2010. 120 p. (in Russian).
2. Volkova E.O., Markovich N.I., Avdeeva N.S., Savel'eva A.M., Gorovits E.S., Karpunina T.I., Sergevnin V.I. Algoritm otbora prob klinicheskogo materiala dlya bakteriologicheskogo issledovaniya s tsel'yu identifikatsii vozбудитеley gnoyno-septicheskikh infektsiy. Metodicheskie rekomendatsii [Algorithm of the selection of clinical material probes for bacteriological investigation to identify the causative agents of purulent-septic infection]. Perm, 2006. 30 p. (in Russian).
3. Deryabin D.G. Stafilokokki: ekologiya i patogennost' [Staphylococci: ecology and pathogenicity]. Ekaterinburg, 2000. 239 p. (in Russian).
4. Labinskaya A.S., Blinkova L.P., Eshchina A.S. Obshchaya i sanitarnaya mikrobiologiya s tekhnikoy mikrobiologicheskikh issledovaniy [General and sanitary microbiology with the technology of microbiological studies]. Moscow: Meditsina, 2004. 576 p. (in Russian).
5. Prikaz Minzdrava SSSR ot 22.04.85 N 535 «Ob unifikatsii mikrobiologicheskikh (bakteriologicheskikh) metodov issledovaniya, primenyaemykh v kliniko-diagnosticheskikh laboratoriyakh lechebno-profilakticheskikh uchrezhdeniy» [Decree of the Ministry of the USSR dated 22.04.85 N 535 “About the unification of microbiological (bacteriological) studying methods used in clinical-diagnostic laboratories of medical and preventive institutions] (in Russian).
6. Tatochenko V.K., Sereda E.V., Fedorov A.M., Katosova A.K., Dement'eva G.M., Samsygina G.A., Strachunskiy L.S. Antibakterial'naya terapiya pnevmoniy u detey [Antibacterial therapy of pneumonias in children]. *Antibiotiki i khimioterapiya*, no. 5, 2000, pp. 33–39 (in Russian).
7. Cherstviy E.D. Lektsii po patologicheskoy anatomii: uchebnoe posobie [Lectures on pathologic anatomy: study guide]. Edited by E.D. Cherstviy, M.K. Nedzved. Asar, 2006. 464 p. (in Russian).

Соколова Екатерина Анатольевна – врач-ординатор кафедры патологической анатомии с секционным курсом (тел.: 8-961-57-22-120, e-mail: skatt13@list.ru).

Горовиц Эдуард Семенович – доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующий кафедрой микробиологии и вирусологии с курсом клинической лабораторной диагностики (тел.: 8-963-01-70-771, e-mail: eduardgorovits@mail.ru).

Фрейд Генриетта Герхардовна – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии с секционным курсом (тел.: 8-912-48-91-265, e-mail: gfreynd@mail.ru).

ГБОУ ВПО «Пермская медицинская академия им. ак. Е.А. Вагнера». Адрес: 614990, г. Пермь, ул. Петропавловская, д. 26

Тимашева Ольга Анатольевна – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории алканотрофных микроорганизмов (тел.: 8-912-49-63-034, e-mail: olga_timasheva@mail.ru).

ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, 614081 Пермь, ул. Голева, 13.

Sokolova Ekaterina Anatolyevna – resident doctor of the department of pathologic anatomy with an autopsy course (tel: 8-961-57-22-120, email: skatt13@list.ru).

Gorovits Eduard Semenovich – Doctor of Medical Science, professor, Honored Scientist of the Russian Federation, head of the department of microbiology and virology with a course of clinical laboratory diagnostics (tel: 8-963-01-70-771, e-mail: eduardgorovits@mail.ru).

Freynd Genrietta Gerkhardovna – Doctor of Medical Science, professor, head of the department of pathologic anatomy with an autopsy course (tel: 8-912-48-91-265, e-mail: gfreynd@mail.ru).

Perm State Academy of medicine named after E.A. Vagner, 26, Petropavlovskaya str., Perm, 614990, Russia.

Timasheva Olga Anatolyevna – Doctor of Medical Science, professor, leading researcher alkanotrophic microorganisms (tel: 8-912-49-63-034, e-mail: olga_timasheva@mail.ru).

Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 13, Golev str., Perm, 61408, Russia.