

ВЗАИМОСВЯЗЬ И СТЕПЕНЬ ВЫРАЖЕННОСТИ АДГЕЗИВНОЙ СПОСОБНОСТИ И АНТИЛИЗОЦИМНОЙ АКТИВНОСТИ СТАФИЛОКОККОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ С КОЖИ ЛЮДЕЙ, СТРАДАЮЩИХ ХРОНИЧЕСКИМИ ДЕРМАТОЗАМИ

Представлены результаты исследования качественного и количественного составов микрофлоры кожи людей, страдающих хроническими кожными дерматозами. Отмечено превалирование в микробных ассоциациях пораженных и чистых участков кожи кокковой флоры, а именно *Staphylococcus aureus*. Определены выраженность адгезии к эритроцитам крови и интенсивность антилизоцимной активности золотистого стафилококка. Показана прямая взаимосвязь адгезивной активности стафилококков с антилизоцимной активностью.

Ключевые слова: микроорганизмы кожи; золотистый стафилококк; адгезия; антилизоцимная активность.

Одним из начальных этапов любого инфекционного процесса является способность микроорганизмов-патогенов прикрепляться к клеткам тканей посредством адгезии. От степени успешности данного процесса будут зависеть дальнейшая колонизация микроорганизмами различных биотопов тела человека и проявление ими своих патогенных свойств. От адгезии также во многом зависят и состав нормальной микрофлоры, ее защитные свойства и способность препятствовать адгезии возбудителей. Среди механизмов защиты от патогенных микроорганизмов у позвоночных организмов существуют некоторые факторы естественной неспецифической резистентности, к которым, в частности, относится лизоцим, обладающий антимикробным действием. Однако в процессе своей эволюции микроорганизмы разных филогенетических групп приобрели способность синтезировать ингибиторы лизоцима, что дает им возможность выживать в биотопах организма хозяина [1. С. 12]. Соответственно, адгезивная способность и антилизоцимная активность микроорганизмов (АЛА) являются важными биологическими свойствами среди широкого спектра персистентных характеристик патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. В свете данной проблемы оказывается актуальным изучение биологических свойств патогенов кожного микробиоценоза при некоторых хронических дерматозах невыясненной этиологии, способных подавлять факторы естественной резистентности организма хозяина, а также адгезивной способности как одного из функциональных факторов патогенности.

Целью работы явилось изучение взаимосвязи и степени выраженности адгезивной способности и антилизоцимной активности стафилококков, выделенных с кожи людей, больных хроническими дерматозами.

Материалы и методы. Исследованы смывы с кожи людей, полученные от 270 лиц в возрасте от 18 до 80 лет, находящихся в стационаре областного кожно-венерологического диспансера г. Ульяновска, с хроническими дерматозами: псориаз (43,1%), экзема (38,6%), атопический дерматит (18,1%). Группу сравнения составили 80 практически здоровых лиц. Качественное и количественное исследование микробиоценозов кожи осуществляли на базе бактериологической лаборатории городской клинической больницы № 1 г. Ульяновска. Забор материала производили с пораженных и интактных участков кожи ватным тампоном, смоченным 0,85%-м раствором хлористого натрия. Смывы в количестве 0,1 мл заседали на питательные среды, через 48 часов подсчитывали количество выросших колоний и пересчитывали на 1 см² кожи [2. С. 60].

Родовую и видовую идентификацию осуществляли по морфологическим, тинкториальным, биохимическим свойствам по стандартным методам [3].

Адгезивные свойства определяли по методу Брилис с соавт. (1986). Клеточным субстратом служили формализованные эритроциты человека 0 (I) группы Rh (+). Определяли средний показатель адгезии (СПА) – среднее количество микробов, адгезированных на одном эритроците, при подсчете не менее 25 эритроцитов. Адгезивность считали нулевой при СПА от 0 до 1,0, низкой – при СПА от 1,01 до 2,0, средней – от 2,1 до 4,0, высокой – свыше 4,0 [4. С. 211].

Антилизоцимную активность выделенных микроорганизмов определяли методом отсроченного антагонизма [5. С. 21]. В работе использовали лизоцим фирмы Sigma-Aldrich, Швейцария. В качестве индикаторного тест-штамма использовали *Micrococcus luteus* (штамм № 2665 ГИСК им. Л.А. Тарасевича) из коллекции Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН. Активность штаммов оценивали в мкг/мл.

Штаммы разделили на три группы: 1-ю группу составили микроорганизмы, выделенные с пораженных участков кожи обследованных лиц, 2-ю – микроорганизмы, выделенные с интактных участков кожи, и 3-ю группу – микроорганизмы, выделенные с кожи практически здоровых лиц из группы сравнения.

Статистическую обработку результатов проводили по Ашмарину [6] с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2003. Оценку средних величин производили путем парного сравнения и определения доверительного интервала на основании расчета коэффициента Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение. Наиболее частым сочленом микробиоценоза кожи обследованных людей являлась грамположительная микрофлора, в частности представители бактерий рода *Staphylococcus*. Обсемененность кожи золотистым стафилококком выявлена в 50,4%, причем на пораженных участках кожи их количественное значение составило 759 ± 133 КОЕ/см², на интактных – 64 ± 26 КОЕ/см².

Анализ результатов по определению адгезивного потенциала золотистого стафилококка показал, что в первой группе СПА золотистого стафилококка составил $2,31 \pm 0,23$, во второй – $1,8 \pm 0,22$, в третьей – $0,8 \pm 0,10$ ($P < 0,05$). В зависимости от величины среднего показателя адгезии все изученные штаммы разделили на штаммы с нулевым, низким, средним и высоким СПА (таблица).

Значение среднего показателя адгезии (СПА) микроорганизмов кожи

СПА	1-я группа	2-я группа	3-я группа
Нулевой	0,46±0,25	0,88±0,12	0,53±0,12
Низкий	1,74±0,09	1,67±0,07	1,22±0,03
Средний	2,63±0,15	2,73±0,04	–
Высокий	4,1±0,08	–	–

Примечание. «–» – указанные значения СПА не обнаружены.

Средний показатель адгезии оказался наиболее высоким для штаммов золотистого стафилококка, контаминирующих пораженные участки кожи, и составил 4,1±0,08. На интактных участках кожи высокоадгезионные штаммы отсутствовали. Для штаммов, относящихся к группе с низким СПА, характерным было сближение адгезионного показателя для пораженных и здоровых участков – 1,74±0,09 и 1,67±0,07 соответственно. Аналогичная ситуация наблюдалась и в группе штаммов со средним значением СПА, который составил 2,63±0,15 и 2,73±0,04 для пораженных и здоровых участков кожи соответственно. Также были обнаружены штаммы с нулевым значением СПА, который составил 0,46±0,25 и 0,88±0,12 на пораженных и здоровых участках кожи соответственно.

Далее с целью выявления степени выраженности антилизоцимной активности была проанализирована частота встречаемости данного признака у представителей рода *Staphylococcus spp.* Анализ показал, что в 1-й группе этот признак имеют 59,1% всех изученных штаммов, в то время как во 2-й группе он был выявлен у 37,5% штаммов, в 3-й группе – у 12,6% штаммов. При этом среднее количественное значение АЛА микроорганизмов в 1-й группе составило 2,7±0,1 мкг/мл во 2-й группе – 2,5±0,2 мкг/мл, что достоверно выше, чем в 3-й. Анализ межвидовых различий в частоте проявления антилизоцимной активности показал, что *S. aureus* проявлял данный признак в 68,9% случаев в 1-й группе, снижаясь до 56,3% случаев во 2-й группе. АЛА *S. epidermidis* составила 60% на пораженной коже и 11,1% на интактных участках (в 3-й группе – 10%). Различий в АЛА *S. haemolyticus* как на пораженных, так и на интактных участках не обнаружено (66,6%). Средний уровень АЛА у штаммов *S. aureus* составил 2,85±0,2 мкг/мл в 1-й группе и 2,66±0,2 мкг/мл – во второй группе. Анализ проявления антилизоцимной активности золотистого стафилококка в зависимости от формы заболевания показал различия при экземе, атопическом дерматите и псориазе, где количественное значение АЛА составило 3,2±0,3, 3,0±0,4, 2,6±0,2 мкг/мл

соответственно ($p < 0,05$). В целом АЛА у изученных микроорганизмов варьировала от 1 до 5 мкг/мл. Следует отметить, что наибольшее количество штаммов 1-й группы проявило активность в пределах 1–3 мкг/мл (80%), меньшее количество штаммов приходилось на активность 4–5 мкг/мл (20%). Во второй группе 83,3% штаммов показали активность в интервале 1–3 мкг/мл и 16,6%, – 4 мкг/мл. Активность 5 мкг/мл не проявил ни один из изученных штаммов.

С целью выявления взаимосвязи выраженности адгезивных свойств с антилизоцимной активностью был рассчитан коэффициент корреляции, который составил 0,13 для индекса СПА и АЛА микроорганизмов, выделенных с пораженной кожи и 0,39 – с интактных участков кожи.

Из вышесказанного следует, что штаммы *S. aureus* с пораженных участков кожи по интенсивности адгезии превосходят штаммы, выделенные со здоровых участков (СПА 2,31±0,23 и 1,8±0,22 соответственно). Кроме того, наибольшее количество штаммов с высоким показателем адгезии обнаружено на пораженной коже, а на интактных участках таковые отсутствовали.

Выраженность антилизоцимной активности микроорганизмов, выделенных с пораженных участков кожи, выше по сравнению с интактными как в количественном, так и в качественном отношении. Наличие антилизоцимной активности стафилококков со средними и высокими значениями при хронических дерматозах позволяет предполагать существенную патогенетическую роль этого фактора в развитии и течении указанных дермопатологий.

Таким образом, способность *Staphylococcus aureus* противостоять и подавлять механизмы защиты хозяина, с одной стороны, а также интенсивная адгезия, обусловленная высоким адгезивным потенциалом, – с другой, приводят к активной колонизации пораженных и интактных участков кожи, что, в свою очередь, наряду с другими факторами патогенности создает этим микроорганизмам условия для длительного персистирования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бухарин О.В., Вальшев А.В. Микробные ингибиторы лизоцима // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2006. № 4. С. 8–13.
2. Иванов Н.А., Данилова Е.Г. Количественное исследование микрофлоры здоровой кожи // Вестник дерматологии и венерологии. 1984. № 2. С. 59–61.
3. Аврех В.В., Биргер М.О., Ведьмина Е.А., Влодавец В.В. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под общ. ред. М.О. Биргера. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 1973. 455 с.
4. Брилис В.И. и др. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов // Лабораторное дело. 1986. № 4. С. 210–212.
5. Бухарин О.В., Вальшев А.В., Елагина Е.Е. Антилизоцимная активность анаэробных бактерий фекальной микрофлоры человека // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2000. № 5. С. 20–22.
6. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л.: Изд-во мед. лит., 1962. 179 с.

Статья представлена научной редакцией «Биология» 28 марта 2011 г.