

ЭНТЕРОТОКСИГЕННОСТЬ ШТАММОВ *S.AUREUS*, ВЫДЕЛЕННЫХ У ДЕТЕЙ С ДИСБИОЗОМ КИШЕЧНИКА

ИРИНА ВЕНЕДИКТОВНА НИКОЛАЕВА, докт. мед. наук, доцент кафедры детских инфекций,
ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Казань, Россия,
тел. 8-900-326-03-48, e-mail: IrinaNicolaeva@mail.ru

Реферат. Цель работы — определение частоты продукции энтеротоксинов А и В штаммами *S.aureus*, выделенными у детей с различными формами дисбактериоза кишечника. **Материал и методы.** Исследовано 74 штамма *S.aureus*, выделенных из фекалий у детей раннего возраста с дисбактериозом кишечника (ДБК). 16 штаммов выделено у детей в возрасте 1—6 мес, 13 штаммов — у детей в возрасте 6—12 мес и 42 штамма у детей в возрасте 1—3 лет. У 24 (36,5%) детей имело место бессимптомное носительство *S.aureus* (компенсированная форма ДБК), у 51 (63,5%) ребенка диагностирован клинически выраженный стафилококковый дисбактериоз кишечника. Определение способности штаммов *S.aureus* к продукции энтеротоксинов А (SEA) и В (SEB) проводили методом РНГА. В работе использовали стафилококковые эритроцитарные диагностикумы, разработанные в НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи. Результаты учитывали по четырехкрестовой системе. В качестве контроля использовали энтеротоксигенные штаммы *S.aureus* (продуцент SEA-FRI-722 и продуцент SEB S 6715 H) и энтеротоксины SEA, SEB фирмы «Serva» (Германия) и энтеротоксины SEA, SEB, полученные в лаборатории НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи. **Результаты.** Изучена энтеротоксигенность 74 кишечных штаммов *S.aureus*, выделенных у детей раннего возраста с дисбиозом кишечника. Способность к продукции SEA обнаружена у 5,3%, SEB — у 10,7%, SEA+SEB — у 1,3% исследованных культур. Энтеротоксигенные штаммы выделены у детей с нормальным стулом в 16,1%, у детей с дисфункцией кишечника — в 18,2% случаев. **Выводы.** SEA и SEB не имеют существенного значения в развитии дисфункции кишечника при дисбиозе кишечника. Возможна бессимптомная колонизация кишечника детей раннего возраста энтеротоксигенными штаммами *S.aureus*.

Ключевые слова: дети, дисбиоз кишечника, *S.aureus*, энтеротоксины А и В.

ENTEROTOXIGENITY OF STRAINS OF *S.AUREUS*, ISOLATED FROM CHILDREN WITH INTESTINAL DYSBIOSIS

IRINA V. NIKOLAYEVA

Abstract. Objective. To determine the frequency of production of enterotoxin A and B strains of *S.aureus* isolated from children with various forms of intestinal dysbiosis. **Methods.** 74 strains of *S.aureus*, isolated from the feces of young children with intestinal dysbiosis were studied. 16 strains isolated from children aged 1—6 months, 13 strains — from children aged 6—12 months and 42 strains from children aged 1—3 years. 24 (36,5%) children were an asymptomatic carrier of *S.aureus* (compensated intestinal dysbiosis), 51 (63,5%) children were diagnosed with symptomatic staphylococcal intestinal dysbiosis. Determination of strains of *S.aureus* to the production of enterotoxin A (SEA) and B (SEB) was performed by IHT. In this work we used staphylococcal erythrocytic diagnostic tools developed in NIEM them. NF Gamal. As a control enterotoxigenic strains of *S.aureus* (producer SEA-FRI-722 and producer SEV S 6715 H) and enterotoxins SEA, SEV company «Serva» (Germany) and enterotoxins SEA, SEV, obtained in the laboratory NIEM them. N.F. Gamal. **Results.** 74 enterotoxigenic strains of intestinal *S.aureus*, isolated from young children with intestinal dysbiosis were analyzed. The ability to produce SEA was detected in 5,3% SEB — in 10,7%, SEA+SEB in 1,3% of the cultures studied. Enterotoxigenic strains isolated from children with normal stool were detected in 16,1%, in children with bowel dysfunction — in 18,2% of cases. **Conclusion.** SEA and SEB does not play essential role in the development of bowel dysfunction in intestinal dysbiosis. Asymptomatic colonization of enterotoxigenic strains of *S.aureus* young children can exist.

Keywords: children, intestinal dysbiosis, *S.aureus*, enterotoxins A and B.

Стафилококковые инфекции (СИ) остаются серьезной проблемой практической педиатрии. Данные литературы свидетельствуют о прогрессирующем росте заболеваемости и смертности от данной патологии во всем мире [10]. Важнейшим патогенным для человека видом стафилококков является *Staphylococcus aureus* — стойкий, высоковирулентный микроб, способный вызвать более 100 нозологических форм от стафилодермий до септических эндокардитов и синдрома токсического шока. Наиболее восприимчивы к стафилококковым инфекциям новорожденные и дети первых месяцев жизни. Развитие инфекции в большинстве случаев связывается с предшествующим носительством стафилококков в различных экологических нишах. *S.aureus* обитает главным образом на слизистой носа и полости рта. Данный микроор-

ганизм часто обнаруживается и в составе кишечной микрофлоры у детей [1, 6]. Способность к продукции энтеротоксинов является одной из основных характеристик стафилококков, вызывающих поражение пищеварительного тракта. Доказана этиологическая роль 6 энтеротоксинов А–F в развитии стафилококковых пищевых интоксикаций [11]. Данные об этиологической роли различных типов энтеротоксинов стафилококков в развитии дисфункции кишечника при нарушениях микрофлоры пищеварительного тракта отсутствуют.

Целью работы являлось определение частоты продукции энтеротоксинов А и В штаммами *S.aureus*, выделенными у детей с различными формами дисбактериоза кишечника.

Материал и методы. Исследовано 74 штамма *S.aureus*, выделенных из фекалий у детей ранне-

го возраста с дисбактериозом кишечника (ДБК). 16 штаммов выделено у детей в возрасте 1—6 мес, 13 штаммов — у детей в возрасте 6—12 мес и 42 штамма — у детей в возрасте 1—3 лет. У 24 (36,5%) детей имело место бессимптомное носительство *S.aureus* (компенсированная форма ДБК), у 51 (63,5%) ребенка диагностирован клинически выраженный стафилококковый дисбактериоз кишечника. Определение способности штаммов *S.aureus* к продукции энтеротоксинов А (SEA) и В (SEB) проводили методом РНГА в лаборатории стафилококковых инфекций НИИЭИМ им. Н.Ф. Гамалеи под руководством канд. биол. наук Ф.С. Флуер. В работе использовали стафилококковые эритроцитарные диагностикумы, разработанные в НИИЭИМ им. Н.Ф. Гамалеи. Для постановки РНГА использовали аппарат «Tasachi» с V-образными лунками. Результаты учитывали по четырехкрестовой системе. В качестве контроля использовали энтеротоксигенные штаммы *S.aureus* (продуцент SEA-FRI-722 и продуцент SEB S 6715 Н) и энтеротоксины SEA, SEB фирмы «Serva» (Германия) и энтеротоксины SEA, SEB, полученные в лаборатории НИИЭИМ им. Н.Ф. Гамалеи.

Результаты и их обсуждение. Энтеротоксигенность выявлена у 13 штаммов стафилококков [(17,3±4,4)%]. У 11 детей содержание энтеротоксигенных стафилококков составило 10⁴ КОЕ/г, у двух детей — 10⁵ КОЕ/г. Наиболее часто у детей с ДБК изолировались штаммы *S.aureus*, продуцирующие SEB (10,7%), в 2 раза реже — штаммы, вырабатывающие SEA (5,3%), и у 1 (1,3%) штамма обнаружена комбинация исследуемых токсинов (табл. 1). 12 штаммов [(92,3±11,2)%] стафилококков были умеренными продуцентами SEA и SEB (титр 1/2-1/8). Суперпродукция SEB (титр 1/64) выявлена у 1 штамма *S.aureus*.

Таблица 1

Частота продукции энтеротоксинов А и В, штаммами *S.aureus*, выделенных у детей с дисбактериозом кишечника

Тип энтеротоксина	Кол-во штаммов, абс. (%) (n=75)
SEA	4; (5,3±2,6)%
SEB	8; (10,7±3,4)%
SEA + SEB	1; (1,3±1,3)%

Частота выделения энтеротоксигенных стафилококков не зависела от возраста детей. Из 31 штамма *S.aureus*, изолированных у детей с нормальным стулом, способностью к продукции энтеротоксинов обладали 5 штаммов [(16,1±6,6)%]. Практически с такой же частотой энтеротоксигенные штаммы выделялись от пациентов с дисфункцией кишечника [(18,2±5,8)%] ($p>0,05$). Частота встречаемости энтеротоксигенных штаммов *S.aureus* у детей с компенсированным дисбактериозом и клинически манифестными формами

дисбактериоза кишечника достоверно не различалась (табл. 2).

Все случаи клинически манифестных форм ДБК с выделением энтеротоксигенных штаммов *S.aureus* характеризовались умеренной дисфункцией кишечника: легкая форма энтероколита диагностирована у 7 [(15,9±5,5)%], запор — у 1 (2,3%) пациента. Из 13 пациентов, инфицированных энтеротоксигенными штаммами *S.aureus*, 7 детей являлись постоянными выделителями стафилококков (длительность бактериовыделения составляла более 6 мес). В отличие от транзиторных бактериовыделителей, это была группа ослабленных, часто болеющих детей. Трое детей страдали атопическим дерматитом, два ребенка — атопической бронхиальной астмой, один — рецидивирующим фурункулезом и имел в анамнезе неревматический кардит, 2 детей относились к группе часто болеющих детей.

S.aureus являются условно-патогенными микроорганизмами и достаточно часто обнаруживаются в составе микрофлоры, колонизирующей различные экологические ниши человеческого организма. Для доказательств этиологической роли выделенных штаммов стафилококков в развитии локального инфекционного процесса необходимо обнаружить органоспецифические факторы патогенности возбудителя. Поражение кишечника при стафилококковых инфекциях в основном связано с энтеротоксинами, среди которых наиболее значимыми являются SEA и SEB. SEA считается основным фактором патогенности стафилококков, вызывающих пищевые отравления и энтероколиты у детей грудного возраста [9]. Способностью синтезировать энтеротоксины обладают не только вирулентные стафилококки, инфицирующие ЖКТ, но и штаммы, вызывающие гнойно-воспалительные процессы внекишечной локализации, а также культуры, изолированные от здоровых бактерионосителей [6]. Ф.С. Флуер и соавт. (2007) указывают на целесообразность определения энтеротоксигенности штаммов *S.aureus*, выделенных у детей с дисбактериозом кишечника, для оценки степени их опасности и решения вопроса терапевтической тактики [2].

Нами изучена способность к продукции энтеротоксинов А и В штаммами *S.aureus*, выделенными у детей с нарушениями микробиоценоза кишечника. Изучено 75 копрокультур *S.aureus*. Энтеротоксигенность выявлена у 17,3% изолятов. Способность к продукции SEA обнаружена у 5,3%, SEB — у 10,7%, SEA+SEB — у 1,3% исследованных культур. Практически все эти штаммы были умеренными продуцентами энтеротоксинов. Энтеротоксигенные штаммы стафилококков, продуцирующие SEA (3,2%) и SEB (12,9%), были обнаружены в нашем исследовании у детей с нормальным стулом, что свидетельствует о возможности их бессимптомного носительства в кишечнике. Данное явление может быть

Таблица 2

Частота встречаемости энтеротоксигенных штаммов *S.aureus* при различных стадиях компенсации дисбактериоза кишечника

Стадия компенсации ДБК	Количество штаммов <i>S.aureus</i> , абс. (%)			
	SEA+	SEB+	SEA+SEB	Всего SE+
Компенсированный (n=31)	1; (3,2±3,1)%	4; (12,9±6,0)%	0	5; (16,1±6,6)%
Некомпенсированный (n=44)	3; (6,8±3,8)%	4; (9,±4,3)%	1; (2,3±2,2)%	8; (18,2±5,8)%

связано с умеренной продукцией энтеротоксинов, невысоким популяционным уровнем энтеротоксигенных стафилококков, а также нейтрализующим эффектом сывороточных антител, которые часто обнаруживаются у детей раннего возраста [12]. Обращает на себя внимание тот факт, что в нашем исследовании энтеротоксигенные штаммы выделялись приблизительно с равной частотой от пациентов с нормальным стулом и с дисфункцией кишечника. Невысокая частота (18,2%) их встречаемости у детей с клинически выраженными формами ДБК, с нашей точки зрения, свидетельствует о незначительной роли данных типов энтеротоксинов в развитии дисфункции кишечника при стафилококковом дисбактериозе кишечника.

Известно, что SEA и SEB являются бактериальными суперантигенами и способны вызывать прямую (антигеннезависимую) активацию Т- и В-лимфоцитов [5]. Молекулам суперантигенов отводится значительная роль в патогенезе иммунодефицитных состояний, аллергических и аутоиммунных заболеваний. Имеются доказательства роли различных типов энтеротоксинов в патогенезе синдрома токсического шока, ревматоидного артрита, атопического дерматита, синдрома Кавасаки и т.д. [3, 4, 7, 8]. С этих позиций можно объяснить то, что все дети с персистенцией энтеротоксигенных стафилококков, которых мы наблюдали, относились к группе часто болеющих детей и имели проявления атопического дерматита и бронхиальной астмы.

Таким образом, у 17,2% детей со стафилококковым дисбактериозом кишечника обнаружены *S.aureus*, продуцирующие энтеротоксины А и В. Данные типы энтеротоксинов, по-видимому, не имеют существенного значения в развитии дисфункции кишечника при дисбиозе кишечника. Возможна бессимптомная колонизация энтеротоксигенными стафилококками, однако персистенция данных штаммов в кишечнике может быть причиной развития у ребенка атопических заболеваний и частой заболеваемости в целом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Николаева, И.В. Характеристика кишечной микрофлоры у здоровых детей раннего возраста г. Казани / И.В. Николаева, В.А. Анохин, И.А. Айнутдинова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. — 2009. — № 2. — P.30—34.
2. Флуер, Ф.С. Мониторинг энтеротоксигенности *Staphylococcus aureus* при диагностике дисбактериоза кишечника у детей / Ф.С. Флуер, В.Я. Прохоров, Н.С. Бродина, О.Г. Логинова // Педиатрия. — 2008. — № 6. — С.56—60.
3. Bunikowski, R. Evidence for a disease-promoting effect of *Staphylococcus aureus*-derived exotoxins in atopic dermatitis / R. Bunikowski, M.E. Mielke, H. Skarabis [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. — 2000. — № 105. — P.814—819.
4. Hans, D. Rapidly Fatal Infections / D. Hans, E. Kelly, K. Wilhelmson, E.D. Katz // Emerg. Med. Clin. North. Am. — 2008. — Vol. 26, № 2. — P.259—279.
5. Leung, D.Y. Superantigens: Molecular Biology, Immunology, and Relevance to Human Disease / D.Y. Leung, B. Huber, P.M. Schlievert — New York, 1997. — P.601—607.
6. Lindberg, E. Long-Time Persistence of Superantigen-Producing *Staphylococcus aureus* Strains in the Intestinal Microflora of Healthy Infants / E. Lindberg, F. Nowrouzian, I. Adlerberth, E.A. Wold // Pediatric Research. — 2000. — Vol. 48, № 6. — P.741—747.
7. Marples, R.R. Enterotoxins and toxic-shock syndrome toxin-1 in non-enteric staphylococcal disease / R.R. Marples,

A.A. Wieneke // Epidemiol-Infect. — 1993 — Vol. 110, № 3. — P.477—488.

8. Ortega, E. Multiple Roles of *Staphylococcus aureus* Enterotoxins: Pathogenicity, Superantigenic Activity, and Correlation to Antibiotic Resistance / E. Ortega, H. Abriouel, R. Lucas, A. Galvez // Toxins. — 2010. — Vol. 2, № 8. — P.2117—2131.
9. Rasooly, L. In vitro assay of *Staphylococcus aureus* enterotoxin A activity in food / L. Rasooly, N.R. Rose, D.B. Shah [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. — 1997. — Vol. 63, № 6. — P.2361—2365.
10. Regine, M. Evaluation and treatment of community-acquired *Staphylococcus aureus* infections in term and late-preterm previously healthy neonates / M. Regine, Fortunov [et al.] // Pediatrics. — 2007. — Vol. 120, № 5. — P.937—945.
11. Reinholdt, J. Comparative analysis of immunoglobulin A 1 protease activity among bacteria representing different genera, species. And strains / J. Reinholdt, M. Kilian // Infect. and Immun. — 1997. — Vol. 65, № 11. — P.4452—4459.
12. Vergeront, J.M. Prevalence of serum antibody to staphylococcal enterotoxin F among Wisconsin Residents: implications for toxic-shock-syndrome / J.M. Vergeront, S.J. Stolz, B.A. Crass // J. Infect. Dis. — 1983. — Vol. 148. — P.692—698.

REFERENCES

1. Nikolaeva, I.V. Charakteristika kischechnoi mikroflory u zdorovyh detei rannego vozrasta g. Kazani / I.V. Nikolaeva, V.A. Anohin, I.A. Aynutdinova // Rossiiskii vestnik perinatologii i pediatrii. — 2009. — № 2. — P.30—34.
2. Fluier, F.S. Monitoring enterotoksigenosti *Staphylococcus aureus* pri diagnostike disbakterioza kischechnika u detei / F.S. Fluier, V.Ya. Prohorov, N.S. Brodinova, O.G. Loginova // Pediatriya. — 2008. — № 6. — S.56—60.
3. Bunikowski, R. Evidence for a disease-promoting effect of *Staphylococcus aureus*-derived exotoxins in atopic dermatitis / R. Bunikowski, M.E. Mielke, H. Skarabis [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. — 2000. — № 105. — P.814—819.
4. Hans, D. Rapidly Fatal Infections / D. Hans, E. Kelly, K. Wilhelmson, E.D. Katz // Emerg. Med. Clin. North. Am. — 2008. — Vol. 26, № 2. — P.259—279.
5. Leung, D.Y. Superantigens: Molecular Biology, Immunology, and Relevance to Human Disease / D.Y. Leung, B. Huber, P.M. Schlievert — New York, 1997. — P.601—607.
6. Lindberg, E. Long-Time Persistence of Superantigen-Producing *Staphylococcus aureus* Strains in the Intestinal Microflora of Healthy Infants / E. Lindberg, F. Nowrouzian, I. Adlerberth, E.A. Wold // Pediatric Research. — 2000. — Vol. 48, № 6. — P.741—747.
7. Marples, R.R. Enterotoxins and toxic-shock syndrome toxin-1 in non-enteric staphylococcal disease / R.R. Marples,
8. Ortega, E. Multiple Roles of *Staphylococcus aureus* Enterotoxins: Pathogenicity, Superantigenic Activity, and Correlation to Antibiotic Resistance / E. Ortega, H. Abriouel, R. Lucas, A. Galvez // Toxins. — 2010. — Vol. 2, № 8. — P.2117—2131.
9. Rasooly, L. In vitro assay of *Staphylococcus aureus* enterotoxin A activity in food / L. Rasooly, N.R. Rose, D.B. Shah [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. — 1997. — Vol. 63, № 6. — P.2361—2365.
10. Regine, M. Evaluation and treatment of community-acquired *Staphylococcus aureus* infections in term and late-preterm previously healthy neonates / M. Regine, Fortunov [et al.] // Pediatrics. — 2007. — Vol. 120, № 5. — P.937—945.
11. Reinholdt, J. Comparative analysis of immunoglobulin A 1 protease activity among bacteria representing different genera, species. And strains / J. Reinholdt, M. Kilian // Infect. and Immun. — 1997. — Vol. 65, № 11. — P.4452—4459.
12. Vergeront, J.M. Prevalence of serum antibody to staphylococcal enterotoxin F among Wisconsin Residents: implications for toxic-shock-syndrome / J.M. Vergeront, S.J. Stolz, B.A. Crass // J. Infect. Dis. — 1983. — Vol. 148. — P.692—698.