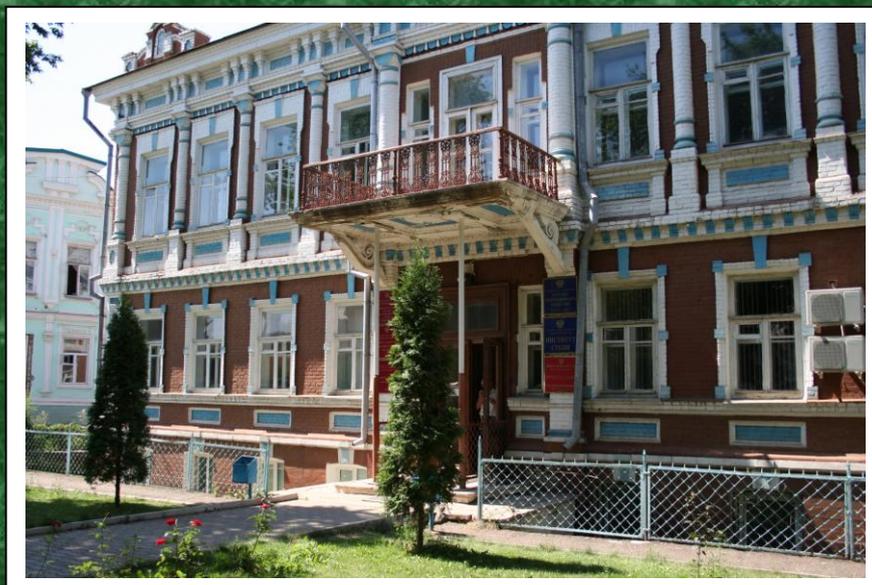


ISSN 2304-

Учредители:  
Уральское отделение РАН  
Оренбургский научный центр УрО РАН

**Бюллетень**  
**Оренбургского научного центра**  
**УрО РАН**  
(электронный журнал)



**2012 \* № 3**

On-line версия журнала на сайте  
<http://www.elmag.uran.ru>

© Коллектив авторов, 2012

УДК 579.61

*Л.П. Потехина, О.Л. Карташова, Т.М. Уткина, И.В. Валышева*

## **ТАКСОНОМИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА МИКРОФЛОРЫ, КОЛОНИЗИРУЮЩЕЙ ВЕНОЗНЫЕ ТРОФИЧЕСКИЕ ЯЗВЫ И ЕЕ ПЕРСИСТЕНТНЫЕ СВОЙСТВА**

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия

*Цель.* Изучение микробного пейзажа, персистентных свойств микрофлоры венозных трофических язв нижних конечностей с оценкой их диагностической значимости и определения биомишеней для отбора лекарственных препаратов.

*Материалы и методы.* Проведено клинико-бактериологическое обследование 58 больных с трофическими язвами нижних конечностей венозной этиологии в возрасте от 37 до 80 лет. Выделены и идентифицированы микроорганизмы, определены антилизозимная, антикомплементарная и антикарнозиновая активности.

*Результаты.* Установлено ведущее значение микроорганизмов рода *Staphylococcus* (56,8%) с доминирующим положением, как в монокультуре, так и в ассоциациях штаммов *S. aureus*. Анализ персистентных свойств микрофлоры, выделенной при различных вариантах течения заболевания, определил их роль при затяжном течении процесса.

*Заключение.* Изученные факторы персистенции могут быть использованы в качестве биомишеней при отборе лекарственных препаратов, пригодных для эффективной борьбы с персистирующими патогенными микроорганизмами при венозно-трофических язвах нижних конечностей.

*Ключевые слова:* венозно-трофические язвы нижних конечностей, видовой состав микроорганизмов, персистентные свойства микрофлоры

*L.P. Potekhina, O.L. Kartashova, T.M. Utkina, I.V. Valysheva*

## **TAXONOMICAL STRUCTURE OF MICROFLORA COLONIZING VENOUS TROPHIC ULCERS AND THEIR PERSISTENT PROPERTIES**

Institute of cellular and intracellular symbiosis UrB RAS, Orenburg, Russia

*Objective.* Studying of a microbic landscape, persistent properties of microflora of venous trophic ulcers of legs with evaluation of their diagnostic importance and definition of biotargets for selection of medicines.

*Materials and methods.* Clinic-bacteriological survey of 58 patients with trophic ulcers of legs of a venous etiology at the age from 37 till 80 years is conducted. Microorganisms are allocated and identified, antilysozyme, anticomplement and anticarnosine activities are defined.

*Results.* Leading value of *Staphylococcus spp.* (56,8 %) with a leading position, both in a monoculture, and in associations of *S. aureus* strains is established. The analysis of persistent properties of the microflora allocated at various options of a course of a disease defined their role at the long current of process.

*Conclusion.* The studied factors of a persistence can be used as biotargets at selection of the medicines suitable for effective fight against persistent pathogens at venous and trophic ulcers of legs.

*Keywords:* venous and trophic ulcers of legs, species structure of microorganisms, persistent properties of microflora

### **Введение.**

Заболевания вен, составляющие основную причину развития язв, чрезвычайно широко распространены [7,11]. Важный вклад в характер в течения венозных трофических язв нижних конечностей вносят микроорганизмы [10].

В последние годы при гнойной патологии различной локализации изучаются персистентные свойства микроорганизмов [3], от выраженности которых зависит скорость элиминации последних из очага воспаления [1] и прогноз течения заболевания [5,6]. Однако, эти характеристики микрофлоры, колонизирующей трофические язвы нижних конечностей, не изучены. Известно, что персистентный потенциал микроорганизмов влияет на длительность их переживания в макроорганизме, а подавление персистентного потенциала лекарственными препаратами позволяет значительно расширить их круг [4].

В связи с вышеизложенным целью нашего исследования явилось изучение микробного пейзажа, персистентных свойств микрофлоры венозных трофических язв нижних конечностей с оценкой их диагностической значимости и определения биомишеней для отбора лекарственных препаратов.

### **Материалы и методы.**

Под наблюдением на лечении в НУЗ «Отделенческая клиническая больница на станции Оренбург ОАО «РЖД» (исследования выполнены совместно с хирургом больницы к.м.н. Гандыбиным Е.А.) находились 58 больных с трофическими язвами нижних конечностей венозной этиологии в возрасте от 37 до 80 лет. У всех пациентов было проведено бактериологическое исследование. Выделение аэробных микроорганизмов осуществляли на 5% кровяном агаре, аэробных - Schaedler-агаре (BD MS, США). Для выявления анаэробных микроорганизмов исследуемый материал доставляли в специальных vacutainer Gas Pak (Becton Dickinson Microbiology Systems, США) и создавали дополнительные условия с помощью газогенераторных пакетов «Gas Pak Anaerobic System» (BDMS, США) в анаэробной камере «Gas Pak» (BDMS, США). Выделенные микроорганизмы идентифицировали до вида с использованием тест-систем «Lachema» (Чехия) и изучали на наличие факторов персистенции: антилизоз-

цимной (АЛА), антикарнозиновой (АКРА), антикомплементарной активностей (АКА) [3].

Достоверность полученных различий оценивали с помощью критерия Стьюдента [2].

### Результаты.

При изучении видового состава микрофлоры, колонизирующей венозно-трофические язвы нижних конечностей, было установлено, что в 30% случаев возбудители выделялись в монокультуре, в 57,5% - в ассоциациях, а в 12,5% - роста микроорганизмов отмечено не было. Всего было выделено и идентифицировано 95 штаммов. Видовой состав возбудителей трофических язв нижних конечностей характеризовался разнообразием (табл. 1).

Таблица 1. Видовой состав микрофлоры, колонизирующей трофические язвы нижних конечностей венозной этиологии

Род/Вид микроорганизмов	Доля среди изолятов микроорганизмов (%)
<b><i>Staphylococcus sp.</i>, в том числе:</b>	<b>56,8</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	35,7
<i>S. epidermidis</i>	8,3
<i>S. warneri</i>	3,2
<i>S. auricularis</i>	1,1
<i>S. capitis</i>	3,2
<i>S. schleiferi</i>	1,1
<i>S. simulans</i>	1,1
<i>S. xylosus</i>	3,1
<b><i>Enterobacteriaceae sp.</i>, в том числе:</b>	<b>16,1</b>
<i>Klebsiella ozaenae</i>	5,2
<i>Klebsiella oxytoca</i>	3,2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1,1
<i>Enterobacter spp.</i>	2,1
<i>Enterobacter sakazakii</i>	1,1
<i>Serratia marcescens</i>	1,1
<i>Serratia ficaria</i>	1,2
<i>Citrobacter koseri</i>	1,1
<b>Иные микроорганизмы, в том числе:</b>	<b>27,1</b>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6,2
<i>Pseudomonas spp.</i>	5,1
<i>Candida albicans</i>	2,1
<i>Candida spp.</i>	2,1
<i>Bifidobacterium denti</i>	1,1
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1,1

<i>S. pyogenes</i>	3,2
<i>S. gordonii</i>	2,1
<i>Enterococcus spp.</i>	4,1
<b>Всего</b>	<b>100</b>

Из таблицы видно, что из язвы чаще выделялись стафилококки (56,8%), преимущественно *S. aureus* (35,7%), и энтеробактерии (16,1%), в том числе *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.* и др.; реже встречались неферментирующие бактерии, представленные *Pseudomonas spp.* (11,3%), грибы рода *Candida* (4,2%), *Streptococcus spp.* (5,3%) и *Enterococcus spp.* (4,1%).

В 2,2% случаев (у двух пациентов) была выделена анаэробная флора: *B. dentium* в монокультуре; *P. anaerobius* в ассоциации с *C. albicans*, *S. epidermidis*, *S. capitis*.

Аэробная микрофлора в монокультуре была представлена *S. aureus* (57,1%), *S. epidermidis* (9,6%), *S. capitis* (9,6%), *S. marcescens*, *S. gordonii*, *Enterococcus sp.*, *Pseudomonas aeruginosa* (по 4,8%).

В ассоциациях в 81,5% случаев доминировал золотистый стафилококк, который по 11,1% выделяли совместно с представителями рода *Klebsiella* (*K. oxytoca*, *K. ozaenae*) и псевдомонадами, а также с *S. haemolyticus*, *Candida sp.*, *S. epidermidis* и энтеробактериями (по 3,7%). Отмечены также ассоциации *P. aeruginosa* с *S. schleiferi* или с *Klebsiella oxytoca* (по 3,7%); *S. auricularis* с *Enterobacter sakazakii* (3,7%).

Кроме того, золотистый стафилококк выделяли в ассоциации с эпидермальным стафилококком и энтерококками, *S. warneri* и *S. xylosus* (по 7,4%), а также с *S. pyogenes* и грибами *Candida albicans*, *S. pyogenes* и *S. warneri*, *S. simulans* и *Klebsiella oxytoca*, с *S. epidermidis* и *P. aeruginosa* (по 3,7%). Отмечена также ассоциация *S. epidermidis* с *P. aeruginosa* и *Enterobacter sp.* (3,7%).

Ассоциации из четырех микроорганизмов были представлены *S. aureus* с *S. xylosus*, *Serratia ficaria*, *Citrobacter koseri* (3,7%), *S. aureus* с *P. aeruginosa*, *Enterococcus sp.*, *Klebsiella ozaenae* (3,7%), *S. epidermidis*, *S. capitis*, *Candida albicans*, *Peptostreptococcus anaerobius* (3,7%) и золотистым стафилококком с клебсиеллами (3,7%), из пяти – *S. aureus* с *Candida albicans*, *P. aeruginosa*, *S. gordonii* и *Pseudomonas sp.* (3,7%).

Нами проанализированы видовые составы микроорганизмов в зависимости от характера заболевания. При затяжном течении заболевания микроорга-

низмы в ассоциациях выделяли в 78,5% , в монокультуре – в 21,5% случаев, при обычном течении в 50% - в монокультуре и в 50% - в ассоциациях.

При затяжном течении заболевания из общего числа выделенных штаммов 28,6% составил *S. aureus*, который в 12,5% выделяли в монокультуре и в 87,5% в ассоциации; аналогичные данные получены и по коагулазоотрицательным стафилококкам (КОС); энтеробактерии выделяли в 10,7% случаев (в 33,3% в монокультуре и в 66,7% в ассоциациях); только в ассоциациях с другими микроорганизмами были выделены: *P. aeruginosa* – в 14,4%, *C. albicans* – в 7,1%, энтерококки -7,1%, стрептококки – в 3,5% случаев.

При обычном течении заболевания наиболее значимым также был *S. aureus* (45,5%), который выделяли в монокультуре в 40% случаев и в 60% в ассоциациях; КОС высевали в 31,8% случаев (в 42,9% в монокультуре и 57,1% в ассоциациях). Энтеробактерии (в 13,6%) и *C. albicans* (в 9,1%) выделяли только в ассоциации с другими микроорганизмами.

Далее проведен сравнительный анализ распространенности и выраженности изученных персистентных свойств у штаммов, выделенных от больных с затяжным (1 группа) и обычным (2 группа) течением заболевания.

При этом установлено, что у микроорганизмов, выделенных от больных 1 группы, АЛА обнаруживалась у 80% штаммов *S. aureus* и у всех изолятов КОС и энтеробактерий, тогда как у микроорганизмов, выделенных от больных 2 группы в 62%, 85% и 76% случаях соответственно; АКА - *S. aureus* (90%) и *C. albicans* (100%); АКрА в 100% случаев у КОС и энтеробактерий. У *S. aureus*, выделенных от больных 2 группы, АКрА выявляли в 95% случаев, АКА у КОС в 100% и АЛА у *C. albicans* в 100%, тогда как у микроорганизмов, выделенных от больных 1 группы в 93%, 89% и 50% случаях соответственно.

На следующем этапе работы у всех выделенных штаммов микроорганизмов оценивали уровень выраженности персистентных характеристик. Изучение АЛА у микроорганизмов разных видов показало, что выраженность признака у штаммов *S. aureus*, грибов рода *Candida*, КОС, выделенных от больных 1 группы, достоверно выше в сравнении со штаммами, выделенными от больных 2 группы ( $p < 0,05$ ), и лишь энтеробактерии, выделенные у больных разных групп, не отличались по выраженности признака. Выраженность АКА и АКрА у штаммов, выделенных от больных 1 группы, была в 1,6 раз выше по сравнению с микроорганизмами, выделенными от больных 2 группы ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, установлено, что микроорганизмы, колонизирующие венозные трофические язвы нижних конечностей, характеризуются способностью к инаktivации факторов естественной резистентности макроорганизма. Показано, что микроорганизмы с высокими значениями факторов персистенции высеваются от больных с затяжным течением заболевания.

### **Заключение.**

Изучение микрофлоры, колонизирующей венозно-трофические язвы нижних конечностей, выявило ведущее значение микроорганизмов рода *Staphylococcus* (56,8%) при более низкой частоте выделения энтеробактерий, ферментирующих бактерий, грибов рода *Candida*, стрептококков, энтерококков. Доминирующее положение, как в монокультуре, так и в ассоциациях занимали штаммы *S. aureus*.

Результатом проведенных исследований явился анализ персистентных свойств микрофлоры, выделенной при различных вариантах течения заболевания. Установлена роль антилизосимной, антикомплементарной и антикарнозиновой активностей в определении длительности течения венозных трофических язв нижних конечностей: выраженность персистентных признаков у микроорганизмов, выделенных из трофических язв пациентов с затяжным течением заболевания, как правило, была выше, чем у изолятов, выделенных при обычном течении процесса. Подобная закономерность наблюдалась и при других видах инфекционно-воспалительной патологии [1, 5, 6].

Известно, что подавление лекарственными препаратами персистентных свойств возбудителя затрудняет его паразитирование внутри клеток и, тем самым, повышает эффективность лекарственных воздействий [4, 7, 9].

Использование изученных факторов персистенции в качестве биомаркера позволит отбирать лекарственные препараты, пригодные для эффективной борьбы с патогенными микроорганизмами, персистирующими в венозно-трофических язвах нижних конечностей.

*(Работа выполнена при поддержке программы фундаментальных исследований УрО РАН, проект № 12-С-4-1022 «Регуляция биологических свойств микроорганизмов растительными экстрактами как основа разработки антибактериальных средств»)*

### **Литература.**

1. Абрамзон О.М., Елагина Н.Н., Карташова О.Л. и др. Характеристика микрофлоры, выделенной при острых воспалительных заболеваниях легких и плевры // Журнал микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2003 № 4. С. 44-47.

2. Ашмарин И.П., Воробьёв А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л., 1962. 180 с.
3. Бухарин О.В. Персистенция патогенных бактерий. М.: Медицина, 1999. 366 с.
4. Бухарин О.В., Челпаченко О.Е., Усвяцов Б.Я. Влияние лекарственных растений на антилизоцимную активность микроорганизмов // Антибиотики и химиотерапия. 2003. № 5. С. 11-14.
5. Гавриленко В.Г., Фадеев С.Б., Бухарин О.В. и др. Микробиологические особенности течения гнойно-воспалительных процессов мягких тканей у больных сахарным диабетом // Вестник хирургии. 2001. № 6. С. 39-41.
6. Глазева С.А. Клинические варианты течения рожи и характеристики возбудителей осложненных и неосложненных ее форм // Вестник Оренбургского государственного университета. 2006. № 13. С. 122-122.
7. Журавлёва О.В. Системное и местное лечение трофических язв венозной этиологии: Автореф. ... канд. мед. наук. Москва, 2004. 22 с.
8. Кириллов Д.А. Лекарственная регуляция персистентных свойств микроорганизмов: Автореф. ... канд. мед. наук. Оренбург, 2004. 22 с.
9. Тарасевич А.В. Регуляция антилизоцимной активности энтеробактерий эндогенными факторами желудочно-кишечного тракта и разработка рациональных подходов к диагностике и коррекции дисбиоза кишечника: Автореф. ... канд. мед. наук. Оренбург, 2004. 20 с.
10. Шубин Л.Л., Дёгтева Г.К. Микробная флора язв у больных хроническими язвенными пиодермиями нижних конечностей // Нижегородский медицинский журнал. 1996. № 5. С. 55-57.
11. Эмиров Г.Н. Комплексное лечение венозно-трофических язв нижних конечностей с использованием средства «некрацидолизин»: Автореф. ... канд. мед. наук. Ростов-на-Дону, 2004. 22 с.

*(Контактная информация: Потехина Лидия Петровна – к.м.н., старший научный сотрудник Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, 460014 г. Оренбург, ул. Пионерская, 11, тел. 8 (3532) 774463, e-mail: labpersist@mail.ru)*