

УДК 616.61-002.3-06:616.98:579.86

DOI: 10.17238/PmJ1609-1175.2017.2.58-61

Роль факторов патогенности *Enterococcus faecalis* в развитии пиелонефрита у детей

Е.А. Зайцева¹, Е.В. Крукович¹, Е.А. Мельникова^{1,2}, В.Н. Лучанинова³, Т.С. Коменкова¹, Н.С. Вайсера²

¹ Тихоокеанский государственный медицинский университет (690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2),

² Краевая детская клиническая больница № 1 (690078, г. Владивосток, пр-т Острякова, 27), ³ Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41)

Представлены результаты микробиологического исследования культур *Enterococcus faecalis*, изолированных из мочи детей с патологией мочевыделительной системы. Исследуемые культуры показали фенотипическую неоднородность биологических свойств, в том числе факторов вирулентности. Установлено, что преобладающий в клинической картине интоксикационный синдром обусловлен комплексом патогенных факторов фекального энтерококка, вызывающих токсическое повреждение тканей. Выявлена корреляционная связь между степенью адгезии, гемолитической, желатиназной и лецитиназной активностями с симптомами поражения верхних мочевых путей, что свидетельствует о важном значении микробной адгезии и определенных факторов вирулентности *E. faecalis* в патогенезе инфекционно-воспалительного процесса.

Ключевые слова: энтерококк фекальный, уропатогенность, инфекция мочевой системы, показатели адгезии.

В последние годы все большее значение среди этиологических факторов инфекционных заболеваний приобретают грамположительные кокки, в том числе фекальный энтерококк (*Enterococcus faecalis*). Частота его регистрации как причины инфекции мочевой системы (ИМС) за последние 15 лет увеличилась и составляет, по данным разных авторов, от 5 до 14,2%, а при нозокомиальной ИМС – от 10 до 16% [2, 10, 15].

Усиление значимости фекального энтерококка в развитии поражений мочевой системы, в том числе пиелонефрита, обусловлено многими причинами: факторами патогенности микроорганизма (в т.ч. множественной антибиотикорезистентностью), увеличением числа лиц с иммунодефицитными состояниями и др. [3]. ИМС – это результат бактериально-гостальных взаимоотношений, зависящих как от генетически детерминированных фенотипических признаков (уропатогенности) бактериальных агентов, так и от состояния макроорганизма. К последним относят нарушения уродинамики, аномалии мочевой системы, нарушение резистентности организма у детей и пожилых, беременных и пациентов с сахарным диабетом, лиц с иммунодефицитами (в т.ч. после пересадки почки) [4, 6, 11].

Уропатогенность, как частное проявление патогенности бактерий – полидетерминантное свойство микроорганизмов, отражающее их способность формировать эндогенные очаги инфекции, проникать в почки и уротракт, колонизировать органы мочевой системы и инициировать в них воспалительный процесс [1, 7]. Энтерококки синтезируют большое количество факторов патогенности, способствующих развитию инфекционного процесса. К ним относят факторы агрегации и феромоны, интенсифицирующие

процессы генетического обмена у этих микроорганизмов, внеклеточные металлопептидазы, гидролизующие коллаген, гемоглобин и другие белки, а также цитолизины – бактериоцины, разрушающие про- и эукариотические клетки, и др. [3, 9]. Наибольшее количество факторов патогенности выявлено у *E. faecalis*, выделенных из мочи [14]. Высокая протеолитическая активность данного микроорганизма (гидролиз желатина, казеина, коллагена) вызывает токсическое повреждение тканей и способствует формированию рубцовых изменений в почках при ИМС [3, 8, 11, 14]. Однако, несмотря на частую встречаемость *E. faecalis* среди возбудителей ИМС у детей, его свойства как уропатогена изучены и описаны недостаточно, хотя именно от них зависят характер поражения органов мочевой системы, степень тяжести и прогноз заболевания.

Цель работы: анализ факторов вирулентности у *E. faecalis*, изолированных из мочи детей с пиелонефритом, для оценки их патогенного потенциала.

Материал и методы

В работе исследовано 57 культур *E. faecalis*, выделенных из мочи 57 детей в возрасте от 3 дней до 16 лет с патологией мочевыделительной системы, находившихся на лечении в Краевой детской клинической больнице № 1. Анализировалась клиника заболевания. Микробиологическое исследование мочи проводилось согласно приказу МЗ СССР № 535 от 22 апреля 1985 г. Морфологические, культуральные и биохимические свойства оценивали общепринятыми методами. Адгезивную активность энтерококков определяли по В.И. Брилис и др. (1986). Для оценки адгезивных свойств использовали средний показатель адгезии (СПА) и индекс адгезивности микроорганизма (ИАМ).

Полученные данные обрабатывались с применением метода параметрического и непараметрического анализа. Из показателей описательной статистики рассчитывались средние арифметические и их ошибки. Для оценки степени взаимосвязи проводился корреляционный анализ Пирсона с расчетом коэффициента (K) и достоверности корреляции (при $0,2 < K \leq 0,5$ – корреляция считалась слабой, при $0,5 < K \leq 0,7$ – средней, при $0,7 < K \leq 0,9$ – сильной и при $0,9 < K \leq 1$ – очень сильной).

Результаты исследования

Большинство культур *E. faecalis* продемонстрировали типичные морфологические и культуральные свойства, были каталазоотрицательными, и $35,0 \pm 10,9\%$ из них имели капсулу. Установлено фенотипическое разнообразие различных факторов вирулентности. У большинства культур ($85,0 \pm 8,2\%$) определялась липолитическая активность, чаще по отношению к твину-20 и твину-80: $94,6 \pm 3,7$ и $96,3 \pm 3,7\%$ из этих культур, соответственно. У $82,9 \pm 5,9\%$ уропатогенных энтерококков (47 культур) отмечалась протеолитическая активность. Наиболее частым свойством *E. faecalis* (41 культура) была ферментация молока, тогда как желатинозная активность зарегистрирована только у 18 культур. При этом ферментация и молока, и желатина выявлялась у 14 культур *E. faecalis* (табл.).

$52,6 \pm 6,6\%$ уропатогенных *E. faecalis* обладали гемолитической активностью. При этом обнаруживались два варианта гемолиза – α - и β -типа (табл.).

При анализе адгезивных свойств энтерококков все исследуемые культуры разделились на две группы – со средним и высоким уровнем адгезии. Было установлено, что у *E. faecalis* со средним уровнем адгезии (СПА=2–4) реже отмечалась протеолитическая (12,5% культур разжижали желатин), лецитиназная (12,5%) и липазная (75%) активности, а также определялась гемолитическая активность α -типа (35,7%). Энтерококки с высоким показателем адгезии (СПА>4) с большей частотой ферментировали желатин (50% культур) и молоко (91,7% культур), обладали лецитиназной (50% культур) и липазной (91,7% культур) активностями, $58,3\%$ из них демонстрировали гемолиз β -типа. Выявлено пять культур *E. faecalis* со значениями СПА выше 5,5, среди которых три были изолированы из

Таблица

Ферментативная активность 57 изолятов *E. faecalis*, связанная с патогенностью

Фактор патогенности	Кол-во культур	
	абс.	М \pm m, %
Гемолитическая активность	α -тип	14 24,6 \pm 5,7
	β -тип	16 28,1 \pm 5,9
Протеолитическая активность	желатин	18 31,6 \pm 6,1
	молоко	39 68,4 \pm 6,2

мочи от новорожденных с пневмонией. Эти культуры отличались от других тем, что у них определялся целый комплекс факторов патогенности: протеолитическая, гемолитическая (β -типа), липолитическая и лецитиназная активности, а также выявлялась капсула.

Среди клинических симптомов пиелонефрита энтерококковой этиологии преобладала интоксикация ($85,9 \pm 2,7\%$ случаев) разной степени выраженности. Гипертермический синдром (в диапазоне $37,1$ – 39°C) был выявлен у $51,7 \pm 4,0\%$ пациентов (с превалированием фебрильной гипертермии в $77,9\%$ наблюдений). Другие симптомы были менее выражены.

Обсуждение полученных данных

Способность бактерий паразитировать в почках определяется комплексом свойств, поскольку на разных этапах инфекционно-воспалительного процесса от них требуется экспрессия разных патогенетически значимых признаков и/или их сочетаний. В исследованиях Л.Г. Мироненко и других авторов отмечено, что клинические изоляты фекальных энтерококков обладают более выраженной протеолитической активностью в сравнении с культурами, выделенными из кишечника здоровых людей [5, 8]. На нашем материале также отмечена высокая протеолитическая активность у культур *E. faecalis*, изолированных из мочи у детей с ИМС.

Пусковой механизм любого инфекционного процесса – адгезия, которая создает условия для последующей инвазии микроорганизмов в ткани хозяина. В мочевыводящих путях адгезия позволяет бактериям противостоять току мочи, скапливаться на поверхности мочевых путей и проникать в их ткани [2]. У исследованных культур отмечен средний и высокий уровень адгезии. Выявлена прямая корреляционная достоверная связь между СПА и гемолитической активностью β -типа ($K=0,61$), желатинозной ($K=0,6$) и лецитиназной ($K=0,43$) активностями, что свидетельствует о важном значении микробной адгезии и определенных факторов вирулентности *E. faecalis* в патогенезе инфекционно-воспалительного процесса.

Симптомы пиелонефрита, ассоциированного с *E. faecalis*, не отличались от проявлений пиелонефритов другой этиологии. Но в клинической картине у пациентов с ИМС энтерококковой этиологии преобладал интоксикационный синдром, и в половине случаев отмечалась гипертермия (как его проявление). Определена сильная корреляционная связь между ИАМ и гипотрофией ($K=0,99$), которая служит одним из симптомов пиелонефрита и маркером интоксикационного синдрома у детей раннего возраста. Отмечена и прямая корреляционная связь ИАМ энтерококков с клинико-лабораторными проявлениями поражения верхних мочевых путей: анемией ($K=0,37$), пиелоктазией ($K=0,46$) и палочкоядерным сдвигом ($K=0,78$).

Это подтверждает значение *E. faecalis* с выраженными адгезивными свойствами в восходящем инфицировании тубулярного аппарата и чашечно-лоханочной системы почек.

Между лецитиназной активностью *E. faecalis*, направленной на клеточные мембраны, и палочкоядерным сдвигом в клиническом анализе крови выявлена прямая достоверная корреляционная связь ($K=0,34$). Также определена зависимость между протеолитической активностью микроорганизма и лабораторными показателями, свидетельствующими о его участии в поражении верхних отделов мочевыделительной системы: обратная корреляционная связь с уровнем протеинурии ($K=-0,36$) и удельным весом мочи ($K=-0,02$).

Установленная на нашем материале прямая корреляция гемолитической активности *E. faecalis* с симптомами интоксикации ($K=0,36$) и лейкоцитарным индексом эндогенной интоксикации ($K=0,33$) удостоверяла данные о том, что продукция цитолитических ферментов, в том числе гемолизина, у клинических изолятов энтерококков ассоциируется с повышением тяжести инфекционного процесса [4]. Кроме того, нами отмечено, что интоксикационный синдром более выражен у пациентов грудного возраста, что доказывалось обратной корреляцией между протеолитической активностью *E. faecalis* и возрастом ребенка ($K=-0,27$). Гемолизин способствует слущиванию эпителия и проникновению патогенов в более глубокие слои слизистой оболочки [12, 13]. Для данного патогена определена корреляционная связь между гемолитической активностью (β -гемолиз) и гидролизом желатина ($K=0,58$), что свидетельствует о сочетанном воздействии этих патогенных факторов на определенном этапе (альтерации) воспалительного процесса. Скорее всего этим объясняется прямая корреляция между гемолитической активностью *E. faecalis* и эхопризнаками уплотнения чашечно-лоханочной системы ($K=0,41$).

Капсула, которая на нашем материале обнаруживалась в трети наблюдений, – один из важных факторов патогенности бактерий [4]. В то же время связи между ее наличием, показателями адгезии и клиническими симптомами не определялось. Вероятнее всего, капсула у уропатогенных *E. faecalis* выполняет в основном защитную функцию. В то же время имелась прямая связь между наличием капсулы и уровнем гемоглобина ($K=0,34$). Установлена обратная зависимость между наличием капсулы и гемолизом α -типа ($K=-0,3$), а также ферментацией молока ($K=-0,31$). Кроме того, выявлена прямая достоверная связь между обнаружением капсулы у уропатогенных энтерококков и диагностическим титром микроорганизма в моче ($K=0,33$). Была определена и обратная корреляционная связь между наличием капсулы и чувствительностью *E. faecalis* к гентамицину и эритромицину ($K=-0,33$). Таким образом, наличие капсулы у уропатогенных энтерококков может способствовать более длительному паразитированию бактерий в почках, и тем самым – рецидивированию течения пиелонефрита.

Выводы

1. Уропатогенные штаммы *E. faecalis* обладают комплексом факторов вирулентности, позволяющих им реализовать свой патогенный потенциал на всех этапах воспалительного процесса в мочевой системе.

2. Преобладающий в клинической картине интоксикационный синдром обусловлен комплексом патогенных факторов фекального энтерококка, вызывающих токсическое повреждение тканей.

3. Выявленная корреляционная связь между определенными факторами патогенности свидетельствует об их взаимодействии в реализации воспалительного процесса.

References

- Andreeva T.S., Melnikova E.A., Luchaninova V.N. [et al.]. Features of infection of the urinary system associated with *Enterococcus faecalis* in children // Pacific Medical Journal. 2016. No. 3, appx. P. 4.
- Antimicrobial therapy and prevention of infections of the kidneys, urinary tract and male genital organs: federal clinical recommendations / edited by N.A. Lopatkin, O.I. Apolikhin, D.Yu. Pushkar [et al.]. M., 2015. 72 p.
- Bondarenko V.M., Suvorov A.I. Symbiotic enterococci and the problem of enterococcal opportunistic infection. M., 2007. 30 p.
- Bukharin O.V., Gritsenko V.A., Vyalkova A.A. Factors of uropathogenicity of bacteria: a role in pathogenesis and importance in the diagnosis of pyelonephritis // Nephrology and Dialysis. 2001. Vol. 3, No. 4. P. 469–475.
- Bukharin O.V., Valysheva I.V., Kartashova O.L., Sycheva O.M. Characteristics of the virulent potential of enterocolic clinical isolates // Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology. 2013. No. 3. P. 12–18.
- Valyshev A.V., Gertsen N.V. Factors of pathogenicity of enterococci in human intestinal microflora // Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology. 2012. No. 4. P.41–44.
- Gritsenko V.A., Deryabin D.G., Brudastov Yu.A., Bukharin O.V. Mechanisms of bacterial uropathogenicity // Mikrobiologiya 1998. No. 6. P. 93–98.
- Mironenko L.G., Peretyatko E.G. The study of gelatinase activity at the genetic and phenotypic level in *Enterococcus* isolated from different ecotopes // Journal of Medical and Biological Problems. 2014. Vol. 1, iss. 4. P. 239–242.
- Sidorenko S.V. Infectious process as a 'dialogue' between the host and the parasite // Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2001. Vol. 3, No. 4. P. 301–315.
- Chaschina I.L., Tatochenko V.K., Barkadze M.D. The place of cephalosporins in the treatment of urinary tract infections in children // Current Pediatrics. 2012. Vol. 11, No. 1. P. 158–161.
- Shishkin A.N. Urinary tract infection // Novye Sankt-Peterburgskie vrachebnye vedomosti. 2010. No. 3. P. 39–45.
- Schuplova E.A., Gertsen N.V., Fadeev S.B., Valyshev A.V. Antigenoglobulin activity of enterococci // Vestnik of the Orenburg State University. 2014. No. 13. P. 139–141.
- Flores-Mireles A.L., Walker J.N., Caparon M., Hultren S.I. Urinary tract infections: epidemiology, mechanism of infection and treatment options // Nature Reviews Microbiology. 2015. Vol. 13. P. 269–284.
- Cosentino S., Podda G.S., Corda A. [et al.]. Molecular detection of virulence factors and antibiotic resistance pattern in clinical *Enterococcus faecalis* strains in Sardinia // J. Prev. Med. Hyg. 2010. Vol. 51. P. 31–36.
- Jawad Kadhum T. AL-Khafaji, Sameer F. Samaan, Mohammed S. AL-Saeed. Virulence Factors of *Enterococcus faecalis* // Medical Journal of Babylon. 2010. Vol. 7, No. 4–3. P. 579–583.

Поступила в редакцию 21.02.2017.

THE ROLE OF PATHOGENICITY FACTORS OF *Enterococcus faecalis* IN THE DEVELOPMENT OF PYELONEPHRITIS IN CHILDREN

E.A. Zaitseva¹, E.V. Krukovich¹, E.A. Melnikova^{1, 2}, V.N. Luchaninova³, T.S. Komenkova¹, N.S. Vaysero²

¹ Pacific State Medical University (2 Ostryakova Ave. Vladivostok 690950 Russian Federation), ² 1 Regional Children's Clinical Hospital (27 Ostryakova Ave. Vladivostok 690078 Russian Federation), ³ North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (41 Kirochnaya St. Saint Petersburg 191015 Russian Federation)

Objective. In recent years, the frequency of occurrence of *Enterococcus faecalis* as an etiological factor of infection of the urinary system has increased, according to different authors, up to 14.2–16%. It has been established that enterococci synthesize a large number of virulence factors that contribute to the development of the infectious process.

Methods. 57 cultures of *E. faecalis* isolated from the urine of children with a urinary tract pathology were studied, the cases were analyzed.

Results. Cultures of enterococci showed a phenotypic heterogeneity of biological properties, including virulence factors. It was established that the intoxication syndrome prevailing in the clinical picture is caused by a complex of pathogenic factors of fecal enterococcus causing toxic tissue damage.

Conclusions. A correlation between the degree of adhesion, hemolytic, gelatinase and lecithinase activity was revealed with symptoms associated with upper urinary tract damage, which indicates the importance of microbial adhesion and certain pathogenicity factors of *E. faecalis* in the pathogenesis of the infectious inflammatory process.

Keywords: fecal enterococcus, uropathogenicity, urinary tract infection, degree of adhesion.

Pacific Medical Journal, 2017, No. 2, p. 58–61.

УДК 617.758.1-089.844

DOI: 10.17238/PmJ1609-1175.2017.2.61-62

Оптимизация хирургической коррекции косоглазия

Л.В. Алишунин

Приморский центр микрохирургии глаза (690080, г. Владивосток, ул. Борисенко, 100е)

Проведена оценка клинической эффективности авторской методики модифицированной миопластики в коррекции косоглазия. Показано статистически значимое улучшение результатов лечения косоглазия при больших углах девиации по сравнению с традиционным способом оперирования. Предложенная методика уменьшает травматичность и число этапов хирургической коррекции косоглазия.

Ключевые слова: экстраокулярные мышцы, угол девиации, модифицированная миопластика.

Патология глазодвигательного аппарата имеет высокую медико-социальную значимость [6, 9, 10]. Хирургическая коррекция, как основной способ исправления косоглазия, требует оптимизации хирургической травмы за счет уменьшения количества оперируемых мышц и этапов вмешательства, что позволяет значительно сократить время зрительной и социальной реабилитации пациентов [4, 8]. В клинической структуре косоглазия в подавляющем большинстве случаев угол девиации составляет 15° и более. При коррекции такой девиации традиционной хирургической техникой вмешательство выполняется на нескольких мышцах и в несколько этапов [5]. Сегодня все шире используются методики миотомии, миопластики и тенопластики, которые обладают выраженным ослабляющим эффектом. Однако эти методики не получили широкого распространения из-за сложности хирургического исполнения, а также потому, что они ведут к нарушению динамики глазного яблока – смещению мышечной плоскости с развитием цикло- или вертикальной девиации, а также увеличивают риск развития астигматизма [7].

Цель исследования: оценить клиническую эффективность собственного способа модифицированной миопластики в коррекции косоглазия.

Алишунин Леонид Валерьевич – заведующий детским отделением ПЦМГ; e-mail: mntk29@mail.ru

Материалы и методы

Проведен ретроспективный анализ историй болезни 86 пациентов с содружественной неакомодационной интропией, которые были разделены на две группы. В I группу вошел 41 человек (19 мужчин и 22 женщины в возрасте 6–20 лет), всем была проведена хирургическая коррекция косоглазия с применением предложенной нами модифицированной миопластики. Во II группу вошли 45 человек (18 мужчин и 27 женщин в возрасте 5–23 лет). В зависимости от величины угла девиации, оцененного по Гиршбергу, в каждой группе выделено три подгруппы: А – 15–17°, В – 17–25°, С – 25–45° (табл.). Срок наблюдения 3–18 месяцев.

При модифицированной миопластике предварительно выделенная внутренняя прямая мышца косящего глаза продольно разделялась на три равные порции. Нижняя иссекалась на 5–6 мм, верхняя – отсекалась от склеры, а средняя порция пересекалась на необходимом расстоянии от места прикрепления к склере. Вмешательство завершалось наложением непрерывного Х-образного шва с одним погружным узлом и сшиванием верхней и нижней порций мышцы «край – в край» [2, 3].

В подгруппе IA (18 человек) всем пациентам выполнялась пластика одной мышцы. В подгруппе IB (15 человек) пластика одной мышцы дополнялась срединной дубликатурой мышцы-антагониста.