

УДК 616.34-08.314.4-036

**Маслянюк Р.П.**, д.б.н., професор, **Романович М.С.**, к.вет.н., доцент,  
**Флюнт Р.Б.**, к.вет.н., доцент, **Божик Л.Я.**, к.вет.н., асистент ©  
*Львівський національний університет ветеринарної медицини та  
біотехнологій імені С.З. Гжицького*

### **ФАКТОРИ ПАТОГЕННОСТІ ОПОРТУНІСТИЧНИХ ЕНТЕРОБАКТЕРІЙ В ОРГАНІЗМІ ТВАРИН І ЇХ РОЛЬ В РОЗВИТКУ ДІАРЕЇ**

*Робота присвячена питанню про фактори патогенності опортуністичних ентеробактерій, включаючи представників родів *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus* і ін. Представлена інформація про генетичний контроль і роль факторів патогенності опортуністичних ентеробактерій у розвитку діарейного синдрому. Описано адгезини, гемолізини, цитотоксичні некротизуючі фактори та бактеріальні модуліни. Подана характеристика цитотонічних і цитотоксичних ентеротоксинів, у тому числі цитолетального токсину; представлено аналіз механізмів їх діареєгенної дії. Обговорено механізм діареєгенного ефекту бактеріального ліпосахариду (ендотоксину) та локального синтезу прозапальних цитокінів.*

**Ключові слова:** *опортуністичні ентеробактерії, фактори патогенності, адгезини, ентеротоксини, механізм дії.*

Під патогенністю розуміють здатність мікроорганізмів викликати інфекційне захворювання, яке визначається сукупністю дії різних властивостей і факторів патогенності, що зумовлюють розвиток в організмі патологічних змін. До умовно-патогенних мікроорганізмів або опортуністичних інфекційних агентів відносять збудників, які викликають захворювання при зниженні резистентності організму, для котрого характерна відсутність нозологічної специфічності та локалізації інфекційного процесу. Загальним принципом генетичного контролю патогенності бактерій є складна взаємодія хромосомних генів і генів специфічних плазмідів, виявлених у багатьох збудників інфекційних захворювань [1-3].

Фактори патогенності ( ФП ) поділяються на 4 групи : 1) ті що визначають взаємодію бактерій з епітелієм відповідної екологічної ніші та колонізацію зони первинного інфікування; 2) ті що забезпечують стійкість мікробів до факторів захисту макроорганізму та здатність до розмноження *in vitro*; 3) які індуюють синтез цитокінів і медіаторів запалення, асоційованих з імунопатологією; 4) токсини та токсичні продукти, що викликають патологічні зміни в органах і тканинах макроорганізму [2].

Перша група ФП визначає початок розвитку інфекційного процесу. Процес починається з адгезії, оснований на вибірковій взаємодії бактерій з

рецепторами епітеліоцитів з наступним розмноженням (колонізацією) бактерій на поверхні слизової оболонки [10]. Для внутрішньоклітинних паразитів характерне проникнення збудників в цитоплазму клітини. У патогенних ентеробактерій характерне проникнення збудника у цитоплазму клітини. У патогенних ентеробактерій адгезини зібрані на поверхневі структури (pili, фімбрії) та завитки (curli), або асоційовані з нефріальними адгезинами: полісахаридами капсул, ліпополісахаридами зовнішньої клітинної стінки або поверхневими білками. Друга група ФП забезпечує стійкість мікроорганізмів до факторів захисту макроорганізму та здатності до розмноження *in vivo*. У патогенних мікроорганізмів (ентеробактерій) це поверхневі O, K і V-антигени. До третьої групи відносять бактерійні модуліни, що ініціюють (індукують) синтез цитокінів і медіаторів запалення сприяючих імунопатології [20], у патогенних ентеробактерій як модулінів виступають: ендотоксин (ЛПС), ліпід А і його комплекси з протеїнами, поверхневі білки клітинної стінки, різні токсини.

Останнім часом накопичено численні дані різних авторів про етіологічну роль опортуністичних ентеробактерій при гострих кишкових інфекціях, в тому числі представників родів *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Providencia* та ін. [3-5, 6, 8, 11, 13, 14, 16, 22]. В цей же час інформації при виявлених факторах патогенності діареєгенних штамів опортуністичних ентеробактерій вказаних таксономічних груп недостатньо систематизовано. В цій роботі проаналізовано сучасні дані про діареєгенні фактори патогенності умовно-патогенних представників сімейства *Enterobacteriaceae*.

Процес взаємодії ентеробактерій з епітелієм відповідних екологічних ніш починається з адгезії, основаної на вибірковій взаємодії бактерій з рецепторами епітеліоцитів і/або покриваючи їх шаром слизу (муцинами), з наступним розмноженням бактерій в зоні інфікування [2, 26].

Як імуномодуліни у штамів опортуністичних ентеробактерій можуть виступати ЛПС, ліпід А-асоційовані білки, токсини, ферменти та інші поверхневі протеїни. Їх безпосередній ефект реалізується в ході зв'язування збудника з кишковим епітелієм: при безпосередньому контакті (адгезії) епітеліоцити виробляють прозапальні цитокіни, а ЛПС індукує експресію цитокінів і молекул адгезії на епітеліоцитах і фібробластах власної пластинки тонких кишок [13, 20]. Вказані молекули та цитокіни активують нейтрофіли, макрофаги, стимулюють вихід лейкоцитів із судин та інфільтрацію ними кишкової стінки, що сприяє запальній реакції [15]. При первинному контакті синтезуються різні інтерлейкіни (ІЛ), в тому числі, ІЛ-8, ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІЛ-12, фактор некрозу пухли- $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ) і ряд хемокінів.

Локально синтезовані цитокіни регулюють епітеліальну проникність та іонний транспорт. ФНП- $\alpha$  разом з ІФН- $\gamma$  підвищує проникність щільних контактів, руйнує F, стимулює секрецію іонів. ІЛ-1 $\beta$  і ФНП- $\alpha$ , в свою чергу, активуючи фермент циклооксигеназу-2, викликає утворення простагландинів із арахідонової кислоти, знижують активність Na/K-АТФ, розташованої на базолатеральній поверхні епітеліальних клітин, що веде до порушення

проникності щільних контактів, зниженню абсорбції  $\text{Na}^+$  та підвищенню секреції  $\text{Cl}^-$  [24]. Локальний ФНП- $\alpha$  вважається ключовим в патогенезі інфекційних колітів, оскільки стимулює продукцію епітеліоцитами та нейтрофілами антибактеріальних білків (дифенсинів, які пригнічують розмноження збудників у цитоплазмі), прискорюючи загибель інфікованих епітеліальних клітин [17, 19]. Провідна роль у розвитку секреторної діареї належить ентеротоксинам. Розрізняють термолабільні – LT та термостабільні – ST – токсини. Серед термолабільних ентеротоксинів диференціюють LT-1 і LT-2. Ген, який кодує LT-1 (elt або etx), розташований на плазміді, яка також містить гени ST і/або колонізує фактора [24, 25]. За механізмом дії та імунологічними властивостями LT-1 гомологічний холерогену.

Діареєгенний механізм ST полягає в залученні нервової системи кишечника. Энтеротоксини, взаємодіючи з ендокринними клітинами на поверхні ворсинок кишечника, підвищуючи рівень цАМФ і зГМФ, які визначають вивільнення серотоніну, нейротензину та інших пептидів до субепітеліальних просторів. Вазоінтестинальний пептид зв'язується з рецепторами епітеліоцитів, підвищує рівень цАМФ і порушує іонний транспорт. Альтернативні механізми дії ST полягають у залученні простагландинів (за рахунок активації фосфоліпази C) та прозапальних цитокінів, аналогічні LT-1 [24,25].

ST-білок транслюється у вигляді молекули-прекурсора, який складається з 71 амінокислотних, яка в периплазматичному просторі протеолітично перетворюється в поліпептид, який складається із 48 амінокислот, з двома дисульфідними зв'язками, що визначають біологічну активність токсину.

Серед термостабільних токсинів диференціюють STa (ST1) і STb (ST2). Перший продукує ETEC, *Vibrio cholerae*, *Verginia enterocolitica*, *Klebsiella* spp., а другий – виявляє переважно у ETEC, виділених від свиней, значно рідше – у виділених в людини. STa-токсин кодується плазмідним транспозон-асоційованим est A геном. Синтез STb контролює плазмідний ген est B.[25].

STa-цистеїнвмістимий термостабільний білок з мол.м 2 кДа. Основу дії STa складає заміщення ним ендогенного ліганду гуаніліну келиховидних клітин, які забезпечують кишковий гомеостаз. STa характеризується більшою спорідненістю до рецепторів, ніж гуанілін, оскільки містить на 2 молекули цистеїну більше. З'єднуючись з білковим рецептором щіточкової облямівки ентероцитів токсин збільшує внутрішньоклітинну концентрацію циклічного гуанозинмонофосфату (цГМФ), через активацію цГМФ залежної протеїнкінази, подібної до кінази A, та активує хлоридні канали: муковісцидозний регулятор трансмембранної провідності, кальцій активуючий хлоридний канал і ін. Це стимулює секрецію хлоридів і/або інгібує абсорбцію хлориду натрію, приводячи до втрат рідини кишечником. Рецептори до цього ентеротоксину виявляються на всіх епітеліальних клітинах кишечника. Кількість цих рецепторів до даного ентеротоксину зменшується з віком, що, очевидно, зумовлює більш важкий перебіг подібних інфекцій в ранньому віці [12].

Патогенні варіанти ентеротоксинів можуть продукувати STa, STb і LT-1. У ентерогенних штамів *Klebsiella* spp. описано гени, що контролюють синтез LT-1 та ST-подібних ентеротоксинів, імунологічно споріднених з ентеротоксинами *E.coli* [2]. У збудників *Proteus* spp., виділених при кишкових інфекціях, встановлена продукція LT-ентеротоксину [5]. У *Citobacter freundii* молекули LT і STa токсинів ідентичні токсинам *E.coli*. [4,18]. У *Klebsiella* spp. і *Enterobacter* spp. виділені ST-подібні ентеротоксини і виявлена продукція LT-1 білків [23]. Один із механізмів діареї зв'язаний з АЕ активністю, виявленої у ентерогенних культур *Klebsiella pneumonia* [21], *Halma alvei* [12], *Citrobacter zodontim*, вперше виявлених у ЕРЕС і ЕНЕС.

Цитолетальний токсин (CLDT- cytolethal toxin) виявлено у клінічних штамів *E.colli*, ізольованих від діти, хворих з ознаками діареї. Цей токсин викликає збільшення клітини, фрагментацію ядра та загибель протягом 96-120 год., що зв'язано з блокадою клітинного циклу, проліферації, тому до нього особливо чутливі клітини крипт [26].

Шига-подібні токсини (SLT), або некротоксини виявлені у ЕНЕС та інших бактерій, що викликають гострі кишкові інфекції з явищами геморагічного коліту [9]. Одночасно SLT викликає пошкодження судин і стимулює локальну скрецію ІІ-1, ІІ-8, що веде до інфільтрації слизової оболонки нейтрофільними гранулоцитами.

Представлені дані відображають значну кількість різновидів та складність взаємовідносин між умовно-патогенними (опортуністичними) ентеробактеріями та організмом господаря. Задіяні виявляються як генетичні, так і біохімічні механізми, а також встановлені, відносно недавно, механізми індукції надмірного синтезу прозапальних цитокінів, що мають при цьому однотиповий кінцевий результат – діарейний синдром.

#### Література

1. Бондаренко В. М. Общий анализ представлений о патогенных и условно патогенных бактериях. / В.М.Бондаренко // ЖМЭЖ – 1997, № 4. – С.20-26.
2. Бондаренко В. М. Факторы патогенности бактерий и их роль в развитии инфекционного процесса / В.М.Бондаренко // ЖМЭЖ – 1999. – №5 – С.34-39
3. Бондаренко В.М. «Острова» патогенности бактерий / В.М.Бондаренко // ЖМЭЖ – 2001. – №4. – С.67-74.
4. Бондаренко В.М. Секретируемые факторы патогенности энтеробактерий / В.М.Бондаренко, А.Р.Мавзютов // ЖМЭЖ – 2002. – №1. – С.84-89.
5. Бухарин О.В. Проблемы персистенции патогенов в инфектологии /О.В.Бухарин// ЖМЭЖ – 2006. – №4. – С.4-8.
6. Грачева Н.М. Клинико-микробиологические особенности острой кишечной инфекции /Н.К.Грачева, В.М.Бондаренко, А.А.Зверев // ЖМЭЖ – 2003. – №2. – С. 62-65.

7. Егорова Т.Н. Роль бактериальных токсинов в патогенезе гемолитико-уремического синдрома, вызываемого энтерогеморрагическими эшерихиями / Т.Н.Егорова, В.М.Бондаренко, А.А.Зверева // ЖМЭК – 2001. – №1 – С.82-89
8. Мавзютов А.Р. «Острова» патогенности условно патогенных энтеробактерий / А.Р. Мавзютов, В.М.Бондаренко, С.В.Фиалкина // ЖМЭК. – 2002. – №6. – С. 5-9
9. Маслянюк Р.П. Сучасний погляд на вірусну діарею телят / Р.П.Маслянюк, Б.М.Куртяк // Наук. вісник ЛНУВМ та БТ. - 2010. – Т. 12, - №2, ч.1. – С. 216-219.
10. Сварваль А.В. Липополисахарид персиний и его биологическая активность / А.В. Сварваль, Г.А. Ценова, О.А.Шендерович // ЖМЭК. – 2006. – №3. – С. 100-104.
11. Сиволоцкий Е.П. Пиразинамидазная активность бактерий семейства Enterobacteriaceae как токсеномический признак / Е.П.Сиволоцкий // ЖМЭК. – №7. – С.88-90.
12. Петров Л.Н. QE системы у бактерий и перспективы создания новых пробиотических препаратов / А.Н.Петров, В.М.Бондаренко // Вестн. РАМЦ. – 2006. – №2.
13. Петровская В.Г. Адгезины энтеротоксигенных кишечных палочек: роль в патогенезе диарей и генетический контроль / В.Г.Петровская, В.М.Бондаренко // ЖМЭК.-1990. – №5. – С.110-117.
14. Петровская В.Г. Энтеротоксины энтеротоксигенных E.coli: характеристика, механизм действия и генетический контроль / В.Г.Петровская, В.М.Бондаренко // ЖМЭК. – 1990. – №7. – С.92-98.
15. Царегородская Т.М. Цитокины в гастроэнтерологии / Т.М. Царегородская, Т.И.Серова – М., Анахарсис. – 2003.
16. Albert M.J. *Hafnia alvei*, probable cause of diarrhea in humans / M.J. Albert // Infect. Immunol. – 2001. – v.69. – P. 5012-5024.
17. Chakraborty D. Interaction of lipopolysaccharide with human small lamina intestinal lamina propria fibroblasts favors neutrophil migration and peripheral blood mononuclear cell adhesion by the production of proinflammatory mediators and adhesion molecules / D. Chakraborty, K.S. Kumar // Bioch.Acta. – 1999. – v.1453. – P.261-272.
18. Dong W. Locus of enterocyte effacement from *Citrobacter rodentium*: sequence analysis and evidence for horizontal transfer among attaching and effacing pathogens / W. Dong B.A. Valance // Infect. Immunol. – 2001. – v.69. – P. 6333-6335/
19. Gonsalves N.S. Critical role for tumor necrosis factor alpha in controlling the number of luminal pathogenic bacteria and immunopathology in infection colitic / N.S. Gonsalves // Ibid. – 2001. – v.69. – P. 6659-6659.
20. Guerin F. Bloody diarrhea caused by *Klebsiella pneumoniae*: a new mechanism of bacterial virulence / F.Guerin // Clin. Infect.Dis – 1998. – v. 37. - P. 648-649.

21. Hathaway L.J. Human monocytes kill *Shigella flexneri* butthendie by apoptosis assonated with suppression of proinflammatory cytokine production/L.J. Hathaway// *Infect. Immunol.*-2002.-v.70.-p.3833-3843

22. Henderson B. Bacterial modulins: a novel class of virulence factors which cause host tissue pathology by inducing cytokine synthesis / B.Henderson, S. Pode// *Microb. Rev.* – 1996. – v.60. – P.316-340.

23. Hogenauer C. Mechanisms and management of antibiotic-associated diarrhea / C.Hogenauer, H.F. Hammer / *Clin.Infect.Dis.* – 1998. – v.27. – P.702-710/

24. Janda J.N. Pathogenic properties of *Edwardsiella* species / J.M.Jandra // *J.Clinic.Microbiol.* – 1991. – v.29. – P1997-2001/

25. Klipstein F.A. Immunological properties of purified *Klebsiella pneumoniae* heat-stable enterotoxin / F.A. Klipstein, R.F. Engert // *Infect. Immunol.* – 1983. – v.42. – P.838-841.

26. Musch M.V. T cell activation causes diarrhea by increasing intestinal permeability and inhibiting epithelial  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase / M.W. Musch, J.L. Clarke// *J.Clin.Invest.* – 2002. – v. 110. – P.1739-1497

### Summary

*The data of pathogenicity factors of opportunistic enterobacteria, including Enterobacter, Klebsiella, Proteus species are submitted. The genetic control and role of pathogenicity factors of opportunistic enterobacteria in development of diarrhea syndrome are presented. Data about adhesins, hemolysins, cytotoxic necrotizing factors and bacterial modulins are described. The characteristic of cytotoxic and cytotoxic enterotoxins including shiga-like and cytolethal toxins, and mechanisms of diarrheagenic action are analysed. The role of bacterial lipopolysaccharide (endotoxin) and induction of locally synthesized proinflammatory cytokins in pathogenesis of diarrhea are discussed.*

Рецензент – д.вет.н., професор Завірюха В.І.