

Оригинальные работы / Original papers

© Коллектив авторов, 2017 г.
УДК [616/618:576.8]-078

Г. В. Тец, Е. И. Смирнова, К. М. Кардава, Т. А. Карамян, Д. В. Михайлова,
Д. С. Викина, А. М. Израйлов, М. Ф. Вечерковская, Л. Л. Норман, Т. А. Перекалина,
Е. Н. Шмидт, Н. К. Артеменко, Н. В. Заславская, В. В. Тец*

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

МАЛОИЗВЕСТНЫЕ БАКТЕРИИ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЧЕЛОВЕКА

Резюме

Работа посвящена изучению малоизвестных и ранее не известных бактерий, изолированных у больных с патологиями различной локализации. Выделенные и изученные 22 штамма малоизвестных бактерий или вообще не описаны ранее как возбудители заболеваний человека, или обнаружены при патологии другой локализации. Большинство полученных бактерий обладает множественной устойчивостью к различным антибиотикам. При разных заболеваниях в материале обнаружено много потенциально-патогенных спорообразующих бактерий. Спорообразование обеспечивает бактериям сохранение жизнеспособности в окружающей среде и повышенную устойчивость к антисептикам и дезинфектантам. Спорообразующие бактерии хорошо сохраняются и особенно опасны в качестве потенциальных возбудителей внутрибольничных инфекций, поскольку резистентны к антибиотикотерапии, активность которой не распространяется на микробные споры.

Ключевые слова: ранее не известные бактерии, рак, дыхательная система, кишечник, галитоз, кариес, пародонтит, бактериальные споры

Тец Г. В., Смирнова Е. И., Кардава К. М., Карамян Т. А., Михайлова Д. В., Викина Д. С., Израйлов А. М., Вечерковская М. Ф., Норман Л. Л., Перекалина Т. А., Шмидт Е. Н., Артеменко Н. К., Заславская Н. В., Тец В. В. Малоизвестные бактерии, выделенные при заболеваниях человека. Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова. 2017;24(1):35–39. DOI: 10.24884/1607-4181-2017-24-1-35-39.

* Автор для связи: Виктор Вениаминович Тец, ФГБОУ ВО СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова Минздрава России, ул. Льва Толстого, д. 6/8, Санкт-Петербург, Россия, 197022. E-mail: vtetvz@yahoo.com

© Composite authors, 2017
UDK [616/618:576.8]-078

G. V. Tetz, E. I. Smirnova, K. M. Kardava, T. A. Karamyan, D. V. Mikhaylova,
D. S. Vikina, A. M. Izrailov, M. F. Veчерkovskaya, L. L. Norman, T. A. Perekalina,
E. N. Smidt, N. K. Artemenko, N. V. Zaslavskaya, V. V. Tetz*

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Academician I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia

LITTLE-KNOWN BACTERIA ISOLATED FROM PATIENTS WITH VARIOUS DISEASES

Abstract

The paper is devoted to the study of little-known and previously unknown bacteria isolated from patients with various diseases. Here we present the data on 22 strains that are little-known or previously unknown as human pathogens and isolated from patients with various diseases. Most of the isolates were found to have multiple antibiotic resistances. Moreover, in many conditions potentially pathogenic spore-forming bacteria were identified. Spore formation provides bacteria for survival in the environment and promotes high resistance to antiseptics and disinfectants. Spore-forming bacteria are high survival and especially dangerous as potential hospital-acquired infections because of its antibiotic resistance but the activity of this antibiotic therapy doesn't concern microbial spores.

Key words: previously unknown bacteria, cancer, respiratory system, gut, halitosis, caries, periodontitis, bacterial spores

Tetz G. V., Smirnova E. I., Kardava K. M., Karamyan T. A., Mikhaylova D. V., Vikina D. S., Izrailov A. M., Veчерkovskaya M. F., Norman L. L., Perekalina T. A., Smidt E. N., Artemenko N. K., Zaslavskaya N. V., Tetz V. V. Little-known bacteria isolated from patients with various diseases. The Scientific Notes of IPP-SPSMU. 2017;24(1):35–39. (In Russ.). DOI: 10.24884/1607-4181-2017-24-1-35-39.

* Corresponding author: Victor V. Tetz, FSBEI HE I. P. Pavlov SPbSMU MOH Russia, 6-8 L'va Tolstogo street, Saint-Petersburg, 197022 Russia. E-mail: vtetvz@yahoo.com

ВВЕДЕНИЕ

Последние годы характеризуются широким использованием новых генетических методов изучения состава микробиоты и материала, находящегося в очаге инфекции. Применение культурально-независимых методов, в том числе метагеномных технологий, показало существование большого числа ранее не известных бактерий [1–3]. В пользу существования таких неизученных бактерий среди возбудителей заболеваний различной локализации у человека свидетельствует, в частности, недостаточная эффективность терапии, поскольку свойства таких микроорганизмов пока не учитываются при диагностике, профилактике и лечении.

Культуральные методы исследования, требующие выделения чистых культур ранее не известных бактерий, по-прежнему отстают по скорости от культурально-независимых методов на основании анализа присутствия генов. Существует очевидный дефицит чистых культур бактерий, которые считаются неизвестными или пока не культивируемыми, необходимых для оценки их роли в жизни человека и возможного участия в патологических процессах.

В связи с этим **целью** работы было выявление ранее не известных или малоизвестных как возбудители болезней человека различной локализации аэробных бактерий в материалах, полученных от больных с различными заболеваниями желудочно-кишечного тракта, мочевыделительной и дыхательной систем, а также с заболеваниями ротовой полости.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материал для исследования — мокрота пациентов с патологией дыхательной системы; содержимое кишечника, полученное в ходе оперативного вмешательства; содержимое пародонтальных карманов, корневых каналов и мазки с поверхности корня языка. Время между забором материала и включением его в исследование не превышало 4 ч.

Питательные среды: среда в составе тест-системы «Выбор Антибиотика» («Новые Антибиотики», Россия), Мюллер — Хинтон и Колумбийский агар (BioMerie, Франция).

Микроскопия: мазки окрашивали по Граму, микроскоп Axiostarplus (CarlZeiss, Германия), объективы A-Plan 100×/1.25, окуляр ×10 (CarlZeiss, Германия).

Определение биохимической активности проводили с помощью автоматического анализатора Vitek 2 (bioMerieux, Франция).

Белковый состав определяли на спектрометре Bruker (Bruker Corporation, США).

Анализ последовательности нуклеотидов гена 16S рибосомальной РНК выполняли с использованием универсальных бактериальных праймеров 27f – 1492r.

Антибиотики: препараты, входящие в состав тест-системы «Выбор Антибиотика», амоксицилин/клавуланат, азитромицин, цефтриаксон, левофлоксацин, меропенем, линезолид, амикацин, ванкомицин, клиндамицин, рифампицин («Новые Антибиотики», Россия). Диски с антибиотиками (Bio-Rad, США).

Таблица 1
Неизвестные и малоизвестные бактерии, выделенные при инфекциях различной локализации

Unknown and little-known bacteria isolated from patients with infections of various locations

Table 1

Патология	Бактерии *	Краткая характеристика
Рак желудка	<i>Acinetobacter schindleri</i> <i>Kocuria kristinae</i>	Грамотрицательные аэробные палочки Грамположительные кокки
Цистит	<i>Herbaspirillum spp</i> <i>Neisseria perflava</i>	Грамотрицательные палочки Грамотрицательные кокки
Пневмония	<i>Brachybacterium muris</i>	Грамположительные аэробные коккобациллы
Муковисцидоз	<i>Achromobacter xylosooxydans</i>	Грамотрицательные аэробные палочки
	<i>Bacillus sonorensis</i>	Грамположительные аэробные спорообразующие палочки
	<i>Bacillus licheniformis</i>	Грамположительные аэробные спорообразующие палочки
	<i>Paenibacillus glucanolyticus</i>	Грамположительные аэробные спорообразующие палочки
	<i>Chryseobacterium sp.</i>	Грамотрицательные палочки
Хроническая обструктивная болезнь легких	<i>Lactobacillus paracasei</i>	Грамположительные палочки
	<i>Streptococcus agalactiae</i>	Грамположительные кокки
	<i>Bacillus faraginis</i>	Грамположительные спорообразующие палочки
	<i>Bacillus fardii</i>	Грамположительные спорообразующие палочки
	<i>Bacillus oleronius</i>	Грамположительные спорообразующие палочки
	<i>Virgibacillus sp.</i>	Грамположительные спорообразующие палочки
	<i>Bacillus smithii</i>	Грамположительные спорообразующие палочки
Пародонтит	<i>Oceanobacillus caeni</i>	Грамположительные спорообразующие палочки
	<i>Paenibacillus pabuli</i>	Грамположительные спорообразующие палочки
Пульпит	<i>Virgibacillus sp.</i>	Грамположительные спорообразующие палочки
	<i>Streptococcus gordonii</i>	Грамположительные кокки
Галитоз	<i>Micrococcus sp.</i>	Грамположительные кокки

Примечание: * – номенклатурная идентификация бактерий произведена на основании анализа 16S-гена и базы NCBI.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Материал для исследования был получен у больных с раком тонкой кишки — 2 человека, раком желудка — 1 человек, циститом — 2 человека, муковисцидозом — 5 человек, хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) — 6 человек, пневмонией — 4 человека, кариесом — 2 человека, пародонтитом — 2 человека и галитозом — 4 человека. Для поиска ранее не известных бактерий материал от больных выращивали на среде системы «Выбор Антибиотика», с последующим разделением смешанных микробных сообществ [4]. Хотя тест-система предназначена для выбора антибиотиков, выросшие на ней микроорганизмы могут служить исходным материалом для выделения малоизвестных бактерий, не дающих рост на обычных питательных средах. Из многочисленных смешанных сообществ, давших рост на среде в системе «Выбор Антибиотика», было изолировано и получено в виде чистых культур более 150 различных грамотрицательных и грамположительных бактерий. Большая часть из них была представлена различными видами известных возбудителей заболеваний человека различных родов: *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Haemophilus*, *Klebsiella*, *Corynebacterium*, *Actinomyces* и *Stenotrophomonas*. Среди полученных чистых культур были также выявлены ранее не известные и малоизвестные как возбудители болезней человека различной локализации бактерии (табл. 1).

Результаты идентификации изолированных штаммов, полученные разными методами, у большинства бактерий совпадали не полностью и демонстрировали взаимоисключающие данные. В связи с этим основная идентификация была проведена по результатам изучения последовательности генов 16S рибосомальной РНК и состава белков, полученного при масс-спектрометрии. Данные, полученные при изучении биохимической активности, иногда указывали на принадлежность бактерий к другому виду или даже роду по сравнению с тем, на что указывали результаты генетического и спектрального методов. Такие различия определяются, прежде всего, недостаточной изученностью данных бактерий и ограниченными возможностями набора признаков, оцениваемых стандартными автоматическими анализаторами. Большую часть выделенных нами малоизвестных как возбудители болезней человека бактерий или вообще ранее не связывали с патологическими изменениями, или, были описаны при патологии другой локализации. У больных с раком желудка изолирована *Kokuria kristinae*, ранее обнаруженная у пациентов с раком яичника [5]. У больных с раком ранее описан штамм, относящийся к роду *Herbaspirillum*, изолированный нами при цистите [6]. Показано, что *Neisseria perflava* может быть выделена при эндокардите и бактериемии [7]. Для *Lactobacillus*, близкородственных *Lactobacillus paracasei*, описан один случай аспирационной пневмонии у иммуноде-

Чувствительность выделенных бактерий к антибиотикам

Таблица 2

Table 2

Sensitivity of isolated bacteria to antibiotics

Бактерии	Антибиотики						
	Амоксициллин	Азитромицин	Ванкомицин	Гентамицин	Клиндамицин	Левифлоксацин	Цефазолин
<i>Achromobacter xylosooxydans</i>	R	R	—	R	R	R	R
<i>Acinetobacter sp.</i>	S	S	—	S	S	S	S
<i>Bacillus fardii</i>	R	R	R	S	S	R	R
<i>Bacillus faraginis</i>	S	R	R	S	R	R	R
<i>Bacillus licheniformis</i>	R	R	R	S	R	R	R
<i>Bacillus oleronius</i>	S	R	R	S	S	R	S
<i>Bacillus smithii</i>	R	S	R	R	R	R	S
<i>Bacillus sonorensis</i>	R	R	R	S	S	R	R
<i>Brachybacterium muris</i>	S	S	S	S	S	R	S
<i>Chryseobacterium sp.</i>	R	R	R	S	S	R	R
<i>Herbaspirillum sp.</i>	R	S	—	S	R	R	S
<i>Kocuria sp.</i>	S	S	R	S	S	S	S
<i>Lactobacillus paracasei</i>	R	R	R	R	R	R	R
<i>Micrococcus spp.</i>	S	S	S	S	R	S	S
<i>Neisseria perflava</i>	R	S	—	S	S	R	S
<i>Oceanobacillus caeni</i>	R	S	S	S	R	S	R
<i>Paenibacillus glucanolyticus</i>	S	S	S	R	R	S	R
<i>Paenibacillus pabuli</i>	S	S	S	R	R	S	S
<i>Streptococcus agalactiae</i>	R	R	S	R	S	R	R
<i>Streptococcus gordonii</i>	S	S	S	R	R	S	S
<i>Virgibacillus Sp.</i>	S	S	R	S	R	S	S
<i>Virgibacillus sp.</i>	S	R	R	S	R	S	S

Примечание: «—» — не тестировали.

фицитных больных [8]. С бациллами вида *Bacillus oleronius* связывают заболевание кожи — розацеа [9]. Описан случай эндокардита, вызванного *Paenibacillus glucanolyticus* [10]. Также один случай бактериемии описан для недавно открытых бактерий рода *Chryseobacterium* [11]. В качестве возбудителя пульпита описан *Streptococcus gordonii*, ранее известный как возбудитель пневмонии новорожденных [12]. Некоторые выделенные и частично идентифицированные нами бактерии ранее не были обнаружены в микробиоте и в патологическом материале, полученном от людей. Обращает на себя внимание большое количество спорообразующих бактерий, выделенных у больных с различными заболеваниями. В последние годы открыто много новых, не известных ранее аэробных спорообразующих бактерий в окружающей среде и в микробиоте человека [13]. Выявление большого числа спорообразующих бактерий в микробиоте и при заболеваниях людей показало существование ранее не известной проблемы в практической медицине. Заболевания, вызванные такими бактериями, требуют специальных методов профилактики и лечения. Значительная устойчивость бактериальных спор к температуре, действию ультрафиолета, кислорода требует тщательного подбора антисептиков и дезинфектантов [14]. При антимикробной терапии необходимо помнить, что лечебные препараты действуют только на вегетативные формы и неактивны по отношению к спорам. Именно устойчивость бактериальных спор к антибиотикам может определять хроническое, рецидивирующее течение заболеваний, вызванных спорообразующими бактериями. Исследование чувствительности к антибиотикам выделенных нами бактерий, включая вегетативные формы спорообразующих бактерий, показало, что большинство обладает множественной устойчивостью к различным лекарственным препаратам (табл. 2).

Наибольшая чувствительность к антибиотикам зарегистрирована у *Brachybacterium muris*, выделенной из мокроты больного с внебольничной пневмонией. Можно предполагать, что этот условно-патогенный микроб не находился в условиях антибиотикотерапии. Самым устойчивым является *Lactobacillus paracase*, который оказался устойчивым ко всем исследованным препаратам. Интересно, что представители этого вида используются в качестве лекарственных средств [3]. Все изолированные нами спорообразующие бактерии родов *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Oceanobacillus* и *Virgibacillus* обладали множественной устойчивостью к антибиотикам. Эти бактерии изолированы из мокроты больных муковисцидозом, ХОБЛ, содержимого пародонтальных карманов и корневых каналов. Таким образом, мы можем считать, что спорообразующие бактерии присутствуют при различных заболеваниях и имеют множественную устойчи-

вость к антибиотикам. Последнее свидетельствует о персистенции спорообразующих бактерий в организме людей на фоне различной противомикробной терапии.

Полученные результаты указывают на существование большого числа недостаточно изученных бактерий в патологическом материале, полученном от больных с патологией различной локализации. Обращает на себя внимание, что значительная часть из них является спорообразующими бактериями. Наличие у них устойчивости к различным антибиотикам показывает существование серьезной проблемы, на которую ранее практически не обращали внимания. Спорообразование обеспечивает бактериям длительное пребывание и сохранение жизнеспособности в окружающей среде и повышенную устойчивость к антисептикам и дезинфектантам. Бактерии, хорошо сохраняющиеся во внешней среде, особенно опасны в качестве потенциальных возбудителей внутрибольничных инфекций. Большое число недостаточно изученных спорообразующих бактерий, имеющих множественную антибиотикоустойчивость, выделенных в настоящем исследовании, указывает на необходимость дополнительного изучения роли этих микроорганизмов в патогенезе заболеваний человека.

Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов.

Conflicts of interest

Authors declare no conflict of interest.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тец Г. В., Викина Д. С., Вечерковская М. Ф. и др. Неизвестные условно патогенные бактерии представители микрофлоры человека, как возможные возбудители пневмонии // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. — 2013. — № 1. — С. 32–35.
2. Li L., Mendis N., Triguí T. et al. The importance of the viable but non-culturable state in human bacterial pathogens // Front Microbiol. — 2014. — № 2 (5). — P. 258.
3. Oliver J. D. Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria // FEMS Microbiol. Rev. — 2010. — № 34. — P. 415–425.
4. Тец Г. В., Смирнова Е. И., Каргава К. М. и др. Выбор антибиотиков при смешанных инфекциях у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких // Прак. пульмонология. — 2015. — № 4. — С. 39–41.
5. Purty S., Saranathan R., Prashanth K. et al. The expanding spectrum of human infections caused by *Kocuria* species: a case report and literature review // Emerg. Microbes Infect. — 2013. — № 2 (10). — P. e71.
6. Chemaly R. F., Dantes R., Shah D. P. et al. Cluster and sporadic cases of *Herbaspirillum* spp. infections in patients with cancer // Clin. Infect. Dis. — 2015. — № 60 (1). — P. 48–54.
7. Shetty A. K. Peritonitis due to *Neisseria mucosa* in an adolescent receiving peritoneal dialysis / A. K. Shetty, S. K. Nagaraj, W. B. Lorentz, M. Bitzan // Infection. — 2005. — № 33 (5–6). — P. 390–392. doi:10.1007/s15010-005-5074-4.
8. Doern C. D. Probiotic-associated aspiration pneumonia due to *Lactobacillus rhamnosus* / C. D. Doern, S. T. Nguyen,

F. Afolabi, C-AD. Burnham // J. Clin. Microbiol. — 2014. — № 52 (8). — P. 3124–3126.

9. McMahon F., Gallagher C., Clynes M. et al. Analysis of the role of *Bacillus oleronius* proteins in the induction of tissue damage and inflammation in ocular rosacea // JAAD. — 2015. — № 72 (5). — Supp. 1. — P. AB271.

10. Ferrand J., Hadou T., Selton-Suty C. et al. Cardiac device-related endocarditis caused by *Paenibacillus glucanolyticus* // J. Clin. Microbiol. — 2013. — № 51 (10). — P. 3439–3442.

11. Chou D.-W., Wu S.-L., Lee C.-T. et al. Clinical characteristics, antimicrobial susceptibilities, and outcomes of patients with *Chryseobacterium indologenes* bacteremia in an intensive care unit // Jpn. J. Infect. Dis. — 2011. — № 64. — P. 520–524.

12. Hoyles L., Honda H., Logan N. A. et al. Recognition of greater diversity of *Bacillus* species and related bacteria in human faeces // Res. Microbiol. — 2012. — № 163. — P. 3–13.

13. Тец Г. В., Тец В. В., Артеменко Н. К. Спорообразующие бактерии — возбудители заболеваний дыхательной системы и предотвращение их распространения в стационаре // Практик. пульмонолог. — 2015. — № 1. — С. 43–45.

14. Narayanan L. L., Vaishnav C. Endodontic microbiology // J. Conserv. Dent. — 2010. — № 13 (4). — P. 233–239.

REFERENCES

1. Tetz GV, Vikina DS, Vecherkovskaya MF, et al. Unknown conditionally pathogenic bacteria representatives of human microflora, as possible pathogens of pneumonia. Atmosfera. Pulmonologiya and allergologiya. 2013; (1): 32-35. (in Russian)

2. Li L, Mendis N, Trigui T et al. The importance of the viable but non-culturable state in human bacterial pathogens. Front Microbiol. 2014 Jun 2; (5):258.

3. Oliver JD. Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria. FEMS Microbiol Rev. 2010; 34: 415–425.

4. Tetz GV, Smirnova EI, Kardava KM et al. The choice of antibiotics for mixed infections in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Prakticheskaya pulmonologiya. 2015; (4): 39-41. (in Russian).

5. Purty S, Saranathan R, Prashanth K et al. The expanding spectrum of human infections caused by *Kocuria* species: a case report and literature review. Emerg Microbes Infect. 2013 Oct; 2(10): e71.

6. Chemaly RF, Dantes R, Shah DP et al. Cluster and sporadic cases of *Herbaspirillum* spp. infections in patients with cancer. Clin Infect Dis. 2015 Jan 1; 60(1):48-54.

7. Shetty AK, Nagaraj SK, Lorentz WB, Bitzan M. Peritonitis due to *Neisseria mucosa* in an adolescent receiving peritoneal dialysis. Infection. 2005; 33(5-6): 390-392. doi:10.1007/s15010-005-5074-4.

8. Doern CD, Nguyen ST, Afolabi F, Burnham C-AD. Probiotic-associated aspiration pneumonia due to *Lactobacillus rhamnosus*. J Clin Microbiol. 2014; 52(8): 3124-3126.

9. McMahon F, Gallagher C, Clynes M et al. Analysis of the role of *Bacillus oleronius* proteins in the induction of tissue damage and inflammation in ocular rosacea. JAAD. 2015; 72(5) Supp. 1: AB271.

10. Ferrand J, Hadou T, Selton-Suty C et al. Cardiac device-related endocarditis caused by *Paenibacillus glucanolyticus*. J. Clin. Microbiol. 2013; 51(10): 3439-3442.

11. Chou D-W, Wu S-L, Lee C-T et al. Clinical characteristics, antimicrobial susceptibilities, and outcomes of patients with *Chryseobacterium indologenes* bacteremia in an intensive care unit. Jpn J Infect Dis. 2011; 64: 520-524.

12. Hoyles L, Honda H, Logan NA et al. Recognition of greater diversity of *Bacillus* species and related bacteria in human faeces. Res Microbiol. 2012; 163: 3-13.

13. Tetz GV, Tets VV, Artemenko NK. Spore-forming bacteria are the causative agents of diseases of the respiratory system and prevention of their spread in the hospital Practical pulmonology. 2015; (1): 43-45. (in Russian)

14. Narayanan LL, Vaishnav C Endodontic microbiology. J. Conserv. Dent. 2010; 13(4): 233–239.

Дата поступления статьи 05.12.2016

Дата публикации статьи 27.03.2017