

УДК 576. 851. 252.

ПРОТЕЇНОГРАМИ ЕНТЕРОТОКСИГЕННИХ СТАФІЛОКОКІВ, ВИДІЛЕНИХ ПРИ СПАЛАХАХ ХАРЧОВИХ ТОКСИКОІНФЕКЦІЙ

В.І. Петросова, К.О. Петросов

Протеїнограми ентеротоксигенних стафілококів, виділених при спалахах харчових токсикоінфекцій. – В.І. Петросова, К.О. Петросов. – Проведено визначення спектрів позаклітинних білків А і В ентеротоксигенних культур стафілококів, виділених при спалахах харчових токсикоінфекцій. За допомогою протеїнограм вдалося встановити ідентичність культур, ізольованих із підозрілих харчових продуктів і від постраждалих осіб, які вживали ці продукти. Співставлення спектрів протеїнограм допомогло спростувати раніше зроблений висновок про джерело інфекції та підтвердити наявність носійства ентеротоксигенних *Staphylococcus aureus* серед персоналу харчоблоку.

Ключові слова: стафілококи, амінокислоти, протеїнограми, ентеротоксини, фаготипи, харчові отруєння, фагогрупи.

Адреса: Ужгородський національний університет, кафедра генетики, фізіології рослин і мікробіології, біологічний факультет, вул. Волошина 32, м. Ужгород, 88000, Україна

E-mail: bio.univ.@uzhgorod.ua

Spectra extracellular proteins enterotoxigenic staphylococcus, isolated of alimentary toxic infections. – V.I. Petrosova, K.O. Petrosov. – The proteingram enabled us to establish the identity of cultures isolated from foodstuffs and from patients, to deny the earlier made conclusion as to the source infection, to confirm the presence of enterotoxigenic staphylococci carriers among the nutrition unit personnel. The way of identification of staphylococci by comparing the spectra of extracellular protein makes it possible to decode the flashes of food toxic infections, to increase the sources of the infections as well as their spreading.

Key words: staphylococci, amino acids analysis, enterotoxins, food intoxication, phage-groups.

Address: Uzhhorod National University, Department of Genetics, Plant and Microbiology, Biological Faculty, 32, Voloshina St., Uzhhorod, 88000, Ukraine

E-mail: bio.univ.@uzhgorod.ua

Основною проблемою у вивченні бактеріології різних патологічних процесів є виділення та ідентифікація мікроорганізмів – чинних факторів патології. Найменш розробленим розділом проблеми стафілококових інфекцій на сьогодні залишається питання про стафілококові ентеротоксини. Основною перешкодою для цього є відсутність надійних, придатних до широкого використання, методів визначення ентеротоксинів. Згідно даних літератури, відсоток виділення ентеротоксигенних *Staphylococcus aureus* при харчових отруєннях дорівнює 73,0 – 86,0 [4]. В той же час стафілококові харчові отруєння складають 25 % від загального числа спалахів і 32,5 % від загального числа випадків харчових захворювань із підтверженою етіологією [1]. При проведенні епідеміологічного аналізу важливо встановити ідентичність ентеротоксигенних штамів *Staphylococcus aureus*, ізольованих із різних джерел. Досить часто для цього використовували фаготипування, яке у 65% є позитивним, але в багатьох випадках процент фаголізабельності значно нижчий [2]. У

зв'язку з цим, пошук більш точного методу ідентифікування виділених ентеротоксигенних штамів є актуальним питанням сьогодні [7].

У представленому повідомленні викладено результати розслідування спалахів харчових токсикоінфекцій стафілококової етіології з використанням у якості засобу ідентифікації фаготипування і протеїнограм позаклітинних білків ентеротоксигенних стафілококів *Staphylococcus aureus* [4].

Матеріали і методи

На протязі 2000–2005 років нами було проведено вивчення мікроорганізмів, ізольованих в осередках спалахів харчових отруєнь з метою ідентифікації збудника та встановлення причинного етіологічного фактора.

З усіх матеріалів, за загальноприйнятими методиками, були бактеріологічно досліджені харчові продукти, змиви з посуду, промивні води, блювотні і калові виверження, сеча, гемокультури, а також мазки з зіву і носа у осіб, що готували їжу або працювали на харчових об'єктах), був виділений

Staphylococcus aureus [2, 3]. Враховуючи клінічну картину отруєння, короткий інкубаційний період, аналіз меню, умови зберігання продуктів, найбільш вірогідним фактором, що обумовив харчове отруєння, були контаміновані стафілококом харчові продукти, режим зберігання яких був порушений.

У кожному випадку постраждалі харчувалися в одному і тому ж місці і вживали однаково їжу. Всього було досліджено 260 випадків харчових токсикоінфекцій, при яких виділено 15 штамів стафілококів. Видові ознаки визначали відповідно до 9-го видання визначника бактерій Бергі [6]. Фаготипування проводили міжнародним набором фагів [8]. Спектри позаклітинних білків стафілококів одержували на газовому хроматографі і показники спектрів взірців стафілококових культур зіставляли візуально та по протеїнограмах [5].

Результати дослідження та їх обговорення

В процесі виконання даної роботи нами реєструвалися переважно поодинокі випадки захворювання, які досить часто носили сімейний характер. Частина з них нам вдалося обстежити більш детально не тільки за допомогою фаготипування ізольованих штамів, але і з подальшим визначенням спектрів їх позаклітинних білків.

Узагальнюючи викладені дані про спалахи харчових отруєнь, треба наголосити, що більшість з них була обумовлена використанням у їжу молочних продуктів, контамінованих *Staphylococcus aureus*. У кожному конкретному випадку харчового отруєння виявляли значне обсіменіння харчових продуктів стафілококами, які одночасно висівали із блювотних мас, або з випорожнень хворого. На жаль, не у всіх випадках вдалося провести фаготипування виділених штамів. Однак характерний перебіг хвороби, відсутність у посівному матеріалі інших вірогідних збудників інфекції, з достатньою підставою вказували на стафілококову природу цих захворювань, крім того у випадках, які викликали труднощі з епідеміологічного боку, було проведено порівняльний аналіз не тільки результатів фаготипування, а й співставлення спектрів позаклітинних білків *Staphylococcus aureus*, виділених із різних джерел. Так, при вживанні в їжу тістечок з заварним кремом, які зберігалися з порушенням температурного режиму, постраждало 42 людини. При лабораторному дослідженні підозрілого харчового продукту, виділено *Staphylococcus aureus*, який у 52,3% випадках типувався міжнародним набором фагів. У посівах змивів із підносів, де зберігалися тістечка, мазків із носа робітників кондитерського цеху, промивних вод хворих визначали суцільний ріст *Staphylococcus aureus*, які мали подібні фагомозаїки. Всі типовані культури віднесені до III фагогрупи з фагомозаїкою 6/75/77. При зіставленні спектрів позаклітинних вивірок усіх штамів виявлено, що культури від персоналу кондитерсько-

го цеху, з устаткування і від хворих були ідентичні. Аналогічні результати отримані при аналізі фагоформул. Засіб ідентифікації стафілококів за спектрами позаклітинних білкових пулів підвищував точність упорядкування епідеміологічного ланцюжка.

У випадку виникнення харчового отруєння сметаною за допомогою звернулися 38 чоловік, що харчувалися в столовій. Захворювання почалося через 0,5 - 4 години після харчування. Сметана на протязі доби зберігалася з порушенням температурного режиму. При обстеженні персоналу столової були виділені стафілококи, що не типувалися фагами міжнародного набору, однак, у одного робітника кухні із носа був виділений *Staphylococcus aureus*, із фаговою формулою 3A/3C/55, а з зіва - *Staphylococcus aureus*, який не типувався фагами. З блювотних мас у постраждалих, устаткування столової також ізольовані *Staphylococcus aureus* з фагоформулою 3A/3B/55. При зіставленні даних, отриманих при епідеміологічному дослідженні, зроблено висновок, що причиною інфікування сметани було порушення правил фасування носієм *Staphylococcus aureus* фаготипу 52A/79/80. Зберігання сметани тривалий час при кімнатній температурі створило сприятливі умови для токсинуотворення і розмноження збудника. При порівнянні спектрів позаклітинних білкових спектрів штамів лізованих і нелізованих фагами, визначився певний епідеміологічний зв'язок. Спектри культур стафілококів, які не типувалися фагами, були ідентичні зі спектрами культур, виділених від хворих, змивів із столів і устаткування столової. Протеїнограми стафілококів, виділених із носа робітника роздавального цеху, який вважався джерелом інфекції, не збігалися зі спектрами збудників, виділених від хворих і з об'єктів зовнішнього середовища.

Ретроспективний аналіз спалахів, з урахуванням даних зіставлення спектрів екзобілкових виділених збудників, дозволив припустити, що контамінація взірців сметани, що стала причиною харчового отруєння, відбулася через знаряддя, значно забруднене *Staphylococcus aureus*, джерелом розповсюдження якого були робітники столової.

При використанні в їжу м'якого сиру одночасно отруїлося 42 особи, в тому числі 18 дітей. Бактеріологічне обстеження працівників молочної кухні виявлено значне обнасення *Staphylococcus aureus* носоглотки співробітників столової, продуктів, об'єктів навколишнього середовища. У постраждалих людей також відзначено масивний ріст *Staphylococcus aureus* у посівах із промивних вод і випорожнень. Звертала на себе увагу низька питома вага типованих штамів міжнародним набором фагів (18,6 %) і велика розмаїтість фагогруп. Так, від 7 хворих виділені культури з фагоформулою 3B/3C, із продуктів - 47/53, від персоналу - 53/75/77, 29/52A/3B, 3C/71, 29/52/79. У зв'язку з цим виявити основні джерела і шляхи їх передачі було неможливо.

Порівняльний аналіз білкових спектрів типованих і нетипованих штамів показав, що спектри позаклітинних білків збудників від 7 хворих (фагова формула 3В/3С) були ідентичні зі спектрами не типованих фагами культур, ізольованих із продуктів і змивів з посуду, який використовували для збереження готової продукції. В 9 хворих спектри вивірок нетипованих фагами культур були подібні між собою, але відрізнялися від вищезгаданих. При порівнянні спектрів нетипованих і типованих стафілококів, виділених від персоналу, визначено три групи носіїв, що мали подібні протеїнограми екзобілкових виділених штамів.

У випадку отруєння м'ясним салатом за медичною допомогою звернулися 32 чоловіка, в тому числі 25 дітей, з типовими ознаками харчової токсикоінфекції. Готування та зберігання салату відбувалося з порушенням технологічного режиму, що сприяло швидкому накопиченню ентеротоксинів та масовому розмноженню мікроорганізмів. Бактеріологічному дослідженню були піддані варена ковбаса, майонез, сметана, змиви з носоглотки робітників столової, промивні води та випорожнення постраждалих. В усіх пробах було виявлено *Staphylococcus aureus*. При фаготипуванні стафілококів, виділених із продуктів, фаготип встановити не вдалося, а штами, отримані від співробітників столової та кухні, відносилися до I і III фагогруп.

Отже, метод фаготипування не дав можливості виявити джерело та шляхи розповсюдження харчової токсикоінфекції. Однак, зіставлення спектрів позаклітинних білків досліджених бактеріальних ізолятів надало можливість встановити ідентичність протеїнограм екзопродуктів штамів, виділених із промивних вод шлунку, із салату та з слизової оболонки ротоглотки співробітника роздаточного цеху, який приймав участь у приготуванні страви. У всіх останніх робітників ізольовані культури відрізнялися за спектрами екзобілкових. Порівняльний аналіз спектрів позаклітинних білків, ізольованих *Staphylococcus aureus* при даному спалаху харчової токсикоінфекції показав, що

джерелом контамінації харчових продуктів патогенними штамми стафілококів є співробітник роздавального цеху. Паралельно з ідентифікацією чинників харчових токсикоінфекцій нами також проводилося дослідження по з'ясуванню ентеротоксигенних характеристик (А і В ентеротоксини) ізольованих взірців *Staphylococcus aureus*. Питома вага ентеротоксигенних штамів, ізольованих з слизової оболонки здорових носіїв (обслуговуючий персонал підприємств харчування) складала 51,6%. Звертає на себе увагу порівняльно високий відсоток В - ентеротоксигенних культур, в той час, як А - ентеротоксигенні штами зустрічалися у три рази рідше (12,6 %). При аналізі показників серотипової приналежності ентеротоксинів, нами було відмічено, що ентеротоксигенні штами стафілококів виділялися з фекалій постраждалих при харчових токсикоінфекціях у 44,5% випадків. Певну вагу привернув показник високої кількості виділення В - ентеротоксигенних штамів стафілококів при бактеріологічному обстеженні фекалій постраждалих дітей.

Висновки

Ідентифікація стафілококів по спектрах позаклітинних білків дозволяє одержувати більш повне уявлення про спалахи харчових токсикоінфекцій стафілококової етіології.

За допомогою протеїнограм вдалося встановити ідентичність культур, виділених із харчових продуктів і від хворих; спростувати раніше зроблений висновок про джерело інфекції; підтвердити наявність носійства ентеротоксигенних *Staphylococcus aureus* серед персоналу харчоблоку.

Метод ідентифікації стафілококів за допомогою порівняння спектрів позаклітинних білків сприяє розшифруванню спалахів харчових токсикоінфекцій, підвищує достовірність виявлення джерела інфекції та її розповсюдження.

1. Акатов А.К., Зусва В.С. Стафилококки. – М.: Медицина. – 1983. – 253 с.
2. Гладкова К.К., Семина Н.А., Воротынцева Н.В. Лабораторные критерии диагностики кишечных заболеваний стафилококковой этиологии у детей // Журнал гиг., эпид., микр. и иммун. – 1990. – № 1. – С.105-112.
3. Домарадская Т.И. Современные методы обнаружения энтеротоксигенных стафилококков в продуктах питания // Вопросы питания. – 1991. – №1. – С. 7.
4. Минор Т. Е., Март Е. Х. Стафилококки в пищевых продуктах: Пер. с англ. – М.: Медицина. – 1980. – С.33-72.
5. Митрук Б.М. Применение газовой хроматографии в микробиологии и медицине. – М.: Медицина. – 1978. – 604 с.
6. Определитель бактерий Берги. / Под ред. Акад. РАН Заварзина Г.А. 9-ое издание. Пер. с англ. – М.: Мир. – 1997. – 800 с.
7. Петросова В.І. Біотипування ентеротоксигенних стафілококів // Науковий вісник УжНУ. – серія Медицина. – 2000. – № 12. – С. 97-101.
8. Петрушина Л.И., Колосницына Н.В. Повышение эффективности метода фаготипирования стафилококков // Вопросы питания. – 1989. – №2. – С. 51

Отримано: 10 листопада 2006 р.

Прийнято до друку: 15 лютого 2007 р.