

УДК 616-002.7766: 576.8.097.3

## АНТИТЕЛА К УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫМ БАКТЕРИЯМ У БОЛЬНЫХ С РЕВМАТИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Кулибин А.Ю., Гульнева М.Ю., Романов В.А., Малафеева Э.В.

ГОУ ВПО «Ярославская государственная медицинская академия Росздрава»,  
Ярославль, e-mail: ch-ma@mail.ru

Выполнено изучение наличия и уровня антител к условно-патогенным бактериям в сыворотке крови больных ревматическими заболеваниями. Определение IgG антител к бактериальным антигенам проведено иммуноферментным методом (ИФА). У больных с ревматическими заболеваниями установлено увеличение частоты обнаружения и уровня IgG антител к бактериальным антигенам условно-патогенных микроорганизмов. Достоверно чаще выявлялись антитела к антигенам микроорганизмов с более выраженными признаками патогенности.

**Ключевые слова:** ревматические заболевания, антитела к антигенам бактерий, условно-патогенные бактерии

**Введение.** В настоящее время все большее значение приобретают условно-патогенные микроорганизмы, которые ассоциированы с развитием многих заболеваний, коморбидных и внутрибольничных инфекций [1, 5, 6, 10]. Выявление роли условно-патогенных микроорганизмов при ревматических заболеваниях во многом базируется на изучении гуморальных ответных реакций организма больных на бактериальные антигены. Микробиологические и иммунологические исследования выявили связь между *Klebsiella pneumoniae* и анкилозирующим спондилоартритом, *Proteus mirabilis* и ревматоидным артритом [6, 4]. Высокие титры антител классов IgM и IgA к *Proteus mirabilis* и антитела класса IgM к *Escherichia coli* связаны с ранним серопозитивным ревматоидным артритом [7, 9]. Наряду с этим, изучение уровня антибактериальных антител позволяет выявить особенности формирования адаптивного иммунитета и развитие защитных иммунных реакций у больных с ревматическими заболеваниями.

**Целью** представленной работы явилось изучение уровня антител к условно-патогенным бактериям у больных с различными нозологическими формами ревматических заболеваний.

### Материалы и методы

Обследовано 82 человека, из них 24 больных ревматоидным артритом, 14 больных системной красной волчанкой, 12 больных системной склеродермией и 32 практически здоровых человека группы сравнения. Средний возраст обследованных лиц был  $52,92 \pm 13,15$  лет. Диагноз ревматоидного артрита (РА), системной красной волчанки (СКВ) и системной склеродермии (ССД) устанавливали согласно критериям, принятым в ревматологии. Среди больных РА преобладали пациенты с I–II рентгенологической стадией (75%) и у 25% была III рентгенологическая стадия поражения суставов. По ревматоидному фактору больные РА были серопозитивны в 83,3% случаев. Обследованы больные СКВ I (42,9%) и II (57,1% больных) степени активности, с подострым (57,1%) и хроническим (42,9% больных) течением заболевания. У всех больных ССД отмечена лимитированная форма заболевания, умеренная степень активности патологического процесса, подострое течение – у 25% больных, хроническое – у 75% больных.

Выявление антител к условно-патогенным бактериям проведено иммуноферментным методом (ИФА) на основании одновременного определения IgG ан-

тител к бактериальным антигенам, полученным из клеток микроорганизмов: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus spp.*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella (O-12)*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*. При выявлении антител использована скрининговая иммуноферментная система для определения антител к условно-патогенным бактериям производства НИИ вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова РАМН. Исследованы рабочие разведения сывороток от 1:100 до 1:1600. Регистрацию результатов ИФА проводили на спектрофотометре «Multiskan» при длине волны 450 нм. Об активности антител судили по разности оптической плотности (ОП) анализируемой сыворотки и контрольной отрицательной сыворотки (дОП).

Статистический анализ данных выполнен на IBM PC совместимом компьютере с помощью программы STATISTICA® (Data analysis software system, StatSoft) версия 7.0. Результаты исследований представлены в виде средней  $\pm$  стандартное отклонение ( $M \pm s$ ). Сравнение непрерывных величин с нормальным распределением проводилось с помощью t-критерия Стьюдента. Дискретные величины сравнивались с использованием критерия  $\chi^2$ . Различия между группами считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

Работа одобрена этическим комитетом Ярославской государственной медицинской академии.

### Результаты и обсуждение

Изучение антител в сыворотках больных ревматическими заболеваниями показало, что частота выявления антител к условно-патогенным бактериям у здоровых лиц составляет 37,8%. Достоверно чаще ( $p < 0,0001$ ) были обнаружены антитела у больных РА (45,8%), СКВ (51%) и ССД (64,6%).

Частота обнаружения у больных ревматическими заболеваниями IgG антител к бактериальным антигенам, полученным из клеток различных условно-патогенных микроорганизмов, представлена в табл. 1. При СКВ достоверно чаще выявлялись антитела к *S. aureus* (57,1%), *Streptococcus spp.* (85,7%), *E. coli* (71,4%), *Salmonella* (35,7%), *K. pneumoniae* (100%); у лиц контрольной группы частота обнаружения аналогичных антител составляла соответственно 18,7; 53,1; 25, 6,2 и 62,5% ( $p < 0,05$ ). Вместе с тем у больных СКВ снижалась частота обнаружения IgG-антител к менее патогенным коагулазоотрицательным эпидермальным стафилококкам (71,4%), а к сапрофитическим стафилококкам антитела не обнаруживались вовсе, в то время как у здоровых лиц антитела к *S. epidermidis* выявлены в 100% случаев, а к *S. saprophyticus* – в 46,9% ( $p < 0,05$ ). При ССД чаще, чем у здоровых лиц ( $p < 0,05$ ), определялись IgG-антитела к *S. aureus* (75%), *S. saprophyticus* (91,7%), *S. pneumoniae* (91,7%), *E. coli* (83,3%), *P. vulgaris* (75%), *Salmonella* (75%). У больных РА антитела к *E. coli*, *Salmonella (O-12)*, *H. influenzae*, *K. pneumoniae* были выявлены в 100% случаев, в то время как у лиц группы сравнения частота обнаружения этих антител была существенно ниже. В то же время у больных РА существенно реже определялись антитела к *S. epidermidis* (33,3%) и не обнаруживались антитела к *S. saprophyticus*, тогда как у лиц группы сравнения эти показатели равнялись 100 и 46,9% соответственно.

При ревматических заболеваниях в сыворотке крови пациентов обнаруживались IgG-антитела к бактериальным антигенам, существенно отличавшиеся по уровню от аналогичных данных у здоровых лиц (табл. 2). По сравнению с данными группы контроля при СКВ был достоверно увеличен уровень антител к антигенам *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* и *K. pneumoniae*, в то время как к антигенам *S. pneumoniae* уровень антител был снижен, а к антигенам *S. saprophyticus* антитела у пациентов не вы-

являлись вообще. У больных ССД высокий уровень антител был отмечен к антигенам *P. vulgaris* и *Salmonella*. Наряду с этим уровень антител к *Streptococcus spp.* был снижен и не обнаруживались антитела к *P.*

*aeruginosa*. У больных РА наблюдалось достоверное увеличение уровня антител к *Streptococcus spp.*, *E. coli* и *K. pneumoniae* на фоне отсутствия антител к *S. saprophyticus*, *S. pneumoniae*, *P. aeruginosa*.

Таблица 1

Частота обнаружения IgG-антител к бактериальным антигенам у больных ревматическими заболеваниями

Антигены бактерий	Группы обследованных							
	Здоровые <i>n</i> = 32		Больные СКВ <i>n</i> = 14		Больные ССД <i>n</i> = 12		Больные РА <i>n</i> = 24	
	Частота определения IgG антител							
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
<i>S. aureus</i>	6	18,7	8*	57,1	9*	75	6	25
<i>S. epidermidis</i>	32	100	10*	71,4	10	83,3	8*	33,3
<i>S. saprophyticus</i>	15	46,9	0*	0	11*	91,7	0*	0
<i>S. pneumoniae</i>	10	31,3	5	35,7	11*	91,7	0	0
<i>Streptococcus spp.</i>	17	53,1	12*	85,7	4	33,3	16	66,7
<i>M. luteus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ps. aeruginosa</i>	5	15,6	2	14,3	0	0	0	0
<i>E. coli</i>	8	25	10*	71,4	10*	83,3	24*	100
<i>P. vulgaris</i>	10	31,3	8	57,1	9*	75	6	25
<i>Salmonella (O-12)</i>	2	6,2	5*	35,7	9*	75	24*	100
<i>H. influenzae</i>	20	62,5	11	78,6	10	83,3	24*	100
<i>K. pneumoniae</i>	20	62,5	14*	100	10	83,3	24*	100

Примечание. \* – достоверность различий в частоте определения IgG антител с группой сравнения ( $p < 0,05$ ), данные  $\chi^2$ .

Таким образом, при ревматических заболеваниях существенно изменяется как частота выявления, так и уровень IgG-антител к различным бактериальным антигенам. Для СКВ, ССД и РА характерно повышение частоты обнаружения и уровня антител к условно-патогенным бактериям, что может быть обусловлено изменением микробиоценоза различных биотопов и колонизацией организма больных условно-патогенной микрофлорой [2]. В свою очередь повышение уровня IgG антител к бактериальным антигенам свидетельствует о снижении колонизационной резистентности индигенной микрофлоры

и развитии дисбиоза. Следует отметить существенное увеличение уровня антител к *K. pneumoniae* при ревматических заболеваниях, достигающее диагностических значений и отражающее повышение активности гуморального иммунитета к условно-патогенным бактериям [3]. Высокий уровень IgG антител к нескольким видам условно-патогенных бактерий (*S. aureus*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *Streptococcus spp.*, *K. pneumoniae*) может свидетельствовать как о поликлональной стимуляции иммунного ответа при РЗ [3], так и об усилении иммунного ответа на возросшее антигенное воздействие условно-патогенных

микроорганизмов в результате развития дисбактериоза. В то же время снижение уровня антител и даже их отсутствие (например к *S. saprophyticus*, *S. pneumoniae*, *P. aeruginosa*) у больных отдельными рев-

матических заболеваниями может быть связано с уменьшением соответствующей антигенной нагрузки в результате развития выраженных дисбиотических нарушений в организме пациентов.

Таблица 2

Уровень IgG-антител к бактериальным антигенам у ревматических больных

Антигены бактерий	Группы обследованных			
	Здоровые <i>n</i> = 32	Больные СКВ <i>n</i> = 14	Больные ССД <i>n</i> = 12	Больные РА <i>n</i> = 24
	Уровень IgG антител, ед. опт. плотности, $M \pm s$			
<i>S. aureus</i>	0,15 ± 0,04	0,21 ± 0,04*	0,17 ± 0,10	0,17 ± 0,04
<i>S. epidermidis</i>	0,21 ± 0,06	0,30 ± 0,08*	0,23 ± 0,04	0,18 ± 0,06
<i>S. saprophyticus</i>	0,20 ± 0,11	0*	0,19 ± 0,05	0*
<i>S. pneumoniae</i>	0,13 ± 0,01	0,06 ± 0,03*	0,14 ± 0,11	0*
<i>Streptococcus spp.</i>	0,13 ± 0,07	0,16 ± 0,08	0,03 ± 0,01*	0,21 ± 0,08*
<i>M. luteus</i>	0	0	0	0
<i>Ps. aeruginosa</i>	0,05 ± 0,04	0,06 ± 0,05	0*	0*
<i>E. coli</i>	0,07 ± 0,02	0,17 ± 0,08*	0,09 ± 0,01	0,12 ± 0,02*
<i>P. vulgaris</i>	0,08 ± 0,03	0,10 ± 0,06	0,17 ± 0,09*	0,08 ± 0,02
<i>Salmonella (O-12)</i>	0,06 ± 0,04	0,08 ± 0,02	0,15 ± 0,01*	0,08 ± 0,02
<i>H. influenzae</i>	0,16 ± 0,07	0,18 ± 0,04	0,14 ± 0,05	0,22 ± 0,03*
<i>K. pneumoniae</i>	0,20 ± 0,06	0,30 ± 0,04*	0,22 ± 0,08	0,28 ± 0,04*

Примечание. \* – достоверность различий в уровне IgG антител с группой сравнения ( $p < 0,05$ ).

Наличие антител к антигенам условно-патогенных бактерий может также свидетельствовать о наличии носительства микробов в организме, а также о существовании явных или скрытых очагов бактериальной инфекции, отражать триггерную роль данных микроорганизмов при ревматических заболеваниях и их возможное участие в развитии коморбидных инфекций в условиях применения препаратов с иммуносупрессивным эффектом [1, 8].

### Выводы

1 В сыворотке крови больных СКВ, РА, ССД достоверно повышена частота выявления IgG-антител к условно-патогенным бак-

териям, преимущественно к *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella* и *K. pneumoniae*.

2. При ревматических заболеваниях существенно возрастает уровень IgG антител к антигенам *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* и *K. pneumoniae* у больных СКВ, *Salmonella* и *P. vulgaris* – ССД, *Streptococcus spp.*, *E. coli*, *H. influenzae*, *K. pneumoniae* – у больных РА.

### Список литературы

1. Инфекции и ревматические болезни: взгляд на проблему в начале XXI века / Б.С. Белов, Р.М. Балабанова, С.Г. Манукян [и др.] // Вестник Российской АМН. – 2008. – №. 6. – С. 14–18.
2. Микрофлора организма больных при системных заболеваниях соединительной ткани / В.А. Романов, Н.П. Шилкина, М.Ю. Гульнева

[и др.] // Вестник Российской АМН. – 2008 – № 4. – С. 10–14.

3. Ястребова, Н.Е. Характеристика скрининг-иммуноферментного теста для определения антител к условно-патогенным бактериям / Н.Е. Ястребова., Н.П. Ванеева., Н.В.Цветкова // Аллергия, астма и клинич. иммунол. – 1999. – № 9. – С. 148–151.

4. Antibodies to Klebsiella O-antigens in patients with seronegative spondyloarthropaties / B. Nowak, V. Kowalski, B. Maczyrńska // Pol. Arch. Med. Wewn. – 2006. – Vol. 115, №3. – P. 203–209.

5. Autoantibodies that bind glomeruli: cross-reactivity with bacterial antigen / I.A. Chowdhry, C. Kowal, J. Hardin [et al.] // Arthritis Rheum. – 2005. – Vol. 52, № 8. – P. 2403–2410.

6. Ebringer A., Wilson C. HLA molecules, bacteria and autoimmunity // J. Med. Microbial. – 2000. – Vol. 49, №4. – P. 305–311.

7. Elevated levels of IgM and IgA antibodies to *Proteus mirabilis* and IgM antibodies to *Escherichia coli* are associated with early rheumatoid factor (RF)-positive rheumatoid arthritis / M.M. Newkirk, R. Goldbach-Mansky, B.W. Senior // Rheumatology (Oxford). – 2005. – Vol. 44, № 11. – P. 1433–1441.

8. Infections and treatment of patients with rheumatic diseases / F. Atzeni, K. Bendtzen, F. Bobbio-Pallavicini [et al.] // Clin. Exp. Rheumatol. – 2008. – Vol. 26, № 48. – P. 67–73.

9. Rheumatoid arthritis patients have elevated antibodies to cross-reactive and non cross-reactive antigens from *Proteus* microbes / T. Rashid, K.S. Jayakumar, A. Binder // Clin. Exp. Rheumatol. – 2007. – Vol. 25, №2. – P. 259–267.

10. Safdar N., Maki D. Risk factors for nosocomial colonization and infection with antimicrobial resistant *S. aureus*, *Enterococcus* spp., gram-negative bacilli, *C. difficile* and *Candida* // Annals of Int. Med. – 2002. – №11. – P. 341–365.

**Рецензенты:**

Благов Николай Алексеевич, д.м.н., профессор, зав. кафедрой инфекционных болезней ГОУ ВПО «Ярославская государственная медицинская академия Росздрава»;

Шорманов Сергей Венедиктович, д.м.н., профессор кафедры патологической анатомии ГОУ ВПО «Ярославская государственная медицинская академия Росздрава».

**ANTIBODIES TO CONDITIONALLY PATHOGENIC BACTERIA  
IN PATIENTS WITH RHEUMATIC DISEASES**

**Kulibin A.Yu., Gulneva M.Yu., Romanov V.A., Malafeeva E.V.**

*Yaroslavl state medical academy Roszdrava, Yaroslavl,*

*e-mail: ch-ma@mail.ru*

The study of presence and level of antibodies to conditionally pathogenic bacteria in the blood patients with rheumatic diseases was performed. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used for definition of the IgG antibodies to bacterial antigens. The increase of frequency of the detection and level of the IgG antibodies to conditionally pathogenic bacteria was revealed in patients with rheumatic diseases. The antibodies to antigens of microorganisms with more expressed pathogenic characteristics were detected significantly frequently.

**Keywords: rheumatic diseases, antibodies to bacterial antigens, conditionally pathogenic bacteria**