

УДК 616-094

**ТАКСОНОМИЯ, ГЕТЕРОГЕННОСТЬ,  
ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ  
ЗНАЧИМОСТЬ БАКТЕРИЙ РОДОВ  
AEROCOCCUS, GLOBICATELLA, HELCOCOCCUS И  
FACKLAMIA**

(ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Вальчук С.И., Воропай А.Ю., Пилюгин С.В., Кучма  
И.Ю\*, Волянский А.Ю\*, Кременчуцкий Г.Н.  
Днепропетровский национальный медицинский  
университет МОЗ Украины  
ГУ «Институт микробиологии и иммунологии им.  
И.И. Мечникова  
АМН Украины»\*, г. Харьков

Все возрастающий интерес исследователей к грамположительным бактериям связан как с наличием среди них патогенных видов, так и – представителей нормальной микрофлоры человека. Биологическая роль некоторых из них до сих пор не изучена.

За последние несколько лет значительно расширено количество родов и разновидностей аэробных или факультативно анаэробных каталазоотрицательных грамположительных кокков, выделенных из человеческих клинических образцов. Большая часть этих изменений стала возможной при использовании молекулярно-генетических (секвенирование 16S rRNA) и молекулярно-химических (анализ клеточного белка) методов для идентификации микроорганизмов.

В частности, секвенирование 16S rRNA привело к филогенетически обоснованным описаниям, которые, вместе с технологией быстрого секвенирования и с легко доступными библиотеками последовательностей генов, предоставляют диагностическим лабораториям весьма мощную технологию для идентификации не только нетипичных, или сомнительных представителей существующих таксонов, но и множество разнообразных новых микробов.

Существующие базы данных о каталазоотрицательных грамположительных кокках расширились

обозначением целого арсенала выделенных из различных ниш человека и животных: *Abiotrophia elegans* [1], *Aerococcus urinae*, *Alloicoccus otitis* [2], *Dolosigranulum pigrum* [3], *Facklamia hominis* [4], *Facklamia ignava* [5], *Gemella bergeri* [6], *Gemella sanguinis* [7], *Globicatella sanguinis* [8,9], *Helcococcus kunzii* [10] и *Ignavigranum ruoffiae* [11].

Штаммы первоначально были определены как предположительно *Dolosigranulum*, *Facklamia* и *Ignavigranum spp.* при помощи оценки характерных фенотипических особенностей, выявленных при использовании стандартных методов идентификации различных родов каталазонегативных грамположительных кокков. Эти три рода описываются как чувствительные к ванкомицину, не образующие газ, позитивные в L-перридонил-β-нафтиламид (PYR) и лейцин аминопептидазной (LAP) реакциях, растущие в 6,5 % NaCl жидкой среде, отрицательные при проведении желче-эскулиновой пробы, не растущие при 10 °C и 45 °C, неподвижные, проявляющие альфа- или гамма-гемолиз при культивации на 5 % кровяном агаре (табл. 1).

1.1. Таксономическое положение, распространение в природе микроорганизмов, относящихся к родам *Aerococcus*, *Globicatella*, *Helcococcus* и *Facklamia*.

Грамположительные анаэробные кокки (ГПАК) – неоднородная группа микроорганизмов со своими морфологическими особенностями и неспособностью развиваться в присутствии кислорода. По клиническим проявлениям у людей и животных весьма сходны с аналогичными, обусловленными бактериями рода *Peptostreptococcus*. Изучение состава нуклеиновых кислот показало, что их таксономия и классификация требует радикального пересмотра на уровне вида. Отдельные представители *Peptostreptococcus* описаны лишь недавно. Другие еще ждут четких признаков для идентификации и распознавания. Отождествление основано на изучении брожения углерода.

**Таблица 1. Фенотипические характеристики каталазонегативных грамположительных кокков**

Genus table	Фенотипические характеристики <sup>a</sup>									
	Окраска по Граму <sup>b</sup>	Ван	ГАЗ	PYR	LAP	NaCl	10 °C	45 °C	Подвижность	ГЕМ
<i>Leuconostoc</i> <sup>c</sup>	ц	P	+	-	-	V	+	+	-	α/γ
<i>Weisella</i> <sup>c</sup>	ц	P	+	-	-	+	V	V	-	α/γ
<i>Enterococcus</i>	ц	B/P	-	+	+	+	+	+	V	α/γ
<i>Lactococcus</i>	ц	B	-	+	+	V	+	V	-	α/γ
<i>Vagococcus</i>	ц	B	-	+	+	+	+	-	+	α/γ
<i>Streptococcus</i>	ц	B	-	-	+	V	-	V	-	α/β/α
<i>Abiotrophia</i>	ц	B	-	+	+	-	-	V	-	α/γ
<i>Globicatella</i>	ц	B	-	+	-	+	-	-	-	α
<i>Dolosicoccus</i>	ц	B	-	+	-	-	-	-	-	α
<i>Pediococcus</i>	г/т	P	-	-	+	V	-	+	-	α
<i>Tetragenococcus</i>	г/т	B	-	-	+	+	-	+	-	α
<i>Aerococcus urinae</i> <sup>d</sup>	г/т	B	-	-	+	+	-	-	-	α
<i>Aerococcus viridans</i>	г/т	B	-	+	-	+	-	-	-	α
<i>Helcococcus</i>	г/т	B	-	+	-	+	-	-	-	γ
<i>Gemella</i>	г/т/ц	B	-	+	V	-	-	-	-	α/γ

Genus table	Фенотипические характеристики <sup>a</sup>									
	Окраска по Граму <sup>b</sup>	Ван	ГАЗ	PYR	LAP	NaCl	10 °C	45 °C	Подвижность	ГЕМ
Facklamia	г/ц	В	–	+	+	+	–	–	–	γ
Alloiococcus	г/т	В	–	+	+	+	–	–	–	γ
Igna vigranum	г/ц	В	–	+	+	+	–	–	–	γ

**Примечание:**

<sup>a</sup> Ван, тест на чувствительность к ванкомицину; ГАЗ, образование газа на MRS бульоне; ПИР, образование Пиразы; LAP, образование ЛАПаза; NaCl, рост на средах, содержащих 6,5 % NaCl; 10 °C и 45 °C, рост при 10 и 45 °C; ДВИЖ, подвижность; ГЕМ, гемолитическая активность на триптическом соевом агаре, содержащем 5 % крови овцы. V, aberrативный результат; В, восприимчивый; Р, резистентный.

<sup>b</sup> Организация клеток в краске Грама: г, группы; т, тетрады; ц, цепочки.

<sup>c</sup> *Leiconostoc* и *Weissella* часто наблюдаются как коккобактерии, иногда палочкообразные, образующие цепи.

<sup>d</sup> *Aerococcus cristensenii* имеет одинаковую фенотипическую характеристику с *A. urinae*.

Однако большинство ГПАК являются asaccharolytic и используют продукты деградации протеина для своего метаболизма. *Peptostreptococcus magnus* обладает выраженным протеолитическим свойством, что особенно проявляется в патогенезе внутриротовых инфекций, прежде всего периодонтите. Сравнение антибиотических свойств позволило выявить главные отличия между видами (антибиотиком выбора является пенициллин, хотя некоторые представители *Peptostreptococcus* содержат β-лактамазу).

ГПАК являются частью нормальной микрофлоры слизистых оболочек и кожных покровов. Нередко эти микроорганизмы изолируют из внутриорганных абсцессов, при акушерском и гинекологическом сепсисе, инфекциях полости рта. Данная группа микроорганизмов пока мало изучена, имеются весьма скудные данные о наличии их во внешней среде, нет достаточных данных для классификации и идентификации, особенно в случае смешанных популяций в различных экологических нишах.

1.2. Биологические свойства микроорганизмов, относящихся к родам *Aerococcus*, *Globicatella*, *Helcococcus* и *Facklamia*.

Согласно определению бактерий Берджи (1997) род *Aerococcus* и его единственный типовой вид *Aerococcus viridans* входят в 17 группу – грамположительных кокков.

Современный таксономический справочник содержит уже несколько представителей рода *Aerococcus*: *A. christensenii*, *A. sanguinicola*, *A. urine*, *A. urinaeegui*, *A. urinaehominis* и др. Некоторые из них являются возбудителями гнойно-воспалительных заболеваний у животных и человека. Грамположительные кокки входят в одну и ту же группу на основании фактически двух признаков – сферическая форма и положительная реакция при окраске по Граму. Роды различаются также по признаку расположения клеток и каталазной активности. Грамположительные кокки в свою очередь подразделяются на аэробные, факультативно аэробные (или микроаэробные) и анаэробные кокки. Аэрококки – факультативные анаэробы, хорошо растут при низком содержании кислорода; в аэробных условиях образуют перекись водорода (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

Черняев С.А. и соавт. [12] раскрыли морфологическую, физиологическую и биохимическую гетерогенность микроорганизмов рода *Aerococcus*. Некоторые штаммы аэрококков, введенные в макроорганизм извне, вызывают стимуляцию как неспецифических, так и специфических механизмов иммуногенеза [13].

На роль возбудителей этих родов в патологии человека и животных макроорганизмов указывают лишь некоторые авторы [12, 13].

1.3. Морфологические, физиологические и биохимические критерии идентификации микроорганизмов родов *Aerococcus*, *Globicatella*, *Helcococcus* и *Facklamia*.

Лишь в последние годы несколько расширилось количество видов аэробных и факультативно анаэробных каталазонегативных грамположительных кокков, вегетирующих в организме человека и животных. Это произошло благодаря использованию молекулярно-генетического и молекулярно-химического анализов для идентификации этих микробов. Наиболее яркими представителями новых каталазонегативных грамположительных кокков, выделенных от человека, явились *A. urinae*, *F. hominis*, *F. ignava*, *G. sanguinis*, *H. kunzii*.

С тех пор, как в 1997 г были описаны первые виды *Facklamia*, охарактеризовано дополнительно четыре вида этого рода [5,11,14-18]. Виды *F. hominis*, *F. ignava*, *F. soureikii* и *F. tabacinasalii* чаще всего формируют цепочки, тогда как *F. languida* образует группы кокков с небольшим сцеплением.

*Facklamia spp.* – грампозитивные кокки, при культивировании на агаре с 5% крови овец образуют короткие цепи либо диплоиды, имеющие сходство с зелеными стрептококками [19].

Восемнадцать штаммов, представляющих четыре вида *Facklamia*, выделены нами из культур крови, абсцессов, костей, спинномозговой жидкости, желчного пузыря и влагалитических мазков. Культуры испытаны на чувствительность к 15 антимикробным агентам, при этом использован общепринятый метод двукратного разведения в жидкой питательной среде. Установлена низкая их чувствительность к бета-лактамам, эритромицину, клиндамицину, триметоприм-сульфаметоксазолу и тетрациклину. Полученные результаты свидетельствуют о том, что чувствительность к противомикробным препаратам видов *Facklamia* различна, а также, что некоторые из них имеют резистентные структуры, до сих пор пока не расшифрованные.

*F. hominis* как типичный представитель рода описан Коллинзом [11]. Он же указал, что для некоторых штаммов, формирующих цепь кокков, выделенных из различных материалов (кровь, моча, абсцессы, влагалитические мазки) характерны самые различные фенотипические свойства. *F. ignava*,

*F. sourekkii* выделены из человеческих клинических образцов также Коллинзом [6]. Охарактеризованные им штаммы четко представляют собой ещё один вид этого нового рода. Три человеческих штамма из этой новой разновидности оказались биохимически близко связанными друг с другом. Анализ PAGE клеточных белков продемонстрировал их полную близость с *F. hominis*, неизвестный кокк можно было бы без труда отличить от этого вида по образованию кислоты из трегалозы, отсутствию способности гидролизировать хиппурат и не проявлять аргининдигидралазную, аланиново-фенилаланин-пролин-ариламидазную, галактозидазную или β-галактозидазную активность. Точно так же неизвестная бактерия биохимически отличалась от *F. ignava* в продуцировании глицил-триптофана ариламидазы, однако синтезировала аланин-пролин-фенилаланина ариламидазу; от *F. sourekkii* – невозможностью синтезировать кислоту из широкого диапазона углеводов (D-арабитол, мальтоза, манит, сорбитол, сахароза) и неспособностью гидролизовать хиппураты. Основываясь на результатах сравнительных 16S rRNA исследований и отличии от других штаммов по электрофоретической конфигурации белка и биохимических реакциях ранее неизвестные кокки по мнению авторов, следует определить как новый вид, для которого и было предложено название *Facklamia languida* (*languida* – низкая биохимическая активность микроорганизма).

***Facklamia languida nov. sp.*** На TSA-SB после 24 ч инкубации на воздухе, содержащем CO<sub>2</sub>, образуются небольшие бесцветные колонии, вокруг которых слабо проявляется гемолиз. После 48 ч инкубации колонии также окружены еле выраженной зоной альфа-гемолиза. Клетки яйцевидные и обычно формируют пары, однако могут встретиться отдельные клетки и короткие цепи. Тип дыхания факультативно анаэробный, тесты на каталазу и оксидазу отрицательные. Растет в присутствии 6,5 % NaCl при 37 °C. не растет при 10 или 45 °C. Пирролидонил ариламидазный и лейцин аминокислотный тесты положительны в обычных пробах. В серийных API системах кислота образуется из трегалозы. Кислота не вырабатывалась из D-арабитола, L-арабинозы, циклодекстрина, гликогена, лактозы, мелибиозы, маннита, мальтозы, мелецитозы, метил-β-D-глюкопиранозида, пуллуана, раффинозы, рибозы, сорбитола, сахарозы или тагатозы. Обнаружена активность щелочной фосфатазы, пироглютамик кислоты ариламидазы, лейцин ариламидазы и глицил-триптофан ариламидазы. Продукция кислотной фосфатазы, аланинового пролина фенилаланина ариламидазы, ар-

гинин дигидролазы, ацетил-β-глюкозаминидазы, β-галактозидазы, β-галактуронидазы, β-глюкозидазы, β-глюкоронидазы, липазы C14, α-маннозидазы и уреазы этими микробами не обнаружена. Периодически обнаруживается способность продуцировать эстеразу C4 и эстерлипазу C8. Ацетон не вырабатывают, хиппурат не гидролизуют. Выделен из клинического материала, взятого у человека и животных. Естественная среда обитания не известна. Достаточно полно охарактеризован штамм типа – CCUG 37842T.

Неизвестный грампозитивный, каталазонегативный, факультативно анаэробный, имеющий форму кокка микроорганизм аналогичный описанному выделен из порошка табака [20]. Сравнительное 16S rRNA секвенирование показало, что бактерия представляет новую подлинию в рамках рода *Facklamia*. Неизвестная бактерия легко различается при помощи биохимических исследований и электрофоретического анализа клеточных белков от *Facklamia hominis* и *Facklamia ignava*. На основе очевидности результатов филогенетических и фенотипических исследований указанный микроб классифицирован как *Facklamia tabacinasalis sp. nov.*, типичный штамм которой – CCUG 39307T.

Два штамма, до настоящего времени [8] неописанных, грампозитивных, каталазонегативных, факультативно анаэробных кокков, выделенных от человека охарактеризованы при помощи фенотипических и молекулярно таксономических методов. После проведения секвенирования 16S rRNA, они признаны идентичными и образовали новую подлинию в пределах рода *Facklamia*. По результатам биохимических исследований и электрофореза клеточных белков неизвестная бактерия легко отличалась от *Facklamia hominis* и *Facklamia ignava*. Очевидность четких филогенетических и фенотипических свойств указанных двух штаммов позволила ранее неизвестные бактерии классифицировать как *Facklamia sourekkii sp. nov.*, типичный штамм которой – CCUG 28783T.

Виды *Facklamia* отличаются как один от другого, так и от *D. pigrum* и *I. ruoffiae* дезаминированием аргинина (Arg), гидролизом хиппуратов (Hip) и эскулина (Esc), образованием кислоты из сахарозы (Suc) и жидкой среды сорбитола (Sbl) (табл 2). Из ранее описанных кокков только виды *Facklamia* обладают способностью расти на жидкой среде, содержащей 6,5 % хлорида натрия.

**Таблица 2. Фенотипические характеристики *D. Pigrum*, *I. ruoffiae* и различных видов *Facklamia* при использовании стандартных биохимических тестов**

Виды	Фенотипическая характеристика				
	Аргинин	Гиппурат	Эскулин	Сахароза	Сорбитол
<i>D. pigrum</i>	–	–	+	–	–
<i>I. ruoffiae</i>	–	–	–	–	–
<i>F. hominis</i>	+	+	–	v <sup>a</sup>	–
<i>F. ignava</i>	–	+	–	–	–
<i>F. soukeii</i>	–	+	–	+	+
<i>F. languida</i>	–	–	–	–	–
<i>F. tabacinasalis</i>	–	–	–	+	+

v<sup>a</sup>, результат непостоянен.

*Facklamia languida* sp. nov. – клетки овальной формы, расположены попарно, иногда встречаются в виде цепочки, являются факультативными анаэробами, каталазо- и оксидазо-негативные. Растут на 6,5 % NaCl при температуре не ниже 10 °C и не выше 45 °C, лучше всего при 37 °C. При суточной инкубации в присутствии воздуха и CO<sub>2</sub> образуют слабо выраженные серого цвета колонии со слабой гемолитической активностью, пирролидонил ариламидазо- и лейцин аминокептидазо активные.

В ходе исследования [14] нетипичных грамположительных каталазоотрицательных, формирующих цепь кокков из образцов, выделенных от человека, авторы столкнулись с тремя *Facklamia* - подобными штаммами. Предварительные биохимические исследования подтвердили, что эти штаммы не соответствовали ни одной из в настоящее время признанных разновидностей этого рода, то есть, *F. hominis*, *F. ignava* и *F. sourekii*.

Авторы также сообщают о фенотипических характеристиках этих клинических изолятов и результатах их молекулярно-генетического и молекулярно-химического анализа. Основываясь на приведенных данных, мы полагаем, что неизвестный, формирующий цепь кокков представляет также разновидность рода *Facklamia*, а именно *F. languida* sp. nov.

На соевом агаре Trypticase, содержащем 5 % крови овец (TSA-SB) (Becton Dickinson Co., Cockeysville, Md.), после 24 ч инкубации в атмосфере с увеличенным содержанием CO<sub>2</sub>, штаммы *F. languida* формировали колонии светло-серые или бесцветные, со слабым проявлением гемолиза в клетках крови овец. После 48 ч инкубации колонии оказались окруженными небольшой зоной альфа-гемолиза. Описанные три штамма были яйцевидными, в препаратах обычно группировались по парам, наблюдались также отдельные клетки и короткие цепи. Грамположительные, неспоровые, каталазо- и оксидазо-отрицательные, факультативно анаэробные. Штаммы росли на 6,5 % NaCl при 37 °C, рост останавливался при 10 или 45 °C, проявляли пирролидонил ариламидазную и лейцин аминокептидазную активность в обычных пробах (13).

Таблица 3. Сравнительная характеристика представителей рода *Facklamia*

Тест	<i>F. sourekii</i>	<i>F. ignava</i>	<i>F. hominis</i>	<i>F. languida</i> sp. nov.
Образование кислоты из:				
d-Arabitol	+	–	–	–
Maltose	+	–	–	–
Mannitol	+	–	–	–
Sorbitol	+	–	–	–
Sucrose	+	–	–	–
Trehalose	+	B	–	+
образование:				
Arginine dihydrolase	–	–	+	–
Alanine-phenylalanine-proline arylamidaae	–	+	+	–
α-Galactosidase	–	–	+	–
β- Galactosidase	–	–	+	–
Glycyl-tryptophan aryl-amidase	–	–	B	+
Гидролиз гиппурата	+	+	+	–

*F. ignava* – клетки грампозитивные, овальной формы, располагаются парами или в виде коротких це-

Все три штамма дали профиль 00020500000 с API при быстром ID32S отделении и соответствовали неопределенному профилю. Достоверными таксонами оказались *Gemella morbillorum* (четыре пробы против) и *Gemella haemolysans* (три пробы против). В случае использования серийных систем API, изоляты продуцировали кислоту из трехалозы, однако были не в состоянии произвести кислоту из D-арабитола, L-арабинозы, циклодекстрина, гликогена, лактозы, мальтозы, маннита, мелибиозы, мелцитозы, пуллулана, раффинозы, рибозы, сорбитола, сахарозы, тагатозы, метил-β-D-глюкопиранозиды. У них обнаружена активность щелочной фосфатазы, пироглютамик кислоты ариломидазы, лейцин ариламидазы и глицил-триптофан ариламидазы. Не установлена способность продуцировать аргинина дигидролазу, кислотную фосфатазу, аланинового пролина фенилаланина арилимидазу, β-галактуронидазу, галактозидазу, β-галактозидазу, β-глюкуро-нидазу, α-глюкозидазу, β-глюкозидазу, липазу C14, α-фукозидазу, α-маннозидазу, β-маннозидазу, афацетилглюкозаминидазу, цистеин ариламидазу, хитотрипсин, трипсин или уреазу. Деятельность эстеразы C4 и эстерлипазы C8, оказалась переменной, штаммы не гидролизировали хиппураты, в реакции Voges-Proskauer были отрицательны.

По результатам секвенирования 16S rRNA, стало очевидно, что пока еще неопределенный микроорганизм являет собой новую подлинию в пределах рода *Facklamia*, весьма близок и все же отличающийся от *F. hominis* 16S rRNA, расхождение последовательностей (3 % и более) между неизвестной бактерией и *F. hominis*, *F. ignava* и *F. sourekii* определенно демонстрирует, что бактерия представляет до настоящего времени неизвестную разновидность *Facklamia*.

На сегодняшний день уже существуют тесты, позволяющие отдифференцировать различных представителей рода *Facklamia* (табл 3).

почек. Клетки не образуют пигмента, неподвижны, не проявляют гемолитических свойств. Факультативный анаэроб и каталазо-негативный. Растет в 5

% растворе NaCl. Слабо продуцирует кислоту из глюкозы.

Хотя первое описание рода *Facklamia* относится к 1997 году, идентификация видов этих бактерий и на сегодняшний день весьма проблематична из-за отсутствия базы данных, а также быстрых и надежных тест-систем для их выявления.

Проведенные клинические исследования показали, что средой обитания бактерий рода *Facklamia* являются мочеполовые пути женщин, чаще всего вагинальный секрет. Однако описаны случаи выделения аналогичных по свойствам бактерий из абсцессов, костей, cerebro-спинальной жидкости, желчного пузыря и др.

При помощи фенотипических и молекулярно-таксономических методов у молодой особи южного морского слона был описан необычный грампозитивный, каталазонегативный, факультативно анаэробный, имеющий форму кокка микроорганизм [21]. Сравнительное секвенирование 16S rRNA показало, что неизвестный кокк представляет новую подлинию, входящую в состав рода *Facklamia* (*Facklamis hominis*, *Facklamia languida*, *Facklamia ignava*, *Facklamia sourekii* и *Facklamia tabacinasalis*) при помощи биохимических проб и электрофоретического анализа клеточных белков. Основываясь на филогенетических и фенотипических данных, предполагается, что неизвестный микроорганизм вполне может быть классифицирован как *Facklamia miroungae* sp. nov. Типичным штаммом *F. miroungae* является CCUG 42728T (=CIP 106764T). *F. miroungae* – первый член рода *Facklamia*, выделенный от животного, а не от человека.

*Helcococcus kunzii* (*H. kunzii*) – каталазонегативные факультативные анаэробы с некоторыми одинаковыми фенотипическими характеристиками, присутствиями аэрококкам. Эти бактерии пирролидонил-ариламидазо позитивные, лейцин-аминопептидазо негативные и продуцируют кислоту, а не газ, из глюкозы. Отличается род *Helcococcus* тем, что представители его демонстрируют переменный рост в присутствии 6,5 % NaCl, обладая при этом липофильным эффектом. При росте на лошадином кровяном агаре образуют серые колонии; при окраске по Граму располагаются парно, в виде мелких цепочек.

Грамположительный коккоподобный микроорганизм *Helcococcus kunzii* выделен в смешанных культурах из клинических микробиологических образцов Massachusetts General Hospital [22, 4]. Описано выделение *H. kunzii* как единственного изолята из культуры инфицированной кисты сальной железы [23], у двух пациентов с первичной бактериемией и эмпиемой плевры [24], у пациента с инфекционным эндокардитом с вирусом иммунодефицита [25], из абсцесса стопы [26]. Эти бактерии являются каталазонегативными, факультативными анаэробами с некоторым фенотипическим сходством с *Aerococcus viridans* [27]. *Helcococci* и *Aerococci* являются пирролидонил ариламидазы (PYR) позитивными и лейцин аминопептидазы (LAP) негативными и образуют из глюкозы кислоту, а не газ. *Helcococci* отличаются от *Aerococci* непостоянным ростом на 6,5 % NaCl и липофильной природой.

Изоляты растут на кровяном агаре лошади в виде мелких серых колоний, при окрашивании по Граму в мазке можно наблюдать пары, небольшие цепочки и неправильные группы грампозитивных кокков. Данные 16S rRNA секвенирования показывают, что *Helcococci* отдаленные родственники прежде описываемым грампозитивным коккам [28]. Несмотря на то, что в этом исследовании использовался кровяной агар лошади, *H. kunzii* с тем же успехом росли на триптическом соевом агаре с кровью овцы. Штаммы *H. kunzii* выявили хороший рост на этой селективной среде с видимыми колониями уже после 12 ч инкубации при 37 °C.

В ранее опубликованной информации предполагается наличие связи между колонизацией кожи *H. kunzii* и наличием диабета. Caliendo и соавторы выяснили, что диабет выступал причиной развития *H. kunzii* в культуре у 4 из 10 пациентов, у которых были взяты клинические образцы. Трое из этих пациентов наряду с пятью из шести недиабетических пациентов имели инфицированные раны нижних конечностей. Эти данные привели исследователя к гипотезе, что возможно *H. kunzii* раньше являлся неопределенным компонентом полимикробной флоры диабетической язвы стопы и что диабетики предрасположены к колонизации этими бактериями. У десяти процентов (12 из 120) пациентов с заболеваниями стоп *Helcococci* были обнаружены только в культурах, взятых с соскоба стоп. Четыре из этих 12 изолятов (33 %) были выделены у пациентов, страдающих диабетом. Только 6 из 120 пациентов (5 %) имели раны на стопах во время проведения исследования, пять из этих пациентов были диабетиками; только одна рана (у диабетиков) содержала штамм *Helcococcus*, который тоже был выделен с нетронутой кожи стоп. *Helcococci* не были найдены на неповрежденной коже других пяти пациентов с ранами стоп. К тому же – *Helcococcus*-подобные организмы были выделены у пациентов диабетической группы. В культуре образцов только в одном из 50 (2 %) пациентов контрольной группы были обнаружены *Helcococci*. Только этот пациент имел культуру с наличием роста в образцах, взятых со ступни и кисти руки.

По данным [28] все штаммы *Helcococcus* имели API 20 Strep профиль 4100413, обозначенный «неопределенный *A. viridans* (doubtful *A. viridans*)», что было типичным для описанных ранее штаммов *Helcococcus* [28]. Идентификация «неопределенный *A. viridans* (doubtful *A. viridans*)» происходила из-за того, что *Helcococci* проявляют позитивную PYR и негативную LAP реакции, совокупность параметров, типичных для *A. viridans*. *Helcococci* на API 20 Strep проявили позитивную реакцию на гидролиз эскулина, окисление лактозы, трегалозы, крахмала и гликогена. Отрицательные реакции наблюдались в пробах на выделение ацетона, гидролиз хиппуратов, α-галактозидазы, β-глюкуронидазы (β-glucuronidase), β-галактозидаза, щелочной фосфатазы и аргинин дегидролазы, окисления рибозы, L-рабинозы, маннитола, сорбитола, инулина и раффинозы. Штаммы, отне-

сенные к *Helcococcus*-подобным, окисляли больше углеводов, чем типичные штаммы *H. kunzii*; наблюдалось окисление инулина и раффинозы, слабая позитивная реакция с маннитолом (API 20 Strep профиль, 4100573). Если для характеристики использовалась стандартная питательная среда вместо имеющегося прибора Ио изоляты *Helcococci* давали позитивную реакцию на PYR и гидролиз эскулина, широко варьировали результаты на рост в присутствии 6,5% NaCl, отсутствие фермента LAP, восприимчивость к ванкомицину и стимуляцию роста при помощи Tween 80.

Медленнорастущие колонии *Helcococci* могут подавляться более сильной нормальной флорой патогенных микроорганизмов в случаях, когда клинические образцы культивируются на неселективной среде. Сложность в выделении *Helcococci*, особенно когда они находятся вместе с другими микроорганизмами, обуславливает их запоздалое распознавание в культуре клинических образцов.

Наблюдения подтверждают [29], что *Helcococci* преимущественно вегетируют на нижних конечностях, а возможно они лучше культивируются при выделении из этих мест. Более высокий уровень изолирования *Helcococci* из культур образцов стопы может быть отражением и большим массивом бактерий, предпочитающих влажные участки кожи [30]. По данным [29] *Helcococci* не так распространены (2% в контрольной группе, 10% в группе пациентов с заболеваниями стоп), как другие колонизаторы кожи, например, стафилококки. Пациенты с заболеваниями стоп легче, чем другие контингенты, подвергаются обсеменению стоп *Helcococci*. Так как многие пациенты с заболеваниями стоп, диабетики и не страдающие диабетом, имеют проблемы с сосудами, вполне возможно, что сосудистая недостаточность также может быть связана с колонизацией *H. kunzii*. *Helcococci* могут представлять собой прежде нераспознаваемого сочлена микробиоценозов инфицированных язв нижних конечностей, также как и колонизаторов кожи. Выделение *Helcococci* наряду с другими культурами из образцов, взятых из раны [22] вызывает некоторое сомнение в патогенной роли этих организмов. *Helcococci* в образцах ран могут присутствовать, видимо и как обычные сапрофитные колонизаторы. Тем не менее Peel и соавт. [23], выделяли чистую культуру *H. kunzii* из инфицированной кисты сальной железы. Таким образом, эта бактерия видимо может быть способной вызвать гнойно-воспалительные заболевания. Рост осведомленности об этом микроорганизме без сомнения приведет к более ясному пониманию его роли в инфекционном процессе.

Collins M.D. [9] выделил новый неописанный до этого сообщения микроорганизм – грамположительный, каталазоотрицательный, имеющий форму кокка – из раны человека. На основе его клеточной морфологии и результатов биохимического тестирования неизвестный организм экспериментально идентифицирован как член класса *Helcococcus*, при этом он не соответствует ни одному из известных видов этого рода. Сравнительные генные исследования, основанные на секвенировании 16S rRNA генов, подтвердили, что эта бактерия филогенетически связана с классом *Helcococcus*, а также с неидентифицированными пока микроорганизмами, которые формируют доселе неизвестную

подлинию внутри самого класса. На основе биохимических, молекулярно-химических и молекулярно-физиологических исследований, предполагается, что неизвестный организм, который извлечен из раны человека, следует классифицировать как новый вид класса *Helcococcus*, а именно *Helcococcus sueciensis sp.nov.* Тип штамма – CCUG 47334T (CIP 108183T).

Ещё ранее [31] *Helcococcus* связывали с микробным заражением язв и инфекцией кожи, а также мягких тканей. Авторы описывают случай протезной инфекции сустава, спровоцированной неописанными до настоящего времени микробами, которые генетически ближе всего соотносились с *Helcococcus*.

Для определения родовой принадлежности микроорганизма ученые пользуются традиционными методами, с помощью которых изучаются морфологические особенности микроорганизма, характер его роста на различных питательных средах, ферментная активность, метаболизм, а также более современными методами идентификации (секвенирование) [32].

Английскими микробиологами был впервые изолирован от животного новый микроорганизм из рода *Facklamia* – *F. miroungae* [33]. Последний оказался причиной хориоамнионита и послеродовой бактериемии [33].

Проведенные в Центре по контролю и предупреждению болезней (USA) исследования чувствительности представителей вида *Facklamia* к антимикробным воздействиям показали их высокую вариабильность [34].

Для дифференцировки бактерий *Helcococcus kunzii*, *Facklamia hominis* и *Globicatella sanguinis* [35] использовали определенные активности IgA1-протеазы. Биохимические тесты, электрофоретический анализ также позволяют выделить в видах *Facklamia* и *Globicatella* целый ряд представителей (подвидов). На основании филогенетических и фенотипических исследований грамположительных каталазоотрицательных кокков, выделенных из крови человека, микробиологи Великобритании предложили классифицировать неизвестную бактерию как *Dolosicoccus paucivorans* [10].

На протяжении 1996-1999 годов появились все новые представители рода *Facklamia*: *Facklamia tabacinensis* (1999), *Facklamia languida*, *Facklamia ignava* (1998), *Facklamia hominis* (1997).

Эпидемиология и клиническое значение микроорганизмов рода *Globicatella* до сегодняшнего дня остается неизвестным. Авторы описывают два случая бактериемии – у женщины 80 лет с диабетом и внутрибольничным сепсисом, и женщины 92 лет с пиелонефритом, осложненным сепсисом, у которых в ходе исследования были изолированы микроорганизмы рода *Globicatella* [36].

*Globicatella sanguinis* была изолирована от овец с эмпиемой, маститом и менингоэнцефалитом [36, 25]. Одним из диагностических признаков этого микроорганизма является выработка сульфидов водорода [37].

Фенотипические и филогенетические исследования позволили определить до недавнего времени неописанный грампозитивный, каталазонегативный, формирующий цепи кокк, выделенный из человеческой крови. Исследования, проведенные методом сравнительного 16S rRNA секвенирования, служат доказательством того, что неизвестный микроорганизм формирует новую филогенетическую ветвь, близкую и вместе с тем существенно отличающуюся от *Facklamia* и *Globicatella*. Неизвестная бактерия без труда дифференцируется при помощи биохимических тестов и электрофоретического анализа клеточных белков от известных в настоящее время видов *Facklamia* и *Globicatella sanguinis*. На основе очевидности результатов филогенетических и фенотипических исследований предложено неизвестную бактерию классифицировать как: *Dolosicoccus paucivorans* gen. nov., sp. nov. Типичный штамм *Dolosicoccus paucivorans* – CCUG 39307T [10].

Таким образом, описанная группа микроорганизмов до сегодняшнего дня остается еще малоизученной. Не разработаны основательно вопросы таксономии, классификации, эпидемиологии этих микроорганизмов, роль их в патогенезе целого ряда заболеваний человека и животных остается нераскрытой. Не определены пока морфологические, культуральные, физиологические, биохимические и генетические критерии идентификации представителей родов *Aerococcus*, *Globicatella*, *Helcococcus* и *Facklamia*.

#### Список литературы

1. Abiotrophia elegans sp. nov., a possible pathogen in patients with culture-negative endocarditis / Roggenkamp M.A., Abele-Horn K.H., Trebesius., Tretter U. [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 1998. – Vol. 36. – P. 100 – 104.
2. Aguirre M. Phylogenetic analysis of some Aerococcus-like organisms from urinary tract infections: description of Aerococcus urinae sp. nov. / Aguirre M., Collins M.D // J. Gen. Microbiol. – 1992. – Vol. 138. – P. 401 – 405.
3. Phenotypic and phylogenetic characterization of some Gemella-like organisms from human infections: description of Dolosigranulumpigrum gen. nov., sp. nov. / Aguirre M., Morrison D., Cookson B.D. [et al.] // J. Appl. Bacteriol. – 1993. – Vol. 75. – P.608 – 612.
4. Phylogenetic analysis of some Aerococcus-like organisms from clinical sources: description of Helcococcus kunzii gen. nov., sp. nov. / Collins M.D., Facklam R.R., Rodrigues U.M. [et al.] // Int. J. Syst. Bacteriol. – 1993. – Vol. 43. – P. 425 – 429.
5. Facklamia ignava sp. nov., isolated from human clinical specimens. / Collins M.D., Lawson P.A., Monasterio R. [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 1998. – Vol.36. – P. 2146 – 2148.
6. Gemella bergeriaesp. nov., isolated from human clinical specimens / Collins M.D., Hutson R.A., Falsen E. [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 1998. – Vol. 36. – P. 1290 – 1293.
7. Description of Gemella sanguinis sp. nov., isolated from human clinical specimens / Collins M.D., Hutson R.A., Falsen E. [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 1998. – Vol. 36. – P.3090 – 3093.
8. Ignavigranum moffiae sp. nov., isolated from human clinical specimens. / Collins M.D., Lawson P.A., Monasterio R., Falsen E., Sjoden B., Facklam R.R. [et al.] // Int. J. Syst. Bacteriol. – 1998. – Vol. 36. – P.2146 – 2148.
9. Globicatella sanguis gen. nov., sp. nov., a new gram-positive catalase-negative bacterium from human sources / Collins M.D., Aguirre M., Facklam R.R. [et al.] // J. Appl. Bacteriol. – 1992. – Vol. 73. – P.422 – 437.
10. Phylogenetic analysis of some ylerococws-like organisms from clinical sources: description of Helcococcus kunzii gen. nov., sp. nov. / Collins M.D., Facklam R.R., Rodrigues U.M. [et al.] // Int. J. Syst. Bacteriol. – 1993. – Vol. 43. – P. 425 – 429.
11. Collins M.D. Phenotypic and phylogenetic characterization of some Glo-bicatella-like organisms from human sources: description of Facklamia hominis gen. nov., sp. nov. / M.D. Collins // Int. J. Syst. Bacteriol. – 1997. – Vol. 47. – P.880 – 882.
12. Черняев С. А. Гетерогенность популяции представителей рода Аерококкус и ее роль в разработке новых пробиотиков и контроле их аутентичности: дис. канд. мед наук: 03.00.07 / Черняев Сергій Анатольевич. – Х., 2002. – 143 с.
13. Гетерогенність популяції Аерококкус viridans / Г.М. Кременчуцький, С.І Вальчук, А. К. Толстанов [та ін.] // Інфекційні хвороби. – 2004. – № 1. – С. 50 – 54.
14. Facklamia languida sp. nov., isolated from human clinical specimens / Lawson P.A., Collins M.D., Falsen E. [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 1999.– Vol. 37.– P. 161 – 1164.
15. Phenotypic and phylogenetic characterization of some Globicatella -like organisms from human sources: description of Facklamia hominis gen. nov., sp. nov. / Collins M.D., Falsen E., Lemozy J. [et al.] // Int. J. Syst. Bacteriol. – 1997. – Vol. 47, №3. – P. 880 – 882.
16. Facklamia languida sp. nov., isolated from human clinical specimens / Lawson P.A., Collins M.D., Falsen E. [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 1999. – Vol.37. – P. 161-164.
17. Facklamia sourekii sp. nov., isolated from human sources. / Collins M.D., Hutson R.A., Falsen E. [et al.] // Int. J. Syst. Bacteriol. – 1999. – Vol. 49, №2. – P.635 – 638.
18. Facklamia tabacinasalis sp. nov., from powdered tobacco / Collins M.D., Hutson R.A., Falsen E. [et al.] // Int. J. Syst. Bacteriol. – 1999. – Vol. 49, № 3. – P. 1247 – 1250.
19. La Claire L.L. Comparison of three commercial rapid identification systems for the unusual gram-positive cocci Dolosigranulum pigrum, Ignavigranum ruoffiae, and Facklamia species / La

- Claire L.L., Facklam R.R. // J. Clin. Microbiol. – 2000. – Vol. 38, N 26. – P. 2037 – 2042.
20. Dolosicoccus paucivorans gen. nov., sp. nov., isolated from human blood / Collins M.D., Rodriguez Jovita M. [et al.] // Int. J. Syst. Bacteriol. – 1999. – Vol. 49, N° 4. – P. 1439 – 1442.
21. Heal J.L. Facklamia hominis causing chorioamnionitis and puerperal bacteraemia / Heal J.L. // J. Infect. – 2005. – Vol. 50, N°4. – P. 353 – 355.
22. Caliendo A.M. Helcococcus, a new genus of catalase-negative, gram-positive cocci isolated from clinical specimens / Caliendo A.M., Jordan CD., Ruolf K.L. // J. Clin. Microbiol. – 1995. – Vol. 33. – P. 1638 – 1639.
23. Helcococcus kunzii as sole isolate from an infected sebaceous cyst. / Peel M.M., Davis J.M., Griffin K.J. [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 1997. – Vol. 35. – P. 328 – 329.
24. Globicatella bacteraemia identified by 16S ribosomal RNA gene sequencing / Lau S.K., Woo P.C., Li N.K. [et al.] // J. Clin. Pathol. – 2006. – Vol. 59, № 3. – P. 303 – 307.
25. Elsinghorst T.A. First cases of animal diseases published since 2000. 5. Sheep. / T.A. Elsinghorst // Vet. Q. – 2003. – Vol. 25, № 4. – P. 165 – 169.
26. Globicatella sulfidifaciens sp. nov., isolated from purulent infections in domestic animals / Vandamme P., Hommez J., Snauwaert C. [et al.] // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. – 2001. – Vol. 51, № 5. – P. 1745 – 1749.
27. Facklam R., Elliott J.A. Identification, classification and clinical relevance of catalase-negative, gram-positive cocci, excluding the streptococci and enterococci. / Facklam R., Elliott J.A. // Clin. Microbiol. Rev. – 1995. – Vol. 8. – P. 479 – 495.
28. Facklamia ignava sp. nov., isolated from human clinical specimens / Collins M.D., Lawson P.A., Monasterio R. [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 1998. – Vol. 36, N 7. – P. 2146 – 2148.
29. Колонизация кожи Helcococcus kunzii / J. Haas, R J Scardina, J. Teruya [et al.] // Клиническая микробиология. – 1997. – ноябрь. – С. 2759 – 2761.
30. Skin and soft tissue. / M. Schaefer, G. Medoff, B. I. Einstein // Mechanisms of microbial disease. – 1993. – Vol. 26. – P. 748 – 759.
31. Prosthetic joint infection due to Helcococcus pyogenica / A. Panackal, Y. Houze, J. Prentice [et al.] // Journal of Clinical Microbiology. – Vol. 42, No 6. – P. 2872 – 2874.
32. Petti C. A. The role of 16S rRNA gene sequencing in identification of microorganisms misidentified by conventional methods / Petti C.A., Polage C.R., Schreckenberger P. // J. Clin. Microbiol. – 2005. – Vol. 43, № 12. – P. 6123 – 6125.
33. Jeotgalicoccus pinnipedialis sp. nov., from a southern elephant seal (Mirounga leonina) / Hoyles L., Collins M., Foster G. [et al.] // Int J Syst Evol Microbiol. – 2004. – No 54. – P. 745 – 748.
34. La Claire L. Antimicrobial susceptibilities and clinical sources of Facklamia species / La Claire L.,

- Facklam R. // Antimicrob. Agents Chemother. – 2000. – Vol. 44, N 28. – P.2130 – 2132.
35. Lomholt J.A. Immunoglobulin A1 protease activity in Gemella haemolysans / Lomholt J.A., Kilian M. // J. Clin. Microbiol. – 2000. – Vol. 38, №7. – P. 2760 – 2762.
36. Meningoencephalitis associated with Globicatella sanguinis infection in lambs / Vela A.I., Fernandez E., Las Heras A. [et al.] // J. Clin Microbiol. – 2000. – Vol. 38, № 11. – P. 4254 – 4255.
37. Facklamia languida nov. sp, выделенный из клинических образцов, взятых у человека / Paul A. Lawson, Matthew D. Collins, Enevold Falsen [et al.] // Journal Of Clinical Microbiology – 1999. – Vol. 37, № 4. – P. 1161 – 1164.

#### УДК 616-094

### ТАКСОНОМИЯ, ГЕТЕРОГЕННОСТЬ, ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ БАКТЕРИЙ РОДОВ *AEROCOCCUS*, *GLOBICATELLA*, *HELCOCOCCUS* И *FACKLAMIA* (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Вальчук С.И., Воропай А.Ю., Пилюгин С.В., Кучма И.Ю., Волянський А.Ю., Кременчуцкий Г.Н.

Проведен анализ литературных данных, касающихся таксономии микроорганизмов, относящихся к роду *Aerococcus*, *Globicatella*, *Helcococcus* и *Facklamia*. Описаны биологические свойства отдельных представителей этих родов, их роль в патологии человека и животных. Представлены морфологические, физиологические, биохимические и молекулярно-генетические критерии идентификации этих бактерий.

**Ключевые слова:** *Aerococcus*, *Globicatella*, *Helcococcus*, *Facklamia*, грампозитивные кокки, гетерогенность, секвенирование, филогенетические, фенотипические исследования, идентификация.

#### УДК 616-094

### ТАКСОНОМІЯ ГЕТЕРОГЕННІТЬ, ЕПІДЕМІОЛОГІЧНА І КЛІНІЧНА ЗНАЧИМІСТЬ БАКТЕРІЙ РОДІВ *AEROCOCCUS*, *GLOBICATELLA*, *HELCOCOCCUS* ТА *FACKLAMIA* (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Вальчук С.І., Воропай А.Ю., Пільюгін С.В., Кучма І.Ю.\*, Волянський А.Ю.\*, Кременчуцький Г.М.

Проведено аналіз літературних даних щодо таксономії мікроорганізмів роду *Aerococcus*, *Globicatella*, *Helcococcus* та *Facklamia*. Описано біологічні властивості окремих представників цих родів, їх роль у патології людини та тварин. Представлено морфологічні, фізіологічні,

біохімічні та молекулярно-генетичні критерії ідентифікації цих бактерій.

**Ключові слова:** *Aerococcus*, *Globicatella*, *Helcococcus*, *Facklamia*, грампозитивні коки, гетерогенність, секвенування, філогенетичні, фенотипові дослідження, ідентифікація.

**UDC 616-094**

**TAXONOMY, HETEROGENEITY, EPI-DEMOLOGICAL AND CLINICAL SIGNIFICANCE OF THE GENERA AEROCOCCUS, GLOBICATELLA, HELCOCOCCUS AND FACKLAMIA (REVIEW)**

**Valchuk SI, Voropay AY, Pilyugin S.V,  
Kuchma I.Y ., Volyanskaya A.Y.,  
Krementchutsry GN**

The analysis of published data on the taxonomy of microorganisms belonging to the genus *Aerococcus*, *Globicatella*, *Helcococcus* and *Facklamia*. We describe the biological properties of individual members of these genera, their role in the pathology of human and animals. We present the morphological, physiological, biochemical and molecular genetic criteria for the identification of these bacteria.

**Key words:** *Aerococcus*, *Globicatella*, *Helcococcus*, *Facklamia*, grampositive cocci, heterogeneity, sequencing, phylogenetic, phenotypic study and identification.