

Е.В. Тазалова

ЛИПОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ КАМПИЛОБАКТЕРИЙ

Дальневосточный государственный медицинский университет,
680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел.: 8-(4212)–32–63–93, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru, г. Хабаровск

Резюме

В работе представлены результаты изучения липолитической активности клинических штаммов кампилобактерий по ряду тестов. Положительная лецитиназная реакция была у $11,1 \pm 3,7\%$ клинических изолятов, а гидролиз твинов наблюдался у $63,8 \pm 5,7\%$ штаммов. Способность кампилобактерий к гидролизу твинов отличалась заметной вариабельностью с большим разнообразием спектров (8 разновидностей). Разнообразие твиназных спектров вкупе со стабильностью воспроизведения результатов у конкретных штаммов позволяет рассматривать их как возможные «метки» внутривидового биотипирования кампилобактерий. Причем это касается не только уже предложенных рядом авторов твина-40 и твина-60, но также справедливо в отношении твина-20 и твина-80.

Ключевые слова: кампилобактерии, возбудители ОКИ, липолитическая активность.

E.V. Tazalova

LIPOLYTIC ACTIVITY OF THE CAMPYLOBACTER CLINICAL ISOLATES

Far East State Medical University, Khabarovsk

Summary

This article presents the results of the study of lipolytic activity of Campylobacter clinical isolates in several tests. Lecithinase reaction was positive in $11,1 \pm 3,7\%$ of clinical isolates, and hydrolysis of the twins was observed in $63,8 \pm 5,7\%$ of the strains. The ability of Campylobacter to twin hydrolysis demonstrated noticeable variability with a large variety of spectra (8 varieties). Variety of spectra together with the stability of reproducing the results from each strain can be considered as a potential «marker» for the Campylobacter subspecies typing. Moreover, this applies not only to the proposed by several authors Twin-40 and Twin-60, but is also true for Twin-20 and Twin-80.

Key words: campylobacter, gastrointestinal pathogens, lipolytic activity.

До настоящего времени проблема острых кишечных инфекций (ОКИ) является одной из актуальных практически во всех странах мира ввиду широкой распространенности данной патологии, высоких уровней заболеваемости и, как следствие, значительного экономического ущерба, приносимого ОКИ. [6] Наряду с традиционными возбудителями данных инфекций (сальмонеллами, шигеллами), все большую роль в развитии этой патологии начинают играть и другие микроорганизмы. В частности, на долю кишечных заболеваний, вызываемых кампилобактериями, приходится (в зависимости от сезона и особенностей региона) от 2 до 38% всех случаев диарей [6]. Особенностью метаболических характеристик этих патогенов является полное отсутствие у них сахаролитических свойств. Поэтому и нутритивные метаболические процессы, и формирование спектра факторов патогенности идет в границах белкового и липидного обмена. Изучение этих свойств представляет интерес в том числе потому, что ряд метаболических тестов (стабильных у штамма, но вариабельных в популяциях) используется в некоторых схемах субвидового типирования кампилобактерий [3]. Целью данной работы являлось исследование липолитической активности клинических штаммов кампилобактерий в отношении ряда субстратов.

Материалы и методы

Все культуры данных микроорганизмов, использованные в работе, имели клиническое происхождение. Они были выделены от больных детей, поступивших в инфекционный стационар с симптоматикой острых диарейных заболеваний. Всего в работе использовано 72 культуры кампилобактерий. Установление родовой и видовой принадлежности возбудителей проводилось в соответствии с общепринятыми схемами диагностики [2, 4]. Все штаммы кампилобактерий относились к виду *Campylobacter jejuni*.

Липолитическая активность культур кампилобактерий оценивалась в тестах на продукцию лецитиназы и гидролиз эфиров жирных кислот (твинов). Твиназная активность с анализом спектра, характерного для конкретного штамма, исследовалась согласно методике Л.С. Бузолевой с соавт. [1] с предложенными нами изменениями, касающимися биологических потребностей данных возбудителей. В качестве субстратов в этой серии экспериментов использовались следующие препараты: твин-20 (эфир лауриновой кислоты), твин-40 (эфир пальмитиновой кислоты), твин-60 (эфир стеариновой кислоты), твин-80 (эфир олеиновой кислоты). В качестве среды для проведения этого исследования применяли триптозный агар с добавлением к нему гидратированного CaCl_2 с конечным

содержанием 0,01% и твин-субстратов в следующих концентрациях: твин-20 – 1%, твин-40, -60 и -80 – по 0,25%. На приготовленную по этой прописи среду бляшками засеивали изучаемые культуры кампилобактеров, и инкубировали посевы в микроаэрофильных условиях при 37°C в течение 48 ч. Наличие у бактерий липолитической активности (положительный результат) приводило к образованию в среде вокруг колоний данного микроба осажженных кристаллов кальциевого мыла, что визуально определялось как мутный ореол, окружающий бляшечный посев такого штамма. В качестве плюс-контролей при проведении данных исследований использовались заведомо положительные штаммы энтеробактерий. Тесты на гидролиз твина-40 и твина-60 используются в схеме внутривидового типирования кампилобактерий [3].

Способность штаммов изучаемых возбудителей к продукции лецитиназы исследовали согласно рекомендациям [5] с некоторыми нашими модификациями, учитывающими биологические особенности кампилобактеров. На поверхность свежеприготовленного трипозного агара с добавлением яичного желтка бляшками засеивали культуры микроорганизма. Все посевы инкубировали микроаэрофильно при 37°C в течение 48 ч. В случае наличия у штамма способности к продукции лецитиназы, вокруг выросших колоний появлялась радужная зона в виде «венчика» вследствие расщепления лецитина. В качестве положительного контроля применяли лецитиназоактивный штамм *S. aureus*.

Результаты и обсуждение

При исследовании лецитиназной активности штаммов кампилобактерий у 8 из них ($11,1 \pm 3,7\%$) обнаружена способность продуцировать этот фермент. Поскольку лецитиназа бактерий рассматривается как фермент патогенности, эти данные определенным образом характеризуют вирулентный потенциал выделенных возбудителей.

Липолитическая активность кампилобактерий была также исследована на комплексе твин-субстратов. Проанализирована как твиназная активность возбудителей в целом, так и спектры данных метаболических реакций у конкретных штаммов. Было выявлено, что ферментативная активность в отношении этих липоидных веществ является распространенным явлением в популяции возбудителей кампилобактериозных инфекций. У 46 штаммов данных микроорганизмов ($63,8 \pm 5,7\%$) обнаруживалась способность метаболизировать используемые в опыте субстраты. При этом почти в половине случаев спектр липолитической активности бактерий ограничивался только одним из твинов (у $30,5 \pm 5,4\%$ штаммов). Утилизация одновременно двух предлагаемых субстратов также выявлялась у $30,5 \pm 5,4\%$ изучаемых культур, а положительная липазная реакция в отношении трех твинов в различных сочетаниях наблюдалась у $2,8 \pm 1,9\%$ штаммов. Можно отметить, что чаще всего липолитическая активность кампилобактерий проявлялась в отношении эфиров насыщенных жирных кислот (твин-40 и твин-60). В целом, из всех липолитически активных штаммов кампилобактеров способность к ферментации эфиров

насыщенных жирных кислот обнаруживалась, соответственно: в отношении твина-40 – у $86,6 \pm 5,0\%$ культур, а в отношении твина-60 – у $28,9 \pm 6,7\%$ культур. Гораздо реже в популяции данных возбудителей выявлялись штаммы, обладающие липолитической активностью в отношении эфиров ненасыщенных жирных кислот (твин-20 и твин-80). В целом, на средах с добавлением первого субстрата (твин-20) положительная липазная реакция наблюдалась только у $17,8 \pm 5,6\%$ липолитически активных культур кампилобактерий. Метаболизировать твин-80 были способны $26,7 \pm 6,5\%$ штаммов из указанной группы возбудителей. Полная характеристика спектров липолитической активности кампилобактерий в отношении твинов представлена в таблице.

Спектр липолитической активности местных штаммов кампилобактерий

Липолитическая активность	Число штаммов с положительной реакцией в данном тесте	
	абс.	в% $\pm m$
В отношении 1-го субстрата: - твин-20 - твин-40 - твин-60 - твин-80	22, из них: 1 16 0 5	30,5 $\pm$ 5,4, из них: 1,4 $\pm$ 1,3 22,2 $\pm$ 4,9 - 6,9 $\pm$ 2,9
В отношении 2-х субстратов: - твин-20 + твин-40 - твин-20 + твин-60 - твин-20 + твин-80 - твин-40 + твин-60 - твин-40 + твин-80 - твин-60 + твин-80	22, из них: 6 0 0 11 5 0	30,5 $\pm$ 5,4, из них: 8,3 $\pm$ 3,2 - - 15,3 $\pm$ 4,2 6,9 $\pm$ 2,9 -
В отношении 3-х субстратов: - твин-20 + твин-40 + твин-60 - твин-20 + твин-60 + твин-80 - твин-40 + твин-60 + твин-80	2, из них: 0 1 1	2,8 $\pm$ 1,9, из них: - 1,4 $\pm$ 1,3 1,4 $\pm$ 1,3
В отношении 4-х субстратов	0	0
Итого	46	63,8 $\pm$ 5,7

Все указанные метаболические реакции штаммов возбудителей характеризовались стабильностью и стандартностью воспроизведения.

Выводы

1. Липолитическая активность является важной биологической характеристикой клинических штаммов кампилобактерий. Положительный лецитиназный фактор патогенности был у $11,1 \pm 3,7\%$ клинических изолятов, а гидролиз твинов наблюдался у $63,8 \pm 5,7\%$ штаммов.

2. При общей выраженности твиназной активности культур кампилобактеров имеется заметная вариабельность данного признака в популяции микроорганизмов с большим разнообразием спектров положительных липазных реакций.

3. Разнообразие твиназных спектров в сочетании со стабильностью воспроизведения результатов у конкретных штаммов позволяет рассматривать их как возможные «метки» для внутривидового биотипирования кампилобактерий. Причем это касается как твина-40 и твина-60, так и твинов-20 и -80.

Литература

1. Бузолева Л.С., Пручкина З.В. Метод определения липазы бактерий кишечной группы // Лаб. дело. – 1990. – № 12. – С. 74–75.
2. Микробиологическая диагностика кампилобактериоза: метод. рек. – М.: Фед. центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008. – 25 с.
3. Минаева Н.З. Внутривидовое типирование кампилобактеров как элемент эпидемиологического надзора за кампилобактериозом: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 1992.
4. Черкасский Б.Л., Воротынцева Н.В., Юшук Н.Д. и др. Инструкция по клинической и лабораторной диагностике кампилобактериоза. – М., 1989.
5. Чистович Г.Н. Стафилококковая лецитиназа // ЖМЭИ. – 1950. – № 10. – С. 54–57.
6. Newell D.G., Kettley J.M., Feldman R.A. Campylobacters, Helicobacters and Related Organisms. – N. Y.: Plenum Press, 1997. – P. 751.

Координаты для связи с автором: Тазалова Елена Вячеславовна – доцент кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии ДВГМУ, тел.: +7-924-213-24-71.



УДК 611.813.1-013-018:599.323.4-092.9

Б.Я. Рыжавский, Е.М. Литвинцева

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НЕОКОРТЕКСА И ГИППОКАМПА КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО УВЕЛИЧЕННОЙ И УМЕНЬШЕННОЙ МАССОЙ МОЗГА

*Дальневосточный государственный медицинский университет, 680000,
ул. Муравьева-Амурского, 35, тел.: 8-(4212)-30-53-11, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru, г. Хабаровск*

Резюме

Проведено сравнение мозга двух групп 40-дневных крыс, у которых экспериментально моделировано: 1) увеличение (1 группа) и 2) уменьшение абсолютной массы головного мозга (2 группа). Оно показало, что кора мозга животных сравниваемых групп различалась по объему, числу нейронов, их размерным и гистохимическим характеристикам. В мозге, характеризовавшемся большей массой, объем неокортекса, а также количество корковых нейронов, активность NADH-дегидрогеназы и NADPH-дегидрогеназы в нейронах неокортекса и гиппокампа превосходили таковые в мозге крыс 2 группы. На основании этих данных делается заключение, что факторы, оказывающие влияние на темпы роста мозга, его массу, воздействуют и на его микроструктуры, в частности, на корковые нейроны различных зон и слоев коры. Степень и характер этого влияния на нейроны разных локализаций не являются полностью идентичными. Поведение крыс сравниваемых групп также имело достоверные различия.

Ключевые слова: масса мозга, кора, нейроны, морфометрия, гистохимия.

B. Ya. Ryzhavskii, E.M. Litvintseva

MORPHOMETRIC AND HISTOCHEMIC PECULIARITIES OF NEOCORTEX AND HIPPOCAMP OF RATS WITH EXPERIMENTALLY INCREASED AND DECREASED BRAIN MASS

Far Eastern state Medical University

Summary

We have compared the brain of two groups of 40-days old rats. Increase and decrease of absolute brain mass were received in experimental models. It was revealed, that brain cortex of animals in both groups differed in volume, neurons number, their size and histochemical characteristics. In brain characterized by a larger mass, neocortex volume, quantity of cortex neurons, NADH- and NADPH-dehydrogenase in neocortex neurons and hippocampus exceeded those in rats brain in the second group. Based on these data we have concluded that factors influencing brain growth rate, its mass, have an impact on its microstructure, that is, cortex neurons of different zones and layers of cortex. Degree and character of such effect on neurons of different localization are not completely identified. Behavior of rats in both groups was reliably different.

Key words: brain mass, cortex, neurons, morphometry, histochemistry.