

Штаммовые отличия *Yersinia pestis* по чувствительности к бактерицидному действию полимиксина В

Титарева Г.М.,¹ Фурсова Н.К.,¹ Балахонов С.В.,² Шайхутдинова Р.З.,¹ Анисимов А.П.¹

¹ Государственный научный центр прикладной микробиологии, Оболensk; ² Научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока

Для успешной колонизации и последующего развития инфекционного процесса патоген должен противостоять системе врожденного иммунитета хозяина. Продукция антимикробных катионных пептидов является одним из важнейших элементов этой системы. Известно, что различные подвиды возбудителя чумы отличаются по чувствительности к полимиксину В (Мартиневский, Аракелян, 1981).

Целью настоящего исследования было сравнение уровня чувствительности к полимиксину В штаммов чумного микроба с известной структурой липоолигосахаридов (Knirel *et al.*, 2003), а также изучение взаимодействия данного катионного пептида с живыми клетками *Yersinia pestis*, выращенными в различных условиях, и с выделенными из них препаратами ЛОС.

Культуры чумного микроба выращивали на чашках со средой Хоттингера или в L-бульоне при температуре 25 °С или 37 °С. Препараты ЛОС выделяли методом С. Galanos *et al.* (1969). Устойчивость к полимиксину определяли методом серийных разведений в L-бульоне в 96-луночных планшетах Cellstar. Наличие роста фиксировали по увеличению оптической плотности (OD = 595 нм) на приборе Multiskan (Lab-systems). Определение уровня сорбции полимиксина В живыми клетками и препаратами ЛОС, а также изучение влияния полимиксина В на проницаемость клеток для лизоцима проводили, как описано в работе М. Skurnik *et al.* (1999).

По уровню чувствительности к полимиксину В изученные штаммы *Y. pestis* подразделяются на две группы: устойчивые – минимальная подавляющая концентрация (МПК) полимиксина В > 200 мкг/мл – (KM260(11), 358/12, Tjiwidej, KM218, KIMD1, Colombo, K1(780), EV НИИЭГ) и чувствительные – МПК полимиксина В 6-50 мкг/мл – (EV11M, 1146, 17/18, 261ЖВР, 262ЖВР). Показано, что при выращивании клеток при температуре 25 °С устойчивость выше, чем при выращивании при температуре 37 °С. Например, для штамма *Y. pestis* KIMD1 МПК полимиксина В в этих условиях составляла 12500 мкг/мл и 390 мкг/мл соответственно. Интересно, что сорбция полимиксина В живыми клетками отмечена как для чувствительных, так и для устойчивых штаммов. Однако количество сорбированного антибиотика было несколько выше для клеток чувствительных штаммов *Y. pestis* (1,8 мкг/10³ к.о.е. при температуре 25 °С и 1,98 мкг/10³ – при 37 °С), чем для устойчивых (1,6 мкг/10³ к.о.е. при температуре 25 °С и 1,8 мкг/10³ – при 37 °С). Аналогичная картина наблюдалась при изучении влияния полимиксина В на проницаемость клеток чумного микроба для лизоцима. За 1 ч инкубирования в растворе полимиксина В с лизоцимом при

температуре 37 °С клетки чувствительных штаммов *Y. pestis* лизировались на 50 %, а устойчивых – на 5 %. Сорбция полимиксина В очищенными ЛОС в большей степени характерна для препаратов, выделенных из чувствительных штаммов и выращенных при температуре 25 °С.

Принято считать, что устойчивость к полимиксину В определяется присоединением арабинозы к фосфатным остаткам в составе липида А. Однако во всех изученных штаммах независимо от их чувствительности к полимиксину В преобладали популяции молекул ЛОС, к обоим фосфатным остаткам которых были присоединены арабинозные остатки. Содержание арабинозы находилось в обратной корреляции со способностью препаратов ЛОС, но не клеток, из которых они были выделены, связывать полимиксин В. Во всех устойчивых к полимиксину В штаммах выявлены популяции молекул ЛОС, в составе внутреннего отдела кора которых присутствовали четыре остатка гептозы. В чувствительных штаммах такие популяции молекул ЛОС отсутствовали.

Скрининг представительного набора природных изолятов *Y. pestis*, относящихся ко всем подвидам возбудителя чумы, подтвердил данные И.Л. Мартиневского и И.С. Аракеяна (1981) о том, что чувствительность к бактерицидному действию полимиксина В характерна для представителей подвидов *caucasica* и *hissarica*. Впервые показано, что свежие изоляты подвида *altaica* также чувствительны к действию полимиксина В, но утрачивают эту способность в процессе хранения. Возможно, что избирательная вирулентность штаммов *Y. pestis* подвидов *altaica*, *caucasica* и *hissarica* в значительной степени определяется их чувствительностью к антимикробным катионным пептидам, являющимся составным элементом системы врожденного иммунитета.

Работа выполнена в рамках партнерского проекта Международного научно-технического центра (ISTC) #1197р, поддержанного программой Cooperative Threat Reduction Департамента Обороны США.

Структурные особенности плазматической мембраны лимфоцитов при хроническом вирусном гепатите С

Токарева Н.В., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В.,
Наследникова И.О., Жукова О.Б., Антошина М.А.,
Белоконь В.В., Чернецкая Н.Н.
Сиб ГМУ, Томск

Хронический вирусный гепатит С умеренной степени активности является в настоящее время чрезвычайно актуальной проблемой в связи с его широкой распространенностью, высокой степенью хронизации и развитием тяжелых осложнений в виде цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы. При формировании хронической инфекции вирусы для обеспечения собственного выживания используют пути, позволяющие им избежать действия защитных иммунных реакций организма. Важную роль в обеспечении иммунологической реактивности организма играет структурное состояние иммунокомпетентных клеток.

В связи с этим, целью исследования являлось изучение структурных свойств плазматической мембраны лимфоцитов у больных хроническим вирусным гепатитом С. Нами было обследовано 16 человек с вирусным гепатитом С умеренной степени активности. Диагноз основывался на выявлении клинико-инструментальных симптомов, клинико-лабораторных синдромов, серологических данных, результатах ПЦР – диагностики. Структурное состояние плазматической мембраны лимфоцитов оценивали методом флуоресцентного зондирования с использованием неполярного липотропного зонда пирен. Контрольную группы составил 21 практически здоровый донор. Статистическую обработку проводили по t – критерию Стьюдента и U – критерию Манна-Уитни. Проведенное спектрофлуориметрическое исследование микровязкостных свойств липидной фазы плазматической мембраны лимфоцитов флуорофором пирен выявило достоверное снижение степени эксимеризации зонда в области белок-липидных контактов и липидного бислоя в 1,2 и 1,5 раза соответственно по сравнению с аналогичными показателями у здоровых доноров. Полученные результаты свидетельствуют о повышении микровязкости липидной фазы плазматической мембраны лимфоцитов. Таким образом, правомочно предположить, что хронизация вирусного гепатита С сопровождается отчетливой структурной дезорганизацией мембраны лимфоцитов, приводящая к нарушению функционирования рецепторного аппарата клетки, что может, наряду с другими факторами, быть причиной неадекватности иммунного ответа в условиях персистенции вирусов.

Особенности изменения фауны иксодовых клещей (Ixodidae), переносчиков возбудителей природно-очаговых инфекций на территории Саратовской области

Турцева М.А., Дობло А.Д., Федорова З.П.,
Баракин А.А., Черненко Ю.В., Дობло Н.Н.,
Сердюкова З.В., Дობло А.А., Чумаков И.В.

Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратовский государственный медицинский университет, ГУ «Центр госсанэпиднадзора в Саратовской области», Саратов

Иксодовые клещи (Ixodidae) являются переносчиками возбудителей ряда природноочаговых заболеваний: клещевого энцефалита, крымской геморрагической лихорадки, риккетсиозов, боррелиозов, туляремии, бабезиоза и многих других. Длительно сохраняя возбудителей в своем организме, они могут передавать их теплокровным животным и человеку при кровососании.

В последние годы в Российской Федерации отмечается активизация природных очагов клещевого энцефалита, клещевых боррелиозов, туляремии, крымской геморрагической лихорадки и других инфекций (Орехов, Москвитина, 2002). Саратовская область не является исключением. В связи с осложнившейся эпизоотологической обстановкой по особо опасным инфекциям в области назрела необходимость проведения мониторингового изучения видового

состава иксодид и уточнения их численности в различных районах.

Географическое распространение иксодид напрямую зависит от распространения их прокормителей и условий окружающей среды (Балашов, 1998). Хорошо известно, что лучшими местами обитания клещей являются увлажненные участки (поймы рек и ручьев, балки, покрытые кустарником овраги), или пограничные краевые участки биоценозов (край леса, обочины дорог, лесополосы), которые интенсивно заселены позвоночными животными. Из позвоночных животных на таких участках, как правило, преобладают мелкие млекопитающие, особенно грызуны (желтогорлая, лесная, полевая мыши, рыжая и обыкновенная полевки и др.), являющиеся прокормителями преимагинальных фаз (личинок, нимф), а в некоторых случаях имаго. Поэтому распределение клещей строго привязано к определенным территориям, а их численность часто прямо пропорциональна численности мелких млекопитающих. Это приводит к неравномерному, мозаичному распределению иксодид, но в то же время предопределяет возможность циркуляции в природных очагах возбудителей опасных инфекций.

Саратовская область располагает большим количеством увлажненных и околородных станций как в Правобережье, так и в Левобережье, где обитает вполне достаточное количество мелких млекопитающих, способных к долговременному поддержанию активности природных очагов инфекций. Исторически сложилось так, что особое значение среди всех трансмиссивных инфекций в области имела туляремия.

Изучение фауны иксодовых клещей, как переносчиков возбудителя туляремии в Саратовской области проводилось с 1911г. Это были сведения об отдельных находках. Первое достаточно полное исследование видового состава и численности клещей проведено специалистом санэпидслужбы В.Ф. Давидович (1966, 1971). На территории Саратовской области ею было обнаружено 8 видов иксодовых клещей: *Dermacentor marginatus*, *Dermacentor pictus*, *Rhipicephalus rossicus*, *Rhipicephalus schulzei*, *Ixodes ricinus*, *Ixodes laguri*, *Hyalomma scupense* и *Haemaphysalis punctata*.

С 80-х годов исследования видового состава и динамики численности иксодовых клещей в различных ландшафтно-географических районах не проводилось, в подразделениях же санэпидслужбы имела место лишь практическая работа по обеспечению безопасности населения.

Весной 2002-2003гг. (апрель, май), с целью определения изменений фауны иксодид, специалистами Госуниверситета и санэпидслужбы были обследованы стационарные участки в Правобережье (Саратовский, Татищевский, Самойловский, Аткарский районы) и Левобережье (Энгельский, Пугачевский районы) Саратовской области. Отловленные в ходе совместных работ и доставленные из районов области центрами ГСЭН клещи определялись на базе СГУ и ЦГСЭН в Саратовской области. Всего было обработано материала из 20 районов Правобережья и 14 районов Заволжья. Клещи собирались преимущественно с растительности на флаг (из них: 1921 взрослых особи и 26 нимф), а также с крупного рогатого скота и