ности и служить дополнительными «донорами» факторов патогенности для признанных патогенов. С другой стороны, входя в ассоциации с высоковирулентными КП стафилококками, они могут обогащаться дополнительными факторами патогенности, становясь потенциальными возбудителями ГВЗ.

РАЗРАБОТКА ИНДИКАТОРНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ СЕЛЕКТИВНОГО ВЫДЕЛЕНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ РОДА LISTERIA ИЗ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ (ИСС-1)

Омарова С.М., Исаева Р.И., Ахмедова Э.М., Муртазалиева П.М., Нурмагомедова З.М.
ФГУП «НПО «Микроген» МЗ РФ, НПО «Питательные среды», ДГМА Махачкала, Россия

Наибольшую опасность листериозная инфекция, возбудителем которой является L.monocytogenes, представляет для беременных женщин и новорожденных, вызывая выкидыши, мертворождения, пороки развития плода, а также менингоэнцефалиты, сепсис и пневмонии у новорожденных. Несмотря на своевременную антибиотикотерапию, смертность при перинатальном и неонатальном листериозе достигает 30-50%, в том числе при внутрибольничных вспышках в роддомах [Тартаковский И.С.,2002; Омарова С.М.,2007].

Увеличение случаев листериоза среди беременных женщин и новорожденных диктует настоятельную необходимость создания эффективных методов и схем диагностики листериоза с применением селективных питательных сред.

Зарубежные фирмы - производители питательных сред [«Oxoid», «BBL», «Merck», «bio Merieux», «Himedia» и др.] выпускают коммерческие селективные среды для накопления, выделения, и идентификации листерий. Однако использование этих сред в практических лабораториях нашей страны крайне ограничено в связи с их высокой стоимостью.

Согласно принятым в РФ в 2002г. нормативным документам [МУК 4.2.1122-02] для изоляции и первичной идентификации листерий предлагают использовать в основном зарубежные селективные среды, среди которых рекомендован лишь один отечественный препарат ПАЛ. В настоящее время разработаны и имеют производственный выпуск ряд отечественных питательных сред для культивирования, выделения и идентификации листерий. Кроме того, разработаны микротестсистемы для биохимической идентификации листерий - МТС-5Л и МТС-12Л [Омарова С.М. с соавт.,2007]. Однако полиморфизм и непостоянство биологических свойств листерий диктует необходимость разработки новых отечественных селективных питательных сред для диагностики листериоза, с целью пополнения арсенала бактериологических лабораторий средами целевого назначения.

Как известно, питательные среды для микробиологического исследования должны обеспечивать благоприятные условия для выделения клинически значимых возбудителей инфекционных заболеваний. При выращивании микроорганизмов условия, в которых происходит рост, все время меняются: увеличивается плотность популяции, уменьшается концентрация субстрата и других ростовых факторов, происходит сдвиг pH среды, что приводит к задержке роста микроорганизмов.

Первым этапом выбора оптимального компонентного состава среды является качественный отбор необходимых для данной бактерии химических элементов, с учетом ростовых потребностей культуры, в частности листерий. В основу оптимизируемого состава среды может быть положен ранее известный для этого микроорганизма состав среды, к которому должны быть добавлены вещества, оказывающие положительный эффект на рост микроорганизма. Исходя из этого, в работе использовали известную рецептуру среды ПАЛКАМ с дальнейшей ее модификацией и оптимизацией компонентного состава препарата.

В процессе разработки индикаторной селективной среды (ИСС-1Л) проводилась качественная и количественная оценка влияния отобранных компонентов на ростовые свойства изучаемой культуры.

Особенно часто бактерии испытывают недостаток в отдельных витаминах, которые используются ими при синтезе различных ферментов, участвующих в свою очередь, в синтезе необходимых для микробной клетки веществ. Известно, что потребность микроорганизмов в витаминах группы «В» в питательных средах промышленного изготовления удовлетворяется в основном за счет экстракта кормовых дрожжей - ЭКД [Меджидов М.М., Султанов З.З., 2003].

Сопоставляя данные литературы с результатами предыдущих исследований, в качестве стимуляторов роста и размножения листерий использовали глюкозу, витаминный препарат «ЭКД», а также вещество, которое ранее не использовалось в рецептурах сред для культивирования листерий – парааминобензойную кислоту (ПАБК). ПАБК участвует в биосинтезе

витамина B_9 – фолиевой кислоты, функции которой в метаболизме бактерий связаны с синтезом аминокислот, пуриновых и пиримидиновых оснований. Вещество также является наиболее специфичным и весьма активным антагонистом сульфаниламидов, вследствие чего добавление ее в питательную среду обезвреживает токсичность лекарственных препаратов, и как следствие, стимулирует рост бактерий (Гостев В.С., 1951г., Герхард Ф., 1983г.).

По нашим наблюдениям сочетанное применение стимуляторов роста - экстракта кормовых дрожжей и ПАБК приводило к увеличению чувствительности среды до 10^{-7} и размера выросших колоний. Добавление в состав среды глюкозы в сочетании с основой из рыбного панкреатического гидролизата, обеспечивает усвоение углерода, взамен мышечного сахара, который содержится в мясной воде.

Трудности при выявлении и выделении листерий из клинического материала, как известно связанны с содержание контаминантов в исследуемых образцах. Особенно важную роль при этом играет энтерококк, который препятствует идентификации листерий, так как приобретает цвет среды и колоний схожий с листериями. Поэтому, для подавления роста ассоциантов в базовый состав среды в качестве селективных агентов ввели налидиксовую кислоту и акрифлавина гидрохлорид, а также хлорид лития с цитратом железа аммонийного.

Исследование ингибирующих свойств экспериментальных серий среды ИСС-1 для, проводили в модельных опытах высевом смесей чистых культур листерий и микробов-ассоциантов (P. vulgaris , E. coli, S. aureus и E. faecalis). Выявлено преимущество испытуемой среды перед контрольной: рост посторонней микрофлоры на испытуемой среде полностью подавлялся. Сочетанное использование этих компонентов в оттитрованных концентрациях позволяет с высокой степенью надежности дифференцировать L. monocytogenes от посторонней микрофлоры.

Кроме ростовых факторов и ингибиторов сопутствующей микрофлоры данная среда, как и зарубежный аналог, содержит индикатор-краситель феноловый красный и маннит, позволяющие выявлять и идентифицировать колонии Listeria spp. за исключением L.grayi, которые не вызывают заболеваний у людей. Листерии не способны гидролизовать маннит вследствие чего не происходит окисления среды, и ореол вокруг темно-серых колоний остается темно-коричневого цвета. Готовая среда с индикаторами роста листерий имеет красный цвет с характерным перламутровым отливом на фоне, которого отчетливо отмечается характерный рост листерий. Энтерококки в отличие от патогенных листерий в состоянии метаболизировать маннит. В результате этого метаболизма происходит окисление среды, что приводит к смене индикатором цвета ореола вокруг колоний в желтый.

Согласно методическим рекомендациям ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича одним из основных оценочных показателей качества разрабатываемых питательных сред является сохранение стабильности биологических свойств культур, выращенных на этих питательных средах. Разработанная нами индикаторная среда не уступает контрольной по основным показателям: обладает высокой чувствительностью (10^{-7}) и скоростью роста (18±2ч). За время инкубации на среде вырастают серого цвета колонии с коричнево-черным ореолом (d=1,7±0,2мм). Эффективность среды ИСС-1 составляет в среднем $(1,9\pm0,1)\times10^{9}$ м.к./мл. При определении морфологии листерий в мазках отмечали типичные характерные мелкие грамположительные палочки. Жизнеспособность выращенных на индикаторной среде культур листерий составила 78,2±1,2%.

УЛЬТРАСТРУКТУРА ТЕЛЕЦ ВАЙБЕЛЯ-ПАЛАДА В ЭНДОТЕЛИОЦИТАХ СОСУДИСТОГО РУСЛА МЛЕКОПИТАЮЩИХ РАЗНЫХ ВИДОВ

Павлович Е.Р., Гурин Я.В., Гурина О.Ю.
МБФ РГМУ, ИКК им. А.Л. Мясникова РКНПК
Москва, Россия

Открытые более 45 лет назад специфические эндотелиальные тельца Вайбеля-Палада (Weibel, Palade, 1964) были описаны в последствии и другими авторами в стенке сосудов разных органов млекопитающих, как в нормальных, так и в экспериментальных и в патологических условиях. В норме у животных они встречаются в эндотелиоцитах венулярной части капилляров, в экспериментах на животных (Гурина, Караганов, 1984; Гурина с соавторами, 1985; Гурина, 1987) тельца часто появляются в эндотелии растущих сосудов, а у людей они встречаются в сосудистом эндотелии при нарушении нормального кровотока и повышенной свертываемости крови (например, при алкогольной кардиомиопатии или у злоупотреблявших алкоголем бытовых пьяниц – Павлович, 1988, 2001). Долгое время тельца Вайбеля-Палада не рассматривались в качестве структур, влияющих на ангиогенез и лишь с обнаружения в их составе гистамина и гепарина, было признано их влияние на новообразование сосудов (Fujimoto, 1982). Было показано,