

6. Жорж Броссар, биография. — https://ru.wikipedia.org/wiki/Броссар,_Жорж
7. 10 фактов о бабочках. — <http://metelik.in.ua/stati/10-interesnykh-faktov-o-babochkakh.html>

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИЛІЗОЦИМНОЇ АКТИВНОСТІ ЕШЕРИХІЙ І САЛЬМОНЕЛ

Яненко В.М.¹, Оксамитний В.М.¹, Яненко У.М.¹, Синицин В.А.¹, Сорокіна Н.Г.²

¹ДНУ «Державний центр інноваційних біотехнологій», м. Київ

²Національний університет біотехнології і природокористування України

Мікроорганізми виду *Salmonella* та *Echerichia coli* є чинниками харчових токсикоінфекцій, тому потребують всебічного дослідження їх патогенних властивостей, а також пошуку методів їх виявлення і диференціації. Однією з суттєвих ознак патогенності та здатності до персистенції патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів у макроорганізмі є продукція бактеріями субстанцій, що інактивують фактори і механізми неспецифічного протиінфекційного захисту: лізоциму, комплементу, інтерферону, а також специфічного захисту — імуноглобулінів тощо [3, 6]. Наявність у бактерій таких властивостей як антилізоцимна активність (АЛА) забезпечує їм селективні переваги росту і розмноження в живому організмі.

Вперше АЛА *E. coli* була досліджена Kaufmann, Bauer (1956 р.) [9], а сальмонел О. В. Бухариним (1972 р.) [2], та А. П. Малишкіним (1981 р.) [3].

Дослідження антилізоцимної активності (АЛА) дозволяє визначити рівень патогенності зазначених мікроорганізмів по відношенню до захисних сил організму. Антилізоцимну активність досліджують з метою аналізів методів лікування і прогнозування перебігу патологічного процесу, який обумовлений мікроорганізмами, що викликають захворювання.

Пошук засобів впливу на таку властивість бактерій дає перспективи у застосуванні ефективних лікарських та дезінфікуючих препаратів.

Мета. Дослідження антилізоцимної активності епізоотичних та мурейних культур ешерихій та сальмонел.

Матеріали та методи. У досліді було використано 20 музейних ліофілізованих культур ешерихій та сальмонел: 10 культур *E. coli* (1, 4, 08, 7, 9, 13, 23, 84, 30, 109) та 10 культур сальмонел (5 — *S. gallinarum pullorum*, 2 — *S. typhimurium*, 2 — *S. cholerae suis*, 1 — *S. enteritidis*). А також культури мікроорганізмів, які були виділені від загиблих тварин, птиці та кормів: 9 культур сальмонел *S. enteritidis* (16.08."Л"); *S. typhimurium* (14.09."Л"), *S. typhisuis* (28.12.06"Л"), *S. typhimurium* (11.12."Я"), *S. enteritidis* (меланж), *S. enteritidis* (макуха), *S. typhimurium* (макуха), *S. choleraesuis S A-A*, *S. choleraesuis Тр. п/9*; 10 культур ешерихій: *E. coli* (16.08.07."Л"), *E. coli* (5.06.07. "Я"), *E. coli* (25.02.09. "К1"), *E. coli* (03.04.09." К2"), *E. coli* (03.04.09. "К3"), *E. coli* 652-0142:K91,K88, *E. coli* 1372-01 47:K83, K88ac, *E. coli* K1(K88 ав), *E. coli* Л 3 (K88 ав), *E. coli* K2 (K88 ас).

Для порівняння інтенсивності антилізоцимної активності використано референтні штами: *E. coli* K 12 № 390, *E. coli* 026 № 427, *E. coli* 08, *E. coli* 0111, *E. coli* № 7, *E. coli* № 10, *S. choleraesuis* № 1586, *S. typhimurium* № 1234.

Антилізоцимну активність визначали мікробіологічним методом, який розроблений О. В. Бухариним та співавторами [2]. Суть методу: культури мікроорганізмів культивують на живильному середовищі, що містить від 0,2 до 10 мкг/см³ лізоциму, а ефект інактивації лізоциму визначають за ростом на живильному середовищі індикаторної культури мікрокока (*Micrococcus luteus*). Навколо антилізоцимактивних культур реєстрували ріст *M. luteus*, а на інших ділянках середовища, завдяки наявності лізоциму, видимий ріст мікрокока відсутній.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Microsoft Excel, одночасно застосовували метод варіаційного аналізу з визначенням середньої арифметичної (M), середньої похибки ($\pm m$) та достовірності (P).

Результати досліджень. Антилізоцимна активність (АЛА) визначалась у 13 культур сальмонел та ешерихій виділених із дослідного матеріалу (від загиблих тварин, птахів і кормів) та музейних культур, що зберігались у ліофілізованому стані та мали два пересіви в м'ясопептонному бульйоні (рис 1, 2).

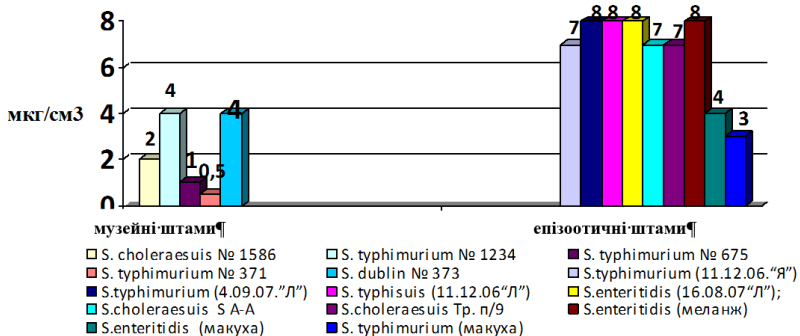


Рис.1 — Показники антилізоцимної активності музейних та епізоотичних культур сальмонел.

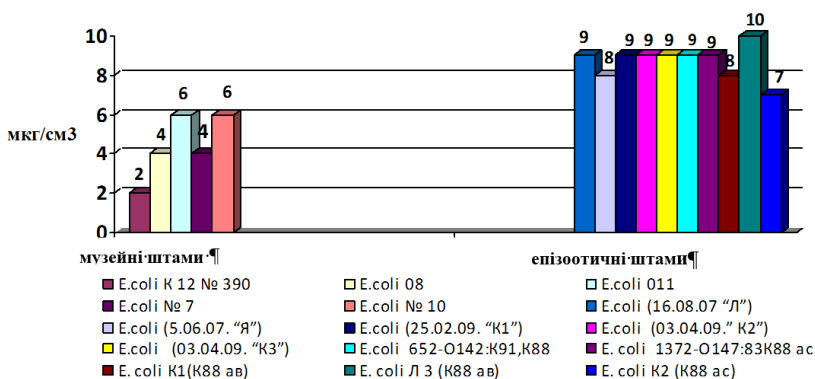


Рис. 2 — Показники антилізоцимної активності музейних та епізоотичних культур ешерихій.

За результатами експерименту встановлено що, високі показники

АЛА притаманні всім епізоотичним культурам: *Salmonella* — $6,7 \pm 0,58$ та *E.coli* — $8,7 \pm 0,25$, тобто тим бактеріям, які мають безпосередній контакт з організмом тварин або птахів.

Низький рівень АЛА притаманний мікроорганізмам, що перебували тривалий час поза організмом — у кормах тваринного походження, ґрунті та ліофілно зберігалися або тривало культивувалися як музейні штамів У наших експериментах АЛА музейних культур сальмонел мала значення $3,8 \pm 0,3$ мкг/см³, а ешерихії $6,6 \pm 0,3$ мкг/см³.

Середній рівень АЛА ($5 - 7$ мкг/см³) був характерний для бактерій, що ізолювалися від тварин з хронічним перебігом захворювання й від клінічно здорових тварин. Високий рівень АЛА (7 мкг/см³ та вище) властивий мікроорганізмам, що ізолюються за гострого і підгострого перебігу захворювання.

Результати досліджень вказують на залежність біологічних властивостей збудника від місця його виділення й зберігання [2].

Вищезазначені дослідження співпадають з результатами подібних експериментів ряду вчених (Dominic G. I. (1982 p.); Бухарин О. В (1990 p.); Габрилович И. М. (1994p.) [4, 5, 7, 8]. Вивчені нами референтні штами п'ять років зберігались у лабораторних умовах, пересілились на живильні середовища, а епізоотичні культури сальмонел і ешерихій мали безпосередній контакт з організмом тварини.

Висновки:

1. Антилізоцимна активність властива грам-негативним ешерихіям і сальмонелам.
2. Показники АЛА ешерихій і сальмонел, які виділені від загинув тварин та птиці мають вищі значення (ешерихій — $8,7 \pm 0,25$ мкг/см³, сальмонел — $6,3 \pm 0,74$ мкг/см³), ніж АЛА ліофілізованих музейних (референтних) культур. Отже показник персистенції залежить від екологічної ніші, яку займає збудник захворювання.
3. Антилізоцимна активність обумовлює збереження популяції даних мікроорганізмів впродовж тривалого часу, що спричиняє виникнення патологічного процесу у тварин. Таким чином величина персистентних властивостей є суттєвою для збереження бактерій в конкретних умовах виживання.

Література

1. Бухарин О. В., Васильев Н.В. Лизоцим и его роль в биологии и медицине. — Томск, 1974. — 209 с.
2. Бухарин О. В., Соколов В. Ю. Способ определения антилизоцимной и антифероновой активности микроорганизмов/О.В. Бухарин, В. Ю. Соколов // Микробиол. журн. — 1990. — Т. 52. — № 3. — С. 66-69
3. Бухарин О.В. Персистенция микроорганизмов /О. В. Бухарин, Б. Я.Усвяцов, А. П. Малишкин, Н. В. Немцова // Журн.микробиол. — 1984.— № 2. — С. 27-28.
4. Бухарин О. В., Васильев Н.В., Усвяцов Б.Я. Лизоцим микроорганизмов.— Томск, 1985. — 213с.
5. Габрилович И.М. Гетерогенность антилизоцимной активности в популяциях условно-патогенных энтеробактерий / И. М. Габрилович, В. Б. Бозиев, М. И. Габрилович, Б. С. Нагаев, Л. В. Накова, Я. С. Усаева// Журнал мед. эпидем. и иммун. — М. — 1994. — С. 32-33.

6. Фильчаков И. В. Персистенция бактерий: механизмы и иммунная реактивность организма/ И. В. Фильчаков, А. М. Зарицкий// Сучасні інфекції. — 2003. — № 3. — С. 71 — 82.
7. Dominic G. I. Lysozyme from human milk/ G. I. Dominic // Cell-Wall-Deficient Bacteria, Addison-Wesley, Reding, VA. — 1982. — P. 121-147.
8. Enright J., Gainer J. Disfection of Liquid and aerosol viral systems using immobilised enzymes/ J. Enright, J. Gainer // Environ. Sci and technol. — 1975. — Vol. 9. — № 5. — P. 686-688.
9. Ferrari R., Interaction between lysozyme and a phospholipid of neoplastic tissue (Oncolipin)/ R. Ferrari // Nature. — 1961. — Vol. 192. — № 4808. — P. 1187.