

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

И.Н.Чайникова^{1,2}, Ю.В.Филиппова², Б.А.Фролов², Н.Б.Перунова¹, Е.В.Иванова¹,
Т.А.Бондаренко¹, Т.В.Панфилова², А.Д.Железнова², Ю.А.Сарычева², О.В.Бухарин¹

ВЛИЯНИЕ МИЛИАЦИНА НА БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЕ БАКТЕРИЙ

¹Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза, Оренбург; ²Оренбургский государственный медицинский университет

Цель. Сравнительная оценка влияния милиацина на биопленкообразование (БПО) бактерий. **Материалы и методы.** Объект исследования — клинические изоляты *Salmonella enteritidis* (28), *Salmonella typhimurium* (24), *Klebsiella pneumoniae* (8), *Pseudomonas aeruginosa* (8) и эталонные штаммы лактобацилл (5) и бифидобактерий (3). Милиацин получен из кристаллов просяного масла. Антибактериальную активность милиацина определяли методом серийных разведений. Для исследования биопленок использован милиацин в концентрации 100 и 50 мкг/мл. Милиацин растворяли в Твин-21. БПО изучали методом O'Toole G.A., Kolter R. (1998) с использованием спектрофотометра Elx 808 (BioTek, США). Морфометрию биопленки выполняли с помощью атомно-силовой микроскопии с использованием сканирующего зондового микроскопа SMM-2000. **Результаты.** Милиацин и его растворитель не влияли на рост бактерий. Наибольшая чувствительность биопленок к милиацину выявлена у *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*, наименьшая — у *S. enteritidis*. Милиацин не влиял на БПО штаммов лактобацилл и бифидобактерий. **Заключение.** Милиацин наряду с иммуностропной активностью, выявленной ранее, ингибирует биопленки условно патогенных и патогенных бактерий, не влияя на БПО представителей нормофлоры.

Журн. микробиол., 2016, № 4, С. 3—9

Ключевые слова: тритерпеноиды, милиацин, биопленкообразование бактерий

I.N.Chainikova^{1,2}, Yu.V.Filippova², B.A.Frolov², N.B.Perunova¹, E.V.Ivanova¹,
T.A.Bondarenko¹, T.V.Panfilova², A.D.Zheleznova², Yu.A.Sarycheva², O.V.Bukharin¹

MILIACINE INFLUENCE ON THE BIOFILM FORMATION OF BACTERIA

¹Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg; ²Orenburg State Medical University, Russia

Aim. The comparative estimation of miliacine influence on the biofilm formation of bacteria. **Materials and methods.** The objects of investigation were the clinical isolates of *Salmonella enteritidis* (28), *Salmonella typhimurium* (24), *Klebsiella pneumoniae* (8), *Pseudomonas aeruginosa* (8) and reference strains of lactobacilli (5) and bifidobacteria (3). Miliacin was obtained from crystals of millet oil. Antibacterial activity of miliacin was detected by the method of serial dilutions. For investigation of biofilms miliacin in 100 and 50 mkg/ml concentrations was used. Miliacin was diluted in Twin-21. Biofilm formation was studied by method of O'Toole G.A., Kolter R. (1998) using spectrophotometer Elx 808 (BioTek, USA). The morphometry of biofilms was conducted by atomic force microscopy with the use of scanning probe microscope SMM-2000. **Results.** Miliacin and its solvent did not influence the growth of bacteria. Maximum sensivity of biofilms to miliacin was detected in *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa*, minimal — in *S. enteritidis*. Miliacin did not influence the biofilm formation in strains of lactobacilli and bifidobacteria. **Conclusion.** Miliacin in addition to immunotropic activity, detected earlier, can inhibit the biofilms of opportunistic and pathogenic bacteria without influence on the biofilm formation of representatives of usual flora.

Key words: triterpenoids, miliacin, biofilm formation of bacteria

ВВЕДЕНИЕ

Формирование микробных биопленок является одним из важных механизмов колонизации микроорганизмами биотопов и хронизации инфекционного процесса [6]. В связи с этим, разработка подходов к борьбе с биопленками представляет актуальную проблему микробиологии и инфектологии. При всем разнообразии такие подходы требуют соблюдения как минимум двух условий: комплексности воздействия на микрофлору и безвредности для организма [4]. Данным условиям в значительной степени соответствуют вещества растительного происхождения, которые отличает низкая токсичность и возможность комбинированного влияния на процесс биопленкообразования микроорганизмов, включая подвижность бактерий [12], их QS системы [13], адгезивные свойства клеток, изменяя экспрессию генов [15] и др. Среди растительных продуктов с широким спектром биологических свойств, включая антимикробную активность, важное место отводится тритерпеноидам [7, 8]. К числу последних относится милиацин — пентациклический тритерпеноид, который обладает иммунотропной активностью и редукцией патологической эндотоксинемии и обеспечивает протективный эффект при экспериментальной сальмонеллезной инфекции [10]. Вместе с тем, вопрос о возможном участии милиацина в антимикробной защите посредством его влияния на способность к биопленкообразованию микроорганизмов не исследовался.

Целью работы являлась сравнительная оценка влияния милиацина на биопленкообразование различных видов микроорганизмов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования были использованы клинические штаммы патогенных бактерий: *Salmonella* серовар enteritidis (28 культур), *Salmonella* серовар typhimurium (24 штамма), изолированные от больных гастроинтестинальной формой сальмонеллеза. Кроме того, были использованы клинические штаммы условно патогенных бактерий: *Klebsiella pneumoniae* (8 культур) и *Pseudomonas aeruginosa* (8 изолятов), выделенные от пациентов с дисбиозом кишечника II — III степени. В работе также были использованы эталонные культуры микроорганизмов, представителей нормальной микрофлоры человека: *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 (№ 900 811 в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов НЦЭСМП), *Lactobacillus fermentum* 90T-C4 (№ 900 812 в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов НЦЭСМП), *Lactobacillus acidophilus* K3Ш₂₄ (№ 42 в Государственной коллекции микроорганизмов нормальной микрофлоры МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского), *Lactobacillus acidophilus* NK₁ (ГНИИ генетика), *Lactobacillus acidophilus* 100аш (ГНИИ генетика), *Bifidobacterium bifidum* № 791 (№ AC-1247 в коллекции промышленных микроорганизмов ГосНИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов), *Bifidobacterium adolescentis* MC-42 (ГИСК им. Л.А. Тарасевича), *Bifidobacterium bifidum* 1 (№ 900 791 в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов НЦЭСМП).

Милиацин (3-β-метокси-Δ¹⁸олеанен) получен из кристаллов просяного масла и очищен перекристаллизацией из хлороформа [5].

Антимикробную активность милиацина оценивали по способности инги-

бировать рост бактерий. С этой целью определяли минимальную подавляющую концентрацию (МПК) методом серийных разведений (МУК 4.2.1890-04) в 96-луночных плоскодонных полистироловых планшетах, заполненных суспензией (100 мкл) бульонных культур микроорганизмов (1×10^6 КОЕ/мл) с добавлением 100 мкл милиацина (опыт), 100 мкл растворителя для милиацина: Твин-21 на физрастворе (контроль) или 100 мкл физраствора (пробы сравнения). Конечные концентрации милиацина составляли от 400 мкг/мл до 0,049 мкг/мл; растворителя от $1,6 \times 10^{-8}$ до $0,2 \times 10^{-12}$ моль. Диапазон концентраций тритерпеноида определялся с учетом его расчетного содержания в крови животных (50 мкг/мл) при использовании в дозе 2 мг/кг, оказывавшей протективный эффект при экспериментальной инфекции [10]. Учет результатов проводили после 24 — 48-часовой инкубации культур (37°C), определяя МПК милиацина с применением спектрофотометра Elx 808 (Bio Tek, США) при длине волны 450 нм.

Образование биопленок изучали на поверхности аналогичных планшетов по методике [14]. В лунки планшетов одновременно вносили по 135 мкл бульонной культуры бактерий ($0,5 \times 10^6$ КОЕ/мл) и 15 мкл милиацина (опытные пробы). Конечные концентрации милиацина составляли 50 и 100 мкг/мл. В контрольные пробы вместо милиацина добавляли 15 мкл растворителя (2×10^{-9} и 4×10^{-9} моль). В качестве проб сравнения использовали бактериальные культуры (135 мкл), к которым добавляли 15 мкл физраствора. Все пробы инкубировались 24 — 48 часов при 37°C . Для культивирования облигатно-анаэробных (бифидобактерии) и микроаэрофильных (лактобациллы) бактерий использовали CO_2 -инкубатор (Binder, Германия). Сформированные биопленки окрашивали внесением в лунки 0,1% водного раствора кристаллического фиолетового (45 мин при комнатной температуре). Отмывание свободного красителя выполняли трехкратной обработкой лунок дистиллированной водой, а экстракцию фиксированного в биопленках красителя проводили добавлением к пробам 200 мкл 96% этанола.

Выраженность биопленкообразования микроорганизмами оценивали по уровню экстракции (абсорбции) красителя этанолом, который измеряли на микропланшетном ридере ELx 808 (Bio Tek, США) при длине волны 630 нм. Биопленкообразование выражали в условных единицах, рассчитывая коэффициент биопленкообразования (КБПО): $\text{КБПО} = \text{ОДк} / \text{ОДб}$, где ОДк — оптическая плотность опытных, контрольных и проб групп сравнения, а ОДб — оптическая плотность питательного бульона.

Наряду со спектрофотометрическим способом определения биопленок в отношении ряда культур применялся метод атомно-силовой микроскопии (АСМ). Подготовка образцов биопленки выполнялась на поверхности скола слюды с использованием суточных бульонных культур микроорганизмов в присутствии милиацина (50 мкг/мл), растворителя (2×10^{-9} моль) или без их добавления с последующей инкубацией в течении 24 — 48 часов при 37°C . Полученные образцы биопленок исследовали методом АСМ в контактном режиме с помощью сканирующего зондового микроскопа SMM-2000 (ЗАО «Протон Миэт», Россия) и с использованием кантилеверов MSCT-AUNM (Park Scientific Instruments, США) с жесткостью балки 0,05 Н/м и радиусом порядка 10 нм. Проводилась визуализация биопленок на поверхности скола слюды, и определялись их морфометрические параметры (длина клеток, толщина клеток, высота биопленки).

Статистическую обработку данных осуществляли методами вариационной статистики из пакета прикладных программ Microsoft Excel и Statistica 10 c

оценкой различий между средними величинами по t-критерию Стьюдента. Уровень статистической значимости различий показателей, выраженных медианой (Me), нижним (Q25) и верхним (Q75) квартилями, определяли с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При изучении антибактериальных свойств милиацина установлено, что тритерпеноид и растворитель в используемых концентрациях не ингибировали рост исследуемых микроорганизмов. Вместе с тем, при изучении влияния милиацина на БПО у исследуемых культур бактерий была установлена различная чувствительность к тритерпеноиду как по частоте встречаемости, так и по степени выраженности данного свойства. Для штаммов *Salmonella typhimurium* подавление биопленочного процесса при концентрации милиацина 50 мкг/мл отмечалось в 83,3±7,6% случаев. При увеличении дозы фитостерола до 100 мкг/мл биопленкообразование ингибировалось у 100% исследуемых штаммов сальмонелл. Меньшая частота выявления ингибирующего влияния милиацина на БПО обнаруживалась в отношении *S. enteritidis*, для которых эффект подавления при дозах 100 и 50 мкг/мл регистрировался соответственно среди 50,0±17,7 и 64,3±9,1% культур. Штаммы *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* демонстрировали 100% чувствительность к действию милиацина в обеих концентрациях. В противоположность этому устойчивость к тритерпеноиду проявляли все исследуемые культуры эталонных штаммов лактобацилл и бифидобактерий. Оценка выраженности ингибирования БПО (табл.) позволила выделить 3 момента. Во-первых, использование растворителя (контроль) в концентрациях 4×10^{-9} и 2×10^{-9} моль несколько уменьшало показатель КБПО для культур *S. typhimurium* (от 17,6±10,9 до 31,4±9,5%); *S. enteritidis* (от 4,1±7,0 до 15,2±6,8%); *K. pneumoniae* (от 14,2±17,5 до 7,2±9,1%) по отношению к тем же культурам, выращенным с добавлением физраствора (группа сравнения). Эти результаты соответствуют данным о способности детергентов снижать биопленкообразование бактерий без влияния на рост планктонных клеток [11]. Вместе с тем, выявленные различия не были статистически значимыми, что не позволяло сделать вывод об ингибирующем влиянии используемых доз растворителя на биопленочный процесс. Во-вторых, милиацин (опыт) обеспечивал выраженное подавление биопленкообразования, существенно снижая КБПО в культурах опытных проб по отношению как к контрольным культурам, так и к культурам проб сравнения. Для *S. typhimurium* это снижение при дозах милиацина 100 и 50 мкг/мл по отношению к контролю составляло 48,7±10,2 и 52,8±10,2%, а по отношению к пробам сравнения 57,7±14,3 и 67,6±9,6%, соответственно. Для изолятов *S. enteritidis* интенсивность снижения КБПО по отношению к контролю колебалась от 34,8±16,8 до 16,9±7,1%, а по отношению к пробам сравнения от 37,4 до 29,5%, соответственно. Для клинических изолятов *K. pneumoniae* выраженность ингибирования КБПО к контролю при указанных концентрациях милиацина была равна 67,4±23,4 и 47,2±17,6%, а по отношению к пробам сравнения — 72,0±22,4 и 47,3±17,7%. Для *P. aeruginosa* показатели снижения КБПО составляли: 64,6±23,9 и 60,9±17,3% по отношению к контролю; 60,6±24,4 и 55,6±17,6% по отношению к пробам сравнения. Сопоставление этих результатов позволило отметить третье положение — неодинаковую степень чувствительности различных видов микроорганизмов к антибиопленочному действию милиацина. Максимальную чувствительность к тритерпеноиду демонстрировали культуры *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, минимальную — *S. enteritidis*. Анализ КБПО у

Выраженность антибиопленочного эффекта (КБПО) милиацина [Me (Q25-Q75)]

Микроорганизмы	Чистая культура (группа сравнения) (n)	Культура с растворителем 2×10^{-9} моль (контроль) (n)	Культура с милиацином 50 мкг/мл (опыт) (n)	Чистая культура (группа сравнения) (n)	Культура с растворителем 4×10^{-9} моль (контроль) (n)	Культура с милиацином 100 мкг/мл (опыт) (n)
<i>Salmonella typhimurium</i>	2,68 (1,77—2,89) (24)	1,84 (1,59—2,08) (20)	0,870* * (0,83—0,93) (20)	2,22 (1,79—2,68) (12)	1,83 (1,64—1,97) (12)	0,94* * (0,74—0,98) (12)
<i>Salmonella enteritidis</i>	2,19 (1,995—2,23) (28)	2,01 (1,91—2,09) (18)	0,84* * (0,8—0,89) (18)	2,23 (1,82—2,77) (8)	2,18 (1,78—2,58) (4)	0,77* * (0,75—0,78) (4)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3,07 (2,88—3,24) (8)	2,85 (2,72—3,38) (8)	1,62* * (1,48—1,78) (8)	2,89 (2,86—2,94) (4)	2,48 (2,46—2,495) (4)	0,81* * (0,78—0,82) (4)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6,97 (4,82—9,77) (8)	7,93 (4,99—10,87) (8)	3,10* * (1,88—4,38) (8)	4,84 (4,70—5,11) (4)	5,42 (5,15—5,75) (4)	1,92* * (1,91—1,94) (4)
Эталонные штаммы лактобацилл	6,49 (6,37—6,57) (5)	6,45 (6,39—6,47) (5)	6,41 (6,35—6,43) (5)	6,47 (6,31—6,55) (5)	6,47 (6,31—6,51) (5)	6,45 (6,37—6,47) (5)
Эталонные штаммы бифидобактерий	8,67 (8,65—8,73) (3)	8,88 (8,61—8,15) (3)	8,62 (8,57—8,74) (3)	8,65 (8,62—8,99) (3)	8,85 (8,61—9,11) (3)	8,66 (8,57—9,08) (3)

Примечание. * $p < 0,05$ по отношению к культуре с растворителем; * $p < 0,05$ по отношению к чистой культуре.

эталонных штаммов лактобацилл и бифидобактерий показал отсутствие существенных различий под влиянием обеих доз милиацина и растворителя на выраженность биопленкообразования (табл.).

Оценка морфометрических параметров биопленок с помощью АСМ также подтверждала угнетающее действие милиацина на их образование у клинических изолятов бактерий. Тритерпеноид, не влияя на размеры бактериальных клеток, существенно ($p < 0,05$) снижал высоту биопленок в опытных образцах культур *S. typhimurium* ($0,938 \pm 0,04$ мкм) и *P. aeruginosa* ($0,705 \pm 0,03$ мкм) по сравнению с образцами контрольных проб (соответственно $2,939 \pm 0,03$ и $1,328 \pm 0,04$ мкм) и проб групп сравнения (соответственно $1,493 \pm 0,04$ и $1,467 \pm 0,04$ мкм). Высота биопленки штамма *K. pneumoniae* в контрольной и пробе сравнения составляла соответственно $0,856 \pm 0,08$ и $0,866 \pm 0,05$ мкм. В отношении *K. pneumoniae* милиацин демонстрировал наиболее выраженный ингибирующий эффект: под влиянием тритерпеноида биопленка не сформировалась. В отличие от патогенных и условно патогенных грамотрицательных микроорганизмов милиацин не оказывал влияния на морфометрические характеристики биопленки, образованной штаммом *B. bifidum* № 791. Высота биопленки в образце пробы сравнения составляла $3,17 \pm 0,03$ мкм, в образце с растворителем $2,987 \pm 0,02$ мкм, в опытном образце $2,942 \pm 0,03$ мкм.

ОБСУЖДЕНИЕ

Образование микроорганизмами биопленок рассматривается как форма персистенции (выживания) патогенов/нормофлоры [1]. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что тритерпеноид растительного

происхождения — милиацин можно рассматривать как бифункциональное средство, обладающее помимо иммуностропных свойств способностью ингибировать био пленкообразование у ряда патогенных и условно патогенных микроорганизмов. Влияние на биологические свойства микроорганизмов установлено и для других иммуномодулирующих препаратов. Так, ранее была показана способность иммуномодулятора полиоксидония подавлять персистентные свойства (антикомплементарная, антилизоцимная активность) некоторых патогенных и условно патогенных бактерий [2]. Антимикробная активность, проявляющаяся в подавлении антикарнозиновой активности и БПО золотистого стафилококка, установлена и для иммуностропного препарата циклоферона [9].

Проведенные исследования *in vitro* показали, что милиацин не обладает антимикробным действием в отношении исследуемых культур микроорганизмов, но при этом подавляет их био пленкообразование. По-видимому, механизмы угнетения БПО могут быть опосредованы стероидной структурой тритерпеноида, которая позволяет ему встраиваться в клеточные мембраны и, таким образом, уменьшать их текучесть. Кроме того, данное свойство обеспечивает милиацину возможность связывания неполярных групп на поверхности бактерий, снижая их адгезивные свойства, что важно для начального этапа образования био пленок (адгезия микробных клеток к поверхности). Отсутствие чувствительности к милиацину со стороны отдельных изолятов *S. enteritidis* соответствует представлениям об особенностях адгезивной активности ее, в частности, такого существенного ее механизма, как гидрофобность, отличающаяся варьированием в широких пределах у разных штаммов бактерий даже среди диссоциантов одного типа [2].

Выявленная устойчивость био пленкообразования к милиацину у штаммов лактобацилл и бифидобактерий — представителей нормальной микрофлоры человека, вероятно, наряду с другими, пока не известными факторами, может определяться формированием у них более выраженных био пленок, по сравнению с условно патогенными бактериями, что было установлено ранее [1] и подтвердилось в данном исследовании. Подобная особенность действия милиацина может иметь важное практическое значение, отражая его селективные преимущества по сравнению с другими неселективными средствами, используемыми для подавления био пленкообразования, поскольку характеризуют способность тритерпеноида ограничивать колонизацию биотопов патогенных и условно патогенных грамотрицательных бактерий без негативного влияния на колонизацию этих же биотопов нормофлорой (бифидобактерии и лактобациллы).

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Оренбургской области в рамках научного проекта №16-44-560553 «р_а».

ЛИТЕРАТУРА

1. Бухарин О.В., Перунова Н.Б. Микросимбиоз. Екатеринбург, 2014.
2. Демаков В.А., Кузнецова М.В., Карпунина Т.И., Николаева Н.В. Гидрофобные свойства и пленкообразующая способность штаммов рода *Pseudomonas*, изолированных из разных экологических ниш. Вестник Пермского университета. 2013, 1 (1): 55-56.
3. Кириллов Д.А., Чайникова И.Н., Перунова Н.Б., Челпаченко О.Е., Паньков А.С., Смолягин А.И., Валышев А.В. Влияние иммуномодулятора полиоксидония на биологические свойства микроорганизмов. Журн. микробиол. 2003, 4: 74-78.
4. Маянский А.Н., Чеботарь И.В. Стратегия управления бактриальным био пленочным процессом. Журн. инфектология. 2012, 4 (3): 5-15.
5. Олифсон Л.Е., Осадчая Н.Д., Нузов Б.Г., Галкович К.Г., Павлова М.М. Химическая природа и биологическая активность милиацина. Вопросы питания. 1991, 2: 57-59.

6. Романова Ю.М., Гинцбург А.Л. Бактериальные биопленки как естественная форма существования бактерий в окружающей среде и в организме хозяина. Журн. микробиол. 2011, 3: 99-109.
7. Толстикова Т.Г., Сорокина И.В., Толстиков Г.А., Толстиков А.Г., Флехтер О.Б. Терпеноиды ряда лупана — биологическая активность и фармакологические перспективы. Природные производные лупана. Биоорганическая химия. 2006, 1: 42-45.
8. Уткина Т.М., Казакова О.Б., Медведева Н.И., Карташова О.Л. Структурно-функциональная характеристика производных бетулина. Антибиотики и химиотерапия. 2011, 56: 11-12.
9. Уткина Т.М., Потехина Л.П., Карташова О.Л., Васильченко А.С. Характеристика механизмов биологической активности циклоферона. Журн. микробиол. 2014, 4: 76-79.
10. Фролов Б.А., Чайникова И.Н., Филиппова Ю.В., Смолягин А.И., Панфилова Т.В., Железнова А.Д. Механизмы реализации защитного действия милиацина для экспериментальной сальмонеллезной инфекции: влияние на эндотоксинемию и продукцию цитокинов. Журн. микробиол. 2014, 5: 8-12.
11. Chang Y., Gu W., Landsborough L.M. Low concentration of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) affects biofilm formation of *Listeria monocytogenes* by inhibiting its initial adherence. Food Microbiol. 2012, 29 (1): 10-17.
12. Lemos M., Burges A., Teodosio J. et al. The effects of ferulic and salicylic acids on *Bacillus cereus* and *Pseudomonas fluorescens* single- and dual-species biofilms. Int. Biodeterioration and Biodegradation. 2014, 86: 42-51.
13. Nazzaro F., Erantianni F., Coppola R. Quorum sensing and phytochemicals. Int. J. Mol. Sci. 2013, 14 (6):12607-12619.
14. O'Toole G.A., Kolter R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis. Mol. Microbiol. 1998, 28 (3): 449-461.
15. Wojnicz D., Kucharska A. Z., Sokol-Letowska A. et al. Medicinal plants extracts affect virulence factors expression and biofilm formation by the uropathogenic *Escherichia coli*. Urol. Res. 2012, 40 (6): 683-697.

Поступила 23.02.16

Контактная информация: Чайникова Ирина Николаевна, д.м.н., проф., 460000, Оренбург, ул. Пионерская, 11, р.т. (3532) 77-44-63

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

С.Н.Клюева, Т.Н.Шуковская, С.А.Бугоркова, П.С.Ерохин, Е.М.Кузнецова, О.А.Волох

ОЦЕНКА СТИМУЛИРУЮЩЕГО ВЛИЯНИЯ БИОГЕННОГО АМИНА СЕРОТОНИНА НА КАПСУЛОПОДОБНОЕ ВЕЩЕСТВО *FRANCISELLA TULARENSIS*

Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов

Цель. Изучить влияние серотонина на морфометрические и топографические характеристики клеток вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ (Cap⁺) и его бескапсульного варианта *F. tularensis* КМ-9 (Cap⁻). *Материалы и методы.* Анализ проводили методами денситоморфометрии и атомно-силовой микроскопии. *Результаты.* Выявлено, что при выращивании *F. tularensis* 15 НИИЭГ (Cap⁺) на FT агаре в присутствии серотонина толщина капсулоподобного вещества, окружающего бактериальные клетки, увеличивалась в среднем в 3 раза и составляла 95,1±0,56 нм против 31,7±0,18 нм в контроле (без серотонина). При аналогичном выращивании *F. tularensis* КМ-9 (Cap⁻) такого явления не обнаружено. Установлено, что в образовании биопленки важную роль играет капсулоподобное вещество туляремийного микроба. *Заключение.* Полученные данные доказывают важное значение фенотипа туляремийного микроба и позволяют предположить особую роль серотонина в процессах формирования биопленочного сообщества, в составе которого бактерии защищены от повреждающих факторов внешней среды.