

Мешев Э.М.

Кабардино-Балкарская государственная
сельскохозяйственная академия (КБГСХА),
г. Нальчик

Тимченко Л.Д.

Ставропольский государственный университет (СГУ)
Южный научный центр Российской академии наук
(ЮНЦ РАН), г. Ростов-на-Дону

Хаширова С.Ю.

Кабардино-Балкарский
государственный университет (КБГУ),
г. Нальчик

ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ СТРЕПТОКОККА, ВЫДЕЛЕННОГО ОТ СОБАКИ, ПОД ВЛИЯНИЕМ ДИАЛИЛГУАНИНАЦЕТАТА*

Синтетический полимер диалилгуанинацетат вызывает изменение культуральных и патогенных свойств стрептококка, изолированного от собаки. Полимер оказывает действие на клеточную стенку, изменяя ее морфологию, а также на ферментативную систему.

Ключевые слова: стрептококк, заболевание, полимеры, клетка, питательные среды, альтернатива, антибиотики.

Стрептококки весьма широко распространены в природе и вызывают ряд сложных заболеваний у человека и животных. Существующие методы профилактики и лечения патологических состояний, обусловленных этими микроорганизмами, существенно затруднены в связи с биологическими свойствами стрептококков, а также характером их взаимоотношений с организмом хозяев. Стрептококковые инфекции в большинстве случаев можно отнести к факторным, для которых свойственно длительное пребывание в организме хозяев с вертикальным и горизонтальными путями передачи [1, 3]. Именно возможность вертикальной передачи обуславливает серьезную угрозу для новорожденного и диктует необходимость детального изучения биологических особенностей условно патогенных микроорганизмов, принимающих участие в развитии патологического процесса репродуктивных органов самок. Среди этих возбудителей вследствие своей убиквитарности стрептококки играют одну из ведущих ролей [5].

Традиционные методы профилактики и лечения не всегда приводят к успеху из-за снижения терапевтической эффективности антибактериальных препаратов. Учитывая это, нами была поставлена задача изучения влияния новых полимеров на клеточную стенку стрептококков, изолированных от животных. В опыте было изучено влияние гуанидинсодержащего полимера на морфологию стрептококковой клетки, изолированного из половых органов собаки с хроническим эндометритом. Выделение и идентификацию стрептококков проводили в соответствии с общепринятыми в бактериологии методиками, используя жидкие и плотные питательные среды. Выделенная культура стрептококка вызывала на кровяном агаре

* © Мешев Э.М., Тимченко Л.Д., Хаширова С.Ю.

(5% эритроцитов барана) выраженный β -гемолиз, не росла при 10° и 45°С, в бульоне с 6,5% хлорида натрия и в бульоне с 40% желчи, не выдерживала нагревания при 60°С в течение 30 минут, не расщепляла гиппурат натрия, не ферментировала маннит и инулин. При внутрибрюшинном заражении стрептококк вызывал гибель белых мышей и в реакции латексагглютинации был отнесен к серологической группе С-стрептококков. На МПБ с 1% глюкозы для культуры был характерен пристеночный рост с образованием хлопьевидного осадка. В качестве биоцидного полимера был использован диалилгуаниацетат, который вносили в 12 — часовую бульонную культуру стрептококка. В дальнейшем через каждые 2 часа проводили пересев из опытных пробирок в стерильный бульон с целью выяснения изменений культуральных свойств стрептококков. Отмытые трехкратно стерильным физиологическим раствором клетки стрептококков из опытных пробирок фиксировали на подложку из слюды для выяснения влияния полимера на клеточную стенку методом сканирующей зондовой микроскопии. Сканирующую зондовую микроскопию проводили в контактном режиме на атомно-силовом микроскопе Solver Pro - 47 в лаборатории нанозондовых исследований КБГУ. В качестве зонда был использован кантилевер NGS-10 с острием из нитрида кремния, механическая жесткость кантилеверов составляла 0,06 и 0,12 н/м. Величина силы взаимодействия между острием и исследуемой поверхностью составляла 10^{-9} Н.

Результаты исследования. Пересеянные из опытных пробирок культуры стрептококков через 2 часа после контакта с полимером сохраняли способность к росту, однако его характер был изменен. Во всех пробирках отмечалось помутнение бульона. При окраске по Грамму стрептококки окрашивались в синий цвет, цепочки были короткими, состоящими из 2-4 кокков. Заметного увеличения объема клеток при этом не установлено. В эти сроки на кровяном агаре нами отмечалось ослабление гемолитических свойств. Наиболее выраженные изменения отмечались через 8 часов после начала контакта с полимером. Культуры обладали способностью к росту, однако выросшие стрептококки не вызывали гемолиза на кровяном агаре и не вызывали гибели мышей при внутрибрюшинном заражении. Через 24 часа после контакта с диалилгуаниацетатом стрептококковые клетки также сохраняли способность к диффузному росту. Выросшие культуры были апатогенными для белых мышей и не вызывали гемолиза на кровяном агаре. Окраска по Грамму при этом была затруднена. Пятикратный пересев культур не приводил к восстановлению исходных свойств стрептококков. Тем не менее, мы не исключаем восстановления некоторых из них в последующие сроки.

Исследование строения стенки стрептококка методом атомно-силовой микроскопии показало наличие на поверхности характерных выпячиваний (рис. 1), что, по нашему мнению, связано с действием полимера.

Такие изменения могут быть связаны с локальным изменением состава клеточной стенки и мембран, приводящих к повышению осмотического давления внутри клетки, что приводит к появлению характерных выпячиваний в различных местах.

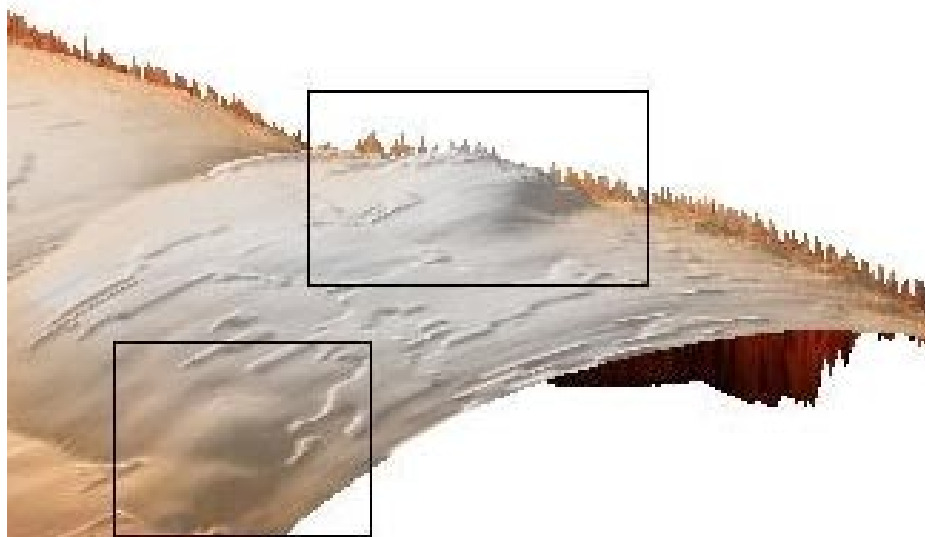


Рис. 1. Выпячивания на клеточной стенке стрептококка после 8-часового контакта с диаллилгуанинацетатом (сканирующая зондовая микроскопия).

Диаллилгуанинацетат относится к катионным полиэлектролитам, ключевым моментом в механизме действия которых на биологические мембраны является электростатическое взаимодействие с отрицательно заряженными фосфолипидами и белками, локализованными в ней. Следствием этого является нейтрализация заряда мембраны и клетки в целом, а также изменение соотношения гидрофобных и электростатических взаимодействий, стабилизирующих мембрану [4]. Изменение гемолитических и патогенных свойств стрептококка объясняется таким же свойством катионных полиэлектролитов связываться с ферментами бактериальной клетки.

Таким образом, на основании проведенных исследований можно сказать, что катионный полиэлектролит диаллилгуанинацетат оказывает влияние на культуральные, биохимические и патогенно-вирулентные свойства стрептококка серологической группы С, выделенного от собаки, нарушая его ферментативную систему и структуру клеточной стенки. Установленный факт открывает широкие перспективы для использования данного полимера в качестве альтернативы традиционно применяемым антибиотикам при стрептококкозах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Джупина С.И. Эпизоотический процесс и его контроль при факторных инфекционных болезнях. – М.: Изд-во РУДН, 2000.
2. Глуховец Б.И., Глуховец Н.Г. Патология последа. – СПб.: ГраАЛЬ, 2002.
3. Конопаткин А.А., Глушков А.А. Этиологическая и эпизоотологическая характеристика факторно-инфекционных болезней животных // Тезисы докладов III Всесоюзной конференции по эпизоотологии. – Новосибирск, 1991. – С. 22-23.
4. Хаширова С.Ю. Новые биоцидные гуанидинсодержащие полимеры: Дисс. ... канд. хим. наук. – М, 2002.
5. Цинзерлинг В.А., В.Ф Мельникова. Перинатальные инфекции (Вопросы патогенеза, морфологической диагностики и клинико-морфологических сопоставлений): Практическое руководство. – СПб.: Элби, 2002.

CHANGES OF STREPTOCOCCAL CELLULAR WALL, ISOLATED FROM DOG, CAUSED OF DIALILGUANINACETATE

E. Meshev, L. Timchenko, S. Khashirova

Synthetic polymer dialilguaninacetat causes change of cultural and pathogenic properties of streptococcus isolated from dog. Polimer has local effect on acellular wall, changing its morphology and fermentative system.

Key words: streptococcus, disease, polymers, cell, nutrient mediums, alternative, antibiotics.