

вания – 4–6 °C и 26–28 °C – значимых морфометрических различий между культурами сравниваемых вариантов не выявлено.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анисимов А.П. Факторы *Yersinia pestis*, обеспечивающие циркуляцию и сохранение возбудителя чумы в экосистемах природных очагов. Сообщение I. Мол. генет., микробиол. и вирусол. 2002; 3:3–23.
2. Бавалов А.А., Гаврилов К.Е., Крутин В.В. и др. Биологические и физико-химические свойства культур бактерий *Yersinia pseudotuberculosis*, несущих fra-оперон *Yersinia pestis*. Мол. генет., микробиол. и вирусол. 2008; 1:14–8.
3. Печенкин Д.В., Бывалов А.А., Маракулин И.В. Влияние капсулы *Yersinia pestis* на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов морской свинки. Пробл. особо опасных инф. 2005; 90(2):47–8.
4. Тимаков В.Д., Гольдфрах Д.М. Основы экспериментальной медицинской бактериологии. М.: Медгиз; 1958. 347 с.
5. Фихман Б.А. Микробиологическая рефрактометрия. – М.: Медицина; 1967. 325 с.

УДК 616.981.452+616-002.71

Н.А.Видяева, А.В.Гаева, Л.М.Куклева, Г.Н.Одинокоев, В.В.Кутырев

# СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ ШТАММОВ *YERSINIA PESTIS* РАЗЛИЧНЫХ ПОДВИДОВ И *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS*

ФГУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов

Проведено сравнительное электрофоретическое изучение антиокислительных ферментов (супероксиддисмутаза, каталаза и пероксидаза) у штаммов *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium*. Показано, что антиокислительные ферменты иерсиний по электрофоретической подвижности отличаются от ферментов *E. coli* и *S. typhimurium*. Их экспрессия зависит от температуры культивирования и плазмидного состава. Выявлены особенности экспрессии каталазы-пероксидазы у штаммов возбудителя чумы улэгейского подвида, у штаммов возбудителя псевдотуберкулеза VI серовара и штаммов, выделенных от людей.

Ключевые слова: *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis*, антиокислительные ферменты, супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза.

Возбудитель чумы, *Yersinia pestis*, в отличие от своего предшественника возбудителя псевдотуберкулеза, *Yersinia pseudotuberculosis*, является факультативным внутриклеточным паразитом. Попадая в фагоцит, чумной микроб подвергается антимикробному действию факторов защиты фагоцитирующей клетки, проявлением одного из которых является «окислительный взрыв». При этом в фагоците образуются активные формы кислорода: супероксиданион, гидроперекиси, гидроксильный радикал, действие которых направлено на повреждение жирных кислот, белков, ДНК [9, 17, 20]. Патогенные микроорганизмы выработали ряд механизмов, направленных на защиту клетки от окислительного повреждения, среди которых важная роль принадлежит антиокислительным ферментам (АО) – супероксиддисмутазе (СОД) и гидропероксидазам (каталазе и пероксидазе) [5]. У целого ряда патогенных бактерий обнаружена корреляция между активностью АО ферментов, устойчивостью к фагоцитозу и вирулентностью [6, 18].

У возбудителя чумы выявлены и охарактеризованы супероксиддисмутаза, каталаза и пероксидаза [1, 2, 15, 19, 21]. Установлено, что супероксиддис-

A.A.Byvalov, A.V.Chernyadiev, I.V.Marakulin, K.E.Gavrilov

## Effects of *Yersinia pestis* Fra-Operon Carriage on the Cellular Morphologic Features of the Recipient *Yersinia pseudotuberculosis* Strain

The 48<sup>th</sup> Central Scientific Research Institute of the RF Ministry of Defense, Kirov; Physiology Institute of Komi Scientific Center of the Urals Division of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar

Cellular morphologic variations of *Yersinia pseudotuberculosis* strain 164/84 were assessed depending on the cultivation temperature and the plague agent's fra-operon carriage by these cells. Notably slower population growth of the two isogenic variants of strain 164/84 (fra<sup>+</sup> and fra<sup>-</sup>) was observed at the cultivation temperatures of 4 to 6 °C as compared with those at 26–28 °C and 36–38 °C. Only late growth stages at the temperatures of 36 to 38 °C brought about significant differences between the fra<sup>+</sup> and fra<sup>-</sup> cell variants expressed in the occurrence of relatively bigger cells in the population of the capsule forming *Y. pseudotuberculosis* variant.

Key words: *Yersinia pseudotuberculosis*, microbial culture, fra-operon, F1-antigen, fra<sup>+</sup> and fra<sup>-</sup> isogenic variants.

Поступила 07.12.07.

мутазная и каталазная активности являются термоиндуцибельными признаками [2, 4, 19, 21] и активность супероксиддисмутазы не связана с носительством собственных плазмид. В 1993 г. R.J.Mehigh и R.R.Brubaker [21] идентифицировали белок с молекулярной массой ~70 кД (p70), как каталазу, но не пероксидазу и супероксиддисмутазу. Этот белок экспрессировался в Ca<sup>2+</sup>-дефицитной среде только при 37 °C, и его каталазная активность составляла менее 10 % от общей каталазной активности в клеточных экстрактах. Они также определили, что белок p70 является одним из термоиндуцибельных антигенов возбудителя чумы, названного антиген 5 или E, так как этот белок перекрестно реагировал с антителами, полученными к антигену 5. M.Rockenmacher [23] обнаружил корреляцию между высокой каталазной активностью и вирулентностью *Y. pestis*, по мнению других авторов такой корреляции не наблюдается. Кроме того, было выявлено, что активность и каталазы, и пероксидазы возбудителя чумы и псевдотуберкулеза несколько различались между собой [1, 10].

На территории бывшего СССР и Монголии, помимо основного подвида возбудителя чумы, цир-

кулируют штаммы четырех неосновных подвигов (кавказского, гиссарского, алтайского и улэгейского). Эти штаммы имеют избирательную вирулентность (вирулентны для белых мышей и авирулентны для морских свинок) и обладают как свойствами, объединяющими основной и неосновные подвиды, так и общими для неосновных подвигов и возбудителя псевдотуберкулеза. Неосновные подвиды в настоящее время рассматриваются как наиболее древние формы возбудителя чумы [3]. Возможно, что избирательная вирулентность неосновных подвигов обусловлена либо изменением, либо активности АО ферментов, либо их изоформ.

В связи с этим цель нашей работы: дать сравнительную электрофоретическую характеристику антиокислительных ферментов иерсиний, *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium*; определить влияние различного сочетания собственных плазмид и температуры культивирования иерсиний на экспрессию антиокислительных ферментов; провести сравнительный электрофоретический анализ АО ферментов штаммов *Y. pestis* биоваров *antiqua*, *medievalis* и *orientalis* и пяти подвигов (основной, алтайский, кавказский, гиссарский, улэгейский), циркулирующих на территории России и ближнего зарубежья, а также штаммов *Y. pseudotuberculosis*.

### Материал и методы

Для сравнительного изучения влияния температуры и плазмид на экспрессию антиокислительных ферментов у бактерий использовались производные вакцинного штамма *Y. pestis* EV с различным сочетанием плазмид pFra, pCad и pPst, *Y. pseudotuberculosis* 85 (pCad<sup>+</sup>) и его изогенный бесплазмидный клон, а также *Escherichia coli* K12 и *Salmonella typhimurium* LT2. Для исследования изоферментного спектра антиокислительных ферментов у иерсиний различного происхождения выбрано по два штамма возбудителя чумы биоваров *medievalis* (212 и 162) и *orientalis* (243 и 195 P<sup>-</sup>), один штамм биовара *antiqua* (172), по одному штамму основного (231) и кавказского (1146) подвигов, по два штамма алтайского (И-2998 и 2359) и гиссарского (А-1724 и А-1728) подвигов, три штамма улэгейского подвида (И-3131, И-3068 и И-3069), по одному штамму *Y. pseudotuberculosis* I-IV сероваров и по два штамма возбудителя псевдотуберкулеза, выделенных от грызунов (417, 2600) и людей, больных дальневосточной скарлатиноподобной лихорадкой (312, 50-73).

Культуры иерсиний выращивали в бульоне Хоттингера (рН 7,2) с добавлением 20 мМ Mg<sup>2+</sup> в течение 6 ч при 28 °С и в течение 18 ч – при 37 °С (для экспрессии Ca<sup>2+</sup>-зависимых белков), либо 24 ч – при 28 °С, а *E. coli* и *S. typhimurium* – при 37 °С в течение 24 ч. Для штаммов возбудителя чумы пяти подвигов и штаммов возбудителя псевдотуберкулеза использовали условия культивирования, при которых проявляется только одна из изоформ фермента: бульон

LB (без добавления магния) и температура культивирования 28 °С. Клетки собирали центрифугированием, отмывали дважды физраствором и разрушали ультразвуком. Неразрушенные клетки и осколки мембран осаждали центрифугированием (4000 g, 20 мин), цитоплазму отбирали, концентрировали замораживанием-оттаиванием, доводили концентрацию белка до 1 мг/мл и анализировали методом электрофореза в неденатурирующих условиях по B.J.Davies [12] с последующей обработкой электрофореграмм для специфического проявления супероксиддисмутазы [7], каталазы [16] и пероксидазы [22]. Определение активности ферментов проводили спектрофотометрически: СОД по [8], каталазы по [25], пероксидазы по [11].

### Результаты и обсуждение

Изучение изоферментного спектра антиокислительных ферментов бесплазмидного штамма и штаммов с различным сочетанием плазмид чумного микроба показало, что все три фермента (СОД, каталаза и пероксидаза) продуцируются как у плазмидсодержащих, так и у бесплазмидных штаммов *Y. pestis* (рис. 1).

Выявленные на энзимограммах СОД каталаза и пероксидаза отличались по своей электрофоретической подвижности от соответствующих антиокислительных ферментов *E. coli* и *S. typhimurium*. СОД *Y. pestis* представлена двумя изоформами СОД-1 и СОД-2. Обе они отличались от известных форм СОД (Mn-СОД и Fe-СОД) *E. coli*, но по электрофоретической подвижности СОД-1 чумного микроба близка к Mn-СОД, а СОД-2 – к Fe-СОД *E. coli*.

Анализ энзимограмм СОД, производных штамма *Y. pestis* EV с различным сочетанием собственных плазмид, выращенных при 28 и 37 °С показал,

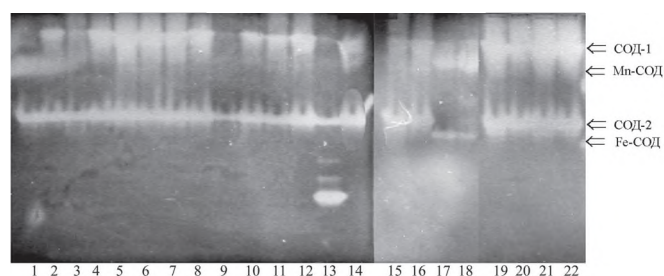


Рис. 1. Изоферментный спектр супероксиддисмутазы штаммов *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis*, *E. coli* K-12 и *S. typhimurium* LT2:

- 1 – *Y. pestis* EV (pCad<sup>+</sup> pPst<sup>+</sup> pFra<sup>+</sup>), 37 °С; 2 – *Y. pestis* EV, 28 °С;
- 3 – *Y. pestis* KM 217 (pCad<sup>+</sup> pPst<sup>+</sup> pFra<sup>+</sup>), 37 °С; 4 – *Y. pestis* 217, 28 °С;
- 5 – *Y. pestis* KM 218 (pCad<sup>+</sup> pPst<sup>+</sup> pFra<sup>+</sup>), 37 °С; 6 – *Y. pestis* KM 218, 28 °С;
- 7 – *Y. pestis* KM 216 (pCad<sup>+</sup> pPst<sup>+</sup> pFra<sup>+</sup>), 37 °С; 8 – *Y. pestis* KM 216, 28 °С;
- 9 – *Y. pestis* KM 215 (pCad<sup>+</sup> pPst<sup>+</sup> pFra<sup>+</sup>), 37 °С; 10 – *Y. pestis* KM 215, 28 °С;
- 11 – *Y. pestis* KM 225 (pCad<sup>+</sup> pPst<sup>+</sup> pFra<sup>+</sup>), 37 °С; 12 – *Y. pestis* KM 225, 28 °С;
- 13 – *Y. pestis* KM 226 (pCad<sup>+</sup> pPst<sup>+</sup> pFra<sup>+</sup>), 37 °С;
- 14 – *Y. pestis* KM 226, 28 °С; 15 – *Y. pestis* KM 227 (pCad<sup>+</sup> pPst<sup>+</sup> pFra<sup>+</sup>), 37 °С;
- 16 – *Y. pestis* KM 227, 28 °С; 17 – *E. coli* K-12; 18 – *S. typhimurium* LT2;
- 19 – *Y. pseudotuberculosis* 85 (pCad<sup>+</sup>), 37 °С; 20 – *Y. pseudotuberculosis* 85, 28 °С;
- 21 – *Y. pseudotuberculosis* 85/21 (pCad<sup>+</sup>), 37 °С;
- 22 – *Y. pseudotuberculosis* 85/21, 28 °С



что плазмида pCad и температура инкубации влияют на изоферментный спектр АО ферментов чумного микроба: при 37 °С культивирования интенсивность окраски СОД-1 значительно снижена у штаммов, содержащих pCad (EV – pCad<sup>+</sup> pPst<sup>+</sup> pFra<sup>+</sup>, КМ 217 – pCad<sup>+</sup>, КМ 215 – pCad<sup>+</sup> pPst<sup>+</sup>), а у *Y. pestis* КМ 226 (pCad<sup>+</sup> pFra<sup>+</sup>) при 37 °С появились еще три быстродвижущиеся полосы. Однако спектрофотометрическое изучение активности СОД не выявило значительных различий в активности этого фермента в зависимости от плазмидного состава, то есть активность СОД штамма КМ 226, выращенного и при 28, и 37 °С была одинаковой.

Специфическая окраска полиакриламидных гелей, содержащих белки цитоплазмы, на пероксидазу позволила выявить в штаммах *Y. pestis* две полосы, которые отличались от пероксидаз *E. coli* и *S. typhimurium*.

Применяемый нами метод выявления каталазы не позволил обнаружить этот фермент у штаммов *E. coli* и *S. typhimurium*, в то время как у штаммов чумного микроба он проявлялся на уровне пероксидазы с более высокой электрофоретической подвижностью. По-видимому, выявляемый фермент является каталазой, обладающей пероксидазной активностью (каталаза-пероксидаза).

Анализ энзимогрaмм каталазы и пероксидазы производных штамма *Y. pestis* EV с различным сочетанием собственных плазмид, выращенных при 28 и 37 °С, показал, что плазмида pCad и температура инкубации влияют на изоферментный спектр АО ферментов чумного микроба: при 37 °С культивирования у штаммов pPst<sup>+</sup>, pCad<sup>+</sup>, pPst<sup>+</sup> pCad<sup>+</sup> pFra<sup>+</sup>, pPst<sup>+</sup> pCad<sup>+</sup> отсутствовала полоса с более высокой электрофоретической подвижностью и соответствующая ей полоса на энзимогрaмме каталазы. Эти данные полностью коррелировали с результатами спектрофотометрического определения активности пероксидазы и каталазы.

Специфическое выявление ферментов на электрофореграммах в настоящее время широко применяется в методе мультилокусного энзимотипирования различных видов бактерий [24]. С этой целью подбираются условия культивирования, при которых проявляется одна из изоформ данного фермента. Поэтому для изучения экспрессии антиокислительных ферментов у штаммов возбудителя чумы различного происхождения и у псевдотуберкулезного микробов клетки выращивали при 28 °С в бульоне LB в течение 18 ч. При данных условиях культивирования специфическая окраска гелей на АО ферменты позволила установить, что все изученные штаммы возбудителя чумы и псевдотуберкулеза экспрессируют только одну форму супероксиддисмутазы с одинаковой электрофоретической подвижностью у всех изученных штаммов. Судя по интенсивности негативных пятен на геле, которые формируются на фиолетовом фоне в процессе специфической окраски на супероксиддисмутазу, ее активность у всех штам-

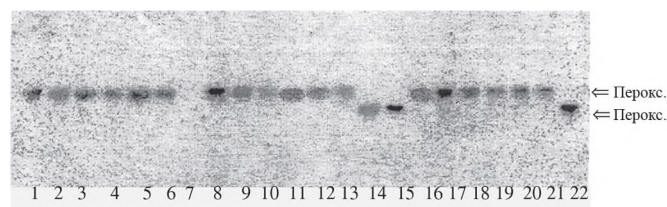


Рис. 2. Энзимогрaмма пероксидазы штаммов *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis*

1–12 – *Y. pestis*: 1 – 231, 2 – 1146, 3 – И 2998, 4 – 2359, 5 – А 1728, 6 – А 1724, 7 – И 3131, 8 – 172, 9 – 162, 10 – 212, 11 – 195Р, 12 – 243; 13–22 – *Y. pseudotuberculosis*: 13 – 2600, 14 – 50–73, 15 – 312, 16 – 417, 17 – I, 18 – II, 19 – III, 20 – IV, 21 – V, 22 – VI

мов была одинакова. Окраска гелей на пероксидазу и каталазу также выявила только одну изоформу этих ферментов. Сопоставление энзимогрaмм этих ферментов показывает, что при данных условиях культивирования экспрессируется только фермент, обладающий двумя активностями, а именно пероксидаза-каталаза (рис. 2).

Он продуцируется всеми изученными штаммами, кроме улэгейского, у которого его экспрессия отсутствует или значительно снижена. В настоящем исследовании показано, что улэгейский подвид, как и ожидалось, обладает повышенной чувствительностью к окислительному стрессу, что может быть следствием пониженной активности каталазы-пероксидазы у этого подвида. У возбудителя псевдотуберкулеза каталаза-пероксидаза имела ту же электрофоретическую подвижность, что и у *Y. pestis*. Исключение составляют штаммы *Y. pseudotuberculosis*, выделенные от людей, и штамм VI серовара, у которых этот фермент имеет более высокую подвижность, чем у остальных изученных штаммов.

Таким образом, в результате проведенных исследований было обнаружено, что АО ферменты чумного микроба отличаются по электрофоретической подвижности от АО ферментов *E. coli* и *S. typhimurium*; изоферментный спектр АО ферментов зависит от температуры культивирования и плазмидного состава; штаммы *Y. pestis* улэгейского подвида обладают сниженной активностью пероксидазы, а у штаммов *Y. pseudotuberculosis* VI серовара и штаммов, выделенных от людей, пероксидаза имеет более высокую электрофоретическую подвижность.

Работа поддержана грантами РФФИ: 07-04-00100а, 08-0400731а.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Джанаридзе М.Н. Каталазная и пероксидазная активность чумного и псевдотуберкулезного микробов [дис. ... канд. мед. наук]. 1953. 205 с.
2. Куликов О.А., Дробков В.И., Дармов И.В. и др. Супероксиддисмутазы чумного микроба. Вестн. Рос. АМН. 1996; 6:45–9.
3. Куклева Л.М., Проценко О.А., Кутырев В.В. Современные представления о родстве возбудителей чумы и псевдотуберкулеза. Мол. генет., микробиол. и вирусол. 2002; 1:3–7.
4. Шиманюк Н.Я., Асеева А.Е., Мишанькин Б.Н. Супероксиддисмутазная активность у иерсиний. В кн.: Иерсиниозы: микробиол., эпидемиол., клиника, патогенез, иммунол. Владивосток; 1968. С. 83–84.

5. Babor B. Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes. *New Engl. J. Med.* 1978; 289:659–68.
6. Beaman B., Black C., Doughty F., et al. Role of superoxide dismutase and catalase as determinants of pathogenicity of *Nocardia asteroides*: importance in resistance to microbicidal activities of human polymorphonuclear neutrophils. *Infect. Immun.* 1985; 47:135–41.
7. Beauchamp C., Fridovich I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.* 1971; 44:276–87.
8. Beyer W., Fridovich I. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Anal. Biochem.* 1987; 161:559–66.
9. Brot N., Weissbach L., Werth J., et al. Enzymatic reduction of protein-bound methionine sulfoxide. *Prot. Natl. Acad. Sci. USA.* 1981; 78:2155–58.
10. Burrows T., Farrel J., Gillett W. The catalase activity of *Pasteurella pestis* and other bacteria. *Br. J. Exp. Pathol.* 1964; 45:579–88.
11. Cohen H. The use of diaminobenzidine for spectrophotometric and acrylamide gel detection of sulfite oxidase and its applicability to hydrogen peroxide-generating enzymes. *Anal. Biochem.* 1973; 53:208–22.
12. Davis B. Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1964; 121:404–27.
13. Fridovich I. Oxygen radicals, hydrogen, peroxide and oxygen toxicity. In: W.A. Prior, editor. *Free radicals in biology*. New York: Academic Press; 1976. p. 239–277.
14. Fridovich I. The biology of oxygen radicals. *Science.* 1978; 201:875–80.
15. Garcia E., Nedialkov Y., Elliott J., et al. Molecular characterization of KatY (Antigen 5), a thermoregulated chromosomally encoded catalase-peroxidase of *Yersinia pestis*. *J. Bacteriol.* 1999; 181(10):3114–22.
16. Gregory E., Fridovich I. Visualization of catalase in acrylamide gels. *Anal. Biochem.* 1974; 58:57–62.
17. Hollstein M., Brooks P., Linn S., et al. Hydroxymethyluracil DNA glycosylase in mammalian cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1984; 81:4003–7.
18. Mandell G. Catalase, superoxide dismutase and virulence in *Staphylococcus aureus*: *in vitro* and *in vivo* studies with emphasis on staphylococcal-leukocyte interaction. *J. Clin. Invest.* 1975; 55:561–66.
19. Marcheva D., Nicolova S., Veljanov D. О распространении каталазной активности у бактерий рода *Yersinia*. Докл. Болг. АН. 1988; 41(3):57–60.
20. Mead J. Free radical mechanism of lipid damage and consequences for cellular membranes. In: W.A. Prior, editor. *Free radicals in biology*. New York: Academic Press; 1976. P. 51–68.
21. Mehig R., Brubaker R. Major stable peptides of *Yersinia pestis* synthesized during the low-calcium response. *Infect. Immun.* 1993; 61(1):13–22.
22. Raymond S. Acrylamide gel electrophoresis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1964; 121:350–65.
23. Rockenmacher M. Relationship of catalase activity to virulence in *Pasteurella pestis*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1949; 71:99–101.
24. Selander R., Caugant D., Ochman H., et al. Methods of multilocus enzyme electrophoresis for bacterial population genetics and systematics. *Appl. Environ. Microbiol.* 1986; 51:873–84.
25. Vassilyadi M., Archibald F. Catalase, superoxide dismutase and production of O<sub>2</sub>-sensitive mutants of *Bacillus coagulans*. *Can. J. Microbiol.* 1985; 31:994–99.

N.A. Vidyayeva, A.V. Gaeva, L.M. Koukleva, G.N. Odinokov, V.V. Kuttyrev

#### Comparative Characteristics of Antioxidative Enzymes of *Yersinia pestis* Strains of Different Subspecies and *Yersinia pseudotuberculosis* Strains

Russian Anti-Plague Research Institute "Micrbe", Saratov

Comparative electrophoretic investigation was carried out to study antioxidative enzymes (superoxide dismutase, catalase and peroxidase) in strains of *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. It was shown that *Yersinia* antioxidative enzymes are different from *E. coli* and *S. typhimurium* enzymes in electrophoretic motility. Their expression depends on cultivation temperature and plasmid content. Peculiarities of catalase-peroxidase expression were determined in strains of plague etiological agent of Ulejei subspecies, in strains of pseudotuberculosis etiological agent of IV serovar and in strains isolated from humans.

**Key words:** *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis*, antioxidative enzymes, superoxide dismutase, catalase, peroxidase.

Поступила 12.03.08.

УДК 576.851.132:616.982.27-033

Е.В.Калинкина, Н.П.Агеева, О.А.Мерина, Д.А.Лобойко, Д.В.Викторов, Л.К.Мерина

#### ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МУТАНТОВ ПАТОГЕННЫХ *BURKHOLDERIA*, РЕЗИСТЕНТНЫХ К ФТОРХИНОЛОМ И ЦЕФАЛОСПОРИНАМ

ФГУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт»

Исследованы фенотипические свойства мутантов филогенетически родственных патогенных видов *Burkholderia* (*B. pseudomallei*, *B. mallei*, *B. cepacia*), резистентных к фторхинолонам и цефалоспорином. Показано, что штаммы с маркерами Pfx<sup>R</sup> (Ofx<sup>R</sup>), Cfz<sup>R</sup> приобретают перекрестную устойчивость множественного типа к антибиотикам различных классов. Резистентность штаммов изменяется под действием от блокирующего влияния ингибитора кальциевых мембранных каналов – верапамила. Мутантные штаммы отличаются по продукции внеклеточных ферментов (протеаз, лецитиназы, липазы) и вирулентностью.

**Ключевые слова:** *Burkholderia*, антибиотикорезистентность, мутанты, фторхинолоны, цефалоспорины, фенотипические свойства, верапамил.

Возбудители мелиоидоза (*Burkholderia pseudomallei*) и сапа (*Burkholderia mallei*), а также являющиеся оппортунистическими патогенами микроорганизмы комплекса *Burkholderia cepacia* составляют группу филогенетически родственных видов [3, 8].

Наряду с общностью и клинической значимостью, эти микроорганизмы характеризуются высокой природной резистентностью к антибактериальным

препаратам, включающим широкий спектр антибиотиков различных классов [1, 2].

Способность всех трех видов быстро повышать антибиотикорезистентность в процессе лечения ограничивает выбор эффективных лекарственных средств и создает серьезные трудности при химиотерапии заболеваний, вызываемых буркхольдериями [2, 5, 7].