

ность и изменчивость бактериальной популяции. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2005; 3:39–44.

2. Шагинян И.А., Чернуха М.Ю. Бактерии комплекса *Burkholderia cepacia*: особенности диагностики, организации генома и метаболизма. Мол. генет., микробиол., вирусол. 2003; 2:7–11.

3. Coenye T., Vandamme P. Environ. Microbiol. 2003; 5:719–29.

4. Difco manual. Dehydrated culture media and reagents for microbiology. Detroit Michigan; 1985. 1155 p.

5. Gibson R.L., Burns J.L., Ramsey B.W. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2003; 168:918–51.

6. Moore R.A., DeShazer D., Reckseidler S. Antimicrob. Agents Chemother. 1999; 43:465–70.

7. Moore R.A., Woods D.E. In: International Congress on Melioidosis Proceeding. Bangkok; 1998. p. 157.

8. Yabuuchi E., Kosako Y., Oyaizu H., et al. Microbiol. Immunol. 1992; 36:1251–75.

E.V.Kalinkina, N.P.Ageeva, O.A.Merinova, D.A.Loboiko,
D.V.Viktorov, L.K.Merinova

Phenotypic Peculiarities of Pathogenic *Burkholderia* Mutants Resistant to Fluoroquinolones and Cephalosporins

Volgograd Anti-Plague Research Institute

Examined were phenotypic peculiarities of mutants of *Burkholderia* phylogenetically-related pathogenic species (*B. pseudomallei*, *B. mallei*, *B. cepacia*) resistant to fluoroquinolones and cephalosporins. It was shown that strains with Pfx^R (Ofx^R), Cfz^R markers acquire high multi-drug resistance to antibiotics of different classes. Strain resistance changes under blocking influence of verapamil – inhibitor of calcium membrane channels. Mutant strains differ in production of extracellular enzymes (proteases, lecithinase, lipase) and virulence.

Key words: *Burkholderia*, drug resistance, mutants, fluoroquinolones, cephalosporins, phenotypic peculiarities, verapamil.

Поступила 21.03.08.

УДК 616.981.452:576.809.33

Т.Н.Щуковская, С.Н.Клюева, А.Л.Кравцов, О.А.Волох, Ю.А.Алешина, В.В.Кутырев

ВЛИЯНИЕ БИОГЕННОГО АМИНА СЕРТОНИНА НА РОСТ И ПРОФИЛЬ БЕЛКОВ ЧУМНОГО МИКРОБА В УСЛОВИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА ПЛОТНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

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

Получены новые сведения о стимулирующем влиянии биогенного амина серотонина на рост чумного микроба. С применением серотонина разработан способ выделения *Yersinia pestis* бактериологическим методом из исследуемого материала, контаминированного сопутствующей микрофлорой, включая объекты внешней среды, позволяющий сократить до 24 часов сроки биологического накопления возбудителя чумы и увеличить число колониеобразующих единиц (КОЕ) чумного микроба. Выявлен ингибирующий эффект серотонина на синтез полипептида с молекулярной массой 22 кДа в условиях культивирования на агаре Хоттингера (pH 7,2) при 28 °С в течение 24 ч.

Ключевые слова: *Y. pestis*, серотонин, объекты внешней среды, рост, электрофоретический профиль белков.

В настоящее время интенсивно ведутся исследования, направленные на изучение триггерных молекулярных механизмов взаимодействия патогена с организмом хозяина, в том числе возможности использования микроорганизмами для ускорения собственного развития эндогенных биологически активных веществ (нейрогормонов) макроорганизма. Формируется новое междисциплинарное направление – микробная эндокринология, изучающая фундаментальные и прикладные аспекты нейроэндокринной регуляции взаимодействия про- и эукариот [12].

Установлено, что бактерии имеют фрагменты молекул, аналогичные связывающим сайтам некоторых естественных физиологически активных веществ организма хозяина, таких как инсулин, гонадотропин, кальмомодулин. Выявлен стимулирующий эффект стрессорных гормонов на рост патогенных штаммов *Escherichia coli*, показана зависимость транскрипции генов, кодирующих секрецию III типа и синтез флагелл, у энтерогеморрагических и энтеротоксигенных *E. coli* от эпинефрина (адреналина) и норэпинефрина (норадреналина), синтезируемых в клетках хозяина [6].

В этой связи, большой интерес представляет серотонин (5-окситриптами), принадлежащий к

группе биогенных аминов: азотистых оснований, возникающих в организме при декарбоксилировании аминокислот и обладающих чрезвычайно сильной активностью, благодаря высокой способности их к конформационным изменениям, к соединению с макромолекулами, к переносу электронов и протонов. Серотонин является нейромедиатором, медиатором воспаления и аллергических реакций, одним из компонентов сосудисто-тромбоцитарного гемостаза, обладает выраженным иммуномодулирующим действием, способен комплексовать с ДНК про- и эукариот, с нуклеозидами и нуклеотидами, ингибировать процессы перекисного окисления липидов в клеточных мембранах, непосредственно взаимодействуя с перекисными радикалами [2, 4, 7, 8].

Установлено, что серотонин ускоряет рост культур *E. coli*, *Rhodospirillum rubrum*, *Candida guilliermondii*, *Streptococcus faecalis*, вызывая сокращение лаг-фазы, стимулирует формирование биопленки у *E. coli* и плодовых тел у миксобактерий [5]. Комбинация антибиотиков с психотропными препаратами – селективными ингибиторами транспорта серотонина через ионный канал, приводит к появлению чувствительности у полиантибиотикорезистентных штаммов [13].

Ранее, нами выявлено стимулирующее действие серотонина на накопление биомассы чумного микроба в жидких питательных средах [10]. Цель настоящего исследования – изучение влияния биогенного амина серотонина на рост и общий профиль синтезируемых белков чумного микроба в условиях культивирования на плотных питательных средах, возможности использования полученных результатов для повышения эффективности бактериологического метода исследования на чуму материала, контаминированного сопутствующей микрофлорой, включая объекты внешней среды.

Материалы и методы

В работе использовали вакцинный штамм *Y. pestis* EV НИИЭГ (*pFra*⁺, *pCad*⁺, *pPst*⁺), *Staphylococcus aureus* 209-П и *E. coli* 25922 ATCC (Государственная коллекция патогенных бактерий РосНИПЧИ «Микроб», Саратов). Серотонин-креатинин сульфат (СКС) фирмы «Merck» (Germany) применяли в виде свежеприготовленного водного раствора в конечной концентрации 10^{-5} М в пересчете на серотонин основание, стерилизованного фильтрацией через мембранные фильтры с диаметром пор 0,2 μ m.

Y. pestis EV выращивали на агаре Хоттингера (рН 7,2) при температуре 28 °С в течение 48 ч, *E. coli* при 37 °С в течение 24 ч и *S. aureus* на агаре Хоттингера (рН 7,4) при 37 °С в течение 24 ч. Из полученных культур готовили соответствующие взвеси в стерильном 0,9 % растворе натрия хлорида (рН 7,2) по стандартному образцу мутности ОСО-42-28-85П 10 ед., эквивалентному $1 \cdot 10^9$ м.к./мл. Методом серийных разведений доводили концентрацию клеток до 10^3 м.к. в 1 мл. Для получения смешанной взвеси клеток *Y. pestis* EV, *S. aureus*, *E. coli* по 500 мкл взвеси каждого штамма вносили в одну пробирку. Навески природной почвы массой 1 г инфицировали 10^5 и 10^4 м.к *Y. pestis* EV, затем суспензировали в 10 мл стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида. Для освобождения от грубых механических примесей полученную взвесь отстаивали в течение 3–5 мин, далее забирали верхний слой почвенной суспензии.

В одном варианте 100 мкл из образцов бактериальных взвесей, почвенной суспензии высевали на обработанную перед посевом серотонином поверхность пластин агара Хоттингера (рН 7,2), агара Хоттингера (рН 7,2) с лизированной кровью и генцианвиолетом (1:100000) с последующей инкубацией посевов при 28 °С в течение 24–48 ч. В другом – в опытные образцы бактериальных взвесей, почвенной суспензии добавляли раствор СКС в конечной концентрации 10^{-5} М в пересчете на серотонин основание и оставляли при комнатной температуре в течение 30 мин, затем высевали по 100 мкл на те же питательные среды без их предварительной обработки серотонином. Контролем служили посева без серотонина.

Относительное содержание ДНК в клетках

чумного микроба регистрировали методом проточной цитометрии после специфической окраски смесью бромиды этидия и митрамицина (1:1) [14]. Количественное измерение уровня свечения каждого из клеточных элементов в области спектра свыше 550 нм проводили на проточном цитофлуориметре ICP-22 PHUWE (Германия), оснащенный 2048 канальным амплитудным анализатором импульсов Orto Instruments (Westwood, Mass USA) для автоматической сортировки клеток и построения гистограмм. В каждом образце анализировалось не менее 30000 клеток. Электрофоретическое разделение цельноклеточных лизатов исследуемых культур в ПААГ с 0,1 % SDS осуществляли в системе диск-электрофореза по методу U.K.Laemmli с окраской гелей Coomassie Brilliant Blue R-250 [11]. Анализ полученных данных проводили с использованием стандартного пакета программ «Excel 2000», «Adobe Photoshop».

Результаты и обсуждение

В ходе проведенных нами исследований установлено, что биогенный амин серотонин в концентрации 10^{-5} М оказывает стимулирующее действие на рост чумного микроба в условиях культивирования на плотных питательных средах, применяемых при стандартном бактериологическом методе исследования на чуму (агар Хоттингера, рН 7,2, агар Хоттингера, рН 7,2, с лизированной кровью и генцианвиолетом).

Обработка серотонином как непосредственно самого исследуемого материала перед посевом (бактериальной взвеси, инфицированной почвенной суспензии), так и готовых агаровых пластин приводила к достоверному увеличению числа КОЕ чумного микроба. При добавлении серотонина во взвесь клеток *Y. pestis* EV или на поверхность агара количество выросших через 24–48 ч колоний чумного микроба возрастало в 2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контрольными посевами (таблица).

Аналогичные результаты получены нами при изучении влияния серотонина на рост чумного микроба в смешанной культуре. Ростостимулирующий эффект серотонина проявлялся одинаково как при нанесении раствора серотонина на поверхность агара, так и при внесении его в смешанную взвесь клеток *Y. pestis* EV, *S. aureus*, *E. coli* за 30 мин до посева на плотную питательную среду. Серотонин в концентрации 10^{-5} М оказывал также стимулирующее действие и на рост *E. coli*, что согласуется с данными А.В.Олескина и соавт. [5], однако сам эффект выражен намного слабее по сравнению с его действием на чумной микроб (уровень стимуляции роста по сравнению с контролем – 25% у *E. coli*, против – 120% у *Y. pestis*; число КОЕ в контроле принято за 100%). Отсутствие роста *St. aureus* 209-П связано с ингибирующим действием генцианвиолета на грамположительные бактерии.

Влияние 10^{-5} М серотонина на количество КОЕ *Y. pestis* через 24 и 48 ч инкубации при 28 °С на агаре Хоттингера (рН 7,2) с лизированной кровью и генцианвиолетом (1:100000)

Исследуемый материал	10^{-5} М серотонина	Вид микроорганизмов	КОЕ		
			n	через 24 ч	через 48 ч
				M ± m	M ± m
Монокультура	Внесение во взвесь	<i>Y. pestis</i> EV	10	44 ± 1,8*	85 ± 1,8*
	Контроль (без серотонина)	<i>Y. pestis</i> EV	10	20 ± 1,2	38 ± 1,0
Монокультура	Внесение во взвесь	<i>E. coli</i> 25922 ATCC	10	62 ± 2,5*	88 ± 4,9
	Контроль (без серотонина)	<i>E. coli</i> 25922 ATCC	10	50 ± 2,0	83 ± 4,3
Монокультура	Внесение во взвесь	<i>St. aureus</i> 209-П	10	Нет роста	Нет роста
	Контроль (без серотонина)	<i>St. aureus</i> 209-П	10	Нет роста	Нет роста
Смешанная культура	Внесение во взвесь	<i>Y. pestis</i> EV	10	12 ± 2,4*	32 ± 3,6*
		<i>St. aureus</i> 209-П	10	Нет роста	Нет роста
		<i>E. coli</i> 25922 ATCC	10	16 ± 2,7	29 ± 3,1
Смешанная культура	Контроль (без серотонина)	<i>Y. pestis</i> EV	10	6 ± 1,5	15 ± 1,9
		<i>St. aureus</i> 209-П	10	Нет роста	Нет роста
		<i>E. coli</i> 25922 ATCC	10	13 ± 2,3	22 ± 2,8
Почва (10^5 м.к. <i>Y. pestis</i> на 1 г почвы)	Внесение в почвенную суспензию	<i>Y. pestis</i> EV	5	6 ± 0,5*	55 ± 6,1*
	Нанесение на поверхность агаровых пластин	<i>Y. pestis</i> EV	5	7 ± 0,8*	37 ± 2,1*
	Контроль (без серотонина)	<i>Y. pestis</i> EV	5	Нет роста	10 ± 1,2
Почва (10^4 м.к. <i>Y. pestis</i> на 1 г почвы)	Внесение в почвенную суспензию	<i>Y. pestis</i> EV	5	2 ± 0,8*	20 ± 1,5*
	Нанесение на поверхность агаровых пластин	<i>Y. pestis</i> EV	5	3 ± 0,6*	18 ± 2,3*
	Контроль (без серотонина)	<i>Y. pestis</i> EV	5	Нет роста	6 ± 0,8

* Достоверность различий опытных проб с серотонином от проб без серотонина (p<0,05).

При исследовании контаминированного сопутствующей микрофлорой материала, в первую очередь объектов внешней среды и, особенно, при малом содержании в нем чумного микроба, наблюдается, как правило, поздняя визуализация колоний *Y. pestis* (через 48–96 ч). На примере искусственно инфицированной *Y. pestis* природной почвы, нами установлено, что обработка серотонином перед посевом либо исследуемого материала, либо агаровых пластин позволяет значительно сократить (до 24 ч) сроки биологического накопления возбудителя чумы и увеличить в 3–5 раз число КОЕ чумного микроба. С применением серотонина нами разработан способ выделения чумного микроба бактериологическим методом из исследуемого материала (заявка на патент № 2007142840, приоритет от 19.11.2007), который не требует больших материальных затрат и дорогостоящего оборудования, легко воспроизводим и может быть реализован как в стационарных, так и полевых условиях.

По данным Н.В.Брневой и соавт. [1] адаптация *Y. pestis* к длительному персистированию в окружающей среде выражается в образовании некультивируемых форм (НФ). В эксперименте для реверсии НФ чумного микроба в вегетативную форму ими был использован метод, основанный на добавлении в бульон Хоттингера и казеиново-дрожжевой агар 10 % фетальной сыворотки, которая также является обязательным стимулирующим пролиферацию компонентом среды для культивирования эукариотических клеток. Зарубежными исследователями установлено, что 10 % фетальной сыворотки, добавляемой в сре-

ду для культивирования клеток, содержит $2,4 \cdot 10^{-6}$ М серотонина, способного к проявлению своих модулирующих свойств, а его селективное удаление приводит к их ингибированию [15]. В этой связи разработанный нами способ имеет перспективу применения для выделения некультивируемых форм *Y. pestis*.

Механизм действия серотонина на чумной микроб не изучен. С. Helene *et al.* [8] с использованием протонно-магнитного резонанса, физико-химических и стереохимических методов показана способность серотонина комплексоваться с ДНК, выделенной из эукариотических (тимус телят) и прокариотических (*Micrococcus lysodeikticus*) клеток. Вследствие связывания индольного кольца серотонина с основаниями ДНК происходит изменение конформационной структуры последней. Установлена связь биогенного амина серотонина с субклеточными структурами, в частности с митохондриями, и функционально важными компонентами клетки (АТФ, белками, липидами) [4]. Все это свидетельствует о возможности непосредственного влияния серотонина на систему регуляции микробного метаболизма, в том числе синтез ДНК.

Нами обнаружено, что обработка взвеси клеток *Y. pestis* EV серотонином в конечной концентрации 10^{-5} М в течение 30 мин при комнатной температуре приводит к достоверному двукратному увеличению доли клеток с повышенным содержанием ДНК, регистрируемой методом проточной цитометрии (рис. 1). Ранее А.В.Олескиным и соавт. было отмечено, что ростостимулирующий эффект серотонина на *E. coli*, *Rsp. rubrum* не зависел от того, добавляли ли серо-



Рис. 1. Влияние серотонина на характер распределения *Y. pestis* EV по клеточному циклу

А – распределение клеток *Y. pestis* EV без обработки бактериальной взвеси серотином; Б – распределение клеток *Y. pestis* EV с обработкой бактериальной взвеси 10^{-5} М серотонина

тонин однократно в момент посева культуры или вносили многократно [5]. По-видимому, биогенный амин серотонин действует на определенный «пусковой механизм», инициируемый на ранней стадии развития культуры.

Следующим этапом наших исследований явилось сравнительное изучение электрофоретических профилей белков лизатов клеток *Y. pestis* EV НИИЭГ, выращенных при 28 °С в течение 24 ч на агаре Хоттингера, агаре Хоттингера с лизированной кровью как с предварительной обработкой серотином агаровых пластин, так и без нее. Обнаружено, что культивирование *Y. pestis* EV на агаре Хоттингера, обработанном 10^{-5} М серотонина, приводило почти к исчезновению на тестируемых протеинограммах мажорного белка с молекулярной массой 22 кДа, выявляемого в лизатах культур *Y. pestis* EV, выращенных на этой же среде, но без серотонина (рис. 2). Присутствие серотонина в среде культивирования также индуцировало значительное снижение синтеза полипептидов с молекулярными массами 34–35 и 70–72 кДа. Следует отметить близкое сходство электрофоретических профилей белков лизатов культур *Y. pestis* EV, выращенных на агаре Хоттингера с серотином и на агаре Хоттингера с лизированной кровью без серотонина, что очевидно обусловлено присутствием в препаратах лизированной крови серотонина в связи с высвобождением его из разрушенных тромбоцитов. Обработка серотином агара Хоттингера с лизированной кровью приводила через 24 ч культивирования к еще более выраженным изменениям на протеинограммах лизатов культур *Y. pestis* EV. Так, большинство выявляемых на предыдущих электрофореграммах мажорных белков, в настоящей обнаруживались в виде минорных полос. Регистрировалось выраженное снижение продукции полипептидов с молекулярными массами 23–24, 34–35, 45, 55, 70–72 кДа.

Согласно исследованиям С.П.Задновой [3], выделенный из клеток штамма *Y. pestis* EV белок с молекулярной массой 22 кДа принимает участие в формировании поверхностного заряда клеток, проявлении адгезивных свойств и рассматривается как

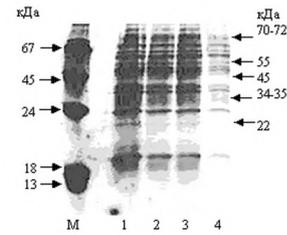


Рис. 2. Электрофореграмма цельноклеточных лизатов клеток *Y. pestis* EV, выращенных при 28 °С в течение 24 ч

М – маркеры (белки с известной молекулярной массой); 1 – бактерии выращены на агаре Хоттингера; 2 – бактерии выращены на агаре Хоттингера с серотином; 3 – бактерии выращены на агаре Хоттингера с лизированной кровью; 4 – бактерии выращены на агаре Хоттингера с лизированной кровью и серотином

дополнительный фактор, обеспечивающий контакт патогена с клетками макроорганизма. Утрата полипептида 22 кДа клетками *Y. pestis* EV ведет к снижению захвата и поглощения их макрофагами, обуславливает картину незавершенного фагоцитоза. Выявленный нами ингибирующий эффект серотонина на синтез полипептида с молекулярной массой 22 кДа имеет, по-видимому, немаловажное значение для адаптации и реализации патогенного потенциала чумного микроба на начальных этапах инфекционного процесса.

Не исключено также, что данный эффект может быть реализован в условиях биопленки *Y. pestis* в блохах, так как клетки чумного микроба, выделенные из биопленки, обладают повышенной резистентностью к фагоцитозу полиморфноядерными лейкоцитами крови человека именно на стадии захвата, а внеклеточный матрикс, образующий оболочку биопленки *Y. pestis*, включает форменные элементы поглощенной блохой крови [9], в состав которых входят тромбоциты, депонирующие серотонин. Вследствие разрушения и агрегации тромбоцитов происходит высвобождение серотонина, способного к реализации своего модулирующего действия. В пользу выдвинутого предположения свидетельствует также факт отсутствия продукции чумным микробом при нахождении в блохе таких антифагоцитарных факторов, как капсульный антиген F1 и секретлируемые белки Yop [9].

Таким образом, полученные в результате проведенных исследований новые сведения о влиянии серотонина на рост и электрофоретический профиль белков чумного микроба свидетельствуют о реальной возможности использования возбудителем чумы в качестве триггера ускоренного развития биогенного амина серотонина, являющегося компонентом микроокружения в месте входных ворот чумной инфекции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бренева Н.В., Марамович А.С., Климов В.Т. Клональная структура популяций *Yersinia pestis* в экспериментальных почвенных экосистемах. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2007; 1:12–6.

2. Бурлакова Е.Б., Губарева А.Е., Архитова Г.В., Рогинский В.А. Модуляция перекисного окисления липидов биогенными аминами в модельных системах. *Вопр. мед. химии*. 1992; 2:17–20.
3. Заднова С.П. Влияние полипептида с молекулярной массой 22 кД на свойства клеточной поверхности штаммов возбудителей чумы [автореф. дис. ... канд. биол. наук]. Саратов; 1998. 20 с.
4. Ноздрачев А.Д., Пушкарёв Ю.П. Характеристика медиаторных превращений. Л.: Наука; 1980. 230 с.
5. Олескин А.В., Кировская Т.А., Ботвинко И.В., Лысак Л.В. Действие серотонина (5-окситриптамина) на рост и дифференциацию микроорганизмов. *Микробиология*. 1998; 67(3):305–12.
6. Пинчук Л.М. Молекулярная мимикрия как фактор патогенности микроорганизмов. *Усп. совр. биологии*. 1992; 1129(2):225–37.
7. Шуковская Т.Н., Назарова Л.С., Тараненко Т.М. Модуляция биогенными аминами колониеобразующей функции стволовых кроветворных клеток в условиях иммунизации капсульным антигеном (Ф1) чумного микроба. *Пробл. особо опасных инф.* 1999; 79:131–7.
8. Helene C., Dimicoli J. L., Brun F. Binding of tryptamine and 5-hydroxytryptamine (serotonin) to nucleic acids. Fluorescence and proton magnetic resonance studies. *Biochemistry*. 1971; 10(20):3802–09.
9. Jarret C.O., Deak E., Ishewood K.E., et al. Transmission of *Yersinia pestis* from an infectious biofilm in the flea vector. *J. Infect. Dis.* 2004; 190(4):783–92.
10. Korsukov V.N., Shchukovskaya T.N., Kravtsov A.L., Popov Yu. A. The application of the flow cytometry for determination of DNA amount in *Yersinia pestis* cells under the influence of serotonin (5-hydroxytryptamine). *Proc. SPIE*. 2002; 4707:337–42.
11. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970; 227(15):680–5.
12. Lyte M. Microbial endocrinology and infectious disease in the 21 st century. *Trends Microbiol.* 2004; 12(1):14–20.
13. Munoz-Bellido J.L., Munoz-Griado S., Garcia-Rodriguez J.A. Antimicrobial activity of psychotropic drugs: selective serotonin

- reuptake inhibitors. *Int. J. Antimicrob Agents*. 2000; 14(3):177–80.
14. Steen H.B., Boye E. *Escherichia coli* growth studied by dual-parameter flow cytometry. *J. Bacteriol.* 1981; 145(2):1091–94.
15. Sternberg E.M., Trial J., Parker C.W. Effect of serotonin on murine macrophages: suppression of Ia expression by serotonin and its reversal by 5-HT₂ serotonergic receptor antagonists. *J. Immunol.* 1986; 137(1):276–82.
16. Visidou I., Lyte M., van Diemen P.M., Hawes P., Monaghan P., Wallis T.S., Stevens M.P. The Neuroendocrine Stress Hormone Norepinephrine Augments *Escherichia coli* O157:H7-Induced Enteritis and Adherence in a Bovine Ligated Ileal Loop Model of Infection. *Infect. Immun.* 2004; 72(9):5446–51.

T.N.Schukovskaya, S.N.Klueva, A.L.Kravtsov, O.A.Volokh,
Yu.A.Aleoshina, V.V.Kutyrev

Influence of Serotonin Biogenic Amine on Plague Microbe Growth and Profile of its Proteins in Conditions of Cultivation on Solid Mediums

Russian Anti-Plague Research Institute "Microbe", Saratov

New data on stimulating effect of serotonin biogenic amine on the growth of plague microbe were obtained. A new method for *Yersinia pestis* isolation from material under consideration, contaminated with concomitant microflora, including environmental objects, by means of bacteriologic method was worked out using serotonin. This method allows reducing the periods of biological accumulation of plague etiological agent down to 24 hours, and increasing the number of colony-forming units (CFU) of plague microbe. Serotonin inhibitory effect to the synthesis of polypeptide with molecular mass of 22 kD was recognized in conditions of cultivating on Hottinger's agar (pH 7.2) at 28 °C during 24 hours.

Key words: *Y. pestis*, serotonin, environmental objects, growth, electrophoretic profile of proteins.

Поступила 22.02.08.

ИММУНОЛОГИЯ, БИОТЕХНОЛОГИЯ, ДИАГНОСТИКА

УДК 616.981.51:616-097

В.Ю.Долматов¹, А.В.Дробкова¹, А.Г.Лютюв³, О.В.Мальцева¹, А.Н.Шевцов², Д.В.Боровской²,
Г.Д.Елагин², М.В.Карпова¹, О.А.Вершинина¹, Е.А.Блинова¹, С.Л.Шарыгин¹

ВОЗМОЖНОСТЬ ПОЛУЧЕНИЯ ПРОТИВОСИБИРЕЯЗВЕННОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ

¹ФГУ «Кировский НИИ гематологии и переливания крови Росмедтехнологий»;

²ФГУ 48 ЦНИИ Минобороны РФ; ³ЗАО «Иммуно-Гем», Киров

Впервые из плазмы крови доноров, иммунизированных комбинированной сибиреязвенной вакциной, получен специфический иммуноглобулин, удовлетворяющий нормам качества, предъявляемым к внутривенным иммуноглобулинам, и содержащий антитела к протективному антигену *Bacillus anthracis* в титре 1:1600 – 1:3200. Лечебная и профилактическая эффективность экспериментально-производственных серий препарата показана в экспериментах на животных.

Ключевые слова: сибирская язва, профилактика, иммуноглобулин человека.

Сибирская язва – особо опасное зоонозное антропоургическое инфекционное заболевание, вызываемое спорообразующей бактерией *Bacillus anthracis*. Она может возникнуть у человека после контакта с зараженным животным, его трупом или с контаминированной спорами сибирской язвы почвой. Возможно заражение человека воздушно-пылевым путем [9]. По мнению ряда ученых, возбудитель сибирской язвы является одним из наиболее вероятных агентов биологического оружия из-за способности

спор этого возбудителя проникать через дыхательные пути, высокой смертности при легочной форме сибирской язвы и стабильности спор во внешней среде [3, 7]. Угроза применения сибиреязвенного микроба в споровой форме в качестве средства биотерроризма нашла практическое воплощение в 2001 г. на территории США [15].

Эффективность комплексной терапии больных сибирской язвой, особенно легочной формой болезни, несмотря на применение современных лекарственных