

Н.В.Сахно

**ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ СИСТЕМА «ЛИЗОЦИМ-АНТИЛИЗОЦИМ»
ВО ВЗАИМОТНОШЕНИЯХ ОРГАНИЗМА БЛОХ И ВОЗБУДИТЕЛЯ ЧУМЫ**

ФГУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь

Показано, что одним из факторов естественной неспецифической защиты у блох является лизоцим. Лизоцим обнаружен у разных видов блох грызунов. Наряду с этим доказана антилизоцимная активность некоторых штаммов возбудителя чумы.

Ключевые слова: блоха, возбудитель чумы, лизоцим, антилизоцимная активность.

В настоящее время все более актуальным является накопление фундаментальных знаний, выявляющих эволюционно сложившиеся взаимоотношения возбудителей природно-очаговых болезней с беспозвоночными хозяевами в определенных условиях среды. Наиболее ярким отражением совместного функционирования системы «паразит-хозяин» являются свойства самого паразита, обеспечивающие его существование в пространстве и времени в конкретных популяциях и условиях.

В связи с избирательной выживаемостью возбудителя чумы в организме отдельных видов блох, вплоть до образования блока, практически неизученным является значение универсальной системы «лизоцим-антилизоцим» во взаимодействии чумного микроба и переносчика.

Несомненно, важным моментом во взаимоотношениях чумного микроба с организмом членистоногих переносчиков является влияние организма блохи на бактерии чумы.

Уже в первые часы после заражения блох чумой в желудочно-кишечном тракте происходит значительное отмирание бактерий. Их число уменьшается в 100–1000 раз [1]. Предполагается, что снижение числа микробных клеток возникает под воздействием «бактерицидного вещества» неизвестной природы, возможно и под воздействием лизоцима [2, 5, 7].

В последние два десятилетия все больше привлекает внимание во взаимоотношении бактериальных патогенов и организма животного не только факторы «нападения» паразита, но и факторы «обороны» у патогенов [3].

Установлено, что бактериальные клетки патогенов в ответ на воздействие неспецифических факторов защиты организма (лизоцим, комплимент, интерферон и др.) вырабатывают факторы, инактивирующие защиту хозяина, проявляя антилизоцимную активность.

Предполагается, что именно этот набор факторов срабатывает как дистанционный механизм бактериального уклонения и способствует длительному выживанию патогенных и условно-патогенных бактерий.

Е.Н.Павловский [6] указывал, что правильное понимание взаимоотношения возбудителей болезней теплокровных с организмом членистоногих переносчиков имеет принципиальное значение для решения многих сложных вопросов в явлении природной очаговости болезней.

Материалы и методы

Нами изучено содержание лизоцима в желудочно-кишечном тракте и гомогенате пивших блох 11 видов, выращенных в условиях инсектария лаборатории медицинской паразитологии ФГУЗ СтавНИПЧИ: *Ctenophthalmus wagneri* Tiff., *C. golovi* Ioff et Tifl., *C. secundus* Wagn., *C. orientalis* Wagn., *Frontopsylla luculenta* J. et R., *Citellophilus tesguorum* Wagn., *Nosopsyllus consimilis* Wagn., *N. mokrzeckyi* Wagn., *N. fasciatus* Bosc., *N. laeviceps* Wagn., *Xenopsylla cheopis* Roths.

На твердую питательную среду (агар Хоттингера, pH 7,2–7,4) в чашках Петри, засеянных индикаторной культурой *Micrococcus lysodeikticus* 2665 после суточного роста, бактериальной петлей наносили эмульсию, приготовленную в капле 0,9 % раствора натрия хлорида из 1 особи при индивидуальном исследовании, из 50 особей при групповом исследовании, а также из желудочно-кишечных трактов пивших блох. Контролем служили посеы индикаторного штамма бактерий, на которые наносили петлей лизоцим куриного белка. Учет результатов проводили через 24 ч после содержания посевов в термостате при температуре 37 °С. Результат считали положительным, если на месте нанесения капли эмульсии из блох на газоне с *M. lysodeikticus* наблюдали четкие зоны лизиса, сравнимые с контролем.

Также нами изучена антилизоцимная активность шести штаммов чумного микроба, взятых из коллекционного центра института: С-781 (37 КБ), С-775 (9КБ), 461 (231), штамм 4; С-659 (1238-Арм) и вакцинный штамм EV.

Антилизоцимную активность определяли по методу О.В.Бухарина и др. [4]. Количественную оценку антилизоцимной активности штамма проводили по

Определение лизоцима в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) и суспензиях блох разных видов

Вид блохи	Индивидуальное исследование блох		Групповое исследование блох		Групповое исследование ЖКТ	
	Число исследованных блох	Из них с положительным результатом	Число (объем) исследованных групп	Из них с положительным результатом	Число (объем) исследованных групп	Из них с положительным результатом
<i>C. wagneri</i>	50	12	Не исследовали		Не исследовали	
<i>C. secundus</i>	50	1	Не исследовали		Не исследовали	
<i>C. golovi</i>	50	6	Не исследовали		2(150)	2
<i>C. orientalis</i>	50	-	4(50)	2	2(200)	1
<i>F. luculenta</i>	50	-	4(50)	3	Не исследовали	
<i>N. consimilis</i>	50	-	4(50)	4	2(200)	1
<i>N. mokrzecky</i>	50	-	2(100)	1	2(150)	2
<i>N. fasciatus</i>	50	-	4(50)	4	2(150)	1
<i>N. laeviceps</i>	50	-	2(100)	1	2(150)	2
<i>C. tesquorum</i>	50	-	2(100)	2	2(150)	2
<i>X. cheopis</i>	50	-	4(50)	3	2(200)	1

максимальной концентрации лизоцима в чашке, которая инактивировалась данным штаммом.

Результаты и обсуждение

Установлено, что при индивидуальном исследовании имаго блох 11 видов лизоцим обнаружили только у паразитов трех видов: *C. secundus*, *C. golovi*, *C. wagneri*, которые быстро освобождаются от возбудителя чумы при их искусственном заражении. Из восьми видов насекомых, у которых лизоцим не обнаружили при индивидуальном исследовании, при групповом изучении (по 50 особей) его выявили у блох пяти видов: *Ct. orientalis*, *F. luculenta*, *N. consimilis*, *N. fasciatus*, *X. cheopis*. При приготовлении эмульсии из 100 особей – у паразитов трех видов: *N. mokrzecky*, *N. laeviceps*, *C. tesquorum* (таблица).

Полученные результаты позволяют считать, что у насекомых этих видов вероятно содержание лизоцима понижено или ему свойственна более низкая бактерицидная активность.

При исследовании желудочно-кишечного тракта пивших блох лизоцим обнаружен у восьми видов (таблица), причем у трех *N. consimilis*, *C. orientalis*, *X. cheopis* лизоцим выделен только при растирании 200 желудков. Можно предположить, что лизоцим *C. orientalis* активируется в желудочно-кишечном тракте при заражении блохи возбудителем чумы.

При отсутствии специфических гуморальных факторов иммунитета одним из показателей естественной неспецифической защиты у эктопаразитов является лизоцим. Таким образом, степень активности лизоцима у блох разных видов определяет их различие во взаимоотношениях с возбудителями болезней, в том числе и с микробом чумы (*Yersinia pestis*). Содержание лизоцима у блох *N. mokrzecky*, *N. laeviceps*, *C. tesquorum* свидетельствуют об относительно слабой их защите от возбудителя, что определяет способность этих эктопаразитов передавать микроб чумы в естественных условиях.

Антилизоцимная активность (АЛ) обнаружена у трех из изученных штаммов чумного микроба: 461, 659 и EV.

АЛ обладают штаммы с высокой вирулентностью: 461, 659 и вакцинный EV. Они инактивировали лизоцим в концентрации 10 мкг/мл. Штаммы 4, 9 и 37 давали небольшой лизис *M. lysodeikticus* при той же концентрации. Можно предположить, что они также обладают АЛ, но при более низкой концентрации лизоцима в опыте.

Нами установлено, что возбудитель чумы обладает АЛ, и это является одним из важнейших факторов, обуславливающих персистенцию чумного микроба в организме блохи.

Основываясь на полученных нами результатах и на данных других авторов [5], мы считаем, что лизоцим, определяя меру антибактериальной защиты насекомого, в организме переносчиков может регулировать механизм передачи возбудителя чумы, обуславливая блокирование, возможно, снижать эффективность данного кровососа как переносчика.

Таким образом, полученные данные имеют важное значение для понимания взаимоотношений патогенных для человека и животных возбудителей с их переносчиками. Есть также основания предполагать, что степень активности лизоцима у разных видов блох определяется их различие во взаимоотношениях с возбудителем чумы и в способности его передачи от животного к животному в природе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеев А.Н., Бибилова В.А., Хрущевская Н.М. Наблюдения за питанием блох в условиях принудительного кормления через капилляр возбудителем чумы. Паразитология. 1968; 2(2):115–23.
2. Алексеев А.Н., Бибилова В.А., Хрущевская Н.М. Некоторые доказательства существования бактерицидного фактора в организме кровососов на примере блох – переносчиков чумы. Паразитология. 1969; 3(3):228–35.
3. Бухарин О.В. Персистенция патогенных бактерий. М.: Медицина; 1999. 277 с.
4. Бухарин О.В., Усвяцов Б.Я., Малышкин А.П., Немцева

N.V.Sakhno

Functional System of "Lysozyme and Anti-Lysozyme" in Plague Agent and Flea Organism Interrelations*Stavropol Anti-Plague Research Institute*

Lysozyme is shown to be one of the factors of flea's natural non-specific resistance. Lysozyme is detected in various species of rodents fleas. Besides, some plague agent strains are shown to possess anti-lysozyme activity.

Key words: flea, plague agent, lysozyme, anti-lysozyme activity.

Authors:

Sakhno N.V. Stavropol Anti-Plague Research Institute. 355035, Stavropol, Sovetskaya St., 13-15. E-mail: admnip@mail.stv.ru

Поступила 09.04.09.

H.V. Метод определения антилизозимной активности микроорганизмов. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 1984; 2:27-8.

5. *Козлов М.П., Савельев В.Н., Надеина В.П.* О природе бактерицидных факторов у личинок и имаго блох. Пробл. особо опасных инф. 1977; 2(54):52-5.

6. *Павловский Е.Н.* Условия и факторы становления организма хозяином паразита в процессе эволюции. Зоол. журн. 1946; 4(25):284-304.

7. *Соколова Н.М.* Выделение от эктопаразитов лизирующего вещества, симулирующего чумной бактериофаг. Труды института «Микроб». Саратов; 1959; 3:93-7.

Об авторах:

Сахно Н.В. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13-15. Тел.: (8652) 26-03-12. E-mail: admnip@mail.stv.ru