

Харсеева Г. Г., Алиева А. А., Лабушкина А. В.

**АДГЕЗИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ШТАММОВ
*CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE***

*Ростовский государственный медицинский университет,
г. Ростов-на-Дону, Россия*

Адгезия играет важнейшую роль в колонизации возбудителем слизистой оболочки зева, лежащей в основе здорового бактерионосительства, без искоренения которого невозможна полная ликвидация дифтерии [1]. В связи с этим, способность к адгезии рассматривается как один из ведущих факторов патогенности *Corynebacterium diphtheriae* [2]. Процесс адгезии *C. diphtheriae* играет важнейшую роль в колонизации возбудителем слизистой оболочки зева, что является необходимым условием для дальнейшего развития инфекционного процесса [1]. Различная способность токсигенных штаммов *C. diphtheriae* к адгезии и инвазии обусловлена поверхностными структурами бактериальной клетки: пили (фимбрии), белок 67–72p или *DIP0733*, белок *DIP1281*, *CdiLAM* (липоарабиноманнан) [3, 4, 5].

Целью исследования явилась оценка адгезивных свойств токсигенных штаммов *C. diphtheriae*.

Материалы и методы

Исследованы адгезивные свойства штаммов *C. diphtheriae gravis tox+* № 665, *C. diphtheriae gravis tox+* № 6765, *C. diphtheriae mitis tox+* № 269, полученных из ГИСК им. Л. А. Тарасевича; штамм *C. diphtheriae gravis* № 167 (с молчащим геном токсигенности), выделенный при профилактическом осмотре населения (ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии по Ростовской области» г. Ростова-на-Дону); штамм *C. diphtheriae gravis tox+* (циркулирующий), выделенный от больного дифтерией (ФГУ «1002 ЦГСН СКВО» г. Ростов-на-Дону).

Для определения адгезивных свойств [2] в лунки планшета вносили по 10^5 клеток/мл культуры Нер-2. Через сутки проводили визуальный контроль образования разреженного монослоя культуры клеток Нер-2 на дне лунок планшета с помощью инвертированного микроскопа. Культуру клеток Нер-2, адсорбированную в лунках планшета, трижды отмывали раствором Хенкса в объеме 1 мл в каждую лунку. После этого в лунки вносили по 1 мл взвеси дифтерийных микробов в концентрации 10^6 КОЕ/мл и культивировали при температуре $+37\text{ }^\circ\text{C}$ при экспозициях 2, 8 и 18 часов. Затем из лунок удаляли надосадочную жидкость и дважды промывали раствором Хенкса. Монослой культуры клеток Нер-2 смывали со дна лунок 0,25 % раствором трипсина в течение 3 минут, после чего трипсин удаляли. В лунки с культурой клеток Нер-2 добавляли раствор Хенкса в объеме 1,0 мл. Полученную взвесь высевали на чашки с 20 % сывороточным агаром, культивировали при $+37\text{ }^\circ\text{C}$ 18 часов, после чего производили подсчет среднего количества колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 мл.

Результаты и обсуждение

После двух часов культивирования (рис.) все штаммы проявили адгезивную активность, выраженную в разной степени (от 3 до 26 КОЕ). К 8 часу культивирования адгезивность штаммов коринебактерий увеличилась в 100–200 раз, к 18 часу — в 200–300 раз. Достоверное увеличение показателей адгезии к 8 и 18 часу культивирования наблюдали у всех исследованных штаммов, за исключением штамма *C. diphtheriae mitis tox+* № 269. Это может быть связано с тем, что *C. diphtheriae gravis*, играющие основную роль в возникновении вспышек дифтерии, отличаются от *C. diphtheriae mitis* по структуре поверхностных антигенов и, как следствие, способности к адгезии и колонизации фарингеального эпителия.

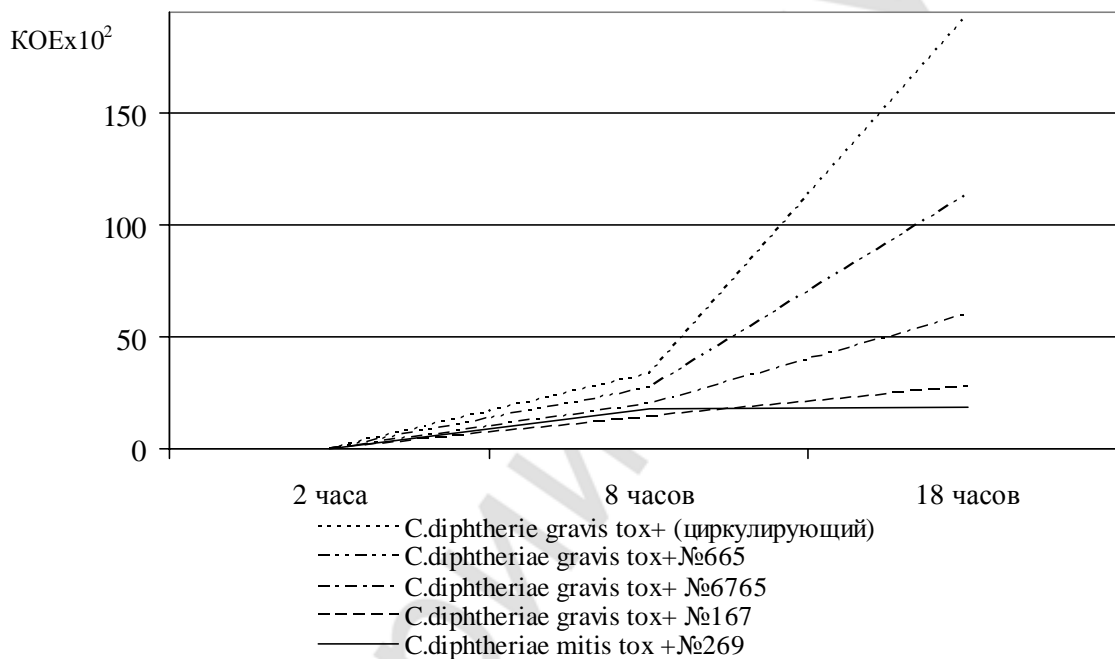


Рис. Адгезивные свойства штаммов *C. diphtheriae* при различных экспозициях

Наибольшей адгезивной активностью при всех экспозициях (2, 8 и 18 часов) обладал циркулирующий штамм *C. diphtheriae gravis tox+* (26,0 КОЕ, 33,3 КОЕ и 193,3 КОЕ соответственно). Это явилось свидетельством того, что адаптационные возможности циркулирующего в популяции штамма возбудителя дифтерии выше, чем у музейных. Следует отметить, что к 18 часу культивирования наименее выраженными адгезивными свойствами обладали штаммы *C. diphtheriae gravis* № 167 (с молчащим геном токсигенности) и *C. diphtheriae mitis tox+* № 269. Способность к адгезии, по-видимому, связана не только с принадлежностью коринебактерий к тому или иному биовару, но и способностью продуцировать токсин.

Выводы:

1. Наиболее высокой адгезивной активностью при всех исследованных экспозициях (2, 8 и 18 часов) обладал штамм *C. diphtheriae gravis tox+*, выделенный от больного дифтерией.
2. Различия в адгезивной активности штаммов *C. diphtheriae* наиболее четко проявлялись при поздних сроках культивирования (18 часов) в культуре клеток Нер-2.

ЛИТЕРАТУРА

1. Костюкова, Н. Н. Уроки дифтерии / Н. Н. Костюкова // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 1999. № 2. С. 92–96.
2. Ott, L. Strain-specific differences in pili formation and the interaction of *Corynebacterium diphtheriae* with host cells / L. Ott, M. Höller, J. Rheinlaender // BMC Microbiology. 2010. № 10. P. 257.

3. Харсеева, Г. Г. Адгезия *Corynebacterium diphtheriae* : роль поверхностных структур и механизм формирования / Г. Г. Харсеева, А. А. Алиева // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2014. № 4. С. 109–117.

4. Ott, L. *Corynebacterium diphtheriae* invasion-associated protein (DIP1281) is involved in cell surface organization, adhesion and internalization in epithelial cells / L. Ott, M. Höller // BMC Microbiology. 2010. № 10. P. 2.

5. Sabbadini, P. S. *Corynebacterium diphtheriae* 67–72p hemagglutinin, characterized as the protein DIP0733, contributes to invasion and induction of apoptosis in Hep-2 cells / P. S. Sabbadini, M. C. Assis, E. Trost // Microbial Pathogenesis. 2012. № 52 (3). P. 165–176.

Kharseyeva G. G., Alieva A. A., Labushkina A. V.

Adhesive activity of *Corynebacterium diphtheriae* strains

Adhesive properties of toxigenic *C. diphtheriae* strains on the Hep-2 cell culture were studied. The highest adhesive activity was demonstrated by the *C. diphtheriae gravis tox+* strain isolated from a diphtheriae patient. The differences in the adhesive activity of *C. diphtheriae* strains were manifested most clearly during late (18 hours) period of cultivation.