УДК 579

Л.Ф. Миңнуллина, А.М. Мәрданова

MORGANELLA MORGANII БАКТЕРИЯЛӘРНЕҢ ГЕМОЛИТИК АКТИВЛЫГЫ

Статья посвящена сравнительному анализу гемолитической активности клинических изолятов *Morganella morganii*, выделенных из мочи амбулаторных больных с инфекциями мочевыводящих путей. Показано, что разные изоляты *M. morganii* различаются по степени гемолитической активности. Выявлено влияние состава питательной среды на синтез гемолизинов и изучена динамика их накопления в среде культивирования.

Ключевые слова: *Morganella morganii,* инфекции мочевыводящих путей, факторы вирулентности, гемолиз.

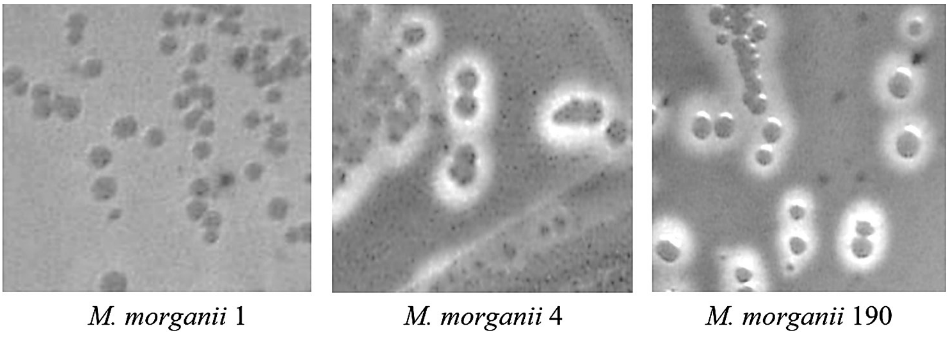
Enterobacteriaceae семьялыгына караучы *Morganella morganii* бактерияләре кешеләр һәм имезүче хайваннарның юан эчәклегендә очрый [Kim *et al.,* 2007]. Әмма, шул ук вакытта, әлеге микроорганизмнар киң спектрдагы оппортунистик инфекцияләр сәбәпчесе дә булырга мөмкин [Williams *et al.,* 1983; Atalay *et al.,* 2010]. Оппортунистик инфекцияләр дип шартлы патоген микроорганизмнар китереп чыгарган авыруларны атыйлар. *M. morganii* иммун системасы зәгыйфьләнгән кешеләрдә бәвел юллары, сепсис, яра инфекцияләре һәм башка төрле авырулар китереп чыгарырга сәләтле [Tucci, Isenberg, 1981; Chen *et al.,* 2012]. Шуңа да карамастан, *M. morganii* бактерияләренең вирулентлык факторлары әлеге көнгәчә җитәрлек дәрәҗәдә өйрәнелмәгән.

Шартлы патоген бактерияләрнең инфекция кузгата алу сәләте турыдан-туры вирулентлык факторларына бәйле. Әлеге факторларга эукариотик организмда исән калырга һәм үрчергә ярдәм итүче матдәләрне кертәләр (токсиннар, адгезиннар, эукариотик күзәнәккә үтеп керергә һәм иммун системасыннан «качарга» ярдәм итүче матдәләр) [Бухарин и др., 2005]. Статистика мәгълүматларына караганда, *M. morganii* клиник изолятларының яртысыннан артыгы гемолитик активлыкка ия, ягъни эритроцитларны таркатырга сәләтле [Chen et al., 2012]. Гемолитик активлык PFT (pore-forming toxins) төркеменә караган экзотоксиннар (гемолизиннар) синтезы белән бәйле. PFTларның төп функциясе булып эукариотик күзәнәк мембраналарын җәрәхәтләү тора: плазматик мембранасы җәрәхәтләнгән күзәнәк тиз арада туклыклы матдәләр һәм ионнарын югалта, һәм үлемгә дучар була. Моннан тыш, PFTларның эшчәнлеге бактериаль аксымнарның эукариотик күзәнәккә үтеп керүен һәм фагосомаларга эләккән бактерияләрнең цитоплазмага чыгуын тәэмин итә ала [Linhartová *et al.,* 2010], ә цитоплазмага чыккан бактерияләр

исә, үрчеп, соңрак күзәнәкнең үлеменә китерә. Фәнни әдәбият мәгълүматларына караганда, PFT геннарында мутацияләр булган бактерияләр өлешчә яисә тулысынча вирулентлыкларын югалта, шунлыктан әлеге аксымнар антибактериаль терапия өчен яңа мишень буларак каралырга мөмкин [Los et al., 2013]. Безнең эшебез исә Казан шәһәрендә бүлеп алынган *M. morganii* клиник изолятларының гемолитик активлыгын тикшерүгә багышланды.

Тикшеренү эшендә кулланылган *M. morganii* изолятлары Казан шәһәренең «Биомед» дәвалау-диагностика үзәге тарафыннан амбулатор авыруларның бәвеленнән бүлеп алынды. Сайланган изолятларның гемолизиннар синтезына сәләтен билгеләү өчен канлы агар (*малай* желе) тирәлеге кулланылды. Әлеге тирәлектә үскәндә, *M. morganii* 4 һәм *M. morganii* 190 штаммнарының колонияләре тирәсендә тирәлекнең төссезләнүе күзәтелде (β- яки чын гемолиз), бу аларның гемолизиннар синтезына сәләтле икәнлеге турында сөйли (1 нче рәс.). Шул ук вакытта, *M. morganii* 1 колонияләре тирәсендә төссезләнү күренеше күзәтелмәде, ләкин тирәлек яшькелт төскә керде. Әлеге күренеш эритроцит мембраналарының структурасы бераз бозылып, гемоглобинның бер өлеше генә тирәлеккә чыгуы белән аңлатыла һәм α- яки тулы булмаган гемолиз дип йөртелә.

Шулай да, канлы агар тирәлеге бактерияләрнең гемолизиннарны күпме күләмдә бүлеп чыгарулары турында мәгълүмат бирә алмый. Әлеге проблеманы чишәр өчен түбәндәге методика кулланыла [Senior, Hughes, 1987]: бактерияләрнең культураль сыекчасын (бактериаль суспензияне центрифугада әйләндергәннән соң утырма өстендә кала торган сыекча; әлеге сыекча секрецияләнә торган бөтен матдәләрне туплый) 1:9 чагыштырмасында 2% лы кеше эритроцитлары суспензиясе белән кушалар һәм 30 мин дәвамында 37 °С температурада тоталар. Центрифугада әйләндерү таркалган эритроцит калдыкларын пробирка төбенә утырырга мәҗбүр итә, ә тирәлеккә чыккан гемоглобин исә өстәге сыекчада кала. Әлеге сыекчаның 540 нм дулкын озынлыгындагы оптик тыгызлыгын (OD, optic



M. morganii 1 *M. morganii* 4 *M. morganii* 190

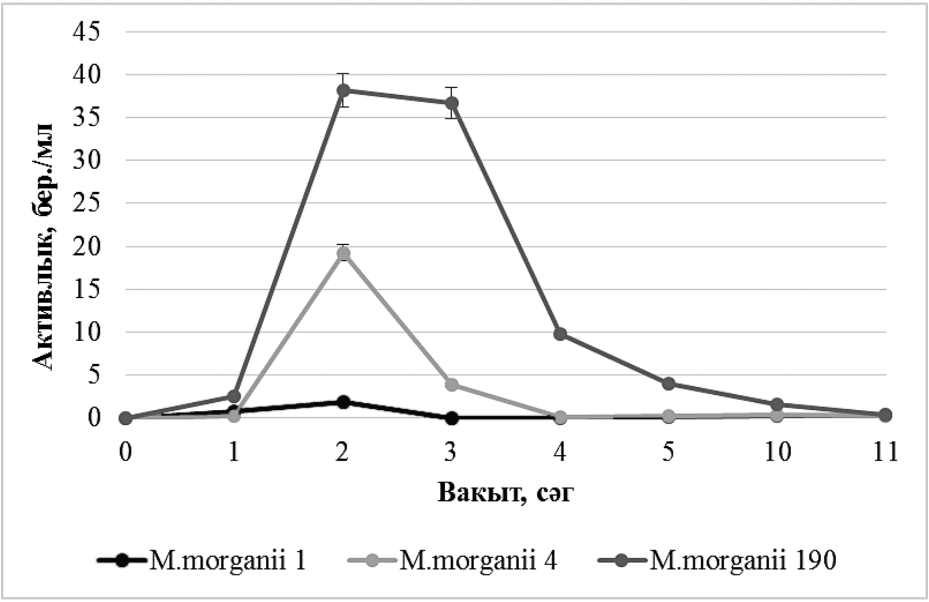
1 нче рәсем. Канлы агар тирәлегендә *M. morganii* изолятларының гемолитик активлыгын билгеләү.

density) үлчәү, бактерияләрнең ни күләмдә гемолизиннар бүлеп чыгаруы турында мәгълүмат бирә ала. Моның өчен түбәндәге махсус формула кулланыла:

Гемолитик активлык (бер./мл) = OD_{540}/(0,01×реакция вакыты (мин)×гемолизин күләме (мл))

M. morganii бактерияләренең гемолизиннарны үсешнең кайсы фазасында синтезлавын билгеләү өчен, LB тирәлегендә үстерелгән төрле сәгатьлек культураларның культураль сыекчасы тикшерелде. Алынган нәтиҗәләргә караганда, барлык штаммнарның да максималь гемолитик активлыгы үсешнең 2нче сәгатенә туры килә (2 нче рәс.). Әмма синтезланган гемолизиннарның күләме буенча штаммнар арасында аермалар шактый зур. Әйтик, *M. morganii* 190 штаммының гемолитик активлыгы 1 мл сыекчага 40 берәмлек тәшкил итсә, *M. morganii* 4 өчен бу күрсәткеч 2 тапкырга кимрәк, ә *M. morganii* 1 штаммының активлыгы гомумән 2 берәмлеккә генә җитә. Рәсемнән күренгәнчә, *M. morganii* 1 штаммы гемолизиннарны үсешнең 2 нче сәгатендә генә бүлеп чыгара, әлеге факт канлы агар тирәлегендә алынган нәтиҗәләр белән яраша һәм штаммның гемолитик активлыгы гаять түбән дәрәҗәдә икәнен күрсәтә. Калган ике штаммнан аермалы буларак, *M. morganii* 190 штаммының гемолитик активлыгы бик әкрен кими, һәм үсешнең 11нче сәгатенә генә билгеләнми башлый.

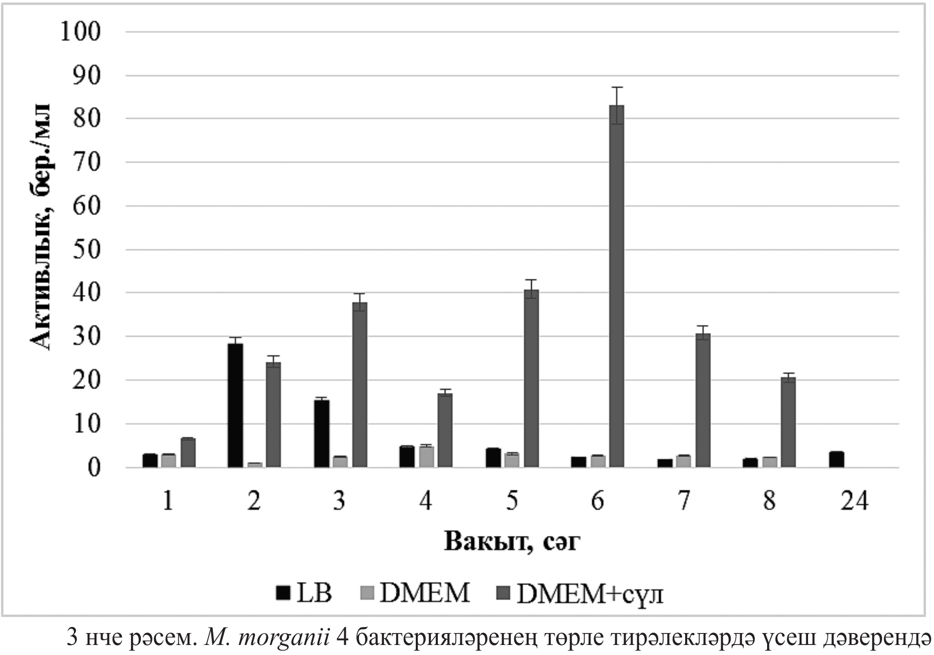
Әүвәл *M. morganii* 1 һәм *M. morganii* 4 штаммнарының HeLa аналык карциномасы күзәнәкләренә (HeLa күзәнәкләре кеше организмына нинди дә булса факторларның тәэсирен өйрәнгәндә модель объект буларак



2 нче рәсем. *M. morganii* штаммнарының төрле үсеш сәгатьләрендә чагыштырма гемолитик активлыгы.

кулланыла) тәэсире өйрәнелгән иде. Алынган нәтиҗәләргә караганда, 10% лы сыер яралгысы сүле (телячья эмбриональная сыворотка)кушылган DMEM тирәлегендә (Dulbecco's Modified Eagle's medium – эукариотик күзәнәкләр үстерүдә кулланыла торган туклыклы тирәлек; аның составына органик булмаган тозлар, аминокислоталар, витаминнар һәм глюкоза керә) үскән *M. organii* 4 бактерияләре HeLa күзәнәкләре катлавының структурасын бозарга сәләтле (мәгълүмат китерелми). Билгеле булганча, эукариотик күзәнәкләр гаять нәзберек, шунлыктан аларны лаборатория шартларында үстерү өчен туклыклы матдәләргә бик бай, организм эчендәге шартларны (*in vivo*) имитацияләргә сәләтле тирәлекләр кулланырга кирәк. Сыер яралгысы сүле бу таләпләргә туры килә, шунлыктан аны төп тирәлеккә өстәмә буларак кулланалар.

M. morganii 4 бактерияләренең төрле тирәлектә үскәндә гемолизиннар синтезлауга сәләте өйрәнелде. Тәҗрибәдә LB, DMEM һәм 10% сыер яралгысы сүле кушылган DMEM тирәлекләре файдаланылды. Бактерияләр 24 сәгать дәвамында, эукариотик күзәнәкләр белән үстергәндәге кебек, 37°С температурада стационар шартларда үстерелде. Сәгать саен һәр варианттан культураль сыекча алынды, соңрак андагы гемолитик активлык билгеләнде. 3 нче рәсемнән күренгәнчә, *M. morganii* 4 бактерияләре гемолизиннарны иң күп сүл кушылган DMEM тирәләгендә, үсешнең 6нчы сәгатендә синтезлый: әлеге ноктада гемолитик активлык якынча 1 мл-га 83 берәмлек тәшкил итә. LB тирәлегендә мак-



3 нче рәсем. *M. morganii* 4 бактерияләренең төрле тирәлекләрдә үсеш дәверендә чагыштырма гемолитик активлыгы.

сималь активлык, алда билгеләнгәнчә, үсешенең 2 сәгатендә күзәтелә, һәм 28 берәмлеккә җитә. Шул ук вакытта, өстәмәләрсез DMEM тирәлегендә гемолитик активлык бөтен үсеш дәверендә 2–4 берәмлектән артмый.

Әлеге нәтиҗәләр сыер ялгысы сүленең гемолизиннар синтезын арттырырга сәләтле булуы турында сөйли. Алда әйтеп киткәнчә, әлеге кушылма *in vivo* шартларын имитацияли, димәк макрорганизм эчендәге шартлар үзләре үк бактерияләрнең вирулентлыклары, аерым алганда, гемолитик активлыклары артуга китерә. Бу бигрәк тә гемолитик бактерияләр кан юлларына эләккәндә җитди проблемалар тудырырга мөмкин.

Шул рәвешле, бәвел үрнәкләреннән бүленгән *M. morganii* бактерияләренең гемолизиннар синтезына сәләте тикшерелде. Алынган нәтиҗәләргә караганда, *M. morganii* клиник изолятларының *in vitro* шартларында күзәтелгән максималь гемолитик активлыгы үсешнең 2 нче сәгатенә туры килә, һәм бу факт фәнни әдәбият мәгълүматлары белән дә яраша [Eberspächer *et al.*, 1990]. Шулай ук, макроорганизм шартларын имитицияләүче факторларның гемолизиннар синтезен арттыруга сәләте күрсәтелде. Бу исә, авыру тудыручы гемолитик бактерияләр белән көрәштә гемолизиннар синтезен яисә эшчәнлеген тоткарлаучы матдәләр куллану перспективасын күрсәтә.

Әдәбият

Бухарин О.В. Гинцбург А.Л., Романова Ю.М. и др. Механизмы выживания бактерий // М.: Медицина, 2005. 367 с.

Atalay H., Güney I., Solak Y., Almaz E. First case of CAPD-related peritonitis caused by *Morganella morganii* // Petit Dial Int. 2010. V. 30 (1). P. 119–121.

Chen Y.T., Peng H.L., Shia W.C., Hsu F.R., Ken C.F., Tsao Y.M., Chen C.H., Liu C.E., Hsieh M.F., Chen H.C., Tang C.Y., Ku T.H. Whole-genome sequencing and identification of *Morganella morganii* KT pathogenicity-related genes // BMC Genomics. 2012. V. 13. 13 (Suppl 7): S. 4.

Eberspächer B., Hugo F., Pohl M., Bhakdi S. Functional similarity between the haemolysins of *Escherichia coli* and *Morganella morganii* // J. Med. Microbiol. 1990. V. 33. P. 165–170.

Kim J.H., Cho C.R., Um T.H., Rhu J.Y., Kim E.S., Jeong J.W., Lee H.R. Morganella morganii sepsis with massive hemolysis // J. Korean Med. Sci. 2007. V. 22 P. 1082–1084.

Linhartová I., Bumba L., Mašín J., Basler M., Osička R., Kamanová J., Procházková K., Adkins I., Hejnová-Holubová J., Sadílková L., Morová J., Sebo P. RTX proteins: a highly diverse family secreted by a common mechanism // FEMS Microbiol. Rev. 2010. V. 34, No. 6. P. 1076–1112.

Los F.C., Randis T.M., Aroian R.V., Ratner A.J. Role of pore-forming toxins in bacterial infectious diseases // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2013. V. 77, No. 2. . 173–207.

Senior B.W., Hughes C. Production and properties of haemolysins from clinical isolates of the *Proteeae* // J. Med. Microbiol. 1987. V. 24. P. 17–25.

Tucci V., Isenberg H.D. Hospital cluster epidemic with *Morganella morganii* // J. Clin. Microbiol. 1981. V. 14, No. 5. P. 563–566.

Williams E.W., Hawkey P.M., Penner J.L., Senior B.W., Barton L.J. Serious nosocomial infection caused by *Morganella morganii* and *Proteus mirabilis* in a cardiac surgery unit // J. Clin. Microbiol. 1983. V. 18, No. 1. P. 5–9.

Мәкалә «2014–2020 елларга Татарстан Республикасы дәүләт телләрен һәм Татарстан Республикасында башка телләрне саклау, өйрәнү һәм үстерү» Дәүләт программасының 3.5.4. номерлы чарасын тормышка ашыру кысаларында нәшер ителә.

***Миңнуллина Ләйлә Фәрваз кызы**,*
Казан федераль университеты аспиранты, Фундаменталь медицина һәм биология институтының кече гыйльми хезмәткәре

***Мәрданова Айслу Миркасыйм кызы**,*
биология фәннәре кандидаты, Казан федераль университетының Фундаменталь медицина һәм биология институты доценты