ՀԱՅԿԱԿԱՆ ԽՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱՅԻ ԶԵԿՈՒՅՑՆԵՐ
ДОКЛАДЫ АКАДЕМИИ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР

Том 89 1989 № 5

УДК: 579.842.:579.253.08

МИКРОБИОЛОГИЯ

Ж. А. Кцоян, Н. Д. Константинова, Н. Н. Саркисян, В. И. Чернов

Морфология и ультраструктура клеток штамма S. derby K 89

(Представлено чл.-корр. АН Армянской ССР К. Г. Карагезяном 10/X 1988)

Известно, что в семействе Enterobacteriaceae бактерии рода Salmonella отличаются большой патогенностью для человека и животных. В настоящее время среди кишечных инфекций у детей раннего возраста самым распространенным инфекционным заболеванием являются сальмонеллезы. Известно также, что за последние годы в распространении внутрибольничных инфекций ведущую роль приобрели грамотрицательные бактерии, чему в немалой степени способствуют характерные для этих микроорганизмов так называемые конъюгативные R-факторы, придающие клеткам устойчивость к различного рода антибиотикам. Обнаружение R-плазмид объясняет ряд чрезвычайно важных в медицинском отношении характеристик патогенных и условно-патогенных бактерий, затрудняющих эффективное лечение инфекционных заболеваний.

До недавнего времени природный условно-патогенный штамм S. derby K 89, лизогенный по фагу dp 9 S. derby, выделенный впервые из клинического материала (1), изучался лишь в отношении его иммунологических, биохимических и физиологических свойств (2 3), исследовался характер взаимодействия его фагов с клеткой хозяина (4 5).

Целью настоящего исследования явилось сравнительное изучение морфологических и ультраструктурных особенностей Salmonella derby.

В работе использовали дикий штамм S. derby K 89. Культуру выращивали на МПА в течение 18 ч при 37° С, смывали фиксатором, содержащим глютаровый альдегид, параформальдегид и пикриновую кислоту по методу Ито и Карновски (6). Клетки фиксировали в течение 1 ч при комнатной температуре, отмывали 0,15 М фосфатным буфером pH 7,3—7,4 и дофиксировали 1%-ным OSO_4 в течение 18 ч при той же температуре. Трижды отмытые тем же буфером, а также 0,2 М малеатным буфером pH 5,2 клетки обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и 100%-ном ацетоне и заливали в аралдит (Serva). Срезы получали на ультрамикротоме III IKB—8800 и просматривали в электронном микроскопе IEM—100B при инструментальном увеличении в 15000 и 3000.

При просмотре колоний S. derby в световом микроскопе наблюдали гетерогенные по размерам и форме клетки. В культуре преобладали палочковидные и удлиненные клетки, размеры которых составляли 1—3,5 мк.

При просмотре препаратов в электронном микроскопе гетерогенность культуры исследуемого штамма сальмонелл была выражена еще отчетливее. В препаратах можно было наблюдать округлые, палочковидные и удлиненные клетки, встречались клетки неправильной формы (рис. 1).

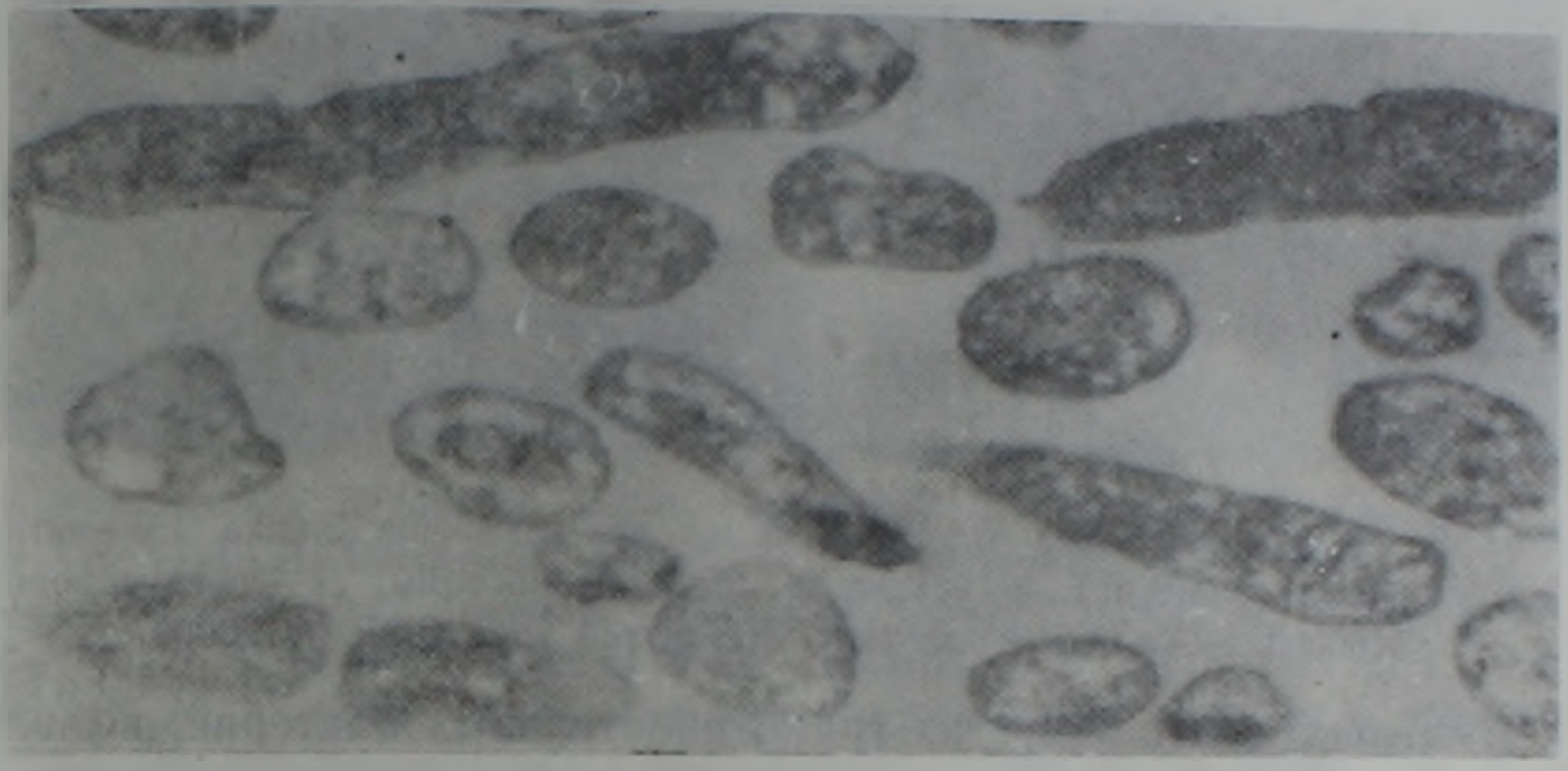

Рис. 1. Общий вид культуры клеток S. derby. Видны округлые, удлиненные и неправильной формы клетки. × 38000

Клетки S. derby окружены слегка извилистой клеточной стенкой, общая толщина которой достигала 24—26 нм. Следует отметить, что у большинства грамотрицательных бактерий клеточная стенка значительно тоньше и составляет 11—15 нм ([7]). Однако необходимо учитывать то обстоятельство, что результаты были получены при использовании других методов фиксации и заливочных сред. Тем не менее, даже с применением новых фиксирующих смесей и заливочных смол, у многих грамотрицательных бактерий толщина клеточной стенки не превышает 15—18 нм. Таким образом, такая мощная клеточная стенка хорошо защищает клетки S. derby от неблагоприятных воздействий и, в частности, может объяснить высокую устойчивость клеток этого вида к некоторым сульфаниламидам и антибиотикам, особенно к стрептомицину. С другой стороны, повышенная резистентность исследуемых сальмонелл к последнему антибиотику определяется детерминантой устойчивости к стрептомицину, локализованной на плазмиде, по-видимому, за счет изменения проницаемости поверхностных структур к этому антибиотику ([8] [9]).

Цитоплазматическая мембрана имела трехслойное строение и хорошо выявлялась по всему периметру клетки, отделяя клеточную стенку от цитоплазмы (рис. 2).

Цитоплазма более или менее равномерно заполнена рибосомами и полирибосомами, иногда выявляются участки повышенной электронной плотности. У многих клеток в цитоплазме, главным образом по ее периферии, наблюдали светлые зоны, свободные от рибосом и не ограниченные мембраной (рис. 1, 2). Такие светлые зоны встречаются и у других грамотрицательных бактерий и, возможно, являются очагами начинающегося лизиса.

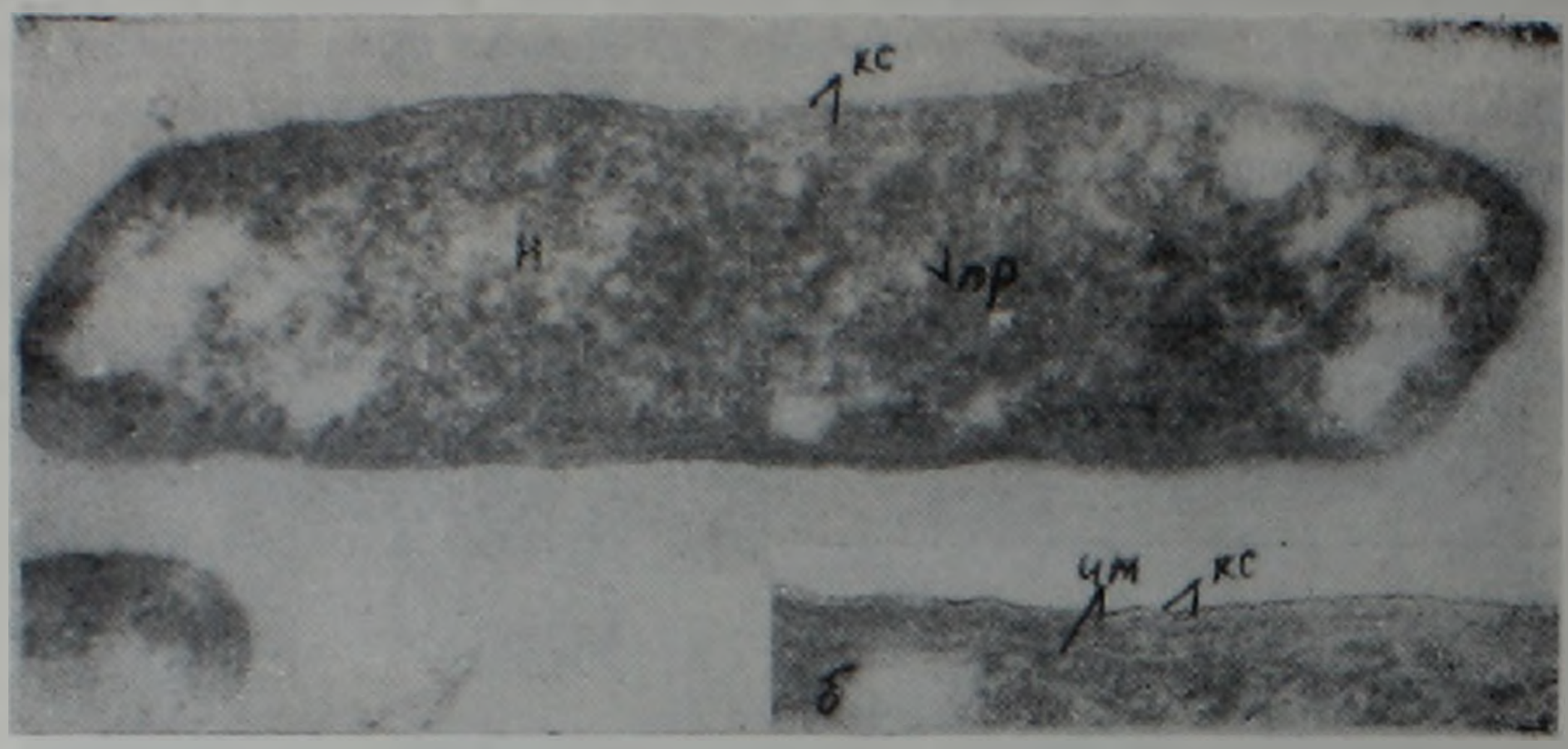

Рис. 2. *а*—ультраструктура клетки S. derby: кс—клеточная стенка, цм—цитоплазматическая мембрана, н—нуклеотид, пр—полирибосомы, сз—светлые зоны. ×60000, *б*—фрагмент клеточной стенки той же клетки. ×120000

Нуклеоид, как и у других грамотрицательных бактерий, выявлялся в виде небольших светлых участков по всей цитоплазме и представлял собой прозрачную для электронов зону, заполненную электронноплотными нитями ДНК (рис. 2).

Деление клетки, как и у остальных грамотрицательных бактерий, происходит путем образования перетяжки (рис. 3).

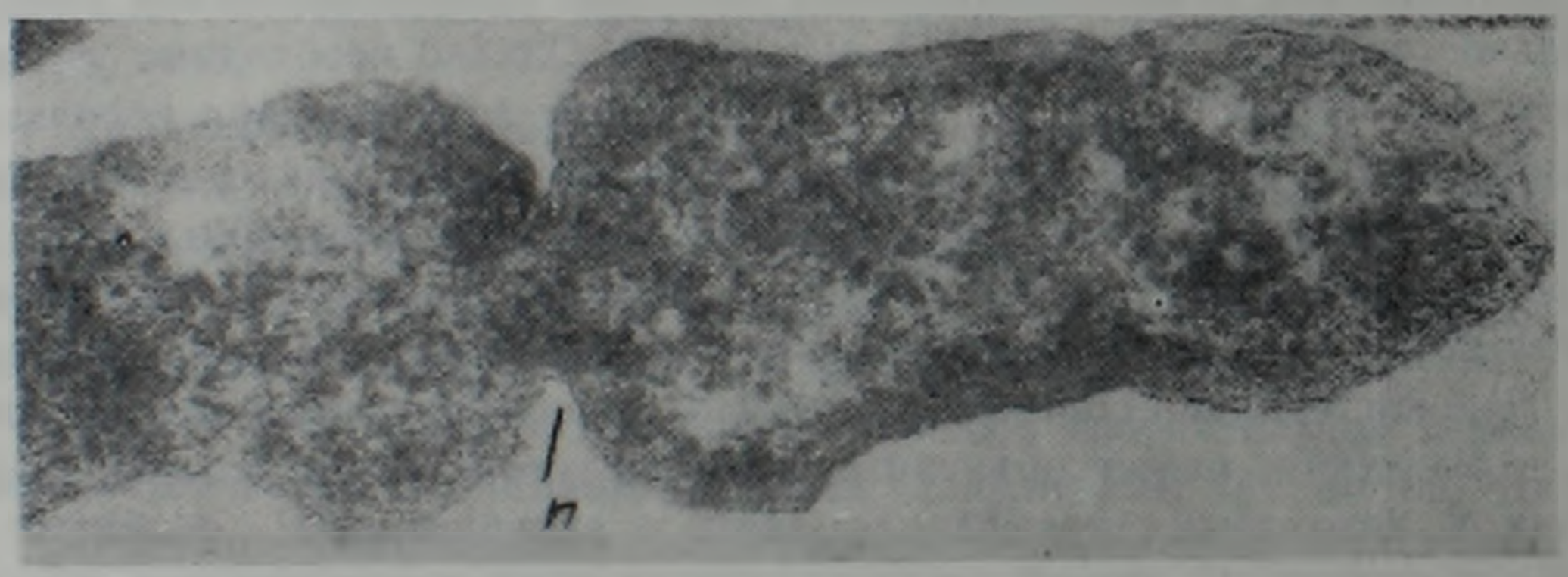

Рис. 3. Делящаяся клетка S. derby. п—перетяжка. × 90000

Таким образом, в ультраструктуре клеток изученного штамма S. derby K 89 обнаружена особенность, отличающая ее от структуры многих других грамотрицательных бактерий: бо́льшая толщина клеточной стенки, почти в два раза превышающая толщину стенки других грациликутов. Возможно, в филогенетически стабилизированном постоянстве липид-липидных и липид-белковых соотношений биологической мембраны клеток S. derby K 89 имеются нарушения ([10]), что, вероятно, определяет высокую резистентность клеток данного штамма к ряду антибактериальных препаратов. Их изучение представляет самостоятельный интерес.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Армянской ССР

Ժ. Ա. ԿՕՒՅԱՆ, Ն. Դ. ԿՈՆՍՏԱՆՏԻՆՈՎԱ, Ն. Ն. ՍԱՐԳՍՅԱՆ, Վ. Ի. ՉԵՐՆՈՎ

S. derby K89 շտամի բջիջների մորֆոլոգիան և ուլտրաստրուկտուրան

S. derby K89 *շտամի բջիջների ուլտրաստրուկտուրայում հայտնաբերված է առանձնահատկություն, որը տարբերում է նրան մյուս գրամբացասական բակտերիաններից։ Այն է՝ այդ բջիջների բջջաթաղանթի համարյա կրկնակի հաստություն մյուս գրացիլիկուտների հետ համեմատած։ Այս հանգամանքը, բատ երևույթին, պայմանավորում է* S. derby K89 *բջիջների բարձր կայունությունը մի շարք հակաբակտերիալ պրեպարատների նկատմամբ.*

ЛИТЕРАТУРА—ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

[1] *М. К. Вартанян, Б. П. Карабеков,* Материалы II Науч. конф. ИЭБ АН АрмССР, Ереван, вып. 22 (1968). [2] *М. К. Вартанян, Б. П. Карабеков,* Тезисы докл. конф. ИЭБ АН АрмССР, Ереван, 97 (1970). [3] *М. К. Вартанян, Ж. А. Кцоян, Б. П. Карабеков,* Биол. журнал Армении, т. 30, № 9, 145 (1977). [4] *М. К. Вартанян, Ж. А. Кцоян, Б. П. Карабеков,* Биол. журнал Армении, т. 31, № 1, 14 (1978. [5] *Ж. А. Кцоян, Л. М. Ханбекян, Н. Н. Саркисян* и др., Генетика, т. 24, № 5, 953 (1988). [6] *S. Ito, M. Y. Karnovsky,* J. cell Biology, v. 39, № 168 (1968). [7] *А. А. Авакян, Л. Н. Кац, И. Б. Павлова,* Атлас анатомии бактерий, патогенных для человека и животных, Медицина, М., 1972. [8] *Н. Н. Саркисян, Р. Г. Антонян, М. П. Светлова* и др. Биохимия, т. 50, вып. 4, с. 673 (1985). [9] *Ж. А. Кцоян, А. С Таисова, Н. Н. Саркисян* и др., Антибиотики и мед. биотехнология, т. 33, (1988). [10] *Е. Б. Бурлакова,* Биохимия липидов и их роль в обмене веществ. Наука, М., 1981.