

Л. А. ЧИЛ-АКОПЯН, Э. К. АФРИКЯН

ГЕМОЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АЭРОБНЫХ СПОРООБРАЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ

Способность различных микроорганизмов вызывать лизис эритроцитов установлена у большого числа патогенных и сапрофитных видов. Изучению гемолизинов посвящена обширная литература, особенно детально исследованы они у патогенных бактериальных организмов в связи с изучением их вирулентности.

Гемолитические свойства сапрофитных видов, в частности аэробных спорообразующих бактерий, изучены сравнительно слабо.

Интерес к этой группе бактерий значительно возрос по мере развития службы консервирования крови.

В гематологической практике, несмотря на строгое соблюдение правил асептики при взятии и консервировании крови, отмечались случаи загрязнения ее бактериями-сапрофитами, которые широко распространены в окружающей среде. Среди них одно из ведущих мест занимают спороносные бактерии. При переливании крови, загрязненной сапрофитными спороносными бактериями, нередко отмечались случаи тяжелых реакций, в том числе и со смертельным исходом [2, 5, 6].

Двойлацкая-Барышева [2], подробно изучив роль сапрофитных бактерий в проблеме консервирования крови, главное место среди этой группы микробов ставила спороносным бактериям. Из гемолизированной крови ею было выделено и изучено 35 штаммов спороносных бактерий, идентифицированных как *Bac. megaterium* или как представители группы *Bac. subtilis-mesentericus*. Ни в одном случае раннего гемолиза не была выделена культура патогенного микроорганизма. В этой связи автор приходит к выводу, что ранний гемолиз вызывается в основном сапрофитами.

Успехи, достигнутые в практике консервирования крови с использованием различных антисептических и антибиотических препаратов, значительно снизили процент порчи консервированной крови и позволили удлинить сроки ее хранения. Однако спороносные бактерии, благодаря широкому распространению в окружающей среде и способности образовывать споры, остаются главной опасностью для загрязнения в службе переливания и консервирования крови.

Изучение гемолитических свойств может служить полезным подспорьем и в работах по систематике микроорганизмов. В этом отношении широко признаны работы по классификации стрептококков, отчасти стафилококков и анаэробных патогенных спороносных бактерий. Гемо-

литические свойства актиномицетов были изучены в систематическом разрезе Лиске [12] и Н. А. Красильниковым [3].

Что касается аэробных спороносных бактерий-сапрофитов, то в ряде работ установлено, что так называемые антракоиды—псевдосибиреязвенные бациллы—качественно отличны от типичного *Bac. anthracis* по образованию гемолизинов типа β [8, 10, 11].

К сожалению, как эти, так и последующие исследования, включая работы последнего времени, не ставили целью систематическое изучение распространения гемолитических свойств у разных видов спороносных бактерий. Как правило, авторы описывали гемолитические свойства лишь у единичных культур бактерий, в большинстве случаев являвшихся случайными объектами исследований.

Объектом наших исследований служили 296 культур из группы аэробных спорообразующих бактерий. Преобладающее большинство их было выделено нами из разных типов почв и идентифицировано на основании подробного изучения их морфологических особенностей. Нами было установлено большое разнообразие различных видов спорообразующих бактерий, и поэтому в данной работе гемолитические свойства их в большинстве случаев даются нами в групповом понимании. При определении гемолитических свойств исходным материалом служили суточные культуры бактерий на МПА. Для выявления гемолиза и типов гемолизинов культуры засеивались штрихами на поверхность МПА с 5% дефибринированной крови в чашках Петри. Гемолиз учитывался по дням инкубации при 27°C. Для лучшей дифференциации α - и β -гемолизинов чашки Петри ставились на 1—2 суток в рефрижератор, и затем производился учет гемолиза.

В табл. 1 представлены сводные данные по гемолитической активности культур разных групп и видов спороносных бактерий. Представ-

Таблица 1
Гемолитические свойства разных видов спороносных бактерий

Группа, вид бактерий	Количество испытанных культур	Количество гемолитических культур	Гемолитические культуры в %
<i>Bac. subtilis-mesentericus</i>	46	38	83
<i>Bac. mycoides l</i>	11	10	91
" " <i>d</i>	9	8	88
<i>Bac. cereus-thuringiensis</i>	172	166	96
<i>Bac. idosus-agglomeratus</i>	14	1	7
<i>Bac. megaterium</i>	20	1	5
<i>Bac. circulans-polymyxa</i>	17	6	35
<i>Bac. nov. sp.</i>	5	1	20

ленные данные выявляют определенную приуроченность гемолитических свойств к отдельным видам и группам бактерий. Так, гемолитические свойства наиболее часто выявляются у бактерий *Bac. cereus-thuringiensis*, *Bac. mycoides* и *Bac. subtilis-mesentericus*. Среди бактерий *Bac. idosus-agglomeratus*, *Bac. megaterium* и *Bac. nov. sp.* гемолитические свойства выявляются редко. Бактерии *Bac. nov. sp.* являются новой ви-

довой категорией, выделенной и изученной нами. Они характеризуются выраженными антагонистическими свойствами и специфической зависимостью от биотина. У культур, объединенных в группу *Bac. circulans-rolupуха*, гемолитические свойства выражены слабо, но встречаются довольно часто. Следует отметить, что спороносные бактерии с выраженными гемолитическими свойствами широко распространены в почве и могут служить источником загрязнения в процессах заготовки и переливания крови.

Нами была приведена дифференциация α - и β -гемолизинов у изученных культур спороносных бактерий согласно существующей методике Брауна (по Двойлацкой-Барышевой [1]). В результате было установлено, что преобладающее большинство штаммов образуют β -гемолизины, однако в ряде случаев у культур *Bac. subtilis-mesentericus*, *Bac. licheniformis*, *Bac. sphaericus*, *Bac. firmus* и некоторых других выявляются и α -гемолизины.

Особое внимание было уделено изучению гемолитических свойств бактерий группы *Bac. cereus-thuringiensis*. Бактерии данной группы относятся к псевдосибиреязвенной группе, а ряд видов привлекает большое внимание как продуценты специфических энтомоцидных кристаллов—токсинов для использования в борьбе с вредными насекомыми [4, 13]. В механизме энтомоцидного действия препаратов, изготовленных из этих культур бактерий, определенное значение придается их гемолитическим свойствам [9]. Эти исследования были проведены на материале всех известных групп энтомопатогенных бактерий *Bac. cereus-thuringiensis*, включая большое число выделенных и изученных нами штаммов (табл. 2). Культуры—продуценты энтомоцидных токсинов—кристаллов сгруппированы соответственно серотипам по агглютинации к жгути-

Таблица 2

Гемолитические свойства энтомопатогенных культур группы
Bac. cereus-thuringiensis

Группы и виды бактерий	Всего изучено культур	Образуют гемолизины		Гемолитические культуры в %
		β	α	
Культуры, не образующие энтомоцидных кристаллов				
Энтомогенные <i>Bac. cereus</i>	40	26	12	95
Почвенные и эпифитные <i>Bac. cereus</i>	11	11	0	100
Культуры—продуценты энтомоцидных кристаллов				
Серотип berliner	9	9	0	100
„ sotto	13	0	12	92
„ alesti	7	0	7	100
„ entomocidus	2	2	0	100
„ subtoxicus	3	3	0	100
„ finitimus	1	1	0	100
„ galleriae	24	22	0	91
„ caucasicus	32	0	32	100

ковым антигенам, полученным из штаммов по методике Де Баржак и Бонефуа [7]. В серотип *caucasicus* включены культуры, выделенные нами и трактуемые как новая разновидность *Bac. cereus-thuringiensis*. Данные табл. 2 указывают на широкое распространение гемолитических свойств в группе *Bac. cereus-thuringiensis*. Большинство разновидностей характеризуется 100-процентной гемолитической активностью, а продуценты энтомоцидных токсинов образуют как β -гемолизины, так и α -гемолизины. Как известно, спороносные бактерии группы *Bac. cereus* широко распространены в почве и окружающей среде, и при заражении консервируемой крови они могут стать одной из главных причин гемолиза.

На рис. 1 показана динамика гемолиза с культурами трех видов спороносных бактерий. Использовалась жидкая питательная среда, содержащая (на 1 л): K_2HPO_4 —0,5 г, $MgSO_4$ —0,5 г, $NaCl$ —0,5 г, $FeSO_4$ —следы, сахароза—10 г, гидролизат казеина—10 г.

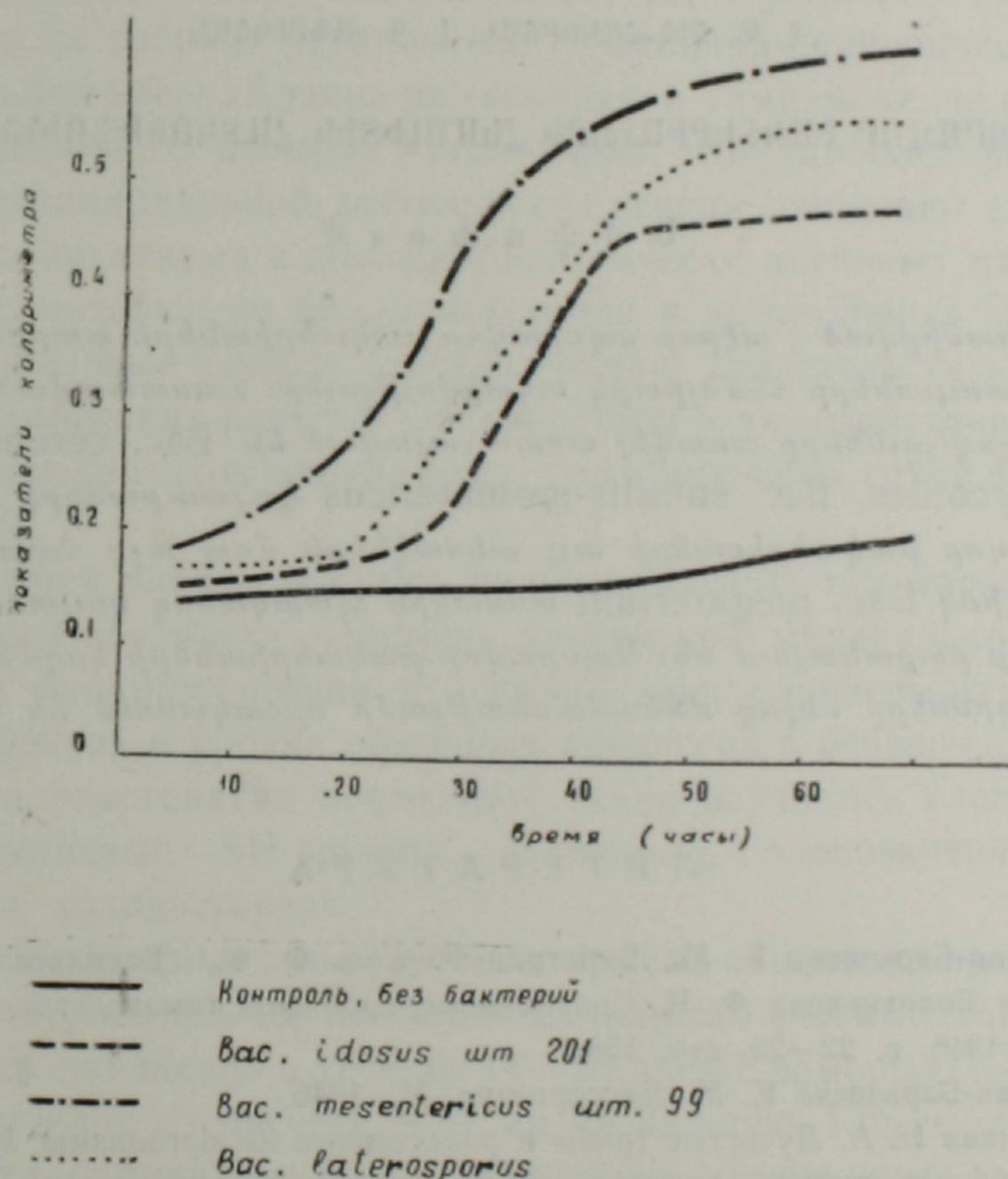


Рис. 1 Динамика гемолиза при развитии спорообразующих бактерий.

К среде в колбах добавлялась консервированная кровь человека в количестве 2%. После посева культур колбы помещались на качалку и инкубировались при 28°. Гемолиз определялся на колориметре с зеленым фильтром. Как показано на рис. 1, гемолиз начинается практически со вторых суток инкубации, т. е. к концу логарифмической фазы роста, и наиболее интенсивно выражен в период инкубации с 20 до 40 часов. Затем он обнаруживает тенденцию к ослаблению и практически завер-

шается на третьи сутки. Этот этап работы нами проведен на 11 культурах разных видов на двух средах, причем указанная выше закономерность была подмечена во всех случаях.

Изложенный материал свидетельствует о широком распространении у спороносных бактерий гемолитических свойств, преимущественно β -гемолизинов. Гемолитические свойства разных видов в ряде случаев (*Bac. cereus-thuringiensis*) могут быть дополнительным критерием для видовой и групповой идентификации. Широкое распространение гемолитических свойств в группе аэробных спорообразующих бактерий, широко распространенных в природе, должно учитываться службой переливания и заготовки крови.

Институт микробиологии
АН Армянской ССР

Поступило 22/II 1967 г.

Լ. Ա. ՉԻԼ-ՀԱՎՈՐՅԱՆ, Է. Գ. ԱՖՐԻԿՅԱՆ

ՄՊՈՐԱՎՈՐ ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ՀԵՄՈԼԻՏԻԿ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ուսումնասիրված է աչրոբ սպորավոր բակտերիաների տարբեր տեսակների 296 կուլտուրաների հեմոլիտիկ ակտիվությունը: Հաստատված է, որ հեմոլիտիկ հատկությունները առավել արտահայտված են *Bac. cereus-thuringiensis*, *Bac. mycoides*, *Bac. subtilis-mesentericus* կուլտուրաների մոտ:

Սպորավոր բակտերիաների այլ տեսակների մոտ այդ հատկությունները սակավ են, իսկ *Bac. megaterium* տեսակին պատկանող կուլտուրաների մոտ մեծ մասամբ բացակայում են: Սպորավոր բակտերիաների կողմից արտադրվող հեմոլիզինները ճնշող մեծամասնությամբ պատկանում են β -հեմոլիզիններին:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Двойлацкая-Барышева К. М., Виноград-Финкель Ф. Ф., Васильев П. С., Родина Р. И. и Болотникова Ф. И. Современные проблемы гематологии и переливания крови, 1946, в. 22—23, стр. 158.
2. Двойлацкая-Барышева К. М. Диссертация. М., 1946.
3. Красильников Н. А. Лучистые грибы и родственные им организмы. М., 1938.
4. Сб. Микробиологические методы борьбы с вредными насекомыми. Под ред. В. И. Полтева. М., 1963.
5. Beck. Deut. Med. Wchenschr., 1928, N 14.
6. Co Tui, Schrift a. Ruggeri. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med., 1939, 41, 2.
7. De Barjac H. et Bonnefoi A. Entomophaga. 1962, 8, N 1; ib. 1963, 8, N 3.
8. Grierson A. M., J. Hygiene. 1928, 27, 306.
9. Heimpel A. M. a. Angus T. A. Bacter. Rev., 1960, 24, 266.
10. Iarmai K. Zentrbl. f. Bact., IAbt., Orig., 1913, 70, 72.
11. Köhler F. Deutsche tierärztliche Wchenschr., 1925, S. 25.
12. Lieske K. Morphologie und Biologie der Strahlenpilze, 1921.
13. Steinhaus E. ed. Insect pathology. 1963.