

теринарный институт, Ростовское шоссе, 0, Новочеркасск, Ростовская область, Россия, 346421; тел.: 8-928-117-14-31; e-mail: brucella@aanet.ru.

Молокова Татьяна Викторовна, младший научный сотрудник, ФГБНУ Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт, Ростовское шоссе, 0, Новочеркасск, Ростовская область, Россия, 346421; тел.: 8-951-534-28-08; e-mail: skznivi@novoch.ru,

Author Affiliation:

Mironova Anna Anatol'evna, D. Sc in Veterinary Medicine, Head of the Laboratory of Parasitology, FSBSI North Caucasian Zonal Scientific-Research Veterinary Institute, highway Rostov, 0, Novocherkassk, Rostov region, Russia, 346421; phone: 8-908-189-02-45; e-mail: aa.mironova@mail.ru.

Mironova Lyudmila Pavlovna, D. Sc in Veterinary Medicine, Professor, Leading Researcher FSBSI of the North Caucasian Zonal Scientific-Research Veterinary Institute, highway Rostov, 0, Novocherkassk, Rostov region, Russia, 346421; phone: 8-928-117-14-31; e-mail: brucella@aanet.ru.

Molokova Tat'yana Viktorovna, Junior Researcher, FSBSI North Caucasian Zonal Scientific-Research Veterinary Institute, 0, highway Rostov, Novocherkassk, Rostov region, Russia, 346421; phone: 8-951-534-28-08; e-mail: skznivi@novoch.ru

УДК 576.8

Телишевская Л.Я., Ночевный В.Т.

МИНЕРАЛЬНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ В ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ И МЕТАБОЛИЗМЕ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

Ключевые слова: патогенные микроорганизмы, культивирование бактерий, метаболизм, эссенциальные минеральные элементы, органические соединения железа.

Резюме: В работе представлен обзор литературы о роли минеральных элементов в жизнедеятельности и метаболизме патогенных бактерий. Обобщены сведения о функциональной значимости эссенциальных элементов в обменных процессах микроорганизмов, о способах их переноса в клетку, о роли минеральных элементов во взаимоотношениях с макроорганизмом - хозяином *in vivo*. Суммированы данные по значению минеральных элементов для ряда патогенных микроорганизмов. Показано функциональное участие ионов железа в процессах дыхания, роста, токсинообразования и вирулентности. Приведены работы по оптимизации питательных сред для промышленного производства бактериальных антигенов при изготовлении лечебных и профилактических препаратов в отношении состава минеральных элементов, по положительному действию комплексных органических соединений макро- и микроэлементов, в частности, железа на рост различных видов микроорганизмов. Перспективными в биотехнологии при серийном производстве бактериальных антигенов и вакцин показали себя добавки комплексных соединений железа с пептидами. На модели бактерий рожи свиней достоверно показано стимулирующее влияние железосодержащего препарата «Пептофер» на накопление бактериальной массы при увеличении жизнеспособности, сохранности исходных ростовых свойств, морфологических и биохимических показателей.

Патогенные бактерии – микроорганизмы, вызывающие заболевания человека, животных и растений. Как и другие виды микроорганизмов, патогенные бактерии

нельзя рассматривать как примитивные одноклеточные структуры. Они представляют собой сложные системы, которые имеют все механизмы для осуществления

процессов жизнедеятельности и характеризуются большим многообразием форм и процессов адаптирования к изменяющимся условиям среды.

Фундаментальные исследования питательных потребностей, в частности, потребностей в минеральных элементах касались, в основном, сапрофитной микрофлоры. Однако особый интерес представляет метаболизм патогенных бактерий, что связано с необходимостью разработки иммунобиологических препаратов (ИБЛ) для борьбы с инфекционными заболеваниями.

При изготовлении высокоактивных биологических препаратов – вакцин и сывороток требуются большие объемы бактериальных антигенов, эффективное производство которых предполагает использование искусственных питательных сред и оптимальных технологических параметров с учетом потребностей микроорганизмов в питательных веществах, в том числе в различных химических элементах.

Для роста и жизнедеятельности все бактерии нуждаются в довольно большой группе ионов металлов – макро- и микро-элементов. Роль минеральных элементов для них очень значима и разнообразна. В состав бактериальной клетки входят углерод, азот, водород, кислород, фосфор, сера, кальций, калий, магний, натрий, хлор и железо.

Четыре основных макроэлемента – калий, натрий, магний и железо – требуются для микроорганизмов в концентрациях 10^{-2} – 10^{-4} М. Микроэлементы – кальций, цинк, марганец, кобальт, молибден, селен потребляются в меньших концентрациях – 10^{-6} – 10^{-8} [1].

Ионы металлов имеют большое значение для функционирования ферментных систем микроорганизмов. Они входят в качестве кофакторов в состав ферментов, активируют или стабилизируют их деятельность.

В таблице 1 приведены некоторые ионы минеральных элементов и выполняемые ими функции в метаболизме микроорганизмов [2].

Калий является необходимым элементом для развития ряда патогенных микроорганизмов: дифтерийной палочки, бруцелл, кишечной палочки, туберкулезных микобактерий и ряда других. Одной из физиологических функций калия в клетке является участие в транспорте фосфатных групп при образовании гексозодифосфатов. Ионы калия катализируют реакции

гидролиза АТФ в клетках *Moraxella*. Макроэлемент требуется для декарбоксилирования яблочной кислоты, а также для ряда других ферментных реакций.

Натрий содержится в бактериальных клетках в сравнительно большом количестве 0,6 – 1%. Соли натрия создают осмотическое давление в паре среда-клетка. Натрий стимулирует рост некоторых микроорганизмов (бруцелл, кишечной палочки, микобактерий и ряда других). Обычно хлорид натрия добавляют в питательные среды в количестве 0,5 – 0,9%. В ряде сред натрий добавляют в форме фосфатов. Некоторые микроорганизмы (галофильные) характеризуются специфической потребностью в ионах натрия, а часто и хлора и растут на средах, содержащих от 2 до 20% хлористого натрия. В эту группу входят некоторые виды *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Sarcina*.

Щелочноземельные металлы активируют большое количество ферментативных реакций, происходящих в клетке. Магний имеет большое значение для процессов фосфорилирования – активирует фосфатазы, нуклеазы и другие ферменты; кальций – протеазы. Показано, что микробы *Nocardia* в отсутствии магния развиваются в форме нитей, в связи с чем предполагается, что он играет определенную роль в процессах клеточного деления.

Ряд ферментативных реакций требует наличия в составе питательных сред какого-либо одного из двухвалентных катионов: магния, марганца, цинка или других. Для некоторых из этих реакций все же установлена определенная специфичность. Так, магний принимает участие в синтезе РНК в присутствии РНК-синтетазы и АТФ, марганец – в присутствии РНК-полимеразы и АДФ.

Марганец может во многих реакциях заменять магний. Наибольшее значение ион имеет в составе ферментов, участвующих в цикле трикарбоновых кислот, а именно для дегидрогеназ и декарбоксилаз.

Медь входит в состав ряда ферментов, связанных с дыхательными функциями клетки: цитохромоксидазы и некоторых других оксидаз. При этом она подвергается окислительно-восстановительным превращениям в присутствии акцептора электронов или субстрата. Является, кроме того, неспецифическим активатором ферментов, выполняя ту же роль, что и магний, марганец и другие двухвалентные катионы. В больших количествах медь токсична для микроорганизмов.

Таблица 1. Функциональная характеристика ионов металлов в жизнедеятельности и метаболизме микроорганизмов

Элемент	Ионы	Функция в метаболизме
K	K^+	Основной неорганический катион в клетке, кофактор некоторых ферментов
Mg	Mg^{++}	Кофатор многих ферментов (например, киназ); присутствует в клеточных стенках, мембранах и эфирах фосфорной кислоты
Ca	Ca^{++}	Кофактор ферментов амилазы, протеазы; кальций дипиколонат является важным компонентом эндоспор
Fe	Fe^{2+} , Fe^{3+}	Содержится в цитохромах, ферредоксинах и других железосеропротеидах, кофактор ферментов (некоторые дегидрогеназы)
Zn	Zn^{2+}	Содержится в алкогольдегидрогеназе, щелочной фосфатазе, альдолазе, РНК- и ДНК-полимеразах
Mn	Mn^{2+}	Содержится в бактериальной пероксиддисмутазе, кофактор некоторых ферментов (фосфоенолпируват-карбоксины, цитрат (re)-синтетазы)
Na	Na^+	Необходим галофильным бактериям
Mo	MoO_4^{2-}	Содержится в нитратредуктазе, нитрогеназе и формиатдегидрогеназе
Se	SeO_3^{2-}	Содержится в глицинредуктазе и формиатдегидрогеназе
Co	Co^{2+}	Содержится в коферменте витамин B_{12} ферментов (глутаматмутаза, метилмалонил-КоА-мутаза)
Cu	Cu^{2+}	Содержится в цитохромоксидазе и оксигеназах
W	WO_4^{2-}	Содержится в некоторых формиатдегидрогеназах
Ni	Ni^{2+}	Содержится в уреазе; требуется для автотрофного роста водородных бактерий

Роль и значимость железа может быть связана с различными функциями микроорганизмов. Показано участие железа в синтезе железо-транспортных систем, гемопротеидов, токсинов и рибофлавина. В ряде случаев ионы железа служат связующим звеном между ферментом и субстратом, а также могут влиять на ферментативную активность как ионы-антагонисты по отношению к угнетающему действию других металлов [3].

Велика роль железа в процессах дыхания микроорганизмов. Оно входит в состав ферментных систем дыхательной цепи у микроорганизмов в качестве активного центра: геминовых ферментов – цитохромов (a, b, c), цитохромоксидазы аэробных бактерий, каталазы и пероксидазы; флавиновых ферментов – НАД-цитохромредуктазы, сукциндегидрогеназы, НАДФ-цитохромредуктазы, а также железосеропротеидов ферредоксина. Последние играют роль переносчиков электронов у анаэробных

клубридий *C. pasteurianum* (Мортенсон, Валентайн, Карнахану, 1962).

Дыхательные системы аэробных организмов представляют собой цепи, состоящие из белков, с простатическими группами, окислительно-восстановительные потенциалы которых возрастают по каскаду от НАДН до молекулярного кислорода. Это цитохромы, железосеропротеиды и флавиновые протеиды. Флавопротеиды, коэнзим Q и менахинон являются переносчиками водорода в дыхательной цепи; цитохромы и железосеропротеиды переносят электроны.

В таблице 2 представлена потребность некоторых патогенных микроорганизмов в минеральных элементах.

Представленные в таблице 2 данные по содержанию ферментов дыхательной цепи отчасти объясняют роль железа и меди, являющихся кофакторами этих ферментов.

Геминовые ферменты – цитохромы, ка-

Таблица 2. Потребность микроорганизмов в ионах металлов и минеральных кислот

Наименование микроорганизма	Ферменты дыхательной цепи бактерий	Незаменимые и стимулирующие ионы
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Полный набор цитохромов, цитохромоксидаза, каталаза и пероксидаза	K, Mg, PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , Na, V, Mn, Fe
<i>Brucella</i>	Каталазоположительные, оксидазоположительные	Na, K, P, S, CO_3 , Na, Mg, Fe
<i>Yersinia pestis</i>	Факультативные анаэробы, каталазоположительные, оксидазоотрицательные	Fe, Mn
<i>Escherichia coli</i>	Неполный набор цитохромов, каталазоположительные, оксидазоотрицательные	K, Na, Mg, S, Cd, Co, Fe
<i>Legionella</i>	Аэроб, слабооксидазоположительный	Fe
<i>Neisseria</i>	Аэробы, каталазо-, цитохром-оксидазоположительные	Fe
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Полный набор цитохромов, цитохромоксидаза, каталаза, пероксидаза	Fe, Co
<i>Bacillus anthracis</i>	Полный набор цитохромов, цитохромоксидаза, каталаза, пероксидаза	Ca, Mg, Fe, Mn, K
<i>Francisella tularensis</i>	Слабо каталазоположительные, оксидазоотрицательные	Fe
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Факультативные анаэробы, каталазоположительные	Cu, Zn, Fe
<i>Listeria monocytogenes</i>	Факультативные анаэробы, каталазоположительные	Fe, Mn, Cu, Mg
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	Факультативные анаэробы, каталазоотрицательные	Fe, Mn, Zn, Cu
<i>Pasteurella haemolytica</i>	Факультативные анаэробы, каталазо- и оксидазоположительные	Mg, Mn, Fe
<i>Salmonella schottmülleri</i>	Факультативные анаэробы, каталазоположительные, оксидазоотрицательные	Na, K, Mg, Cl, PO_4^{3-} , SO_4^{2-}
<i>Clostridium tetani</i>	Анаэроб, геминовых ферментов не содержит	Cu, Mn, Zn, Fe
<i>C. pasteurianum</i>	Ферредоксин-оксидоредуктаза	Fe
<i>Campylobacter</i> (<i>C. coli</i> , <i>C. fetus</i> , <i>C. jejuni</i>)	Микроаэрофилы, каталазоположительные, оксидазоположительные	Fe

талаза и пероксидаза представляют собой железопорфирины, в которых атом же-

леза связан с четырьмя порфириновыми кольцами. В железосеропротеидах 2 или 4

атома железа и равное количество атомов серы связаны с атомами серы в боковых цепях остатков цистеина белкового лиганда и образуют железо - серные кластеры белка. В дыхательных цепях могут находиться 5 разных цитохромов и более 7 различных железо - серных кластеров. Железосеропротеиды, так же как цитохромы, переносят один электрон. При этом железо - серные кластеры имеют относительно низкое сродство к электрону, поэтому они преобладают на ранних этапах дыхательной цепи; цитохромы же, имеющие большее сродство с электронами, располагаются на нижних этапах цепи [4].

В естественных условиях существования в организме хозяина бактерии черпают все питательные вещества, в том числе минеральные элементы из его клеток. При этом наблюдаются сложные взаимоотношения между хозяином и возбудителем в отношении потребления питательных веществ. Патогенным микроорганизмам приходится преодолевать механизмы защиты – иммунитета хозяина, в том числе, так называемого, «питательного иммунитета», когда жизненноважные микроэлементы (**Mn, Zn, Fe**) **делаются потенциально недоступными для возбудителей.**

По наблюдениям исследований таких бактериальных патогенов и модельных организмов, как кишечная палочка, сальмонеллы, микобактерии туберкулеза и пневмококки в некоторых случаях потребление меди не блокируется хозяином, вследствие его токсичности для предполагаемого вторжения, т.е. этот элемент определяется хозяином в качестве киллера [5].

Cu, Zn и Mn-супероксиддисмутазы обеспечивают баланс иммунной системы моллюска *Meretrix meretrix* в ответ на заражение *Vibrio-parahaemolyticus* [6].

Поддержание внутриклеточного гомеостаза ионов металлов Zn^{2+} , Mn^{2+} и Cu^{2+} имеет решающее значение для выживания микроорганизма *Enterococcus faecalis* V583, который связан с хозяином (человеком) отношениями комменсализма, но может переходить к патогенности. Микроэлементы являются кофакторами многих ферментов, которые участвуют в защите микроба от окислительного стресса, но одновременно играют роль в иммунной системе человека. При этом показано, что *E. faecalis* V583 способен расти в присутствии высоких концентраций ионов цинка, марганца или меди [7].

Для переноса металлов через клеточные мембраны патогенные микроорга-

низмы выработали высокоэффективную систему транспорта – сидерофор-опосредованный транспорт: органические переносчики сидерофоров представляют собой белки, которые синтезируются самой клеткой и секретируются во внешнюю среду. Железо переносится железо-сидерофорами, но может также осуществляться с помощью железо-связывающих белков млекопитающих-хозяев – трансферрина, лактоферрина, ферритина, гемоглобина [8, 9].

Для патогенных бактерий способность к усвоению ионов железа и других металлов жизненно важна для выживания в организме хозяина. Для *Pseudomonas fluorescens*, вирулентного для рыб, установлено, что гены, отвечающие за образование железо-транспортных белков и, соответственно, за усвоение железа, ассоциированы с патогенностью микроорганизма [10]. *Borrelia burgdorferi* – возбудитель болезни Лайма, который передается человеку от клещей *Ixodes*, кодирует образование гомолога ферритина – белка-переносчика Fe^{2+} и Cu^{2+} , и транспортного белка A для переноса марганца (Mn^{2+}) – (BmtA). Оба белка необходимы для колонизации клеща, а BmtA требуется также для мышинного хозяина. Таким образом, гомеостаз металлов у возбудителя является фактором комплексного энзоотического жизненного цикла между членистоногими и мышинными хозяевами [11].

Нормальное функционирование железа внутри клетки может зависеть от белка-переносчика – от связи металла с поверхностью белка. Так, было показано, что для *Staphylococcus aureus* из двух вырабатываемых сидерофоров – стафилоферрина A и стафилоферрина B – только первый обеспечивает способность микроба расщеплять гем крови хозяина и, соответственно, вирулентность для мышей. Вирулентность исходного штамма восстанавливали с помощью синтетического препарата, образующего комплексы с железом – дефероксамина [12].

Листерии используют железо из железо-гидроксаматов, гема или гемоглобина хозяина [13, 14]. *Burkholderia cenocepacia* – микроорганизм, поражающий легкие больных с фиброзным циститом, по данным исследователей, использовал железо из состава макромолекулы ферритина, хотя раньше сообщений о патогенных видах бактерий, которые бы напрямую использовали этот белок в качестве источника железа, не было [15].

Образование сидерофоров кодируется микробной клеткой на генетическом уровне. *L. monocytogenes* имеет 4 потенциальные генетические области, отвечающие за железо-переносчиков. Делеции генов этих областей приводят к снижению поглощения железа, уменьшению вирулентности для мышей, снижению роста. Аффинность сидерофоров к железу у грамположительных организмов значительно ниже, чем у грамотрицательных. Скорость переноса железа у листерий в 400 раз меньше, чем у *E. coli*.

Многочисленные исследования посвящены изучению влияния минеральных элементов на жизнедеятельность и метаболизм бактерий, а также потребности в них патогенных микроорганизмов. Изучение питательных потребностей микробов связано с необходимостью их культивирования в искусственных питательных средах (ПС). Для культивирования микроорганизмов в искусственных условиях ростовые среды должны содержать все необходимые питательные вещества в оптимальных количествах. Минеральные элементы вносятся в состав ПС в виде соответствующих солей или других источников. Такие микроэлементы, как барий, бериллий, ртуть, хром, кадмий, литий и некоторые другие, требуются микроорганизмам в следовых количествах. Они всегда присутствуют в питательных средах как примеси солей и других компонентов, в стеклянной или металлической посуде, водопроводной и даже дистиллированной воде.

Потребность микроорганизмов в ионах железа колеблется в зависимости от собственных им типов дыхания, т.е. от способов окисления субстрата. Разные микроорганизмы отличаются по количеству железосодержащих ферментов и, следовательно, по потребности в этом элементе. Некоторые микробы, подобно клеткам эукариотов, содержат полный набор цитохромов (a, b, c), **цитохромоксидазу, каталазу и пероксидазу**: *M. tuberculosis*, *B. subtilis*, *B. anthracis*, *Pseudomonas aeruginosa*. Анаэробные микроорганизмы полностью лишены этих ферментных систем [16]. Однако большинство бактерий представляет собой переходные формы: факультативные анаэробы могут содержать лишь один из цитохромов или вообще не содержать цитохромов, например, стрептококки и пневмококки.

По данным Warring и Werkman [17], аэроб *Pseudomonas aeruginosa*, имеющий полный набор железосодержащих фер-

ментов, требует в 3-4 раза больше железа, чем микроорганизмы с неполными системами цитохромов (*E. coli*, *Streptococcus pneumoniae*). При этом дефицит железа практически не препятствует росту аэробных бактерий в ПС, но вызывает снижение активности цитохромов и гемсодержащих ферментов [18]. При недостаточном содержании железа в среде количество цитохромов у *Aerobacter aerogenes* падало, особенно резко снижалось содержание цитохрома α_2 [19]. Увеличение содержания железа в среде приводило к увеличению содержания цитохромов у *Corynebacterium xerosis*.

Дыхательные цепи микроорганизмов, особенно факультативных аэробов, отличаются от дыхательных путей высших организмов. Так, дыхательная цепь *E. coli*, в отличие от дыхательной цепи митохондрий, не содержит цитохрома с и разветвлена: имеет 2 шунта – путь (а) и путь (б). В клетках, достаточно аэрируемых, используется путь (а), а при недостатке кислорода – путь (б), дающий меньший выход энергии (АТФ) [2].

Как указывалось выше, потребность в железе различных видов бактерий резко различается, в основном, в зависимости от способов дыхания. Потребность в железе у анаэробов очень мала. Для ферментации глюкозы микробами *C. tetani* необходимо наличие в среде органических соединений железа: неорганические соли неактивны в этом процессе [20]. Анаэробные клостридии *C. tetani* и *C. sporogenes* требуют для своего развития концентраций железа $0,5 - 0,6 \times 10^{-6}$ М [21].

Железо необходимо для образования токсина: для токсигенеза дифтерийной палочки – в концентрации 2×10^{-6} М; для анаэробного *C. botulinum* – 280-400 мкг% ($4 - 6 \times 10^{-6}$ М) [3]. При более высоких концентрациях железа образование токсина подавляется, при этом рост возбудителя может усилиться, что следует учитывать при разработке технологических процессов получения анатоксинов.

Кроме того, существует определенная избирательность действия минеральных солей Fe^{2+} и Fe^{3+} на некоторые функции микроорганизмов. По нашим данным, ионы железа оказывали положительное влияние на рост листерий **in vitro в концентрациях 1-5 мг%** как в двух-, так и в трехвалентной форме. Но ионы двухвалентного железа в большей степени обеспечивали проявление вирулентности бактерий листериоза **in vivo** [22]. Двухвалентная соль сульфата железа повышала удельную скорость

роста пропионовокислых бактерий в концентрации до 0,25%. Увеличение концентрации приводило к торможению скорости роста [23].

Для роста *E. rhusiopathiae* в питательных средах отмечена выраженная избирательная потребность в двухвалентных ионах железа: максимум накопления биомассы получали при добавлении Fe^{3+} в концентрации 5-7,6 мг% (органической соли – ферридоксалат натрия) и Fe^{2+} в концентрации 2-4 мг% (сульфат железа закисного). В первом случае стимулирование достигало 300%, во втором – 800%. Таким образом, Fe^{2+} -ион при меньших концентрациях, чем Fe^{3+} обеспечивал большее стимулирование роста рожистой палочки [24].

Показано, что насыщенность патогенных микроорганизмов железом повышает их устойчивость к фагоцитозу нейтрофилами крови хозяина (человека), т.е. увеличивает степень вирулентности бактерий [25]. Так, выращивание гемолитических микробов в питательных средах с железосодержащими препаратами «Ферум-лек (Fe^{2+})» и «Актиферрин» (Fe^{3+}) снижало поглотительную способность нейтрофилов с уменьшением фагоцитарного числа крови на 22-76%.

При этом двухвалентное железо оказывало более сильное влияние. Если препарат Ферум-лек вызывал снижение фагоцитарного числа для *E. coli* на 40%, то Актиферрин – только на 27%. Отмечено также, что насыщенность бактериальных клеток железом в меньшей степени влияла на фагоцитоз грамотрицательных бактерий (*E. coli*, иерсиний, шигелл), в большей степени – на грамположительные микроорганизмы (*Corynebacterium*, *Bacillus*). В опытах с грамположительными видами снижение фагоцитарного числа достигало уровня, ниже физиологической нормы, т.е. приводило к блокирующему действию преобладающей способности нейтрофилов.

Добавление железа к среде роста листерий приводило к снижению токсичности для них солей тетраэзолия, в частности 2, 3, 5-трифенилтетраэзолия хлорида (ТТС) (снижало время ЛАГ-фазы), в связи с чем, использование железосодержащих добавок было предложено для преодоления тормозящего действия ТТС на *L. monocytogenes* [26].

Хотя железо является жизненно необходимым элементом для большинства микроорганизмов, неорганические соли металла плохо усваиваются и часто бывают токсичными для бактерий. Значимость

органических соединений железа для размножения микроорганизмов отмечается многими исследователями.

При культивировании микроорганизмов в искусственных условиях более высокие результаты в накоплении биомассы были получены при добавлении в состав ПС органических соединений – солей органических кислот или комплексонов железа. Так, добавка в ПС комплексного соединения железа с декстраном (препарат ферроглюкин) стимулировала рост листерий [27].

Положительные результаты были получены также при использовании добавок комплексных соединений железа с пептидами при культивировании микроорганизмов, зависящих от добавок крови – нативной, лизированной, дефибринированной. В частности, увеличение уровня накопления кампилобактерий регистрировали при внесении в состав гидролизатных питательных сред комплексного соединения железа с пептидами, полученного в реакции $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ и раствора сухого ферментативного пептона [28].

Внесение в состав бульона Хоттингера 1% железосодержащего препарата Пептофер (производства ООО «А-БИО»), представляющего собой комплексное производное железа с белковым гидролизатом, обеспечивало достоверное увеличение накопления *E. rhusiopathiae* – бактерий рожжи свиней: при стационарном культивировании – $2,96 \pm 0,10$ млрд/см³; при периодическом культивировании в биореакторе – $9,06 \pm 0,5$ млрд/см³ (против $0,80 \pm 0,04$ и $8,25 \pm 0,7$ млрд/см³ в контроле, соответственно). Стимулирование роста микробов наблюдалось при увеличении их жизнеспособности до 95 – 97% и сохранении исходных морфологических и биохимических показателей [29].

Аналогичные соединения микроэлементов (Cu, Se, Zn, Mn, Fe) с гидролизатами белков используются в качестве пищевых [30, 31] и кормовых добавок, а также лекарственных средств для животных (фирмы KRKA, Словения; биоплексы фирмы Alltec, США [32, 33]).

Соединение железа с протеинами в подобных добавках возможно посредством координационных связей металла с азотом, например, как в молекулах биурета, или с серой – отдельных аминокислот (например, селен-цистеин, селен-метионин) и в составе белков с образованием железосеропротеидов. В качестве хелатирующего агента для получения железосеропроте-

идов были предложены казеиновые фосфолипиды, которые образуются из казеинов коровьего молока после их панкреатического гидролиза [34, 35].

Заключение

Анализ представленных материалов свидетельствует о значимости минеральных элементов Fe, Zn Cu для жизнедеятельности и метаболизма патогенных микроорганизмов, которые действуют в роли кофакторов для внутриклеточных белков бактерий и имеют решающее значение для их выживания как внутри, так и вне клеток хозяина. Однако, те же металлы в высоких концентрациях токсичны для микроорганизмов, что следует учитывать, с одной стороны, для борьбы с патогенами, с другой стороны –

для обеспечения их сохранности, например, при промышленном производстве антигенов.

При искусственном культивировании патогенных микроорганизмов *in vitro* используют добавки в питательные среды соединений металлов – макро- и микроэлементов, которые обеспечивают повышение интенсивности их роста и размножения. Перспективными в этом отношении показали себя добавки комплексных соединений металлов с пептидами (например, двухвалентного железа для *Campylobacter* и *Erysipelothrix rhusiopathiae*). Особенно большое значение имеет подобная оптимизация питательных сред, предназначенных для серийного производства лечебных и иммунобиологических препаратов.

Библиографический список:

1. Роуз Э. Химическая микробиология / Э. Роуз. – М.: Мир, 1971. – 294 с.
2. Готтшалк Г. Метаболизм бактерий / Г. Готтшалк. – М.: Мир, 1982. – 310 с.
3. Хьюз М. Неорганическая химия биологических процессов / М. Хьюз. – М.: Мир, 1983. – 416 с.
4. Брюс А. Молекулярная биология клетки / А. Брюс, А. Джонсон, Дж. Льюис, М. Рэфф, К. Робертс, П. Уолтер // – Ижевск: RC Dynamica, – 2013. – Т. II – С. 1276-1282.
5. Fu Y., Chang FM., Giedroc DP. Copper transport and trafficking at the host-bacterial pathogen interface// Acc. Chem Res. 2014. – Vol. 47. – № 12. – P.3605-3613/
6. Lu X., Wang C., Liu B. The role of Cu/Zn-SOD and Mn-SOD in the immune response to oxidative stress and pathogen challenge in the clam *Meretrix meretrix*// Fish Shellfish Immunol., – 2015. – Vol. 42. – № 1. – P. 58-65.
7. Abrantes MC, Lopes Mde F, Kok J. Impact of manganese, copper and zinc ions on the transcriptome of the nosocomial pathogen *Enterococcus faecalis* V583// PLoS One. – 2011. – Vol. 6. – №10.
8. Cornelis P., Andrews S.C. Iron Uptake and Homeostasis in Microorganisms // N.&Y. Academ. Pres – 2010. – Vol. 1. – 291 p.
9. Mechanisms of Heme Utilization by *Francisella tularensis*/ H. Lindgren, L. Lindgren, I. Golovliov, A. Jöstedt // PLoS One. – 2015. – V. 10. – № 3:e0119143
10. Sun Y.Y., Sun L. *Pseudomonas fluorescens*: Iron-responsive proteins and their involvement in host infection// Vet. Microbiol. – 2015. – Vol. 176. – № 3-4. P. 309-320.
11. Troxell B., Yang X.F. Metal-dependent gene regulation in the causative agent of Lyme disease // Front Cell Infect Microbiol., – 2013 – Vol. 15. – № 3. P. 79.
12. Hannauer M., Arifin A.J., Heinrichs D.E. Involvement of reductases IruO and NtrA in iron acquisition by *Staphylococcus aureus*// Mol. Microbiol. – 2015. – № 16.
13. Klebba P.E., Charbit A., Xiao Q., Jiang X, Newton SM/ Mechanisms of iron and haem transport by *Listeria monocytogenes*// Mol. Membr Biol. – 2012. – Vol. 29. – № 3-4. – P. 69-86.
14. Iron acquisition systems for ferric hydroxamates, haemin and haemoglobin in *Listeria monocytogenes* / B. Jin, S. M. Newton, Y. Shao, X. Jiang, A. Charbit, P.E. Klebba //Mol. Microbiol. – 2006. – Vol. 59. – № 4. – P. 1185-1198.
15. Burkholderia cenocepacia utilizes ferritin as an iron source/ P.W. Whitby, T.M. Vanwagoner, J.M. Springer, D.J. Morton, T.W. Seale, T.L. Stull// J. Med. Microbiol. – 2006. – Vol. 55 – № 6 – P. 661-668.
16. Колчинская И.Л. Влияние железа на процессы жизнедеятельности *Cl. Acetobutyricum*: дис. канд. биол. наук. – Киев, 1957. – 148 с.
17. Waring V.S., Werkman C.H. Iron Requirements of heterotrophic Bacteria// Arch. Biochem., – 1943. – Vol. 1– № 3 – P. 425-433
18. Киприянова О.А. Вплив концентрації заліза в середовищі на синтез цитохромів *Pseudomonas fluorescens* / О.А. Киприянова, О.М. Корнюшенко // Микробиологічний журнал. – 1969, Т. 31. – Вып. 5. – С. 530-532.
19. Метаболизм бактерий / пер. с англ. Шорина В.А., Кругляк Е.Б., Певзнер Н.С., Успенской Т.А.// М.: ИЛ, 1963. – 496 с.
20. Матвеев К.И. Эпидемиология и профилактика столбняка / К.И. Матвеев // – М.: Медгиз, 1960. – 338 с.
21. Месробяну Л. Физиология бактерий / Л. Месробяну, Э. Пуэнеску / – Бухарест, 1963. – 807 с.
22. Sword C.P. Mechanism of pathogenesis in *Listeria monocytogenes* infection. I. Influence of iron// J. Bact. – 1966. – № 92. – P. 536-542
23. Хамагаева И.С. Влияние Fe++ на метаболизм пропионовокислых бактерий / И.С. Хамагаева // Техника и технология пищевых производств, – М., – 2012 – № 3. – С. 1-7
24. Трусова Л.И. Потребность *Erysipelothrix insidiosus* в некоторых минеральных элементах / Л.И. Трусова, Л.Я. Телишевская // Труды ГНКИ, – М., – 1974 – Т. 20 – С. 247-250.
25. Костомаров Ю.М. Влияние железонасыщения бактерий на поглотительную способность нейтрофилов / Ю.М. Костомаров, Н.В. Шевцова // ЖМЭИ, – М., – 2006 – № 1. – С. 75-76
26. Junillon T, Flandrois J.P/ Diminution of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride toxicity on *Listeria monocytogenes* growth by iron source addition to the culture medium// Food Microbiol. – 2014. – № 38. – P. 1-5.
27. Трусова Л.И. Влияние железодекстранов на рост *Listeria monocytogenes* / Л.И. Трусова, Л.Я. Телишевская // Труды ВГНКИ, – 1975 – Т. 21. – С. 171-173
28. Скларов О.Д. Результаты испытаний питательной среды для кампилобактерий / О.Д. Скларов,

- Л.Я. Телишевская, К.В. Шумилов, З.Ф. Богаутдинов, О.С. Пивоварова // Сб. научных трудов ВГНКИ. – М., – 2001. – Т. 62. – С. 185-189.
29. Телишевская Л.Я. Влияние железосодержащего препарата на эффективность культивирования бактерий рожи свиней / Л.Я. Телишевская, В.Т. Ночевный, Н.Ю. Басова [и др.] // Аграрная наука. – 2015. – № 8. – С. 25-28.
 30. Зорин С.Н. Ферментативные гидролизаты пищевых белков и органические комплексы эссенциальных микроэлементов на их основе / С.Н. Зорин // Вопросы питания. – 2009 – Т. 78. – № 6. – С. 60-66
 31. Мазо В.К. Новые пищевые источники эссенциальных микроэлементов-антиоксидантов / В.К. Мазо, И.В. Гмошинский, Л.И. Ширин // – М., Миклош, 2009. – 208 с.
 32. <http://www.alltech/mpi.ru>
 33. <http://vita-K.su>2012010427/biohleksi.html>
 34. Гаппаров М. Влияние казеиновых фосфопептидов на биодоступность минералов / М. Гаппаров, Е. Стан // Вопросы питания. – 2003. – № 6. – С. 41-44.
 35. Хамагаева И.С. Влияние казеиновых фосфопептидов на солубилизацию железа в бактериальном концентрате / И.С. Хамагаева, А.В. Кривосова // Техника и технология пищевых производств. – М., –2009 – № 1 – С. 68-71.

References:

1. Rouz E. Chemical microbiology / E. Rouz. – М.: Mir, 1971. – 294 s.
2. Gottshalk G. The metabolism of bacteria / G. Gottshalk. – М.: Mir, 1982. – 310 s.
3. Hyuz M. Inorganic chemistry of biological processes / M. Hyuz. – М.: Mir, 1983. – 416 s.
4. Bryus A. Molecular Biology of the Cell. / A. Bryus, A. Dzhonson, Dzh. Lyuis, M. Reff, K. Roberts, P. Uolter // – Izhevsk: RC Dynamica, – 2013. – Т. II – S. 1276-1282.
5. – 15. Vide supra.
16. Kolchinskaya I.L. The effect of iron on the vital processes of *Cl. Acetobutiricum*: dis. kand. biol. nauk. – Kiev, 1957. – 148 s.
17. Vide supra.
18. Kipriyanova O.A. Effect Concentration zalyza environment in the synthesis of cytochrome *Pseudomonas fluorescens* / O.A. Kipriyanova, O.M. Korniyushenko // Mikrobiologichnyi zhurnal. – 1969, T. 31. – Vyip. 5. – С. 530-532.
19. The metabolism of bacteria / per. s angl. Shorina V.A., Kruglyak E.B., Pevzner N.S., Uspenskoy T.A. // М.: IL, 1963. – 496 s.
20. Matveev K.I. Epidemiology and Prevention of tetanus / K.I. Matveev // – М.: Medgiz, 1960. – 338 s.
21. Mesrobyanu L. Physiology of bacteria / L. Mesrobyanu, E. Puenescu / – Buharest, 1963. – 807 s.
22. Vide supra.
23. Hamagaeva I.S. Effect of Fe metabolism of propionic acid bacteria / I.S. Hamagaeva // Tehnika i tehnologiya pischevyih proizvodstv, – М., – 2012 – # 3. – S. 1-7
24. Trusova L.I. Need Ersipelothrix insidiosa some mineral elements / L.I. Trusova, L. Ya. Telishevskaya // Trudyi GNKI, – М., – 1974 – Т. 20 – S. 247-250.
25. Kostomarov Yu.M. Impact zhelezonasysheniya bacteria on the absorption capacity of neutrophils / Yu.M. Kostomarov, N.V. Shehovtseva // ZhMEI, – М., – 2006 – # 1. – S. 75-76
26. Vide supra.
27. Trusova L.I. The impact on growth zhelezodekstranov *Listeria monocytogenes* / L.I. Trusova, L. Ya. Telishevskaya // Trudyi VGNKI, – 1975 – Т. 21. – С. 171-173
28. Sklyarov O.D. The test results a nutrient medium for *Campylobacter* / O.D. Sklyarov, L. Ya. Telishevskaya, K.V. Shumilov, Z.F. Bogautdinov, O.S. Pivovarova // Sb. nauchnyih trudov VGNKI. – М., – 2001. – Т. 62. – S. 185-189.
29. Telishevskaya L. Ya. Effect of iron supplements on the effectiveness of cultivation of bacteria swine erysipelas / L. Ya. Telishevskaya, V.T. Nochevnyi, N.Yu. Basova [i dr.] // Agrarnaya nauka. – 2015. – # 8. – S. 25-28.
30. Zorin S.N. Enzymatic hydrolysates of dietary protein and essential trace elements organic complexes based on them / S.N. Zorin // Voprosy pitaniya. – 2009 – Т. 78. – # 6. – S. 60-66
31. Mazo V.K. New food sources of essential trace elements - antioxidants / V.K. Mazo, I.V. Gmoшинский, L.I. Shirina // – М., Miklosh, 2009. – 208 s.
32. <http://www.alltech/mpi.ru>
33. <http://vita-K.su>2012010427/biohleksi.html>
34. Gapparov M. The effect of casein phosphopeptides on the bioavailability of minerals / M. Gapparov, E. Stan // Voprosy pitaniya. – 2003. – # 6. – S. 41-44.
35. Hamagaeva I.S. The effect of casein phosphopeptide in the solubilization of iron in bacterial concentration / I.S. Hamagaeva, A.V. Krivosova // Tehnika i tehnologiya pischevyih proizvodstv. – М. –2009 – # 1 – S. 68-71.

Telishevskaya L.Y., Nochevny V.T.

MINERAL ELEMENTS IN THE METABOLISM OF PATHOGENIC BACTERIA

Key Words: pathogens culturing bacteria metabolism, essential mineral elements, organic iron compound.

Abstract: This paper presents a review of the literature on the role of mineral elements in the life and metabolism of pathogenic bacteria. There are the data on the functional significance of essential elements in the metabolic processes of microorganisms, the methods of their transport into the cell, the role of the mineral elements in the relationship with the microorganism - host in vivo. There are also data on the value mineral elements for a number of pathogenic microorganisms and the displaying a functional part of the iron ions in the breathing process, growth and virulence of toxin. In the article are shown the results of work on the optimization of culture media for the industrial production of bacterial antigens in the manufacture of preventive and curative drugs for the composition of the mineral elements, the positive effect of complex organic compounds of macro- and micronutrients, particularly iron on growth of microorganisms, promising biotechnology serial production of bacterial antigens and vaccines have

proved to be an additive of complex iron compounds with the peptides. On the model of bacterial swine erysipelas reliably demonstrated the stimulating effect of the iron-containing preparation «Peptofer» on the accumulation of bacterial mass by increasing the viability, safety of initial growth properties, morphological and biochemical indices.

Сведения об авторах:

Телишевская Любовь Яковлевна, доктор биол. наук, ведущий научный сотрудник ФГБУ «ВГНКИ», ул. Звенигородская, 3, Москва, Россия, 123022; тел: +7(985)3657371; e-mail: l.telishi@mail.ru

Ночевный Виктор Тимофеевич, доктор биол. наук, профессор, ведущий научный сотрудник Саратовского НИВИ; тел: +7(495)5210102

Author affiliation:

Telishetskaya Lyubov Yakovlevna, D. Sc in Biology, Leading Researcher of the State Organization «VGNKI», str. Zvenigorodskaya, 3, Moscow, Russia, 123022; phone: +7(985)3657371; e-mail: l.telishi@mail.ru

Nochevny Victor Timofeevich, D. Sc in Biology, Leading Researcher, Professor of Saratov NIVI; phone : +7(495)5210102

УДК 619:576.89; 619:616.995.1- 07

Миронова А.А., Миронова Л.П., Молокова Т.В.

ДИАГНОСТИКА ДИКРОЦЕЛИОЗА ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕСТ-СИСТЕМЫ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

Ключевые слова: дикроцелиоз, тест-система, полимеразная цепная реакция (ПЦР), штамм *D.lanceatum*, ДНК возбудителя, идентификация, амплификация, генетический материал, гельминтовооскопические методы, седиментация.

Резюме: В статье представлены результаты испытания тест-системы для диагностики дикроцелиоза жвачных, определения чувствительности и специфичности полимеразной цепной реакции для идентификации выявления генома трематоды *D. lanceatum* в пробах биологического материала. Важность диагностических исследований паразитарных заболеваний определяется в качественном проведении тех или иных методик. По-прежнему существуют определенные трудности в выборе наиболее эффективного и простого в применении метода, которым могли воспользоваться ветеринарные врачи лабораторий при исследовании жвачных животных на дикроцелиоз, в связи с этим грамотная лабораторная диагностика инвазий приобретает неоценимое значение.

Введение

Согласно современным представлениям паразитологии, паразитирующие формы на разных уровнях рассматриваются не как механическая совокупность, а как целостная система, функционирующая по специфическим законам (В.Ф. Копицкий, 1997).

В нынешних экологических условиях широкое распространение получили иммунодефициты, в результате чего для всех паразитирующих форм появились благопри-

ятные условия. Возникающие паразитозоозы, в том числе и гельминтозоозы, стали протекать атипично, инвазионные качества возбудителей повысились [1].

Из 1416 известных болезней 353 приходится на гельминтозы, из них более 30 массово распространены в России (А.В. Успенский с соавт., 2006). Паразитарные болезни сельскохозяйственных животных наносят значительный ущерб животноводству, который вызывает резкое снижение продуктивности жвачных: молочная