

**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ
ЖУРНАЛ**

ОТДЕЛЬНЫЙ ОТТИСК

КИЕВ — 198

концентрации оказывает бактерицидное или бактериостатическое действие на микроорганизмы (таблица). Минимальные бактерицидные концентрации препарата (0,078—0,6 мкг/мл) в 2—8 раз выше минимальных бактериостатических концентраций (0,019—0,156 мкг/мл). В средах, содержащих 10 и 20 % лошадиной сыворотки крови, МБсК тиония увеличивали в 2—8 раз, МБцК — в 2—4 и 4—8 раз соответственно. В присутствии 40 % сыворотки крови лошади МБсК повышались в 8—32 раза, а МБцК — в 4—16 раз.

Чувствительность выделенных от больных штаммов золотистого стафилококка к тионию

МБсК тиония, мкг/мл	Количество чувствительных штаммов стафилококка					
	Всего		Из них штаммов, для которых МБцК тиония составляет (мкг/мл)			
	Абс.	%	0,078	0,156	0,3	0,6
0,019	6	5,3	1	5	—	—
0,039	56	49,1	4	24	28	—
0,078	38	33,3	—	8	29	1
0,156	14	12,3	—	—	11	3
Итого	114	100	5(4,4)	37(32,4)	68(59,6)	4(3,6)

Примечание. В скобках — процент от общего количества штаммов.

Результаты изучения взаимодействия тиония с антибиотиками показывают, что суббактериостатические дозы препарата усиливают антимикробное действие бензилпенициллина натрия в 4—32 раза, гентамицина — в 64—512 раз независимо от исходной чувствительности штаммов к антибиотикам.

Полученные данные свидетельствуют о высокой антистафилококковой активности тиония и целесообразности его дальнейшего изучения.

Г. Т. Писько, О. П. Дембровский

Глухів, пед. ін-т

**ВИВЧЕННЯ АНТИСТАФІЛОКОКОВОЇ АКТИВНОСТІ ТІОНІЮ
У ДОСЛІДАХ IN VITRO**

Резюме

В даній роботі вивчені в експерименті антистафілококові властивості похідного біс-четвертинних амонієвих сполук — тионію. Внаслідок цього виявлена висока бактерицидна активність препарату, яка зберігається при підвищеному вмісті в середовищах білкових речовин.

На чутливість штамів стафілококів до тионію вихідна чутливість мікроорганізмів до антибіотиків не впливає. Вивчена взаємодія препаратів з бензилпеніциліном та гентаміцином. Виявлена синергічна дія суббактеріостатичних доз тионію з даними антибіотиками. Дія бензилпеніциліну підсилюється у 4—32 рази, гентаміцину — у 64—512 разів незалежно від вихідної чутливості до цих антибіотиків.

Доцільне подальше вивчення нового антистафілококового препарату.

G. T. Pisko, A. P. Dombrovsky

Pedagogical Institute, Glukhov

**STUDY OF ANTISTAPHYLOCOCCAL ACTIVITY OF THIONIUM
IN THE EXPERIMENTS in vitro**

Summary

The paper deals with the experimental study of antistaphylococcal properties of thionium — a derivative of bis-quarternary ammonium compounds. High bactericide activity of the preparation is revealed as a result; it is preserved under high contents of protein substances in the media.

The sensitivity of staphylococcal strains to thionium is not affected by the initial sensitivity of microorganisms to antibiotics. The preparations interaction with benzylpenicillin and gentamycin has been studied. Synergid effect of subbacteriostatic doses of thionium with the mentioned antibiotics has been found. Effect of benzylpenicillin increases 4-32 times, that of gentamycin — 64-512 times independent of the primary sensitivity to these antibiotics.

The further study of a new antistaphylococcal preparation is advisable.

1. Даценко Б. М., Белов С. Г., Тамм Т. И. Гнойная рана.— Киев : Здоров'я, 1985.— 136 с.
2. Лабинская А. С. Микробиология с техникой микробиологических исследований.— М. : Медицина, 1978.— 296 с.
3. Методы экспериментальной химиотерапии.— М. : Медицина, 1971.— 540 с.

Рецензент В. А. Приходько
Член редколлегии Е. А. Киприанова

Получено 01.11.89

УДК 579.852.11.264

И. Н. Павлова, Н. З. Тиньянова, Л. Г. Жолнер

Ин-т микробиологии и вирусологии АН УССР, Киев

АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА НЕКОТОРЫХ ТЕРМОФИЛЬНЫХ БАЦИЛЛ

Исследованы литическая активность и антагонистические свойства 11 термофильных штаммов различных видов рода Bacillus. Показано, что спектры литического и антагонистического действия исследованных термофилов не совпадают: фильтраты культуральных жидкостей этих штаммов осуществляют деградацию живых клеток грамотрицательных бактерий и дрожжей, но угнетают рост грамположительных бактерий. Интенсивность литического и интенсивность антагонистического действия внеклеточных продуктов исследованных штаммов бацилл не коррелируют.

Анализ полученных данных показывает, что лизис тест-культур наступает вследствие деградирующего действия внеклеточных гидролаз термофилов, а не вследствие активирования аутолитических систем тест-культур веществами антибиотической природы, синтезируемыми исследованными спорообразующими бактериями.

Преыдушими исследованиями установлено, что при действии фильтратов культуральных жидкостей ряда термофильных штаммов споровых палочек на грамотрицательные бактерии и некоторые дрожжи наблюдается лизис клеток тест-культур [3]. Лизис может быть вызван деградирующим действием определенных ферментов, получивших название литических благодаря наблюдаемому эффекту. Вместе с тем он может обуславливаться действием аутолизинов клетки в ответ на действие специфических ингибиторов синтеза клеточной стенки, в частности антибиотиков [9]. Так как для многих бацилл характерен биосинтез антибиотических веществ, в том числе и таких, которые подавляют биосинтез клеточной стенки [6], нам представлялось необходимым установить, вследствие чего наступает лизис микроорганизмов при действии на них внеклеточных продуктов термофильных штаммов бацилл.

Материал и методы. Объектом исследования служили спорообразующие бактерии, выделенные ранее из различных источников на агаризованной среде Танака [3] следующего состава (в г/л): клетки *Candida tropicalis* К-41 (воздушно-сухие) — 20; KH_2PO_4 — 2; MgSO_4 — 1; агар — 20. Идентификацию выделенных культур осуществляли общепринятыми методами, используя Определитель Bergey [4].

Литическую активность определяли в фильтратах культуральных жидкостей микроорганизмов, выращенных на жидкой среде Танака, содержащей в качестве источника углерода и азота клетки пекарских дрожжей. Культивирование осуществляли на качалке (220 об/мин) в 0,5-литровых колбах с 50 мл среды в течение 22 ч при 45 °С.

Учет литической активности проводили по изменению оптической плотности (A_{540}) взвеси клеток тест-культуры в пробе общим объемом 2 мл, содержащей приблизительно 2 млрд клеток в 1 мл, 0,1—0,2 мл фильтрата культуральной жидкости или его разведения и 50 мМ трис-НСl-буфер рН 9,1 (исходная плотность пробы при 540 нм составляла 0,5—0,6 опт. ед.). Контрольные пробы не содержали фильтрата культуральной жидкости. Литическую активность выражали в процентах снижения оптической плотности пробы за 30 мин при 60 °С (после вычета соответствующих значений для контрольных проб). Расчет осуществляли по формуле:

$$\frac{A - A_1}{A} \times 100,$$

где A и A_1 — оптическая плотность пробы в начале и конце реакции соответственно. В качестве тест-культур использовали грам⁺- и грам⁻-бактерии *Staphylococcus aureus* 209, *Bacillus cereus* 90, *B. subtilis* 316, *Micrococcus luteus* 169, *Escherichia coli* O44, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* 13, *Pseudomonas aeruginosa* 4000, *P. fluorescens* 201, которые выращивали на мясо-пептонном агаре в течение 22—24 ч при температуре 37 °С, штамм *Acinetobacter calcoaceticus* 57, выращенный на среде с этиловым спиртом в течение того же времени при температуре 28 °С [7], и дрожжи *Candida boidinii* T2, *C. utilis* 651, *Saccharomyces cerevisiae* 748, *Rhodospiridium diobovatum* 1/48, выращенные на сусло-агаре в течение 22—24 ч при температуре 28 °С.

Протеолитическую активность определяли по методу Ансона в модификации Петровой [5]. Проба общим объемом 5 мл содержала 0,2 мл исследуемого материала, 2 мл 2 %-го раствора казеина по Хаммерстену (Олайн, НПО «Биолар») и 50 мМ трис-НСl-буфер рН 9,1. Время реакции — 10 мин, температура — 60 °С. Активность выражали в единицах, соответствующих количеству тирозиновых эквивалентов (в мкмольях), перешедших в раствор вследствие гидролиза казеина.

Глюканазную активность определяли по нарастанию количества редуцирующих сахаров в пробе общим объемом 2 мл, содержащей 0,2 мл фильтрата культуральной жидкости, 0,2 мл 0,5 %-ного раствора глюкозы и 50 мМ трис-НСl-буфер рН 9,1. За единицу активности принимали такое количество фермента, которое обуславливает образование 1 мкмолья глюкозы за 10 мин при 60 °С.

Активность лизоцимоподобной гликозидазы определяли по способности исследуемого материала гидролизовать 3,4-динитрофенил-тетра-N-ацетил-β-D-хитотетраозид («Sigma») в пробе общим объемом 2 мл, содержащей 0,1 мл 0,05 %-го раствора субстрата, 0,2 мл культуральной жидкости и 50 мМ трис-НСl-буфер рН 9,1. Интенсивность развивающейся окраски учитывали при 400 нм. За единицу активности принимали такое количество фермента, которое обуславливало увеличение оптической плотности пробы на 0,01 опт. ед. за 1 мин при 60 °С.

Редуцирующие сахара определяли по методу Нельсона-Шомодьи [10], используя в качестве стандарта глюкозу.

Антагонистические свойства термофильных бактерий изучали методом штрихового посева [1] тест-культур к 20-часовой культуре термофила, выращенного при 45 °С на МПА (для посева бактерий) или на сусло-агаре (для посева дрожжей). Дальнейшее инкубирование проводили при температуре, оптимальной для тест-микроорганизма. Об антагонистической активности судили по размеру (в мм) зоны ингибирования роста тест-культуры.

Результаты и их обсуждение. Из различных материалов, главным образом из проб почвы и растений, было выделено 120 штаммов спорообразующих аэробных бактерий, способных при росте на среде Та-нака давать зоны просветления, т. е. проявлять литические свойства. Морфологические, культуральные и физиолого-биохимические свойства этих культур позволили идентифицировать их как различные виды рода *Bacillus* [3]. При этом ряд штаммов, отнесенных к видам *B. cir-*

culans, *B. megaterium* и *B. cereus*, росли и нормально развивались только при температуре 37—55 °С. Термофильные штаммы с оптимальным ростом 45—50 °С были обнаружены также среди представителей видов *B. subtilis* и *B. licheniformis*.

Объектами настоящего исследования послужили 11 штаммов бацилл с высокой литической активностью, для которых максимальный рост наблюдали при 55 °С. При установлении спектра литического действия этих культур обнаружено, что все штаммы лизируют живые клетки исследованных грамотрицательных бактерий, в том числе видов *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *Acinetobacter calcoaceticus*, и некоторые дрожжи (табл. 1). Клетки грамположительных бактерий не лизировались вообще или лизировались очень слабо. Литический эффект культуральных фильтратов термофилов по отношению к грамположительным бактериям становился заметным только после предварительного прогрева клеток тест-культур (100 °С, 15 мин). При этом лизис прогретых клеток *Staphylococcus aureus* составлял 10—15 % (для различных штаммов бацилл), а лизис клеток *Micrococcus luteus* — 15—20 %. Следует отметить, что все исследованные штаммы термофильных бацилл лизировали клетки грамотрицательных бактерий в 2—3 раза быстрее при 60 °С, чем при 37 °С, и в 20—50 раз быстрее после 15-минутного прогрева при 100 °С.

Так как лизис живых микробных клеток может быть вызван либо деструктивным действием внеклеточных гидролаз термофильных бацилл, либо активированием автолитических ферментов тест-культур определенными вторичными метаболитами этих бацилл, в частности антибиотическими веществами [9], нами были исследованы и антагонистические свойства в отношении того же набора микроорганизмов, что и при определении литической активности. При этом было установлено, что все термофильные штаммы оказывают антагонистическое действие на золотистый стафилококк, а также на другие исследован-

Таблица 1. Литическая активность термофильных бацилл

Тест-культура	<i>Bacillus circulans</i>				<i>Bacillus subtilis</i>					<i>Bacillus licheniformis</i>	
	12	49	51	90	13	66	68	111	120	86	94
<i>Staphylococcus aureus</i> 209*	0	0	0	8	0	0	2	0	0	4	0
<i>Bacillus cereus</i> 90*	0	5	3	17	5	0	13	2	10	9	17
<i>B. subtilis</i> 316*	0	0	0	4	0	0	8	0	4	7	6
<i>Micrococcus luteus</i> 169*	6	5	6	0	9	0	0	9	9	9	0
<i>Escherichia coli</i> O44*	9	6	6	14	—	12	16	—	—	17	12
<i>Klebsiella pneumoniae</i> *	24	32	19	37	41	23	31	47	44	57	43
<i>Proteus vulgaris</i> 13**	36	61	41	69	73	70	68	72	72	80	70
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 4000***	46	33	43	86	81	72	58	76	72	79	71
<i>P. fluorescens</i> 201*	68	59	58	75	66	68	70	75	72	70	62
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> 57***	64	60	33	79	81	60	61	78	66	75	65
<i>Candida boidinii</i> T2***	27	35	33	28	39	30	44	24	30	37	44
<i>C. utilis</i> 652***	23	33	29	25	37	28	40	22	23	32	40
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 748***	18	16	19	29	17	21	22	23	28	12	13
<i>Rhodospiridium diobovatum</i> 1/48***	24	32	30	20	37	25	30	20	15	25	27

Примечание. Активность выражена в процентах лизиса клеток тест-культур. Представлены средние данные из 3*, 4** и 6—8*** опытов. Здесь и в табл. 2, 3 «—» — не определяли.

ные грамположительные бактерии (табл. 2), задерживают рост некоторых грамотрицательных бактерий, но не являются антагонистами представителей родов *Pseudomonas*, *Proteus*, *Acinetobacter* и дрожжей рода *Candida*.

Анализ представленных данных (см. табл. 1 и 2) показывает, что исследованные термофильные штаммы бацилл в подавляющем большинстве случаев не проявляют антагонизма в отношении тех микроорганизмов, которые активно лизируются ими. Это позволяет заключить, что наблюдаемый литический эффект не является следствием активирования аутолитических систем исследуемых грамотрицательных бактерий и дрожжей под влиянием антибиотических веществ, синтезируемых термофильными представителями рода *Bacillus*, и литическая активность исследованных микроорганизмов не связана с их антагонистическими свойствами.

Высокая литическая активность большинства исследованных штаммов в отношении грамотрицательных бактерий и ряда дрожжей, подтвержденная как настоящими, так и проведенными ранее исследо-

Таблица 2. Антагонистические свойства термофильных бацилл

Тест-культура	<i>Bacillus circulans</i>		<i>Bacillus subtilis</i>							<i>Bacillus licheniformis</i>	
	12	49	51	90	13	66	68	111	120	86	94
<i>Staphylococcus aureus</i> 209	18	17	23	15	18	20	8	12	8	10	15
<i>Micrococcus luteus</i> 169	0	—	0	20	9	12	4	30	21	2	10
<i>Bacillus cereus</i> 90	—	25	20	17	22	23	8	17	10	6	24
<i>B. subtilis</i> 316	0	—	20	9	10	18	2	6	4	0	0
<i>Escherichia coli</i> O44	10	11	11	6	6	16	0	—	—	3	15
<i>Proteus vulgaris</i> 13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 4000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. fluorescens</i> 1602	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> 57	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
<i>Candida boidinii</i> T2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

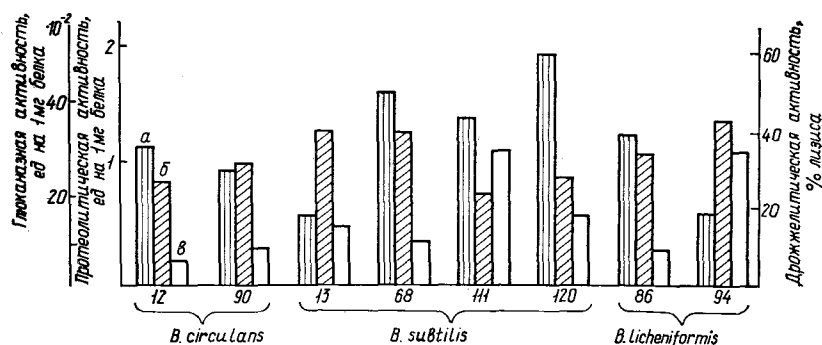
Примечание. Приведены размеры (в мм) зон ингибирования роста тест-культур. Представлены средние значения из трех опытов.

Таблица 3. Активность гидролаз фильтратов культуральной жидкости некоторых термофильных бацилл по отношению к различным субстратам

Субстрат	<i>Bacillus circulans</i>		<i>Bacillus subtilis</i>				<i>Bacillus licheniformis</i>	
	12	90	13	68	111	120	86	94
Казеин	1,1	0,89	0,58	1,58	1,43	1,8	1,2	0,51
Ламинарин	0,14	0,49	0,37	0,39	0,42	—	0,41	0,68
Лихенин	0,13	0,13	0,24	0,21	0,33	—	0,39	0,39
Глюкан ячменный	0,11	0,21	0,17	0,19	0,06	—	0,20	0,26
Глюкан пекарских дрожжей	0,06	0,07	0,11	0,10	0,31	0,14	0,07	0,31
3,4-динитрофенил-тетра-N-ацетил-β-D-хитотетраозид	13,75	16,0	19,5	12,5	13,8	13,75	18,75	12,5

Примечание. Представлены средние данные из 3—5 опытов. Активность выражена в соответствующих единицах (см. «Материал и методы») в пересчете на 1 мл фильтрата культуральной жидкости.

ваниями [8], позволяет предположить, что термофилы образуют секреторные гидролазы различной специфичности, которые совместно или самостоятельно могут осуществлять деградацию компонентов клеточной стенки тест-культур [2]. В связи с этим термофильные бациллы были исследованы на наличие у них секреторных протеиназ, β -глюканаза и лизоцимоподобных гликозидаз как наиболее вероятных претендентов на роль литических ферментов. Было установлено, что фильтраты культуральных жидкостей термофилов гидролизуют казеин,



Активность литических гидролаз и наблюдаемый литический эффект. *a* — протеолитическая активность, ед на 1 мг белка; *b* — глюканазная активность, ед на 1 мг белка; *v* — дрожжелитическая активность, процент лизиса.

ламинарин, лихенин, глюкан пекарских дрожжей, ячменный глюкан, а также расщепляют синтетический субстрат мурамидазы. Уровни соответствующих активностей штаммов сравнимы (табл. 3).

Так как ответственными за дрожжелитическое действие являются протеиназы и (или) β -1,3-глюканазы (ламинариназы), было проведено сравнение уровней этих активностей и дрожжелитического действия ряда штаммов с целью установления взаимосвязи между отдельными гидролазами и наблюдаемым литическим эффектом (рисунок). Однако ни в этом случае, ни при сравнении бактериолитической активности и активности внеклеточных протеиназ и лизоцимоподобных гликозидаз не было выявлено прямой зависимости литического действия от активности одного из определяемых ферментов. Это не является неожиданным, поскольку процесс деградации такой многокомпонентной системы, какой является микробная клеточная стенка, представляет собой многоступенчатый процесс, в котором одновременно или последовательно участвуют несколько ферментов. Особенности структуры как дрожжевой, так и бактериальной оболочки позволяют отводить роль фермента, инициирующего процесс лизиса, литической протеиназе, которая, гидролизуя поверхностные белки, открывает доступ карбогидразам к основному структурному компоненту клеточной стенки — глюкану у дрожжей и пептидогликану — у бактерий. Естественно, соответствующее сочетание гидролаз, способных осуществлять гидролиз компонентов клеточной стенки, и уровень их активности определяют суммарный эффект воздействия на микробную клетку и глубину ее деструкции.

Таким образом, проведенные нами исследования показали, что изученные термофильные штаммы бацилл синтезируют высокоактивные секреторные протеиназы и карбогидразы, гидролизующие компоненты клеточных стенок и составляющие в сочетании литическую систему. Последняя позволяет синтезирующей ее клетке расширить набор приспособительных и защитных механизмов, создает заметное преимущество во взаимоотношениях с другими микроорганизмами.

АНТИМІКРОБНІ ВЛАСТИВОСТІ
ДЕЯКИХ ТЕРМОФІЛЬНИХ БАЦИЛ

Резюме

Досліджені літична активність та антагоністичні властивості 11 термофільних штамів різних видів роду *Bacillus*. Показано, що спектри літичної та антагоністичної дії досліджуваних термофілів не співпадають: фільтрати культуральних рідин цих штамів здійснюють деградацію живих клітин грамнегативних бактерій і дріжджів, але пригнічують ріст грам-позитивних бактерій. Інтенсивність літичної та інтенсивність антагоністичної дії позаклітинних продуктів досліджуваних штамів бацил не корелюють.

Аналіз одержаних даних показує, що лізис тест-культур настає внаслідок деградуючої дії позаклітинних гідролаз термофілів, а не внаслідок активування автолітичних систем тест-культур речовинами антибіотичної природи, що синтезуються досліджуваними спороутворюючими бактеріями.

I. N. Pavlova, N. Z. Tinyanova, L. G. Zholner

Institute of Microbiology and Virology,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev

ANTIMICROBIAL PROPERTIES
OF CERTAIN THERMOPHILIC BACILLI

Summary

Lytic activity and antagonistic properties of 11 thermophilic strains in different species of the genus *Bacillus* have been studied. It is shown that the spectra of lytic and antagonistic effect of the studied thermophils do not coincide: filtrates of cultural liquids of these strains implement the degradation of living cells of Gram-negative bacteria and yeast but inhibit the growth of Gram-positive bacteria. Both the intensities of lytic and antagonistic actions of the extracellular products of the studied strains of bacilli do not correlate.

An analysis of the obtained data shows that the lysis of test-cultures takes place as a result of degrading action of extracellular hydrolases of thermophils but not as a result of activation of autolytic systems of test cultures by the substances of antibiotic nature synthesized by the studied sporeforming bacteria.

1. Егоров Н. Г. Основы учения об антибиотиках.— М.: Высш. шк., 1979.— С. 479.
2. Захарова И. Я., Павлова И. Н. Литические ферменты микроорганизмов.— Киев: Наук. думка, 1985.— 215 с.
3. Квасников Е. И., Тиньянова Н. З. Литические свойства некоторых споровых термофильных бактерий // Микробиол. журн.— 1981.— 43, № 2.— С. 252—256.
4. Краткий определитель Берги.— М.: Мир, 1980.— 286 с.
5. Петрова И. С., Винцоняйте М. М. Определение протеолитической активности ферментных препаратов микробиологического происхождения // Прикл. биохимия и микробиология.— 1966.— 2, № 3.— С. 322—327.
6. Смирнов В. В., Резник С. Р., Василевская И. А. Спорообразующие аэробные бактерии — продуценты биологически активных веществ.— Киев: Наук. думка, 1982.— 274 с.
7. Степанюк В. В., Квасников Е. И., Гавриленко М. М., Сумневич В. Г. Структурные особенности клеток *Acinetobacter calcoaceticus* К-9, усваивающих этанол при различных скоростях разбавления среды // Микробиол. журн.— 1979.— 41, № 5.— С. 456—465.
8. Тиньянова Н. З., Павлова И. Н., Квасников Е. И. и др. Влияние ряда физико-химических факторов на дрожжелитическую активность термофильных бактерий рода *Bacillus* // Там же.— 1982.— 44, № 4.— С. 14—20.
9. Rogers H. J. Killing of staphylococci by penicillins // Nature.— 1967.— 213, N 5071.— P. 31—33.
10. Somogi M. Notes on sugar determination // J. Biol. Chem.— 1952.— 195, N 1.— P. 19—23.

Рецензент Т. П. Пирог
Член редколлегии И. Г. Соколов

Получено 13.02.90

С. Ф. Попов, Б. И. Мельников, М. П. Лагутин, В. Я. Курилов

Волгоград. науч.-исслед. противочум. ин-т

ИЗУЧЕНИЕ КАПСУЛООБРАЗОВАНИЯ У ВОЗБУДИТЕЛЯ САПА

С помощью электронно-микроскопического и электронно-цитохимического методов показано, что возбудитель сапа (штамм № 10230) при росте на мясо-пептонном агаре продуцирует внеклеточную слизь, а в случае заражения морских свинок — формирует капсулу, которая делает патоген более устойчивым к фагоцитозу.

Известно, что такие представители рода *Pseudomonas*, как *Pseudomonas pseudomallei* и *P. aeruginosa*, имеющие важное этиологическое значение, в процессе роста способны образовывать внеклеточную слизь — псевдокапсулу, которая выполняет функцию защиты от неблагоприятных условий внешней среды [3, 5]. Наличие же подобного экстрацеллюлярного образования у другого вида псевдомонад — *P. mallei* изучено недостаточно.

Цель работы — с помощью электронной микроскопии изучить возможность образования внеклеточной структуры у возбудителя сапа *P. mallei* *in vitro* и *in vivo*, а также выяснить влияние этой структуры на взаимодействие с клетками макроорганизма.

Материал и методы. Использовали типичный сапной штамм *P. mallei* № 10230. Культуру выращивали в течение 24 ч на мясо-пептонном агаре при 37 °С. Для ультраструктурного исследования бактерии фиксировали на агаре 2,5 %-м раствором глутаральдегида в 0,1 М какодилатном буфере рН 7,4 в течение 1 ч при комнатной температуре. Затем культуру собирали с питательной среды, промывали в том же буфере и дополнительно фиксировали 1 %-м раствором тетраоксида осмия в вышеназванном буфере в течение 2 ч при комнатной температуре. Для выявления бактериальных поверхностных структур использовали метод окрашивания образцов рутениевым красным [2]. Дальнейшую подготовку препаратов для трансмиссионной электронной микроскопии проводили по общепринятой методике [4].

Для изучения внеклеточного образования у возбудителя сапа *in vivo* морских свинок заражали указанной культурой внутрибрюшинно в дозе $2 \cdot 10^9$ микробных клеток. По истечении 1, 3 и 6 ч из брюшной полости делали смыв физиологическим раствором. Клетки перитонеального экссудата осаждали центрифугированием в течение 15 мин при скорости 2500 *g*, фиксировали и готовили материал для электронной микроскопии, как описано выше, но без использования рутениевого красного. Срезы просматривали в электронном микроскопе JEM-100 SX (Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ.

Результаты и их обсуждение. На ультратонких средах клетки бактерий сапа, выращенные *in vitro* и не обработанные рутениевым красным, имели типичное строение грамотрицательных прокариот; на поверхности их клеточных стенок мы не обнаружили какого-либо морфологически очерченного образования (рис. 1, а). В случае постановки электронно-цитохимической реакции с рутениевым красным, с помощью которой выявляют кислые экзополисахариды [2], у части бактерий можно было видеть отложение рутений-позитивного материала на наружной мембране клеточной стенки (рис. 1, б). При анализе 1200 микробных клеток количество особей с рутений-позитивным материалом составило 3—4 %.

В полученных от зараженных морских свинок препаратах среди интактных бактерий, расположенных вне фагоцитов, можно было выделить две популяции микробов. Одни бактерии имели обычную структуру, другие — обладали морфологически очерченным экстрацеллюлярным образованием, представленным двумя слоями, равномерно окружающими тело бактериальной клетки. Первый узкий слой, прилегаю-