

**ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ ЛИЗОЦИМА КЛЕЩЕЙ
ORNITHODOROS MOUBATA (ARGASIDAE)
НА ГАЛЬПРОВИИ (ХЛАМИДИИ)**

С. Р. Бескина, В. М. Подборонов, Е. А. Житова, И. М. Гроховская

Институт эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР, Москва

Лизоцим, выделенный из клещей *O. moubata* оказывает трансформирующее действие на возбудителя паратрахомы (штамм LB-1) в опытах *in vitro*. Изменения морфологических структур возбудителя, образующиеся в цитоплазматических включениях клеток L под действием лизоцима, протекают по типу изменений, возникающих у гальпровий под влиянием пенициллина.

На значительном фактическом материале рядом авторов (Подборонов и др., 1975, 1978; Anigstein e. a., 1950, Duncan, 1926) было показано, что органы и ткани клещей обладают бактерицидным действием для многих грам-положительных и грам-отрицательных бактерий. Позже было установлено, что вещество, находящееся в организме клещей и оказывающее бактерицидный эффект, является лизоцимом (Подборонов и др., 1975; Ревина и др., 1977). Было также показано, что лизоцим, выделенный из клещей *O. moubata*, уменьшал жизнеспособность *R. prowazekii* и *R. canada* (Подборонов и др., 1978). Эти данные указывают на достаточно широкий спектр лизоцима на различные представители микроорганизмов. В этой связи представляло интерес изучить его действие и на гальпровии, облигатные внутриклеточные паразиты прокариотной природы. В известной нам литературе подобные сведения отсутствуют.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы. В качестве модельного штамма гальпровий был использован возбудитель паратрахомы (штамм LB-1), полученный от доктора Ю. Шахтера (США, Сан-Франциско). Этот штамм подерживался в нашей лаборатории в серийных пассажах. Титр возбудителя колебался в пределах 10^5 — $10^{6.3}$ ЕЛД 50/0.5. Материалом для заражения клеток служила 5%-ная взвесь инфицированных LB-1 оболочек желточных мешков развивающихся куриных эмбрионов, приготовленная на 199-й среде без антибиотиков. Взвесь центрифугировали в течение 10 мин при 2000 об./мин для удаления клеточного детрита и нерастворимых липидов. В качестве инокулята служила надосадочная жидкость.

В качестве модели была использована перевиваемая линия клеток L (мышинные фибробласты). Клетки выращивали в плоскодонных центрифужных пробирках с покровными стеклами диаметром 11 мм на 199-й среде с 10%-ной прогретой сывороткой крупного рогатого скота без антибиотиков. В каждый культуральный сосуд заливали суспензию клеток по 1 мм из расчета 1.5 — 10^4 /мл и выращивали в течение трех суток при 36°C .

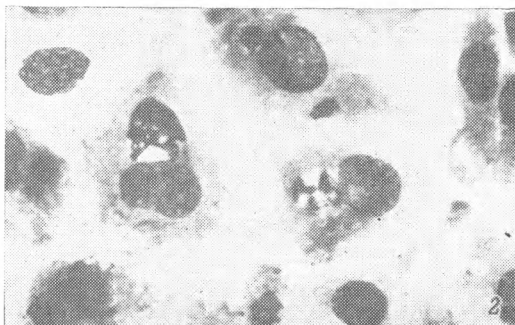
Перед заражением среду сливали, клетки один раз отмывали раствором Хенкса, а затем вносили инокулят по 0.3 мл в каждую культуральную пробирку и подвергали центрифугированию при 2.400 g в течение 1 ч при 33°. Неадсорбированный материал сливали, монослой клеток дважды отмывали раствором Хенкса и заливали средой роста, содержащей 199-ю среду и 5% сыворотки крупного рогатого скота. Лизоцим получали из гомогената клещей *O. moubata* методом специфической сорбции последнего на хитине (поли-В-1-4-N-ацетилглюкозамин), обессоливали гель-фильтрацией на сефадексе G-25 (тонкий) и лиофилизировали. Гомогенат лизоцима проверяли на амберлите СС-50. Результаты хроматографирования показывали его высокую чистоту (Ревина и др., 1977). Лизоцим добавляли в концентрациях 5 мг/мл сразу же после адсорбции (0 ч) возбудителя и не удаляли в течение всего опыта. Разведение лизоцима готовили на 199-й среде. Контрольные инфицированные культуры без лизоцима и опытные с лизоцимом исследовали через 48 ч.



Рис. 1—2.

1—морфологические структуры гальпровий в цитоплазматических включениях клеток L, не обработанных лизоцимом клещей *O. moubata* — 48 ч. Окраска по Май—Грюнвальду—Гимза, $\times 1400$.

2 — изменение морфологических структур гальпровий в цитоплазматических включениях клеток L под действием лизоцима клещей *O. moubata* — 48 ч. Окраска по Май—Грюнвальду—Гимза, $\times 1400$.



Для выявления морфологических структур покровные стекла вынимали из культуральных пробирок, подсушивали на воздухе, фиксировали в 96-градусном этаноле и окрашивали по Май—Грюнвальду—Гимза (МГГ). Результаты и обсуждение. В контрольных культурах, не обработанных лизоцимом, на 48-м ч выявили морфологические структуры, характерные для нормального цикла развития гальпровий (Шаткин и др., 1964) (см. рисунок, 1). В культурах, обработанных лизоцимом клещей на тех же сроках, во включениях были обнаружены изменения морфологических структур (см. рисунок, 2). Эти структуры были сходны с формами гальпровий, образованными под действием пенициллина (Прозоровский и др., 1979).

Полученные нами данные позволяют предположить, что лизоцим, выделенный из клещей, оказывает трансформирующее действие на возбудитель паратрахомы (штамм LB-1). Однако механизм его действия на гальпровию остается неясным и требует дальнейшего изучения.

Согласно литературным данным, организм клещей является средой обитания для различных возбудителей гальпровий сельскохозяйственных животных (Eddie e. a., 1969). Именно в этой связи возникает практический интерес дальнейшего изучения лизоцима на гальпровии в организме самого клеща.

Л и т е р а т у р а

- Подборонов В. М., Гроховская И. М. Изучение антибактериального действия органов и тканей клещей *Hyalomma dromedarii*, *H. anatolicum*, *Ixodes persulcatus*. — Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 1975, вып. 5, с. 545—549.
- Подборонов В. М., Гроховская И. М., Степанченко-Рудник Г. И. Получение и свойства бактерицидного вещества, выделенного из клещей *Ornithodoros papillipes*. — Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 1975, вып. 6, с. 716—719.
- Подборонов В. М., Гроховская И. М., Подборонов А. М. Сравнительное изучение бактерицидного действия организма клещей *Ornithodoros papillipes*. — Паразитология, 1978, т. 12, вып. 5, с. 400—405.
- Подборонов В. М., Игнатович В. Ф., Гроховская И. М. Действие одного из факторов защиты клещей (лизоцима) на риккетсии. — В кн.: Вопросы риккетсиологии. Сб. науч. тр. М., 1978, с. 22—23.
- Ревина П. А., Журавлева Т. П., Подборонов В. М., Гроховская И. М. Выделение лизоцима из клещей *Alveonatus lahorensis* (Argasidae). — Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 1977, вып. 4, с. 418—420.
- Прозоровский С. В., Бескина С. Р., Попов В. Л., Бархатова О. И. Морфологические изменения галльпровий (хламидий), протекающие по типу L-трансформации бактерий. — В кн.: Галльпровиозы хламидиозы человека и животных. М., 1979, с. 22—26.
- Шаткин А. А., Бескина С. Р. Культивирование возбудителей трахомы и паратрахомы в развивающихся куриных эмбрионах. II. Изучение некоторых этапов развития агентов гистохимическими методами. — Вопр. вирусол., 1964, вып. 6, с. 678—682.
- Anigstein Z., Whithey D. M., Micks D. W. Antibacterial activity of a substance present in ticks (Ixodidae) of Texas. — Nature, 1950, N 4212, p. 141—143.
- Dunck J. F. On a bactericidal principle present in the alimentary canal of insects and arachnids. — Parasitology, 1926, vol. 18, p. 238—252.
- Eddie B. F., Radovskiy F. J., Stiller D., Kumada N., Psittacosis-lymphogranuloma venereum (PL) agents (Bedsonia, Chlamydia) in ticks, fleas, and native mammals in California. — Amer. J. Epidemiol., 1969, vol. 90, N 5, p. 449—460.

THE EFFECT OF LYSOZYME OF THE TICK *ORNITHODOROS MOUBATA* (ARGASIDAE) ON HALPROWIAE (CHLAMYDIAE) IN VITRO

S. R. Beskina, V. M. Podboronov, E. A. Zhitova, I. M. Grokhovskaya

S U M M A R Y

Lysozyme excreted from the tick *Ornithodoros moubata* caused in vitro changes of morphological structures of the paratrachoma agent (strain LB-1).
