

ЭКСТРАКЛЕТОЧНЫЕ ВЕЗИКУЛЫ МИКОПЛАЗМ И ФОРМИРОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ БАКТЕРИЙ К ФТОРХИНОЛОНАМ

© 2014 г. Е. С. Медведева, Н. Б. Баранова, А. А. Музыкантов, Т. Ю. Григорьева,
М. Н. Давыдова, О. А. Чернова, В. М. Чернов

Представлено академиком И.А. Тарчевским 12.08.2013 г.

Поступило 07.10.2013 г.

DOI: 10.7868/S0869565214060255

Микоплазмы, инфицирующие человека, животных и растения, контаминирующие клеточные культуры и вакцинные препараты, представляют серьезную проблему [1]. Микоплазмы быстро приобретают устойчивость к антибактериальным препаратам. Однако несмотря на низкую эффективность, антибиотикотерапия является основным средством, используемым при лечении микоплазменных инфекций и деконтаминации клеточных культур. Наиболее активно при этом применяются фторхинолоны — синтетические антибактериальные препараты, в частности, энрофлоксацин, спарфлоксацин и ципрофлоксацин [2]. Механизмы быстрого развития резистентности микоплазм к фторхинолонам не ясны. Известные для других бактерий способы формирования устойчивости к хинолонам, связанные с мутациями в генах целевых белков и ограничением накопления антибактериальных препаратов в клетках микроорганизмов, не являются, по мнению некоторых исследователей, основными у микоплазм [3]. Выяснение механизмов быстрого развития резистентности к антибактериальным препаратам и решение проблемы контроля микоплазменных инфекций и контаминаций связывают с исследованиями адаптации микоплазм к стрессовым условиям [3–5]. Успешная реализация геномных проектов в отношении ряда микоплазм определила возможность использования постгеномных технологий для изучения соответствующих процессов. Уникальным видом микоплазм по адаптивным свойствам является *Acholeplasma laidlawii* — возбудитель фитомикоплазмозов, основной контаминант клеточных культур и вакцинных препаратов. В результате транскриптомно-протеомного анализа и наноскопии нами впервые были выявлены стресс-реактивные белки и гены *Acholeplasma laidlawii* и показана,

что адаптация микоплазмы к стрессорам связана с секрецией экстраклеточных везикул (ЭВ) [4, 5]. ЭВ бактерий — сферические, окруженные мембраной наноструктуры (диаметр 20–200 нм), которые опосредуют трафик широкого спектра соединений, участвуют в сигналинге, межклеточных взаимодействиях и патогенезе инфекций [6]. В самое последнее время появились данные о возможном участии ЭВ бактерий в формировании устойчивости микроорганизмов к антибактериальным препаратам [7], однако в отношении микоплазм подобные исследования не проводились. Выяснение роли экстраклеточных мембранных везикул в формировании устойчивости микоплазм (*Acholeplasma laidlawii*) к фторхинолонам (ципрофлоксацин) явилось целью нашей работы.

В результате наших исследований впервые показано, что в формировании устойчивости *A. laidlawii* к ципрофлоксацину участвуют экстраклеточные мембранные везикулы микоплазмы.

В работе использовали штамм *Acholeplasma laidlawii* PG8, полученный из коллекции микроорганизмов Института эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН (Москва). Культуру клеток *A. laidlawii* PG8 после музейного хранения выращивали при 37°C в жидкой полноценной питательной среде Эдварда (ППСЭ) с модификациями [4]. Резистентный к ципрофлоксацину штамм *A. laidlawii* PG8R выращивали при 37°C в ППСЭ, содержащей антибиотик в концентрации 0.5 мкг/мл.

Атомно-силовую, а также трансмиссивную электронную микроскопию проводили согласно [8]. Определение содержания антибиотика в ЭВ проводили флуориметрическим методом [9].

Для оценки бактериостатического эффекта ЭВ *A. laidlawii* использовали диско-диффузионный метод в отношении чувствительного к ципрофлоксацину тестерного штамма *Staphylococcus aureus* (изолят) [10].

Казанский институт биохимии и биофизики Казанского
научного центра Российской Академии наук
Казанский (Приволжский) федеральный университет