

4
НОМЕР



ISSN 2304-9081

Электронный журнал
On-line версия журнала на сайте
<http://www.elmag.uran.ru>

БЮЛЛЕТЕНЬ

ОРЕНБУРГСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА УРО РАН



2016

УЧРЕДИТЕЛИ

УРАЛЬСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ РАН
ОРЕНБУРГСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР УРО РАН

© Коллектив авторов, 2016

УДК 579.61

О.А. Гоголева, Н.В. Немцева, Н.А. Вальшева, А.В. Вальшев

ЛИПАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ШТАММОВ *MYCOBACTERIUM IRANICUM* И *MYCOBACTERIUM RUTILUM*

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия

Цель: Скрининг липазной активности умеренно галофильных нетуберкулезных микобактерий (НТМБ), выделенных из бактериопланктона устьевой зоны реки Солянка (уровень минерализации 25,2-28,6 г/л), впадающей в озеро Эльтон (Россия, Волгоградская область, Палласовский район).

Материалы и методы. Для обнаружения продукции липаз использовали основу агара для липолитических микроорганизмов, содержащей трибутирин (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd, Индия).

Результаты. Выявлено, что оба штамма – *M. iranicum* ICIS S1 и *M. rutilum* ICIS S2 – обладают липазной активностью. С одной стороны, продукция микроорганизмами данного фермента может являться частью адаптивного механизма выживания в условиях повышенной минерализации, а с другой - свидетельствует о патогенном потенциале этих НТМБ, выделенных из окружающей среды.

Ключевые слова: нетуберкулезные микобактерии, вирулентность, липаза.

O.A. Gogoleva, N.V. Nemtseva, N.A. Valysheva, A.V. Valyshev

LIPASE ACTIVITY OF *MYCOBACTERIUM IRANICUM* AND *MYCOBACTERIUM RUTILUM* STRAINS

Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis, UrB RAS, Orenburg, Russia

Objective. This study aimed to screen lipase activity of moderately halophilic non-tuberculous mycobacteria (NTM) from bacterioplankton of Solyanka river (water mineralization 25,2-28,6 g/l) outfall in the arid zone of Elton Lake basin (Volgograd region, Russia).

Materials and methods. Tributyrin Agar Base with Tributyrin (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., India) was used for detection of lipolytic microorganisms.

Results. The findings of this study indicated that both strains – *M. iranicum* ICIS S1 and *M. rutilum* ICIS S2 – were lipolytic bacteria. Microbial production of this enzyme could be considered as adaptive survival mechanism under high mineralization conditions, and also may be a pathogenic potential of NTM, isolated from environment.

Keywords: non-tuberculous mycobacteria, virulence, lipase.

Введение

По данным интернет-ресурса List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (<http://www.bacterio.net/mycobacterium.html>), к декабрю 2016 г. описано 175 видов и 13 подвидов бактерий рода *Mycobacterium*. За исключением возбудителей туберкулеза и лепры, другие представители этого рода обычно являются сапрофитами и известны как атипичные микобактерии –

нетуберкулезные микобактерии (НТМБ; NTM, non-tuberculous mycobacteria) или отличные от туберкулезных микобактерии (MOTT, mycobacteria other than tubercle bacilli). Будучи условно-патогенными микроорганизмами, эти бактерии вызывают заболевания легких, кожи, костей, лимфадениты и раневые инфекции [1-5]. Считается, что около трети из известных видов НТМБ связаны с патологией у человека [6].

Хотя инфекционные процессы, вызванные указанными микроорганизмами, чаще возникают у пациентов с иммунодефицитными состояниями и/или хроническими неспецифическими заболеваниями легких, существенную роль могут играть факторы патогенности, которые у НТМБ мало изучены.

Целью исследования явилось определение липазной активности как одного из вероятных факторов патогенности у представителей недавно описанных видов НТМБ – *M. iranicum* и *M. rutilum*.

Материалы и методы

Объектом исследования послужили умеренно галофильные штаммы *M. iranicum* ICIS S1 и *M. rutilum* ICIS S2, выделенные из бактериопланктона устьевого участка реки Солянка (координаты: N 49°10'; E 46°40'; уровень минерализации 25,2-28,6 г/л), протекающей по аридной территории природного парка «Эльтонский» и впадающей в гипергалинное озеро Эльтон (Волгоградская область, Палласовский район).

Видовую идентификацию бактерий проводили по морфологическим, биохимическим и культуральным свойствам. Окончательная идентификация проведена путём секвенирования гена 16S рРНК и сравнения полученной последовательности с базой данных GenBank. По результатам сравнения ближайшими к исследуемым штаммам *M. iranicum* ICIS S1 и *M. rutilum* ICIS S2 оказались локусы KU861842.1 штамма *M. iranicum* Y31 (99% сходства) и LT629971.1 штамма *M. rutilum* DSM 45405 (98% сходства).

Для определения липазной активности бактерий использовали основу агара для липолитических микроорганизмов (M157), содержащую 1% (об./об.) трибутирина (FD081) (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd, Индия).

Результаты и обсуждение

Проведенное исследование показало, что вокруг колоний обоих штаммов *M. iranicum* ICIS S1 и *M. rutilum* ICIS S2 на мутной среде образуются зоны просветления (в результате деградации трибутирина), что свидетельству-

ет о продукции липаз (-ы) (рисунок).



Рис. Липазная активность штаммов *M. iranicum* ICIS S1 (1) и *M. rutilum* ICIS S2 (2).

Вид *M. iranicum* описан в 2013 г. на основе 8 штаммов, выделенных в период с 2005 по 2011 гг. в шести разных странах (Иран, Италия, Греция, Нидерланды, Швеция, США). Источниками выделения были различные диагностические образцы, включая материал, полученный при бронхоальвеолярном лаваже, мокроту, спинномозговую жидкость и раневое отделяемое [7]. Эти быстрорастущие скотохромогенные бактерии обнаруживают в основном в мокроте при заболеваниях дыхательных путей. Так, например, в 2010 г. из мокроты 58-летней женщины был изолирован новый штамм *M. iranicum* (источником инфекции считают ее мужа, у которого для лечения апноэ во сне использовали СИПАП – аппарат искусственной вентиляции лёгких постоянным положительным давлением) [8]. В 2012 г. в Иране данный микроорганизм выделен у ВИЧ-позитивного 44-летнего мужчины с хроническим заболеванием легких [9]. Опубликована черновая геномная последовательность (draft genome) штамма *M. iranicum* UM_TJL, выделенного из мокроты пациента в Малайзии с подозрением на туберкулез легких на фоне сахарного диабета и ишемической болезни сердца [10]. Бактерии данного вида явились причиной перитонита 68-летнего мужчины, находившегося на перитонеальном диализе [11].

О клиническом значении микобактерий другого вида – *M. rutilum* – практически ничего не известно. Типовой штамм - *czh-117^T* (=АТСС ВАА-1375^T =СІР 109271^T), а также референс-штаммы - *czh-107* (=АТСС ВАА-1374 =СІР 109270) и *czh-132* (=АТСС ВАА-1376 =СІР 109272) были выделены из почвы городского парка в Гонолулу (Гавайи, США) [12].

В течение последнего десятилетия опубликованы данные о широком распространении микобактерий как полноценных членов естественных микробных сообществ разнотипных водоемов, включая местообитания с экстремальными условиями жизни [13-15]. Реализуя свою липазную активность, представители НТМБ в природных условиях способны, вероятно, обеспечивать себе не только устойчивость к высокой концентрации соли, но и к действию других стрессовых факторов – замораживанию, нагреванию, высушиванию и др.

В то же время наличие липазной активности у изолированных из природной среды *M. iranicum* и *M. rutilum* может указывать на их клинический потенциал, поскольку известно, что ферменты данной группы играют важную роль во взаимодействии патогенных для человека микобактерий *M. tuberculosis* с его организмом. При расщеплении липидов хозяина в процессе инфекции высвобождающиеся жирные кислоты используются бактериями для создания внутриклеточного хранилища триацилглицеролов в качестве энергетического запаса или источника углерода [16].

Заключение

Таким образом, полученные материалы свидетельствуют, что оба штамма – *M. iranicum* ICIS S1 и *M. rutilum* ICIS S2 – обладают липазной активностью. Продукция микроорганизмами данного фермента, с одной стороны, может расцениваться как часть адаптивной стратегии выживания в условиях повышенной минерализации водной среды. С другой стороны, не стоит забывать о патогенном потенциале НТМБ, обитающих в объектах окружающей среды, что может рассматриваться в качестве фактора риска.

ЛИТЕРАТУРА

1. Stout J.E., Koh W.J., Yew W.W. Update on pulmonary disease due to non-tuberculous mycobacteria. *Int. J. Infect. Dis.* 2016. 45: 123-134.
2. Lamb R.C., Dawn G. Cutaneous non-tuberculous mycobacterial infections. *Int. J. Dermatol.* 2014. 53.(10): 1197-1204.
3. Daley C.L., Griffith D.E. Pulmonary non-tuberculous mycobacterial infections. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 2010. 14.(6): 665-671.

4. Petrini B. Non-tuberculous mycobacterial infections. *Scand. J. Infect. Dis.* 2006. 38.(4): 246-255.
5. Ellis S.M. The spectrum of tuberculosis and non-tuberculous mycobacterial infection. *Eur. Radiol.* 2004. 14 Suppl. 3: E34-E42.
6. Katoch V.M. Infections due to non-tuberculous mycobacteria (NTM). *Indian J. Med. Res.* 2004. 120 (4): 290-304.
7. Shojaei H., Daley C., Gitti Z. et al. *Mycobacterium iranicum* sp. nov., a rapidly growing scotochromogenic species isolated from clinical specimens on three different continents. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2013. 63 (Pt 4): 1383-1389.
8. Balakrishnan N., Tortoli E., Engel S.L., Breitschwerdt E.B. Isolation of a novel strain of *Mycobacterium iranicum* from a woman in the United States. *J. Clin. Microbiol.* 2013. 51 (2): 705-707.
9. Hashemi-Shahraki A., Heidarieh P., Azarpira S. et al. *Mycobacterium iranicum* infection in HIV-infected patient, Iran. *Emerg. Infect. Dis.* 2013. 19 (10): 1696-1697.
10. Tan J.L., Ng H.F., Wee W.Y. et al. First Whole-Genome Sequence of *Mycobacterium iranicum*, a Newly Reported Mycobacterial Species. *Genome Announc.* 2013. 1 (5). pii: e00732-13.
11. Inagaki K., Mizutani M., Nagahara Y. et al. Successful Treatment of Peritoneal Dialysis-related Peritonitis due to *Mycobacterium iranicum*. *Intern. Med.* 2016. 55 (14): 1929-1931.
12. Hennessee C.T., Seo J.S., Alvarez A.M., Li Q.X. Polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading species isolated from Hawaiian soils: *Mycobacterium crocinum* sp. nov., *Mycobacterium pallens* sp. nov., *Mycobacterium rutilum* sp. nov., *Mycobacterium rufum* sp. nov. and *Mycobacterium aromaticivorans* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2009. 59 (Pt 2): 378-387.
13. Jacobs J., Rhodes M., Sturgis B., Wood B. Influence of environmental gradients on the abundance and distribution of *Mycobacterium* spp. in a coastal lagoon estuary. *Appl. Environ. Microbiol.* 2009. 75 (23): 7378-7384.
14. Kelly J.J., Minalt N., Culotti A. et al. Temporal variations in the abundance and composition of biofilm communities colonizing drinking water distribution pipes. *PLoS One.* 2014. 9 (5): e98542.
15. Santos R., de Carvalho C.C., Stevenson A. et al. Extraordinary solute-stress tolerance contributes to the environmental tenacity of mycobacteria. *Environ. Microbiol. Rep.* 2015. 7 (5): 746-764.
16. Singh G., Singh G., Jadeja D., Kaur J. Lipid hydrolizing enzymes in virulence: *Mycobacterium tuberculosis* as a model system. *Crit. Rev. Microbiol.* 2010. 36 (3): 259-269.

Поступила 20.12.2016

(Контактная информация: Валышев Александр Владимирович – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий лабораторией Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН; адрес: 460000, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11, ИКВС УрО РАН; тел. (3532) 775417; e-mail: valyshev@esoo.ru)

Образец ссылки на статью:

Гоголева О.А., Немцева Н.В., Валышева Н.А., Валышев А.В. Липазная активность штаммов *Mycobacterium iranicum* и *Mycobacterium rutilum*. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2016. 4: 5с. [Электронный ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2016-4/Articles/OAG-2016-4.pdf>).