

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 (МОТТ, 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<sup>T</sup>* (=АТСС ВАА-1375<sup>T</sup> =СІР 109271<sup>T</sup>), 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>).