

МИКРОБИЦИДНЫЙ ЭФФЕКТ СЕКРЕТОРНЫХ ПРОДУКТОВ НЕЙТРОФИЛОВ ПО ОТНОШЕНИЮ К ПРЕДСТАВИТЕЛЯМ РЕЗИДЕНТНОЙ И УСЛОВНО-ПАТОГЕННОЙ ФЛОРЫ ТЕЛА ЧЕЛОВЕКА

© 2019 г. Е. В. Колбина*, Ю. С. Шишкова, Е. А. Мезенцева, И. А. Колбин

*E-mail: kaplech@mail.ru

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет»
Минздрава России, Челябинск, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 25.03.2019

Проведено исследование 50 образцов супернатантов нейтрофилов интактных и активированных *S. aureus* (штамм 209), *E. coli* (штамм М-17), *Lactobacterium spp.*, *Bifidobacterium spp.* Определено, что индукция нейтрофилов *in vitro* представителями резидентной и условно-патогенной флоры тела человека приводит к секреции биологически активных продуктов неодинакового состава. Так, при взаимодействии нейтрофилов с *Lactobacterium spp.*, и, в большей степени, *Bifidobacterium spp.*, в супернатантах значительно повышается уровень оксида азота, при этом содержание пероксидазы и каталазы не изменяется. Это сопровождается достоверным повышением микробицидности секреторных продуктов нейтрофилов по отношению к *S. aureus* и *E. coli*, не влияя при этом на жизнеспособность *Lactobacterium spp.* и *Bifidobacterium spp.*

Ключевые слова: нейтрофилы, супернатант, бактерицидная активность

DOI: 10.31857/S102872210006694-8

Адрес: 454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64, ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики. Колбина Екатерина Викторовна.
Тел./факс: 8(351)2327456, +79128933420 (моб.).
E-mail: kaplech@mail.ru.

Авторы:

Колбина Е. В., к.м.н., ст. преп. кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, Челябинск, Россия;

Шишкова Ю. С., д.м.н., проф. кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, Челябинск, Россия;

Мезенцева Е. А., к.м.н., доц. кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, Челябинск, Россия;

Колбин И. А., асс. кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, Челябинск, Россия.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Нейтрофилы – основные клетки врожденной иммунной системы. Их основная функция – уни-

чтожение патогенных микроорганизмов и ограничение их распространения в организме. Под активацией нейтрофилов подразумеваются быстро наступающие изменения физиологической и биохимической активности последних под действием внешнего сигнала. Подготовленный нейтрофил может оказывать свое действие на объект, вызвавший его активацию, различными способами, в том числе, выделять наружу биологически активные продукты, оказывая микробицидный эффект внеклеточно [1, 2].

Цель работы. Оценить микробицидный эффект секреторных продуктов нейтрофилов по отношению к представителям резидентной и условно-патогенной флоры тела человека.

ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ МЕТОДЫ

Секреторные продукты (супернатанты) получали из взвеси нейтрофилов периферической крови 10 здоровых доноров, выделенных на двойном градиенте растворов фикола-верографина с плотностью верхнего слоя – 1,075–1,077,

нижнего – 1,093–1,095 [2]. Нейтрофилы довели до концентрации 5×10^6 клеток/мл. Для получения супернатантов нейтрофилов их активировали взвесью суточной культуры контрольных штаммов микроорганизмов *Staphylococcus aureus* (штамм 209), *Escherichia coli* (штамм М-17) (Коллибактерин сухой, Микроген НПО, Россия), *Lactobacterium spp.* (Лактобактерин сухой, «Им-Био», г. Нижний Новгород), *Bifidobacterium spp.* (Бифидумбактерин сухой, ЗАО «Экополис», г. Ковров), доведенных до концентрации 1 млрд. микробных тел в 1 мл по стандарту мутности (БАК-10, ООО «Ормед», г. Екатеринбург). 0,1 мл бактериальной взвеси соединяли с 1 мл взвеси нейтрофилов, инкубировали 30 минут при температуре 37 °С. Часть нейтрофилов оставляли без активации (контроль). Пробирки центрифугировали при скорости 3000 оборотов в минуту в течение 10 минут для получения супернатанта [2]. В супернатантах нейтрофилов определяли содержание нитратов, активность пероксидазы, активность каталазы, бактерицидную активность [2]. У полученных супернатантов нейтрофилов определяли бактерицидный эффект к *S. aureus* (штамм 209), *E. coli* (штамм М-17), *Lactobacterium spp.* и *Bifidobacterium spp.* Полученные результаты исследования обрабатывали с использованием пакета статистических программ Statistica for Windows 6.0.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате проведенных исследований определили, что содержание оксида азота в супернатантах нейтрофилов, активированных *Lactobacterium spp.*, и, в большей степени, *Bifidobacterium spp.*, значительно превосходило аналогичные показатели интактных нейтрофилов и нейтрофилов, активированных *S. aureus* и *E. coli*.

После взаимодействия нейтрофилов с изучаемыми микроорганизмами уровень активности пероксидазы и каталазы в супернатантах не изменялся.

При определении микробицидной активности супернатантов интактных нейтрофилов на тестируемые штаммы бактерий отмечалось значительное снижение содержания всех видов микроорганизмов в пробе.

Активация нейтрофилов *S. aureus* усиливала микробицидный потенциал супернатантов нейтрофилов по отношению к *E. coli*. Активация нейтрофилов *E. coli* приводила к снижению микробицидности супернатанта по отношению к *S. aureus* и *E. coli*, при этом практически не влия-

ла на рост *Lactobacterium spp.* и *Bifidobacterium spp.* После взаимодействия нейтрофилов с *Lactobacterium spp.* и *Bifidobacterium spp.* нейтрофилы секретировали вещества, бактерицидный эффект которых был более выражен по отношению к *S. aureus* и *E. coli*, чем микробицидный эффект продуктов интактных нейтрофилов, при этом по отношению к *Lactobacterium spp.* и *Bifidobacterium spp.* такой супернатант обладал низкой микробицидностью.

КРАТКОЕ ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, индукция нейтрофилов *in vitro* различными бактериальными агентами приводит к секреции биологически активных продуктов неодинакового состава [3]. Так, при взаимодействии нейтрофилов с *Lactobacterium spp.*, и, в большей степени, *Bifidobacterium spp.*, в супернатантах значительно повышается уровень оксида азота, при этом содержание пероксидазы и каталазы не изменяется. Это сопровождается достоверным повышением микробицидности продуктов секреции нейтрофилов по отношению к *S. aureus* и *E. coli*, не влияя при этом на жизнеспособность *Lactobacterium spp.* и *Bifidobacterium spp.*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Долгушин И. И., Андреева Ю. С., Мезенцева Е. А., Савочкина А. Ю., Плеханова Е. В., Свиридов М. А., Пешикова М. В. Нейтрофилы регулируют формирование микробиоценоза слизистых оболочек. Медицинская иммунология. 2006, 8; 2–3, 135–136. [Dolgushin I. I., Andreeva Yu. S., Mezentseva E. A., Savochkina A. Yu., Plekhanova E. V., Sviridov M. A., Peshikova M. V. Neutrophils regulate the formation of microbiocenosis of the mucous membranes. Medical Immunology. 2006, 8; 2–3, 135–136].
2. Долгушин И. И., Андреева Ю. С., Савочкина А. Ю. Нейтрофильные внеклеточные ловушки и методы оценки функционального статуса нейтрофилов. Издательство РАМН, Москва 2009, 208. [Dolgushin I. I., Andreeva Yu. S., Savochkina A. Yu. Neutrophil extracellular traps and methods for assessing the functional status of neutrophils. Publishing house RAMS, Moscow 2009, 208].
3. Плеханова Е. В. Влияние факторов цервикального секрета (факультативной и резидентной флоры, муцина) на функциональные свойства нейтрофилов: дис. ... канд. мед. наук. Челябинск, 2007. [Plekhanova E. V. The influence of factors of cervical secretion (optional and resident flora, mucin) on the functional properties of neutrophils: dissertation for the degree of candidate of medical sciences. Chelyabinsk 2007].

MICROBICIDAL EFFECT OF SECRETORY PRODUCTS OF NEUTROPHILS IN RELATION TO REPRESENTATIVES OF RESIDENT AND CONDITIONALLY PATHOGENIC MICROFLORA OF A HUMAN BODY

© 2019 E. V. Kolbina*, Yu. S. Shishkova, E. A. Mezentseva,
I. A. Kolbin

*E-mail: kaplech@mail.ru

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «South-Ural State
Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia

Received: 14.03.2019. Accepted: 25.03.2019

A study of 50 samples of intact and activated neutrophil supernatants from *S. aureus* (strain 209), *E. coli* (strain M-17), *Lactobacterium spp.*, *Bifidobacterium spp.* has been conducted. It has been determined that *in vitro* induction of neutrophils by representatives of the resident and conditionally pathogenic microflora of the human body leads to secretion of biologically active products of different composition. Thus, the interaction of neutrophils with *Lactobacterium spp.* and, to a greater extent, *Bifidobacterium spp.* significantly increases the level of nitric oxide in supernatants, while the content of peroxidase and catalase does not change. This is accompanied by a significant increase in the microbicide of neutrophil secretion products in relation to *S. aureus* and *E. coli*, without affecting the viability of *Lactobacterium spp.* and *Bifidobacterium spp.*

Key words: neutrophils, supernatant, bactericidal activity

Authors:

Kolbina E. V., ✉ PhD M.S., Senior Teacher of the Department of Microbiology, Virology, Immunology and Clinical Laboratory Diagnostics, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Medical Education «South Ural State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia. **E-mail:** kaplech@mail.ru;

Shishkova Yu. S., MD M.S., Professor of the Department of Microbiology, Virology, Immunology and Clinical Laboratory Diagnostics, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Medical Education «South Ural State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia;

Mezentseva E. A., PhD M.S., Docent of the Department of Microbiology, Virology, Immunology and Clinical Laboratory Diagnostics, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Medical Education «South Ural State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia;

Kolbin I. A., Assistant of the Department of Microbiology, Virology, Immunology and Clinical Laboratory Diagnostics, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Medical Education «South Ural State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia.