

16. Tovey K. S., Oldham K. G., Whelan J. A. M. // Clin. chim. Acta.— 1974.— Vol. 56.— P. 221—224.
17. Tsien R. W. // Adv. Cyclic Nucleotide Res.— 1977.— N 8.— P. 363—420.
18. Weiss S., Kemp D. E., Lenox R. H. // Brain Res.— 1987.— Vol. 414.— P. 390—394.
19. Westerfeld W. W., Richert D. A., Hilinger M. F. // Cancer Res.— 1950.— Vol. 10.— P. 486—494.

Поступила 24.08.88

PARTICIPATION OF ADRENERGIC RECEPTORS OF LEUKOCYTES OF WHITE MICE IN THE MECHANISM OF THE CELL-MEDIATED CONTROL OF THE ACTION OF *YERSINIA PESTIS* ADENYLATE CYCLASE

B. N. Mishankin, L. E. Aseeva, L. A. Shevchenko, B. D. Rublev

Y. pestis extracellular adenylylase suppresses the oxidation metabolism of peritoneal leukocytes in white mice. The character of the modulating action of the enzyme in its interaction with the target cell infers the participation of adrenergic receptors.

УДК 616.7:579]-06.[579.843.95]

Г. П. Калина, Г. М. Трухина, Т. Д. Гришина

МНОГОМЕРНОСТЬ НИШ В ЗАКОНЕ ГАУЗЕ ПРИМЕНИТЕЛЬНО К ПРОКАРИОТАМ И МЕТОДЫ ПРОСТРАНСТВЕННОГО РАЗДЕЛЕНИЯ КОНКУРИРУЮЩИХ АССОЦИАНТОВ

Московский НИИ гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана

Г. Ф. Гаузе, экспериментально подтвердивший математические выводы итальянского математика Volterra, ставил свои классические опыты на простейших жгутиковых и других микроорганизмах [1, 2]. Не составляет исключения из этого общебиологического закона и «надцарство» прокариотов, во взаимоотношениях которых можно найти много примеров конкурентного исключения при постановке экспериментов и непосредственно в биоценозах объектов окружающей среды [9, 10]. Существенное значение в концепции Гаузе приобрело понятие «экологическая ниша» — потребность бионта в каком-либо одном факторе среды его обитания, ограниченность которого лимитирует рост популяции в условиях конкуренции («одномерная ниша Гаузе» [2]). В опытах Г. Ф. Гаузе это — пищевой фактор.

Для прокариотов ближе понятие «одномерная ниша» [13, 14], включающее абиотические и биотические факторы среды обитания — температуру, темпы размножения, химические компоненты и другие, действующие отдельно или в различных комбинациях.

Г. Ф. Гаузе ввел понятие пространственного разделения: при комбинации двух видов жгутиковых, единой трофонишей которых были дрожжевые клетки, имело место конкурентное исключение одного из видов, а если у одного вида трофонишей являлись дрожжевые клетки на дне пробирки, а у другого — бактерии в верхних слоях среды, то пространственное разобщение устраняло конкуренцию и оба вида сосуществовали.

Пространственное разделение прокариотов возникает при культивировании попарно аэробов (рост в поверхностных слоях среды) с анаэробами (рост в глубине среды). Напомним, что дыхание у аэробов осуществляется за счет передачи электронов к конечному акцептору — кислороду, а у анаэробов — к молекулам органических ненасыщенных связей при сложном цикле превращений (цикл Кребса) [12]. Факультативные анаэробы в зависимости от условий обитания используют кислород как конечный акцептор электрона, но способны и к анаэробному дыханию. В условиях сложных взаимоотношений в биоценозах объектов окружающей среды и не менее сложных в замкнутом пространстве питательной неселективной среды решающая роль часто принадлежит фактору симбиоза-антагонизма. При конкуренции двух прокариотов этот фактор не может не отразиться на исходе конкурентного исключения. В овладении жизненным пространством в объектах окружающей среды, в экспансии на биотопы с не исчерпанными еще пищевыми ресурсами решающее значение приобретают активная подвижность, наличие органов движения. Этот фактор нельзя исключить и в условиях замкнутого пространства неселективной среды. Не исключено и значение соотношений концентрации конкурирующих ассоциантов, даже при сниженной численности обоих. Определение роли этих факторов, состав-

Таблица 1. Фактор антагонизма в конкурентных парах аэробов и факультативных анаэробов

Пара конкурирующих видов	Серия	Конкурирующие виды	Концентрация ФАн в I серии				
			10 ⁶ /мл	10 ⁵ /мл		10 ⁴ /мл	
			концентрация ФАн во II серии				
			10 ⁶ /мл	10 ⁵ /мл	10 ⁴ /мл	10 ³ /мл	10 ² /мл
Энтерококки — псевдомонады	I	Энтерококки Псевдомонады 5	В чистой культуре Отсутствуют				
	II	Энтерококки Псевдомонады 92	В чистой культуре Отсутствуют				
Клебсиеллы — псевдомонады	I	Клебсиеллы Псевдомонады 5	Умеренное количество Большое количество				
	II	Клебсиеллы Псевдомонады 92	Большое количество Рост из-под колоний клебсиелл				
Протеи — псевдомонады	I	Протеи Псевдомонады 5	Умеренное количество Большое количество				
	II	Протеи Псевдомонады 92	Чистая культура Единичные колонии Отсутствуют				
Аэромонады — псевдомонады	I	Аэромонады	Единичные колонии				
		Псевдомонады 5	Преобладают				
	II	Аэромонады	Большое количество	Умеренное количество	Единичные колонии	Отсутствуют	
		Псевдомонады 92	Сливающиеся колонии в виде пленки				Сплошной рост
Ацинетобактерии — псевдомонады	I	Ацинетобактерии	Отсутствуют				
		Псевдомонады 5	Сливающийся рост				
	II	Ацинетобактерии	Умеренное количество	Единичные колонии	Отсутствуют		
		Псевдомонады 92	Сливающиеся колонии			Сплошной рост	

ляющих в совокупности понятие «многომержная ниша», — задача данного исследования.

Материалы и методы. Использованы культуры факультативных анаэробов (ФАн) — *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus faecalis* (в последующем — энтерококк) и строгих аэробов (СА) — *Acinetobacter calcoaceticus*, *A. Iwoffii*, *Pseudomonas aeruginosa* 5, выделенный из воды и обладающий высокой антагонистической активностью, *P. aeruginosa* 92, выделенный из смывов с объектов в родильном доме, штамм с нормальной антагонистической активностью и штамм 93 анаэробов.

логичных происхождения и свойств. Позже к ФАн добавили еще *Escherichia coli*. Основной средой служил мясopептонный бульон (МПБ), замененный в III серии средой с ограниченным пищевым ресурсом, содержащей 0,2 % KNO_3 , 0,2 % пептона и 0,2 % $NaCl$. Аэробные условия в среде создавали разными методами. В первых 3 сериях использовали обычный метод посевов в пробирки, находящиеся в вертикальном положении. Для *P. aeruginosa* было достаточно ввести в состав среды нитрат калия, чтобы появились условия для ее роста, в анаэробных условиях, т. е. исключить ее пространственное отделение.

ние от ФАн конкурентов. Создание условий для широкого доступа кислорода в среду в IV серии экспериментов описано ниже.

Две первые серии опытов были проведены как ориентировочные. Ставилась задача уточнить: а) принципиальное значение пространственного разделения СА и ФАн (в опыт были взяты пары энтерококки — псевдомонады; клебсиеллы — псевдомонады; протеи — псевдомонады; аэромонады — псевдомонады и как пример конкуренции двух аэробов ацинетобактеры — псевдомонады); б) проявление антагонистического фактора (в I серии аэробным конкурентом был штамм *P. aeruginosa* 5, во II серии — *P. aeruginosa* 92); в) значение концентрации обоих конкурентов (в I серии взяты концентрации ФАн 10^6 — 10^5 — 10^4 в 1 мл среды, во II серии ряд был продолжен до 10 на 1 мл). Каждой концентрации сопутствовало соответствующее уменьшение концентрации *P. aeruginosa* (1:10 по отношению концентрации ФАн). Высевы делали на селективные среды для клебсиелл — К-2 [7], для протеи — П-2 [4], для аэромонад — А-2 [5], для ацинетобактеров — ЭАС-2 [8], для энтерококков — МИС [3], которые обеспечивали для соответствующих конкурентов преимущество. Поскольку селективность этих сред достигает необходимого уровня лишь при сочетании одинаковых по составу сред жидкой (накопления) и плотной (выделения), использование неселективной среды накопления (МПБ) снижало селективность сред второго этапа (кроме высокоселективной среды МИС) и допускало рост на них и псевдомонад. Чтобы определить параметры роста всех ассоциантов, среды перед высевом слегка встряхивали. Результаты учитывали не количественно, а для большей контрастности качественно, определяя следующие категории: рост отсутствует, единичные колонии, умеренное количество, большое количество, преобладают, сплошной, или сливающийся, рост. Результаты обеих серий обобщены в табл. 1.

Результаты и обсуждение. Соотношения ФАн и СА в ориентировочных опытах полностью подтвердили

значение фактора антагонизма, особенно там, где исключено пространственное разделение (комбинация двух СА). В парах ФАн — СА, кроме пары энтерококки-псевдомонады, все ФАн развиваются более активно в присутствии *P. aeruginosa* 92, чем в присутствии активного антагониста *P. aeruginosa* 5. Следовательно, пространственное разделение нарушено диффузией антагонистического фактора в глубину среды. В противоположность фактору антагонизма в паре клебсиеллы — *P. aeruginosa* 92 наблюдается феномен симбиоза — сателлитизма. Псевдомонады вырастают из-под колоний клебсиелл в виде нежного венчика. Что касается снижения концентрации как фактора, влияющего на конкурентные соотношения, то оно выявлено лишь в парах аэромонады — псевдомонады и двух СА — ацинетобактер — псевдомонады, в которых по мере снижения концентраций уменьшается высеваемость аэромонад и ацинетобактеров при сохранении обилия колоний псевдомонад.

Полученные в обеих сериях опытов данные о выживании в результате пространственной изоляции ФАн в присутствии даже активного антагониста в условиях «сожительства» двух конкурентов ни в коем случае нельзя экстраполировать на ассоциации различных видов — аутохтонных и аллохтонных — в неселективных средах при внесении в них воды или почвы, содержимого кишечника либо микрофлоры верхних дыхательных путей, в которых взаимовлияния множества слагаемых несравненно сложнее и применение неселективных сред накопления, как показано на примере энтерококков [6, 11], не отражает истинных параметров исследуемого объекта (детально этот вопрос мы анализируем в других сообщениях [9, 10]). Данные проведенной нами в 1987 г. сравнительной оценки методов количественного учета энтерококков в воде открытых водоемов и в сточных жидкостях полностью подтверждают разницу между результатами, полученными при ассоциации двух конкурентов и в биоценозе, поступающем из объекта окружающей среды в неселективную среду. Если в паре энтерококк — псевдомонады

Таблица 2. Индексы *S. faecalis* (А), *S. faecalis* биовар *liquefaciens* (Б), *S. faecium* (В) в воде и сточных жидкостях при разных методах количественного учета

Среда			Вода, индекс/л			Сточные жидкости (все), индекс/мл			Хозяйственно-бытовые стоки			Хозяйственно-бытовые стоки, смешанные с промышленными		
предобогащения	накопления	выделения	А	Б	В	А	Б	В	А	Б	В	А	Б	В
—	МПБ	МИС	0,6	0	0,9	2,1	0	2,3	2,08	0	0,84	2,12	0,79	2,03
МПБ	ЩЭС	МИС	3,1	2,6	3,1	2,3	2,3	2,4	2,63	2,52	2,12	1,74	1,79	2,30
—	ЩЭС	МИС	2,8	1,6	2,9	2,9	1,9	2,1	3,12	1,38	3,12	2,38	2,08	3,12

Примечание. Взяты средние значения из 6 серий исследований воды, 4 серий — сточных жидкостей и из них отдельно из 2 серий хозяйственно-бытовых стоков и 2 хозяйственно-бытовых стоков, смешанных с промышленными.

значение неселективной среды нивелируется высевам на селективную МИС, то в природных условиях к воздействию псевдомонад присоединяется влияние многочисленных представителей аутохтонной микрофлоры, существенно меняющих все параметры. Проведено сравнение щелочно-полимиксированной среды и МПБ. Высевы производили на МИС. Раздельно идентифицировали *S. faecalis*, биовар *liquefaciens* и неиндикаторный *S. faecium*. МПБ был использован также как среды предобогащения с высевам в щелочно-энтерококковую среду (ЩЭС). В 10 сериях исследований воды и 4 хозяйственно-бытовых сточных жидкостей (из них 2 смешанных с промышленными стоками) при использовании трех методических приемов (ЩЭС — МИС, МПБ — ЩЭС — МИС, МПБ — МИС) была выявлена отчетливая разница в индексах энтерококков в зависимости от примененного метода (табл. 2). В системе МПБ — МИС по сравнению с системой ЩЭС — МИС получено резкое снижение индексов энтерококков, составившее более двух порядков логарифмов. Некоторое преимущество дает предобогащение в МПБ с обязательным пересевом в селективную среду накопления. При исследовании сточных жидкостей, особенно смешанных с промышленными стоками, *S. faecium* после накопления в МПБ дает более высокие индексы, что извращает соотношение двух видов энтерококков — индикаторного и неиндикаторного.

Выявленное значение многомерной ниши в опытах по принципу Гаузе,

несомненно, применимо и к естественному биоценозу, но использование неселективной среды для их выявления (именно при натуральных исследованиях) полностью извращает результаты.

В III серии опытов основной задачей было устранение пространственного разделения *P. aeruginosa* (взят штамм 93, аналогичный по свойствам штамму 92) введением нитрата калия в состав среды со сниженным содержанием компонентов. Исследовали две пары ФАн+СА (энтерококки — псевдомонады и клебсиеллы — псевдомонады) и пару СА+СА (ацинетобактер — псевдомонады, ставшие в этих условиях факультативно-анаэробными). Устранение пространственного разделения для псевдомонад было подтверждено диффузным окрашиванием всей среды в сине-зеленый цвет, тогда как в контроле (МПБ) окрашивался только самый поверхностный слой. Инкубация при 37 °С в одном опыте (I) осуществлена в течение 1 сут с высевам на селективные среды, в другом (II) — в течение 2 сут с высевам на среду Эндо. Результаты приведены в табл. 3.

Высевы на среду Эндо существенно снизили уровень высеваемости. Но они в большой степени способствовали подтверждению значения смены псевдомонадами пространственной изоляции в паре энтерококки — псевдомонады, где высевам на МИС не выявил разницы между парой в МПБ и в нитратной среде. При высевам же на среду Эндо отчетливо показано, что устранение пространственного разделения было в пользу псевдомонад. В паре клебсиеллы — псевдомонады это же

Таблица 3. Поведение факультативных анаэробов и строгих аэробов в мясопептонном бульоне с нитратом калия и без него

Опыт	Пары микроорганизмов в опытах	Среда выделения	Высеваемость			
			из мясопептонного бульона		из мясопептонного бульона с нитратом калия	
			ОК	псевдомонады	ОК	псевдомонады
I II	Энтерококки — псевдомонады	МИС Эндо	100 % 52 %	0 48 % венчиками вокруг колонии энтерококков	100 % Колонии под пленкой	0 Сплошная пленка
I II	Клебсиеллы — псевдомонады	К-2 Эндо	100 % 1,7 %	0 98,3 %	7,5 % 0	92,5 % 100 %
I II	Ацинетобактеры — псевдомонады	ЭАС-2 Эндо	Единичные колонии 2,4 %	Сливной рост по штриху 97,6 %	96 % Много колоний под пленкой псевдомонад	4 % Сплошная пленка

Примечание. ОК — ассоциант, объект конкуренции (энтерококки, клебсиеллы, ацинетобактеры).

четко выявлено при высевае на среду К-2, но и высева на среду Эндо (после 2-суточного роста) также, хотя и с меньшей выразительностью, подтвердил это. А вот в паре ацинетобактер — псевдомонады «превращение» *P. aeguginosa* в ФАн привело к резкому мощному развитию ацинетобактера, в распоряжении которого остался поверхностный слой среды с доступом кислорода воздуха. В этой серии значение пространственного разделения по фактору дыхания нашло окончательное подтверждение.

В IV серии были взяты те же штаммы энтерококка, клебсиелл, протеев, введен дополнительно штамм *E. coli*. В качестве партнера — конкурента СА введен штамм *A. calcoaceticus*, выполнявший во II и III сериях роль пассивного конкурента. Произведен посев в МПБ по одной петле суточной бульонной культуры конкурентов, высева после инкубации при 30 °С в течение 42 ч на среду Эндо сеткой с расчетом получения максимального числа изолированных колоний, а также на специально разработанную среду, предназначенную для четкой дифференциации колоний ацинетобактера (основного

конкурента) и ФАн, которая содержала маннита 1,0 г, ацетата натрия 0,2 г, нитрата калия 0,2 г, фосфата натрий-аммония 0,2 г, агара 1,5 г, 0,01 % раствора кристаллического фиолетового 1,25 мл, 1,6 % спиртового раствора бромтимолового синего 0,5 мл, дрожжевого экстракта жидкого 20 мл, воды 80 мл. Для пары протей — ацинетобактер дополнительно вводили 0,2 г лимонно-аммиачного железа и 0,05 г тиосульфата натрия. Для создания условий возможно большего доступа кислорода воздуха к поверхности среды пробирки после посева помещали в термостат в скошенном положении. Для контроля параллельно такие же пары инкубировали в пробирках, помещаемых в термостат в вертикальном положении. Высевы из контрольных пробирок делали с поверхности среды и после осторожного встряхивания. Пробиркам, находившимся в наклонном положении осторожно поочередно придавали вертикальное положение и делали высев с поверхности до и после встряхивания. Все посева производили на среду Эндо, которую инкубировали при 37 °С. Результаты этой серии опытов приведены в табл. 4.

Таблица 4. Соотношение колоний *Acinetobacter calcoaceticus* и факультативных анаэробов при разных положениях пробирок в разных слоях сред

Факультативно-анаэробные виды	Вертикальное положение пробирок				Скошенное положение пробирок			
	верхний слой		вся среда		верхний слой		вся среда	
	ФАн	СА	ФАн	СА	ФАн	СА	ФАн	СА
Энтерококки:								
абс.	0	289	54	4	0	100	0	130
%	0	100,0	93,1	6,9	0	100,0	0	100,0
Клебсиеллы:								
абс.	3	48	51	19	21	340	51	15
%	5,9	94,1	72,9	27,1	5,8	94,2	67,4	32,6
Эшерихии:								
абс.	11	121	18	36	25	64	145	21
%	8,3	91,7	33,3	66,7	28,1	71,9	87,3	12,7
Протей:								
абс.	20	110	61	63	73	258	26	23
%	15,4	84,6	49,2	50,8	22,1	77,9	53,1	46,9

Содержание ацинетобактера, развивающегося только в верхнем слое, после смешивания снижается, в то время как количество ФАн, растущих во всей толще среды, после смешивания даже несколько увеличивается. Попытка создать для ацинетобактера благоприятные условия развития (широкий доступ кислорода при скошенном положении пробирок) не дала ожидаемых результатов, за исключением пары энтерококк — ацинетобактер: при вертикальном положении пробирок энтерококки отсутствовали в верхней среде, после смешивания они преобладали над ацинетобактером, а при скошенном положении пробирок рост энтерококков был полностью подавлен.

Анализ поведения отдельных модельных видов выявил еще одно существенное обстоятельство. При вертикальном положении пробирок ФАн-виды при высевах из верхнего слоя расположились как по абсолютным величинам, так и в процентах в ранговом порядке: энтерококки — клебсиеллы — эшерихии — протей. Такое расположение соответствует еще одному фактору — подвижности. Энтерококки и клебсиеллы — неподвижные виды — представлены наименьшими величинами и процентами, вяло подвижные эшерихии занимают промежуточное положение, энергично подвижный протей представлен наибольшими параметрами. То же отмечено и при высевах из верхних

слоев пробирок, находившихся в скошенном положении, с той лишь разницей, что эшерихии и протей поменялись местами. Вскрывается еще один фактор многомерной ниши, приобретающий значение при конкуренции двух видов, — фактор подвижности. Подтверждается положение о многомерности ниш у прокариотов.

С учетом того, что IV серия опытов дает лишь приближенное представление о пространственных соотношениях конкурентов, хотя и позволяет выявить некоторые закономерности в V серии, был применен новый технологический прием. МПБ в количестве 3—4 мл после посева петлей минимальных количеств обоих конкурентов и легкого перемешивания вносили в U-образные трубки диаметром 0,5 мл. Поверхность среды в левом колене трубки заливали вазелиновым маслом, в правом оставляли свободной для доступа воздуха, ограничиваясь ватной пробкой. Инкубацию проводили при 30 °С в течение 42 ч. Высевы, как и в IV серии, делали на среду Эндо и на специальную дифференциальную среду. Результаты представлены в табл. 5. Даже поверхностный анализ позволяет заключить, что эта конструкция опыта — оптимальное решение задачи. Полное отсутствие СА ацинетобактеров в высевах из левого колена и весьма скудное количество (или полное отсут-

Таблица 5. Соотношение колоний строгого аэроба и факультативных анаэробов при учете в методе U-образных трубок

Факультативные анаэробы	Левое колено		Правое колено	
	ФАН	СА	ФАН	СА
Энтерококки	32	0	0	192
Клебсиеллы	30	0	0	70
Эшерихии	25	0	2	42
			4,5	95,5
Протеи	70	0	11	69
			13,75	86,25
Аэромонады	45	0	0	93

ствии) ФАН в правом колоне подтверждают пространственное разделение аэробов и анаэробов в жидкой среде. Ранговое распределение в высевках из правого колена ФАН убедительно подтверждает результаты IV серии экспериментов, указывающие на значение подвижности как фактора многомерной ниши. Аналогично IV серии опытов особняком стоят аэромонады — подвижные микроорганизмы, которые должны были бы занимать положение на уровне протеев и даже выше. Последующая проверка этого штамма показала, что он находится в ослабленном состоянии и подвижность его сомнительна. Опыт необходимо повторить, используя свежесделанный из воды штамм.

Наличие при конкуренции двух видов по меньшей мере 4 факторов (пищевого, симбиоза — антагонизма, дыхания, подвижности, а также, возможно, концентрации), находящихся в тесно переплетающихся взаимоотношениях и взаимовлияниях, допускает вероятность и других, еще не выявленных факторов. Это во много раз усложняет взаимоотношения в множественном биоценозе объекта окружающей среды, в котором существенное влияние добавляют аутохтонные аборигены воды и почвы. Именно в этом аспекте следует оценивать данные, полученные при сопоставлении пар бионтов.

Выводы

1. Многомерность ниш при трактовке закона Гаузе применительно к прокариотам включает, помимо пищевой тро-

фониши, симбиоз — антагонизм, дыхательные функции, подвижность, возможно, концентрацию конкурентов.

2. Пространственное разделение прокариотов в жидкой среде на основе различия в механизме дыхания оптимально выявляется методом U-образных трубок.

3. В естественном биоценозе объектов окружающей среды все действующие факторы многомерной ниши проявляются взаимосвязанно в самых разных сочетаниях и, учитывая множественность видов, принимающих участие в биоценозах, конкурентные исключения могут осуществляться в непредсказуемых сочетаниях и с трудом поддаются систематизации и прогнозу, что следует учитывать при экстраполяции данных, полученных при конкурентных исключениях в парах, на биоценозы в объектах окружающей среды и в замкнутых пространствах несменяемой питательной среды.

ЛИТЕРАТУРА

1. Биологический энциклопедический словарь. — М., 1986.
2. Галл Я. М. // Проблемы развития эволюционной теории в XX веке. — Л., 1979. — С. 50—60.
3. Калина Г. П. // Гиг. и сан. — 1965. — № 10. — С. 68—71.
4. Калина Г. П., Комарова Л. Т. // Журн. микробиол. — 1975. — № 12. — С. 54—61.
5. Калина Г. П. // Проблемы санитарной микробиологии окружающей среды. — М., 1977. — С. 91—103.
6. Калина Г. П. // Гиг. и сан. — 1978. — № 12. — С. 58—61.
7. Калина Г. П. // Журн. микробиол. — 1980. — № 6. — С. 28—32.
8. Калина Г. П. // Там же. — 1986. — № 5. — С. 15—21.
9. Калина Г. П. // Методы обнаружения индикаторной, патогенной и потенциально патогенной микрофлоры в объектах окружающей среды. — М., 1987. — С. 29—38.
10. Калина Г. П. // Журн. микробиол. — 1988. — № 7. — С. 88—92.
11. Трухина Г. М. // Методы индикации бактерий и вирусов в объектах окружающей среды. — М., 1982. — С. 37—41.
12. Фелоров М. В. // Многоотомное руководство по микробиологии, клинике и эпидемиологии инфекционных болезней. — М., 1962. — Т. 1. — С. 203—257.
13. Crinnel J. // Amer. Nature. — 1917. — Vol. 51. — P. 115—128.
14. Hutchinson C. The ecological theatre and the evolutionary play. — New-Haven, 1965.

MULTIDIMENSIONAL CHARACTER OF NICHES IN GAUZE'S LAW WITH RESPECT TO PROKARYOTES AND THE METHODS OF THE SPATIAL SEPARATION OF COMPETING ASSOCIANTS

G. P. Kalina, G. M. Trukhina, T. D. Grishina

The multidimensional niche in Grauze's law includes, with respect to prokaryotes, the following factors: the alimentary factor, the symbiosis-antagonism complex, the respiratory function, the concentration of associants, mobility. Cultivation in U-shaped tubes is the optimum method for the detection of spatial separation on account of such factors as respiration and mobility.

УДК 615.919:579.861.2].03

Е. В. Сокуренко, Э. Г. Кравцов, А. А. Воробьев

РЕЦЕПТОРЫ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЕ ФИКСАЦИЮ STAPHYLOCOCCUS AUREUS НА ФИБРОНЕКТИНСОДЕРЖАЩИХ ПОВЕРХНОСТЯХ

I MMI им. И. М. Сеченова

В 1978 г. Р. Kuusela обнаружила способность *S. aureus* связывать фибронектин (ФН) — гликопротеин с мол. массой 440 килодальтон (кД), ответственный за адгезию клеток животных друг к другу и различным биологическим субстратам [6]. Изучение связывания стафилококков с ФН позволяет лучше понять механизм адгезии микроорганизмов (МО) к клеткам-мишеням и соответственно патогенез ряда заболеваний, вызванных *S. aureus*. В связи с этим важно четко идентифицировать рецепторы МО, ответственные за связывание с молекулой ФН. В ряде исследований у *S. aureus* было продемонстрировано наличие ФН-связывающего рецептора с мол. массой 185—197 кД, отличного от известных ранее функциональных компонентов клеточной стенки [5, 8]. В то же время ряд данных указывает на возможное участие в ФН-связывании протеина А (ПА), подробно изученного в качестве рецептора к Fc-фрагменту IgG человека и некоторых млекопитающих [3, 9]. До настоящего времени ясности в данном вопросе нет.

Цель исследования — выяснение участия ПА и других рецепторов в ФН-связывании на примере эталонных и клинических изолятов.

Материалы и методы. Были исследованы клинические изоляты *S. aureus*, выделенные из раневого отделяемого, мокроты, со слизистой зева и полости носа больных, находившихся на лечении в 2 больницах Москвы. Идентификацию *S. aureus* проводили согласно приказу Минздрава СССР по «Унифицированию микробиологических методов исследования». В работе также использовали эталонные штаммы *S. aureus* Plommet, Newman, Cowan I, полученные из ГИСК им. Л. А. Тарасевича.

Реагентами служили отечественные коммерческие препараты ФН и фибриногена человека и кроличья гемолитическая сыворотка против эритроцитов барана. В работе использовали ПА («Pharmacia», Швеция), а также ПА, полученный генно-инженерным способом из *Escherichia coli* в Институте иммунологии Минмедбиопрома СССР. Препараты ФН, фибриногена и ПА при постановке геле-электрофореза в 5% полиакриламидном геле давали характерные для каждого белковые полосы без посторонних примесей.

Связывание МО с ФН, IgG и фибриногеном оценивали в РПГА, для чего готовили диагностикумы на основе бараньих эритроцитов, формализированных по Вайнбаху [1]. Сенсibilизацию эритроцитов ФН и фибриногеном проводили в дозах 100 и 500 мкг на 1 мл 5% эритроцитов соответственно. Эритроциты с нагруженными IgG готовили на основе кроличьей гемолитической сыворотки [1]. Исследуемые МО выращивали на скошенном мясопептонном агаре (МПА) в течение 18 ч при 37 °С, дважды отмывали в физиологическом растворе и ресуспендировали в забуференном фосфатами физиологическом растворе pH 7,2 до оптической плотности 10 ед. при длине волны 540 нм. Приготовленную суспензию МО раститровывали параллельно в 4 рядах полистиролового планшета для иммунологических реакций, после чего в лунки вносили равный объем (25 мкл) 1% суспензии диагностикумов и контрольных несенсибилизированных эритроцитов. Эритроцитарную суспензию довели до 1% в физиологическом растворе с 0,5% нормальной кроличьей сывороткой (денатурированной при 96 °С в течение 5 мин) и с 0,05% содержа-