2. Основными причинами акушерских кровотечений были предлежание плаценты(12,9%), гипотоническое кровотечение (58,3%), травмы родовых путей (11,4%) и ПОНРП (6,8%),а другие реже.

1. Айламазян, Э. К. Еще один взгляд на проблему акушерских кровотечений / Э. К. Айламазян, М. А. Репина, Т. У. Кузьминых // Журн. акушерства и жен.болезней. – 2008. – Т. 57, № 3. – С. 3-11.
2. Анализ причин материнской смертности : руководство для врачей / под ред. А. П. Милованова. – М., 2008. – 228 с.
3. Баев О. Р. Профилактика кровотечений в последовом и раннем послеродовом периоде. Активная или выжидательная тактика? / О. Р. Баев // Акушерство и гинекология. – 2011. – № 6. – С. 27-30.
4. Ведение физиологических и осложненных родов / Г. М. Савельева, М. А. Курцер, Е. Я. Караганова и др. // Акушерство и гинекология. – 2011. – № 3. – С. 4-11.
5. Гусева, Е. В. Региональные особенности материнской смертности в Российской Федерации / Е. В. Гусева, О. С. Филиппов // Мать и дитя : материалы III регион.форума. – М., 2009. – С. 82.
6. Радзинский, В. Е. Акушерская агрессия / В. Е. Радзинский. – М.: Статус презенс, 2011. – 688 с.
7. Репина, М. А. Материнская смертность при акушерских кровотечениях и проблемы маточного гемостаза / М. А. Репина // Журн. акушерства и жен.болезней. – 2011. – № 3. – С. 18-23.
8. Серов, В. Н. Пути снижения акушерской патологии / В. Н. Серов // Акушерство и гинекология. – 2007. – № 5. – С. 8-12.
9. Филиппов, О. С. Итоги мониторинга материнской смертности в Российской Федерации в 2006 году / О. С. Филиппов, Е. В. Гусева, О. Г. Фролова // Рос.вестн. акушера-гинеколога. – 2008. – № 2. – С. 22. 128
10. A fifteen year retrospective review of obstetric patients requiring critical care / H. L. Barrett, R. Devin, S. Clarke et al. // Obstet. Medicine. – 2012. –Vol. 5. – P. 166-170.
11. A pilot randomized controlled trial of controlled cord traction to reduce postpartum blood loss / F. Althabe, A. Aleman, G. Tomasso et al. // Int. J. Gynecol. Obstet. – 2009. – Vol. 107. – P.4-7. Maternal Mortality in 2000: Estimates Developed by WHO, UNICEF, and UNFPA / World Health Organization. – Geneva: WHO, 2004. – 30 p.

Козлов С.Н., Марков Е.Ю., Урбанович Л.Я.

Фибринолитическая активность штаммов холерного вибриона

*ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и
Дальнего Востока» Роспотребнадзора
(Россия, Иркутск)*

doi:10.18411/spc-18-01-2018-04

ids: 000001:spc-18-01-2018-04

Аннотация

Зимография – комплекс высокочувствительных электрофоретических методов для изучения, определения наличия и визуализации ферментов, относящихся к разным классам (подклассам). В работе использованы данные зимографического анализа фибринолитических ферментов в препаратах супернатантов культуральной жидкости из штаммов холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп, выявленных прямой зимографией в полиакриламидном геле с использованием фибрина в качестве субстрата. В работе исследовано 10 штаммов холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп разной эпидзначимости. В результате проведённых экспериментов обнаружены количественные и качественные различия в продукции фибринолитических ферментов.

Ключевые слова: зимография, полиакриламидный гель, фибринолитические ферменты, *V.cholerae*.

Микробные гидролазы принимают широкое участие в обменных процессах бактериальной клетки и играют определённую роль в патогенезе, адаптации и персистенции в окружающей среде [1]. Существование у некоторых микроорганизмов рода *Vibrio* (*Vibrio vulnificus*, *alginolyticus* и др.) ферментов, входящих в так называемый ферментный комплекс “вибриолизин”, облегчающий адгезию вибрионов к кишечному эпителию и способный вызывать геморрагическое поражение кишечника,

позволяет предполагать наличие подобного явления и у *Vibrio cholerae* [2]. Механизм такого геморрагического поражения во многом связывают с действием каскада фибринолитических ферментов, разрушающих экстрацеллюлярный матрикс и угнетающих свёртывающую систему крови, что приводит к кровоизлияниям и дальнейшей диссеминации возбудителя [3]. Однако данных о наличии фибринолитических ферментов у холерных вибрионов в доступной литературе нам обнаружить не удалось.

Цель работы – изучить способность к гидролизу фибрина препаратами супернатантов культуральных жидкости *Vibrio cholerae* eltor O1 и O139 серогрупп.

Материалы и методы.

В работе было использовано 10 штаммов *Vibrio cholerae* O1 и O139 серогрупп, выделенных во время эпидемических вспышек и в благополучный по холере период. Бактерии выращивали на щелочном МПА при 37 °С в течение суток. После суточной инкубации культуру смывали физиологическим раствором, определяли концентрацию взвеси и переносили во флаконы с МПБ (рН 7,6) с тем расчётом, чтобы в 1 мл содержалось 2×10^8 клеток. Через 2 часа при комнатной температуре с целью стерилизации во флаконы с бактериальной взвесью добавляли мертиолят натрия в конечной концентрации 0,01 % и инкубировали их в течение двух суток на холоде. Далее после контроля специфической стерильности проводили центрифугирование материала при 10000 об/мин, далее супернатант (бесклеточная культуральная жидкость) диализовали и лиофильно высушивали. Зимографический анализ осуществляли посредством ДСН-электрофореза в блоках 8 % полиакриламидного геля, содержащего предварительно отфильтрованный через мембранный фильтр фибрин, который был импрегнирован в ПААГ в конечной концентрации 0,1 % по методу [4]. О наличии фибринолитической активности судили визуально по формированию бесцветных полос гидролиза на фоне окрашенного субстрата в полиакриламидном геле.

Результаты. С помощью субстратного энзим-электрофореза в полиакриламидном геле установлено, что препараты супернатантов культуральной жидкости, полученных из токсигенных штаммов холерного вибриона *V. cholerae* *cholerae* O1 569B, *V. cholerae* eltor O1 (М-878, И-1300, И-1334, И-1263), а из нетоксигенных – *V. cholerae* eltor O1 (И-1369 и И-638) обладают фибринолитической активностью. Указанные препараты характеризуются наличием трёх высокомолекулярных полос гидролиза фибрина у препаратов *V. cholerae* М-878 и И-1369, двух у *V. cholerae* И-1300 и 569B, одной у *V. cholerae* И-1334. У препаратов, полученных из штаммов O139 (И-12, И-16) серогруппы, зон гидролиза фибрина не выявлено.

Заключение. С помощью субстратной зимографии препаратов супернатантов культуральной жидкости штаммов холерного вибриона O1 впервые обнаружена активность в отношении фибрина. Показана пригодность субстратной зимографии как перспективного и наглядного способа для определения наличия фибринолитических ферментов и анализа их спектров.

1. Dang H., Lovell C.R. Microbial surface colonization and biofilm development in marine environments / H. Dang, C.R. Lovell // Microbiol. Mol. Biol. Rev. – 2016. – Vol. 80, N 1. – P. 91–138.
2. Miyoshi S-I. Extracellular proteolytic enzymes produced by *Vibrio* species / S-I. Miyoshi // Front. Microbiol. – 2013. – Vol. 4, N 339. – P. 1–8.
3. Chang A.K., Kim H.Y., Park J.E., Acharya P., Park I.S., Yoon S.M. et al. *Vibrio vulnificus* secretes a broad-specificity metalloprotease capable of interfering with blood homeostasis through prothrombin activation and fibrinolysis / A.K. Chang, H.Y. Kim, J.E. Park, P. Acharya, I.S. Park, S.M. Yoon et al. // J. Bacteriol. – 2005. – Vol. 187, N 20. – P. 6909–6916.
4. Heussen C., Dowdle E.B. Electrophoretic analysis of plasminogen activators in polyacrylamide gels containing sodium dodecyl sulfate and copolymerized substrates / C. Heussen, E.B. Dowdle // Anal. Biochem. – 1980. – Vol. 102, N 1. – P. 196–202.