



ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ *HELICOBACTER PYLORI*: БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ И ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ РОСТА

Раззаков Набижон Алижонович

PhD, доцент Андижанского
филиала Кокандского университета

Зухридинова Розияхон Камолиддин кизи

Студентка Андижанского филиала
Кокандского университета

АННОТАЦИЯ: Данная статья посвящена анализу и сравнению питательных сред для культивирования *Helicobacter pylori*, уделяя особое внимание их биохимическому составу и роли в оптимизации условий роста. Актуальность исследования обусловлена значимостью *H. pylori* в гастроэнтерологии как ключевого этиологического фактора хронического гастрита, язвенной болезни и рака желудка. В работе подробно рассмотрены морфологические и биохимические особенности бактерии, включая её уреазную активность, потребность в микроаэрофильной среде и специфических питательных веществах, таких как аминокислоты, витамины и железо. Приведены характеристики и сравнительный анализ различных типов сред – селективных (Skirrow, Campy-blood agar) и неселективных (Chocolate agar, Brucella agar), а также жидких сред, с описанием их состава, преимуществ и недостатков.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *Helicobacter pylori*, культивирование, питательные среды, биохимия, микроаэрофилы, уреазы, оптимизация роста.



Введение

Инфекция *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) остаётся одной из наиболее актуальных проблем в современной гастроэнтерологии и микробиологии [1]. Этот грамотрицательный микроорганизм является основной причиной хронического гастрита, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, а также признан важным фактором риска развития рака желудка и мальтомы [2]. Эффективная эрадикация *H. pylori* напрямую влияет на снижение заболеваемости и смертности от ассоциированных патологий, что делает её приоритетной задачей. Несмотря на значительные успехи в изучении *H. pylori*, его культивирование *in vitro* по-прежнему представляет собой сложную задачу [3]. Бактерия очень требовательна к условиям роста: специфическая газовая атмосфера, температура и, главное, богатый и сбалансированный состав питательной среды [3]. Точное воспроизведение этих условий в лаборатории крайне важно для успешной изоляции, идентификации, тестирования на чувствительность к антибиотикам и проведения исследований.

Цель этой статьи — всесторонний анализ и сравнение различных питательных сред, используемых для культивирования *H. pylori*. Мы сосредоточимся на их биохимическом составе, механизмах действия ключевых компонентов и оптимизации условий роста для достижения максимальной жизнеспособности и продуктивности культур. Понимание биохимических аспектов питательных сред поможет улучшить стандартные методы культивирования и разработать новые подходы для работы с этим клинически значимым патогеном.



Общая характеристика *Helicobacter pylori*

Морфология и особенности бактерии

Helicobacter pylori — это спиралевидная, грамотрицательная бактерия семейства *Helicobacteraceae* [1]. Её характерная спиральная или S-образная форма (длиной 2,5-4,0 мкм, диаметром около 0,5 мкм) позволяет бактерии легко передвигаться в вязкой среде слизистой оболочки желудка [4]. На одном из полюсов *H. pylori* расположены 4-8 жгутиков, обеспечивающих высокую подвижность [4].

Важной особенностью *H. pylori* является способность к образованию кокковидных форм в неблагоприятных условиях (например, при длительном голодании, воздействии антибиотиков или старении культуры) [5]. Эти формы метаболически менее активны, но могут сохранять жизнеспособность и патогенный потенциал [5]. *H. pylori* не образует капсул и спор [1].

Биохимические свойства:

H. pylori обладает рядом уникальных биохимических свойств, которые критически важны для его выживания в кислой среде желудка и развития заболеваний [6]. Наиболее значимый фермент — уреаза [6]. Она гидролизует мочевину до аммиака и углекислого газа, создавая вокруг бактерии среду с более высоким pH, что защищает её от воздействия соляной кислоты желудка [7]. Активность уреазы является основным диагностическим маркером *H. pylori* [2].

Кроме уреазы, *H. pylori* продуцирует другие важные ферменты:

- Оксидаза: *H. pylori* является оксидазоположительной бактерией [6].
- Каталаза: Бактерия каталазоположительна, что позволяет ей разрушать перекись водорода, защищаясь от активных форм кислорода [6].



Наличие этих ферментов, особенно уреазы, оксидазы и каталазы, является основой для биохимической идентификации *H. pylori* в лаборатории [6].

Условия жизнедеятельности:

H. pylori предъявляет специфические требования к условиям окружающей среды для своего оптимального роста и жизнедеятельности, что делает его культивирование достаточно сложным [3].

- pH: Бактерия является нейтрофилом, предпочитая нейтральные или слабощелочные значения pH для роста (оптимум pH около 6,0-8,0) [3]. Однако благодаря уреазной активности, *H. pylori* способен выживать в очень кислой среде желудка (pH 1,0-2,0), создавая вокруг себя нейтральный микроклимат [7].
- Микроаэрофильность: *H. pylori* — это микроаэрофил, требующий пониженного содержания кислорода (5-10% O₂) и повышенного содержания углекислого газа (5-10% CO₂) [3]. Атмосфера, содержащая 80-85% азота, также способствует оптимальному росту [3].
- Температура: Оптимальная температура для роста *H. pylori* составляет 37°C [3].

Понимание этих особенностей критически важно для разработки и оптимизации питательных сред и условий культивирования *H. pylori* [3].

Требования к питательной среде:

Успешное культивирование *Helicobacter pylori* в лабораторных условиях требует строгого соблюдения специфических условий и обеспечения питательной среды всеми необходимыми для роста компонентами [3].



Условия роста:

- Микроаэрофильная атмосфера: *H. pylori* является облигатным микроаэрофилом, что означает его потребность в пониженном содержании кислорода (5-10% O₂) и повышенной концентрации углекислого газа (5-10% CO₂) [3]. Для создания таких условий используются специальные инкубаторы, анаэроостаты с газогенерирующими пакетами или газовые смеси [8].
- Температура: Оптимальная температура для культивирования *H. pylori* составляет 37°C [3].
- pH: *H. pylori* предпочитает нейтральные или слабокислые значения pH для своего роста. Оптимальный диапазон pH для питательной среды находится в пределах 5.5–7.0 [3].

Питательные вещества:

H. pylori является метаболически требовательным микроорганизмом, что объясняет необходимость использования сложных и обогащённых питательных сред [3].

- Аминокислоты и витамины: Для полноценного роста *H. pylori* необходим широкий спектр аминокислот, которые служат источниками азота и строительными блоками для белков [3]. Витамины группы В действуют как коэнзимы и абсолютно необходимы для роста бактерии [3].
- Источники азота: Помимо аминокислот, *H. pylori* нуждается в доступных источниках азота. Пептоны и экстракты (например, мясной экстракт, дрожжевой экстракт) являются богатыми источниками азота и других органических веществ [3].



- Железо и микроэлементы: Железо (Fe^{3+}) является критически важным микроэлементом для роста *H. pylori*, поскольку оно входит в состав многих ферментов [7]. Дефицит железа может значительно подавлять рост бактерии [7].

Виды питательных сред:

Для культивирования *Helicobacter pylori* используются специализированные питательные среды, которые обеспечивают питательные вещества, создают необходимые физико-химические условия и, при необходимости, подавляют рост сопутствующей микрофлоры [3]. Среда делится на селективные, неселективные и жидкие [3].

Селективные среды:

Предназначены для подавления роста нецелевой микрофлоры из клинических образцов, обеспечивая преимущественный рост *H. pylori*. Селективность достигается добавлением антибиотиков, к которым *H. pylori* устойчив [3].

- Среда Скирроу (Skirrow medium): Основа — кровяной агар (например, Columbia blood agar) с антибиотиками (ванкомицин, полимиксин В, триметоприм, амфотерицин В) [3].
- Кампи-кровяной агар (Campy-blood agar): Модифицированная среда с антибиотиками (цефалотин, ванкомицин, полимиксин В, циклогексимид) [3].

Неселективные среды:

Используются для поддержания роста уже изолированных культур *H. pylori* и изучения их свойств. Не содержат ингибирующих агентов [3].



- Шоколадный агар (Chocolate agar): Готовится путём добавления крови к расплавленному агару, что приводит к лизису эритроцитов и высвобождению факторов роста [3]. Обеспечивает отличный рост большинства штаммов *H. pylori*.
- Агар Бруцелла + добавки (Brucella agar + additives): Обогащённая среда, дополненная 5-10% инактивированной сывороткой крови (лошадиной, бараньей или эмбриональной телячьей), иногда с витаминами или пируватом [3]. Обеспечивает стабильный и обильный рост *H. pylori*.

Жидкие среды:

Используются для получения больших объёмов бактериальной биомассы для биохимических или геномных исследований [3].

- Бульон Бруцелла (Brucella broth): Дополняется 5-10% сыворотки крови (лошадиной или фетальной бычьей) и иногда дрожжевым экстрактом, пируватом натрия [3]. Позволяет получить высокую концентрацию бактериальных клеток. Требуется постоянного контроля газовой атмосферы и длительной инкубации [3].

Роль компонентов среды в биохимии бактерии и условия инкубирования:

Каждый компонент среды подбирается для удовлетворения специфических метаболических потребностей *H. pylori* [3].

- Мочевина: *H. pylori* использует уреазу для гидролиза мочевины до аммиака ($(\text{NH}_2)_2\text{CO} + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{уреаза}} 2\text{NH}_3 + \text{CO}_2$) [7]. Аммиак нейтрализует желудочную кислоту, создавая микросреду с нейтральным pH, что защищает бактерию от кислой среды желудка [7]. Мочевина также является источником азота и поддерживает стабильность pH [3].



- Железо (Fe^{3+}): Незаменимый микроэлемент, действующий как кофактор для множества ферментов [7]. Железо необходимо для стабильности и активности уреазы, является ключевым компонентом гема в цитохромах, участвующих в переносе электронов для получения энергии, а также входит в состав каталазы и супероксиддисмутазы [6, 7]. Достаточное количество железа критически важно для роста, ферментативной активности и устойчивости *H. pylori* к стрессу [7].
- Аминокислоты: Служат источниками азота и строительными блоками для белков [3].
- Антибиотики: Включаются в селективные среды для подавления сопутствующей микрофлоры из клинических образцов [3]. *H. pylori* устойчив к этим антибиотикам, что позволяет выделить чистую культуру [3].

Условия инкубирования:

Точное соблюдение температурного режима, газовой атмосферы и времени инкубации критически важно для культивирования *H. pylori* [3].

- Температура: Оптимальная температура для роста *H. pylori* составляет 37°C [3].
- Газовая среда: *H. pylori* является микроаэрофилом и требует специфической газовой атмосферы [3]:
 - 5–10% CO_2 : Необходим как источник углерода и стимулятор роста, а также для поддержания pH [3].
 - 5% O_2 : Нужен для дыхания, но высокие концентрации токсичны [6].
 - 85% N_2 : Инертный газ-наполнитель [3].

Такие условия создаются с помощью микроаэрофильных инкубаторов или газогенерирующих пакетов [3].



- Время культивирования: *H. pylori* растёт относительно медленно. Для формирования видимых колоний требуется от 3 до 7 суток инкубации [3]. При первичном выделении из клинических образцов может потребоваться 5-7 суток [3]. При пересевах адаптированных штаммов рост может быть виден через 2-3 суток [3].

Заключение

Культивирование *Helicobacter pylori* остаётся краеугольным камнем в диагностике хеликобактерной инфекции, изучении её патогенеза и оценке чувствительности к антибиотикам. Успех этого процесса напрямую зависит от глубокого понимания биохимических потребностей бактерии и строгого соблюдения оптимальных условий роста [3].

Оптимальные условия для выращивания *H. pylori* включают создание микроаэрофильной атмосферы (5–10% O₂, 5–10% CO₂, 85% N₂), поддержание стабильной температуры 37°C и использование обогащённых питательных сред [3]. Время инкубации, как правило, составляет от 3 до 7 суток [3].

Биохимические особенности *H. pylori* играют ключевую роль в выборе и оптимизации состава питательных сред:

- Уреазная активность – способность расщеплять мочевины до аммиака – критически важна для выживания бактерии в кислой среде желудка и определяет необходимость включения мочевины в состав сред или использования её для буферизации pH [7].
- Высокие требования к питательным веществам, таким как аминокислоты, витамины группы В, а также микроэлементы, в частности железо, объясняют необходимость использования сложных сред, обогащённых кровью или



сывороткой [3, 7]. Железо, в частности, является важным кофактором для множества ферментов [7].

- Использование селективных антибиотиков в средах позволяет подавлять рост сопутствующей микрофлоры из клинических образцов, что существенно повышает вероятность успешной изоляции *H. pylori* [3].

Несмотря на наличие эффективных коммерческих сред, перспективы создания новых, более дешёвых и стабильных сред для культивирования *H. pylori* остаются актуальными [3]. Исследования в этой области направлены на:

- Разработку синтетических или полусинтетических сред, которые минимизировали бы использование дорогостоящих и нестабильных биологических компонентов [3].
- Поиск альтернативных источников питательных веществ [3].
- Улучшение методов стабилизации компонентов среды для увеличения её срока годности и надёжности [3].
- Создание сред, которые способствовали бы более быстрому росту или позволяли бы лучше сохранять жизнеспособность бактерии при транспортировке образцов [3].

Дальнейшие исследования биохимического метаболизма *H. pylori* и его адаптационных механизмов позволят разработать инновационные питательные среды, что упростит рутинную диагностику, ускорит научные исследования и в конечном итоге улучшит подходы к лечению хеликобактерной инфекции.



Список литературы:

- [1] Белоусов А.В., Конорев М.Р., Ситкин С.И. *Helicobacter pylori*: диагностика и лечение. Учебно-методическое пособие. Витебск: ВГМУ, 2017.
- [2] Маев И.В., Самсонов А.А., Андреев Д.Н. *Helicobacter pylori*-ассоциированные заболевания: современные подходы к диагностике и лечению. М.: Практическая медицина, 2017.
- [3] Поздеев О.К. Медицинская микробиология: Учебное пособие. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005.
- [4] Лыкова О.В., Кудрявцева А.В., Чернышева С.В. Морфофункциональные особенности *Helicobacter pylori*. Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2010; (2): 54-57.
- [5] Колпакова Е.В., Бобошко Е.А., Мирсаитова Г.К. Биологические свойства *Helicobacter pylori*. Вестник Российской академии медицинских наук. 2013; (10): 54-60.
- [6] Бухарин О.В., Гинцбург А.Л., Романова Ю.М. Микробиология. Учебник. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018.
- [7] Несвижский Ю.В., Сорокин В.М., Митина Ю.В. Биохимические особенности *Helicobacter pylori* и их роль в патогенезе ассоциированных заболеваний. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2015; 17(2): 89-95.
- [8] Зуев В.А., Лебедева В.В. Оптимизация условий культивирования *Helicobacter pylori* для улучшения диагностических возможностей. Современные технологии в медицине. 2016; 8(3): 102-108.