АДАПТАЦИЯ СТАФИЛОКОККОВ К УСЛОВИЯМ ОБИТАНИЯ В СООРУЖЕНИЯХ ДЛЯ СОЛЕТЕРАПИИ

Маммаева М.Г.[1]/Mammaeva M.G.[1]
Нестерова Л.Ю.[2], Кириченко Л.В.[1], Кузнецова М.В.[1,2] /Nesterova L.Yu.[2], Kirichenko L.V[1]., Kuznetsova M.V.[1,2]
[1] ФГБОУ ВО «Пермский медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» МЗ РФ, г. Пермь, Россия
[2]«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия
E.A. Vagner Perm State Medical University, Perm, Russia
[2]Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms PFRC, Perm, Russia
Научный руководитель: проф. Кузнецова М.В./Supervisor: prof. Kuznetsova M.V.

Введение

Стафилококки – грамположительные, убиквитарные микроорганизмы, влияющие на здоровье животных и человека [1, 2]. Интерес к изучению биологических свойств микроорганизмов в условиях высокого засоления среды вызван как необходимостью расшифровки механизмов их персистенции в высокоминерализованных природных или искусственных системах, так и целесообразностью оптимизации методов поддержания факторов внутренней среды наземных соляных сооружений (НСС).

Цель

Изучение роста и выживаемости бактерий в условиях осмотического стресса в жидкой среде и на поверхностях, имитирующих ограждения сооружений для солетерапии.

Методы и материалы

Объектами исследования служили 26 штаммов рода *Staphylococcus*, изолированных из одиннадцати наземных соляных сооружений Пермского края в период 2017-18 гг. Пробы (n=71) отбирали с соляных поверхностей (S=0,5 м^2) сухим способом. Идентификацию выделенных микроорганизмов осуществляли согласно Приказу МЗ СССР №535 от 22.04.1985. Окончательную верификацию штаммов осуществляли на основании анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК.

Динамику роста популяции в присутствии 0,5, 1,0 и 2,0 М NaCl и KCl оценивали по оптической плотности ($ОП_{600}$) клеток на микропланшетном ридере Benchmark Plus (Bio-Rad, США) в течение 72 ч. Выживаемость стафилококков оценивали в течение 48 ч экспозиции бактерий на галите (кристаллическая форма NaCl и различных примесей) и сильвините (совокупность минералов сильвина (KCl), галита и карналлита ($KCl \times MgCl_3 \times 6H_2O$) без обработки и после зачистки, дробленом сильвините, сильвинитовой и галитовой крошке (рис. 1).

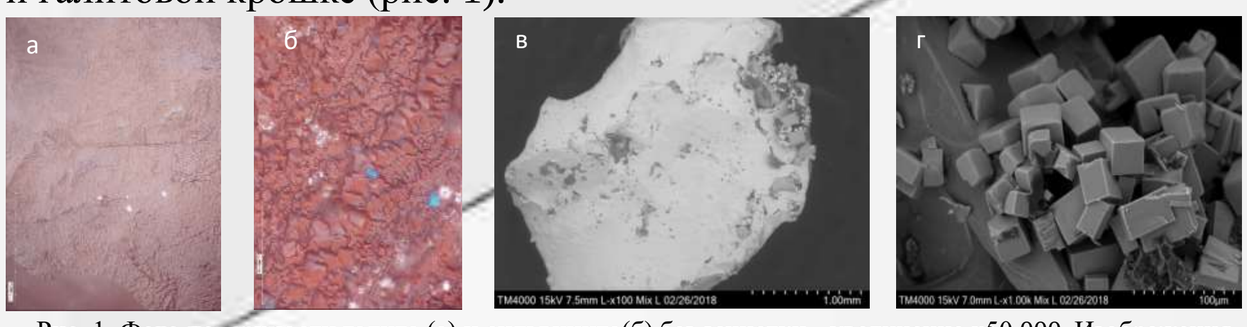

Рис. 1. Фото поверхности галита (а) и сильвинита(б) без зачистки - увеличение х50 000. Изображения структуры поверхности: дробленого сильвинита, полученные с помощью электронной микроскопии (Hitachi TM4000Plus, Япония). Масштабная линейка соответствует 1 мм (в) и 100 мкм (г).

Результаты

Уровень обсемененности стафилококками в сильвинитовых сооружениях составил 55,8% (3,11E+02±2,32E+02 клеток/мл/м^2), тогда как в галитовых – 10,5%, данный микроорганизм был обнаружен только в двух пробах. Большинство изолированных бактерий принадлежали к виду *Staphylococcus epidermidis*, в пяти НСС обнаружен *S. aureus*, в единичных пробах – *S. saprophyticus*, *S. simulans*, *S. warneri*, *S. cohnii urealyticum* (рис. 2).

Рис. 2. Видовое распределение выделенных бактерий рода *Staphylococcus*.

Показатель бактериального фитнеса, характеризующего скорость роста культур в жидкой среде, составил 0,86±0,14, 0,61±0,20 и 0,13±0,002 ед. для вариантов 0,5, 1,0 и 2,0 М NaCl соответственно. При этом для каждой культуры между концентрацией соли и показателем оптической плотности бактериальной суспензии выявлена сильная отрицательная корреляция (Rs=-0,71 – -0,99) во все сроки экспозиции. В отношении урожая также показана обратная зависимость этого показателя от концентрации соли. Добавление в ростовую среду высоких концентраций KCl способствовало замедлению роста штаммов стафилококков, но не во всех вариантах с достоверной разницей (рис. 3).

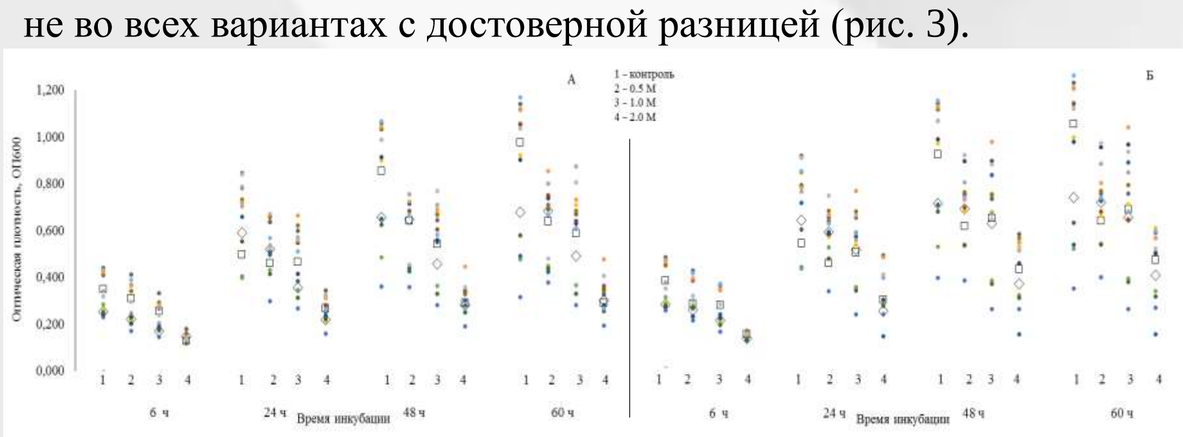

Рис. 3. Оптическая плотность культур стафилококков (n=15) при росте в течение 6, 24, 48 и 60 ч в LB-бульоне с разными концентрациями NaCl (А) и KCl (Б): 1 – контроль LB, 2 – 0,5 М, 3 – 1,0 М, 4 – 2,0 М. □ – *S. aureus* ATCC 25923, ◇ – *S. epidermidis* ATCC 28922, точки – штаммы, изолированные с соляных поверхностей НСС.

Выявлено, что клетки бактерий могут сохраняться на различных типах поверхности галита и сильвинита не менее двух суток (рис. 4). Жизнеспособность микроорганизмов не зависела от соотношения минералов (галит/сильвин) в образцах.

Значимым фактором для выживаемости стафилококков была структура поверхности: наибольшее количество клеток сохранялось через сутки на дробленом сильвините, который характеризовался «оптимальной шероховатостью» для прикрепления бактерий. Культуры, предварительно выращенные на агаре, оказались более толерантными к условиям осмотического стресса, чем взятые из жидкой среды.

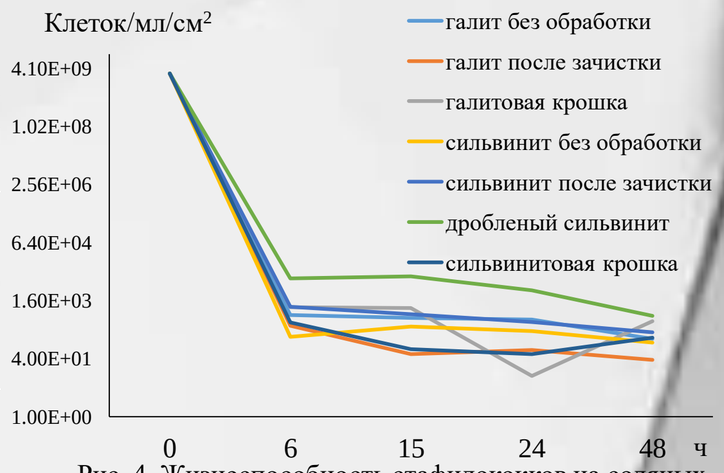

Рис. 4. Жизнеспособность стафилококков на соляных поверхностях.

Выводы

Подтверждена зависимость адаптивных механизмов бактерий от условий окружающей среды и исходного физиологического состояния клеток. Результаты исследования свидетельствуют об устойчивости стафилококков к высоким концентрациям солей, что ставит вопрос о специальных методах обработки ограждений сооружений для солетерапии.

Исследования выполнены в рамках НИОКТР АААА-А19-119112290009-1.

Библиография

1. Гостев В.В., Сидоренко С.В. Метициллинрезистентные золотистые стафилококки: проблема распространения в мире и России. Фарматека. 2015; 6(299): 30-8.
2. Otto M. Staphylococci in the human microbiome: the role of host and interbacterial interactions. Curr. Opin. Microbiol. 2020; 53: 71-7.

ВСЕРОССИЙСКИЙ КОНГРЕСС
по медицинской микробиологии, клинической микологии и иммунологии (XXIV Кашкинские чтения)
9-11 июня 2021 г., Санкт-Петербург, Россия