

Сохранение жизнеспособности фагочувствительных и фагорезистентных клеток *E.coli* в условиях стресса

Научный руководитель – Блинкова Лариса Петровна

Валитова Румия Камилевна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет пищевых производств, Москва, Россия

E-mail: Labpitsred@yandex.ru

Ключевые слова: ЖНК, *E.coli*, фагочувствительные, фагорезистентные, стресс.

Выживаемость беспоровых бактерий продлевается благодаря образованию жизнеспособных некультивируемых клеток (ЖНК), которые появляются в популяции под действием стрессов различной природы [1-4] Целью работы являлось оценка жизнеспособности и образования ЖНК у λ - фагочувствительных и λ - резистентных *E. coli* AB1157 в условиях стресса.

Методика: опыты проводили с клетками *E. coli* AB1157 (ph^- - фагочувствительные и ph^+ - фагорезистентные) в голодной среде с 3% NaCl при 20-22°C в течение 200 дней с изучением количественных показателей (общего числа клеток в световом микроскопе; КОЕ/мл при высевах; численности окрашенных Live/Dead™ живых и мертвых бактерий в люминесцентном микроскопе с последующим определением процента ЖНК).

Результаты и обсуждение: данные свидетельствуют, что через 7 сут. инкубации, когда (ph^-) клетки адаптировались к росту в стрессовых условиях, отмечен резкий переход эшерихий в состояние ЖНК (58%) с недолгой реверсией к культивируемости. Затем через 28 дней число их вновь увеличилась, достигнув стабильного уровня 99,9% к 119 сут. При этом количество КОЕ/мл снизилось, по-видимому, в связи с выявленным нами переходом в ЖНК. Об этом свидетельствует также несоответствие падения общего числа бактерий в 2,5 раза при сравнении точки «0 час» и «189 дней»: $(72,0 \pm 2,99) \times 10^6$ кл/мл против $(28,8 \pm 1,4) \times 10^6$ кл/мл и снижение КОЕ кл/мл в 1851 раз ($57,4 \times 10^6$ кл/мл против $0,031 \times 10^6$ кл/мл). Для (ph^+) субштамма, через 189 сут. общее количество клеток осталось на высоком уровне: в начале было $(8,64 \pm 0,46) \times 10^7$ кл/мл, а в конце $(4,56 \pm 0,28) \times 10^7$ кл/мл., т.е. снижение всего в 1,9 раза. Число КОЕ/мл снизилось в 278 раз. Эти величины были ниже, чем у (ph^-) субштамма, формировавшего ЖНК более активно. Образование ЖНК у (ph^+) эшерихий началось после 35 дней стресса (87% ЖНК). С 56 дня (около 2 мес. стресса) число ЖНК составило 95% и только через 6 мес. было 99,9%.

Выводы: данные свидетельствуют о более активном переходе клеток эшерихий (ph^-) в ЖНК, по сравнению с (ph^+) субштаммом, что в биотопах может создавать преимущества для выживания не защищенных профагом клеток от действия «диких» фагов и при стрессе.

Источники и литература

- 1) Валитова Р.К., Абдуллаева А.М., Блинкова Л.П., Пахомов Ю.Д. Изучение чувствительности к бактериофагам в условно-патогенных микроорганизмов, контаминирующих пищевые продукты животного происхождения // Проблемы медицинской микологии. 2019. Т. 21, №2. с. 48.
- 2) Ю.Д. Пахомов, Л.П. Блинкова. Биоопасность жизнеспособных некультивируемых микроорганизмов // Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунобиологии. 2019. №3. 83-91.

- 3) 3) Blinkova L., Pakhomov Yu., Stoyanova L. Detection of viable and dead bacteria by flow cytometry and luminescence microscopy. “How dead id dead?” Proceedings of the “5th conference on exploring the edge of bacterial life”. Vienna, 2017, p. 37.
- 4) 4) Oliver J.D. The Viable but Nonculturable State in Bacteria / J.D. Oliver // J. Microbiol. – 2005. – Vol. 43(S). – P. 93–100.