

УДК 579.264

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

**Миронова А.В., студентка 1 курса магистратуры
института фундаментальной медицины и биологии,
atironova2019@mail.ru**

**Научные руководители: Тризна Е.Ю., кандидат
биологических наук;**

**Каюмов А.Р., доктор биологических наук, доцент
ФГАОУ ВО КФУ**

Ключевые слова: внеклеточные метаболиты, биопленки.

Работа посвящена установлению антимикробной активности внеклеточных метаболитов разных штаммов золотистого стафилококка, полученных при различных условиях, в отношении бактерий в составе биопленок *P. aeruginosa*. При проведении исследований установлено, что внесение культуральной жидкости всех исследуемых штаммов не зависимо от условий культивирования приводило к гибели клеток *P. aeruginosa*, как в открепившемся состоянии, так и в составе биопленок.

В последние годы отмечено, что развитие хронических инфекций зачастую связано со способностью большинства клинически значимых патогенных микроорганизмов образовывать биопленки [Vjarnsholt, 2013]. При этом все чаще отмечается, что бактериальные биопленки в естественных условиях представлены многовидовыми сообществами, которые включают в себя несколько микроорганизмов [Blanchette *et al.*, 2018].

В составе смешанного сообщества могут наблюдаться различные взаимодействия бактерий, как синергетические, которые способствуют повышению жизнеспособности членов сообщества, так и антагонистические [Orazi *et al.*, 2020]. Ранее в нашей лаборатории было показано, что бактерии обладают различной чувствительностью к антибиотикам в составе моно- и полимикробных сообществ. Так в полимикробной биопленке значительно повышалась чувствительность *P. aeruginosa* к антибиотикам широкого спектра действия. Поэтому было предположено, что *S. aureus* способен синтезировать метаболиты, которые негативно влияют на клетки грамотрицатель-

ных бактерий и тем самым повышают их чувствительность к антибиотикам.

Чтобы проверить действительно ли внеклеточные метаболиты стафилококка влияют на изменение чувствительности грамотрицательных бактерий к антибиотикам, культуральную жидкость золотистого стафилококка, выращиваемого в статических условиях в составе моно- и полимикробного сообщества, вносили к зрелым биопленкам *P. aeruginosa* в сочетании с антибиотиками и через 24 часа инкубирования проводили оценку жизнеспособности открепившихся клеток и клеток в составе биопленки путем подсчета КОЕ.

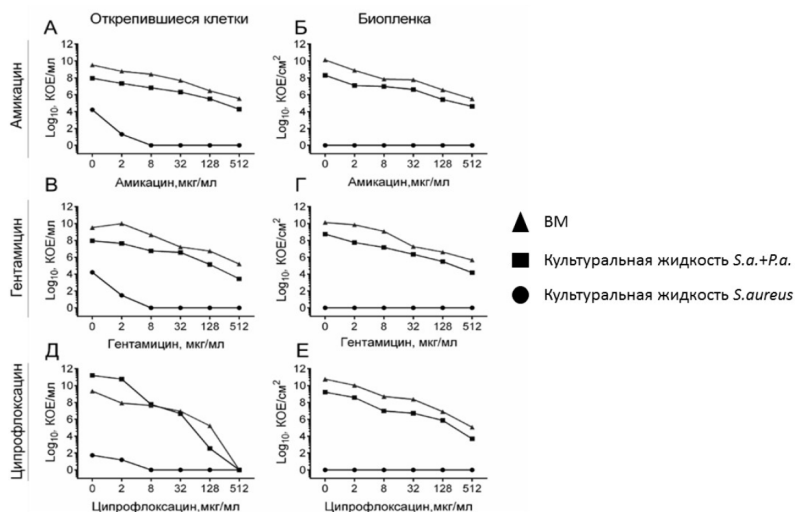


Рисунок 1 – Количество жизнеспособных открепившихся клеток и клеток в составе биопленки *P. aeruginosa* в присутствии культуральной жидкости *S. aureus* и антибиотиков

Было показано, что культуральная жидкость, полученная в условиях формирования моновидовой биопленки *S. aureus* обладает потенциальной антимикробной активностью в отношении открепившихся клеток *P. aeruginosa* и в составе биопленок и способствует повышению эффективности антибиотиков.

Продукция внеклеточных метаболитов бактериями часто определяется условиями культивирования. Чтобы проверить влияют ли условия культивирования *S. aureus* на образование им специфических метаболитов, оценивали действие культуральной жидкости *S. aureus* при различных условиях роста против свободноплавающих и погруженных в биопленку клеток *P. aeruginosa* с помощью резазуринового теста.

Внесение культуральной жидкости, полученной при аэрированном росте клеток *S. aureus* приводило к синей окраске лунок (что свидетельствует о гибели клеток) при разбавлении жидкости в 2-4 раза в отношении открепившихся клеток и в 8-16 раз в отношении клеток в составе биопленок. Таким образом можно сделать вывод, что культуральная жидкость, полученная при аэрированном росте клеток *S. aureus* обладает большим бактерицидным эффектом, по сравнению с жидкостью, полученной при формировании биопленок.

В пределах одного вида генетическая и фенотипическая устойчивость штаммов к различным противомикробным препаратам и неблагоприятным факторам окружающей среды колеблется. Мы предположили, что действие метаболитов *S. aureus* также будет обладать различной активностью против разных штаммов *P. aeruginosa*.

Внесение культуральной жидкости *S. aureus*, выращенного в аэрируемых условиях без разбавления питательной средой, приводило к гибели всех исследуемых штаммов. При этом *P. aeruginosa* ATCC 2785 и клинических штаммов *P. aeruginosa* 6 были наиболее чувствительными и их гибель наблюдалась при разведении метаболитов *S. aureus* в 2 раза.

Таким образом внеклеточные метаболиты *S. aureus* обладают бактерицидной активностью против клинических изолятов *P. aeruginosa*, однако их эффективность является штаммоспецифичной.

Различные штаммы *S. aureus* также могут обладать различной антимикробной активностью против клеток *P. aeruginosa*.

Было установлено, что внесение культуральной жидкости всех исследуемых штаммов не зависимо от условий культивирования приводило к гибели открепившихся клеток *P. aeruginosa*. При этом метаболиты *S. aureus* ATCC 29213 и *S. aureus* 18 вызывали гибель *P. aeruginosa* при максимальном разведении питательной средой – в 16 раз и в 8 раз соответственно.

1. Bjarnsholt, T. The role of bacterial biofilms in chronic infections [Text] / T. Bjarnsholt // APMIS Supplementum. – 2013. – №136. – P.1–51.
2. Blanchette, K. A. Current therapies in treatment and prevention of fracture wound biofilms: why a multifaceted approach is essential for resolving persistent infections [Review] / K.A. Blanchette, J.C. Wenke // Journal of bone and joint infection. – 2018. – №2. – P. 50-67.
3. Orazi, G. Pseudomonas aeruginosa enhances the efficacy of norfloxacin against Staphylococcus aureus biofilms [Text] / G. Orazi, F. Jean-Pierre, G.A. O'Toole // biorXiv. – 2020. – P. 010959.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EXTRACELLULAR METABOLITES

Mironova A.V.

Key words: *extracellular metabolites, biofilms.*

The study investigates to the establishment of the antimicrobial activity of extracellular metabolites of different strains of Staphylococcus aureus, obtained under different conditions, against P. aeruginosa biofilms. During the research, it was found that the introduction of the culture fluid of all the studied strains, regardless of the cultivation conditions, led to the death of detached P. aeruginosa cells.