

Способность к культивированию у прототрофных и ауксотрофных штаммов энтеробактерий при стрессах

Научный руководитель – Блинкова Лариса Петровна

Валитова Румия Камилевна

Студент (магистр)

Московский государственный университет пищевых производств, Москва, Россия

E-mail: Labpitsred@yandex.ru

Актуальность. Изучение жизнеспособности и культивируемости бактерий остается важным направлением для микробиологии, биотехнологии, ветеринарии, пищевой промышленности, имеющим научно-практическое значение.

Целью работы являлась оценка способности клеток представителей энтеробактерий культивироваться на традиционной среде и переходить в некультивируемое состояние в условиях стресса.

Материалы и методы. В работе использованы 2 прототрофных штамма энтеробактерий: пробиотический *E. coli* M17, условно-патогенный *Salmonella Typhimurium* 79 и лактозоотрицательный, ауксотрофный непатогенный *E. coli* АВ1157, для которых в течение 5 месяцев были созданы трофический и осмотический стрессы в «голодном» 3% растворе NaCl при 20-22°C. Результаты оценивали по показателям: общая численность микроорганизмов, подсчитанная в камере Горяева; колониеобразующие единицы (КОЕ/мл) на 1,5% питательном агаре; число живых и мертвых бактерий после окраски образцов набором красителей Live/DeadTM; процент жизнеспособных некультивируемых клеток (ЖНК). Данные статистически обрабатывали с определением $X \pm m$ для $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение. Сопоставление показало, что при статистически однозначном исходном уровне всех бактерий - у *E. coli* M17 - ($9,4 \pm 1,03 \times 10^7$ /мл), *E. coli* АВ1157 - ($7,2 \pm 2,99 \times 10^7$ /мл), *S. Typhimurium* 79 - ($12,4 \pm 1,4 \times 10^7$ /мл) имелись особенности в показателях между штаммами в течение периода наблюдения. Так, для *E. coli* M17 и *S. Typhimurium* 79 отмечены сходные величины по общему числу микробов, которое через 5 месяцев осталось в пределах начального количественного интервала ($10,2 \pm 1,2 \times 10^7$ /мл и $10,4 \pm 1,1 \times 10^7$ /мл). Однако у ауксотрофного штамма *E. coli* АВ1157 с 14 дня общее количество бактерий снизилось почти в 3 раза, оставаясь на этом уровне еще 2 месяца. Затем после понижающей флуктуации (до $1,16 \pm 0,07 \times 10^7$ /мл, т.е. в 6 раз от исходного показателя) эта численность ($2,44 \pm 1,1$ и $2,48 \pm 1,1 \times 10^7$ /мл) стабильно сохранялась до конца изучения.

Анализ культивируемости (КОЕ/мл) выявил наиболее высокие показатели у патогена *S. Typhimurium* 79: снижение КОЕ/мл к концу наблюдения было всего в 3,4 раза, тогда как у непатогенных *E. coli* M17 культивируемость уменьшалась почти в 20 раз, а у *E. coli* АВ1157 в 522 раза. Дифференциальная окраска микробов и определение ЖНК подтвердили этот тренд снижения культивируемости и активного перехода клеток в ЖНК. Для *S. Typhimurium* 79 число бактерий, перешедших в состояние ЖНК, было к концу изучения около 50%, тогда как штаммы *E. coli* сформировали 93,5 - 99,9% ЖНК, т.е. значительно утратили культивируемость. При этом доминировал ауксотроф *E. coli* АВ1157.

Выводы. Среди изученных энтеробактерий наиболее высокой жизнеспособностью обладали клетки *S. Typhimurium* 79, имевшие более низкий процент перехода в состояние ЖНК. Это отличало патогенную сальмонеллу от непатогенных штаммов *E. coli*, у которых наивысшие показатели снижения культивируемости и образования ЖНК выявлены у ауксотрофа *E. coli* АВ1157, по сравнению с прототрофом *E. coli* M17.