

Л.П. Базанова, А.Я. Никитин

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ БИОПЛЕНКИ У ЧУМНОГО МИКРОБА
В ОРГАНИЗМЕ БЛОХИ *CITELLOPHILUS TESQUORUM ALTAICUS*ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока»
(Иркутск)

Для выявления особенностей формирования биопленки (конгломератов, «глыбок») у чумного микроба в организме основного переносчика в Тувинском природном очаге чумы — блохи *Citellophilus tesquorum altaicus* — проанализированы данные экспериментальных исследований, проведенных с типичными для очага вирулентными штаммами *Yersinia pestis* subsp. *pestis*. Установлено, что биопленка (бактериальные «глыбки») играет важную роль не только в обеспечении трансмиссии чумы с помощью блох, но и в сохранении возбудителя этими насекомыми. Результаты анализа указывают на преобладающее значение самок *C. tesquorum altaicus* в сохранении чумного микроба и раскрывают некоторые механизмы его переживания в организме блох в холодное время года в Тувинском природном очаге. Микроб в виде биопленок («глыбок») при неоптимальных условиях в осенний период накапливается преимущественно в желудочно-кишечном тракте самок основного переносчика и в таком виде может длительное время сохраняться в блохах.

Ключевые слова: биопленка, возбудитель чумы, блоха

FEATURES OF *YERSINIA PESTIS* BIOFILM FORMATION
IN *CITELLOPHILUS TESQUORUM ALTAICUS* FLEA

L.P. Bazanova, A.Ya. Nikitin

Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk

Data of the experimental investigation using typical for the focus virulent *Yersinia pestis* subsp. *pestis* strains were analyzed to detect special features of a plague microbe biofilm formation (conglomerates, «blocks») in the main plague carrier, *Citellophilus tesquorum altaicus* fleas, in Tuva natural focus. It was established that biofilm (bacterial «blocks») played the important role both in plague transmission by fleas and also in the agent preservation by these insects. Results of the analysis indicated the prevailing significance of *C. tesquorum altaicus* females in plague agent preservation and explained some mechanisms of its survival in fleas during a cold season in Tuva natural plague focus. Under adverse conditions during the autumn period *Y. pestis* biofilms («blocks») accumulate mainly in a digestive tract of the main carrier females and so can survive in fleas for a long time.

Key words: biofilm, plague agent, flea

Согласно современным представлениям, бактерии способны существовать как в виде свободноживущих планктонных клеток, так и в виде биопленок [6]. Считают, что становление способности к образованию биопленки в блохах произошло уже на ранних этапах эволюции вида *Yersinia pestis* и обеспечило развитие трансмиссивного механизма передачи чумного микроба. Биопленка имеет значение не только для обеспечения трансмиссии с помощью блох, но и для сохранения *Yersinia pestis* во внешней среде вне организма теплокровного хозяина [3]. Исследование процесса формирования биопленки и образования блока в преджелудке блохи представляет собой сложную задачу. При этом в экспериментальных исследованиях при просмотре инфицированных блох с помощью световой микроскопии после подкормки на животном в желудке и преджелудке насекомого на фоне алой крови отмечают четко очерченные конгломераты («глыбки» или «микроколонии») представляющие собой скопление бактериальных клеток, покрытое общей внеклеточной оболочкой — биопленкой [4]. Однако исследователи, отмечая «глыбки» микроба в желудках зараженных чумой блох, не анализировали при этом частоту и динамику их формирования.

Для выявления особенностей формирования биопленки (конгломератов, «глыбок») в организме блохи и ее роли в обеспечении трансмиссии и сохранения возбудителя чумы проанализированы данные многолетних экспериментальных исследований с основным переносчиком в Тувинском природном очаге — *Citellophilus tesquorum altaicus*. В опытах использованы насекомые лабораторной популяции, начало которым положили имаго, добытые непосредственно в природном очаге, а в качестве прокормителя — основной хозяин данной блохи — длиннохвостый суслик. Инфицировали блох и зверьков типичными для очага вирулентными штаммами *Yersinia pestis* subsp. *pestis*.

Установлено, что у *C. tesquorum altaicus* наблюдается выраженная сезонная динамика частоты и сроков блокообразования, инфекциозности укусов «блокированных» особей, частоты передачи инфекции блохами и генерализации инфекционного процесса у заболевших носителей. Максимальные значения этих показателей в экспериментах, проведенных на сусликах, совпадают по времени с пиком активизации эпизоотического процесса в природном очаге [1].

Рассмотрим динамику выявления особей с «глыбками» чумного микроба среди экспериментально зараженных блох в разные сезоны года (осень — весна — лето). Осенью среди блох, инфицированных 14 сентября, доля особей с конгломератами микроба возросла к концу эксперимента (3–4 октября) почти до 70 % (рис. 1а). В этот период имаго блох заканчивают физиологическую перестройку для переживания зимнего периода в состоянии оцепенения, что, видимо, приводит к изменению взаимодействия микроба с организмом переносчика, возрастанию его способности к агрегированию и сохранению в таком состоянии в *C. tesquorum altaicus* зимой. Это предположение подтверждают данные опытов с инфицированными осенью и перезимовавшими в состоянии оцепенения блохами весной следующего года (рис. 1б). Зараженность «перезимовавших» блох весной составила 64,3 %. Три первые подкормки после выхода блох из диапаузы, приходились на 228, 232 и 235 сутки от заражения насекомых. Осенью за три последние подкормки выявлено $45,8 \pm 1,17$ % особей с «глыбками» микроба, весной за три первых подкормки «перезимовавших» насекомых — $49,1 \pm 15,39$. Очевидны различия в доле блох, у которых наблюдались конгломераты возбудителя за три первые подкормки осенью (0) и весной ($45,8 \pm 1,17$ %). По своим начальным результатам весенний опыт с «перезимовавшими» блохами (рис. 1б) ближе к данным, полученным в конце осеннего эксперимента (рис. 1а). Этот факт позволяет предположить, что именно в агрегированном состоянии возбудитель чумы находится в блохах весь неблагоприятный зимний период. Представляет интерес, что достоверных различий в доле особей с «глыбками», регистрируемых среди

инфицированных блох летом (в среднем за одну подкормку $15,2 \pm 4,25$ %) и осенью ($13,4 \pm 3,06$ %) не выявлено. При этом блокообразование отмечали у $1,7 \pm 0,53$ % особей за одну подкормку в летнем опыте и у $0,4 \pm 0,13$ % — в осеннем. Различия по данному показателю достоверны ($t = 2,34$; $p < 0,05$). Сезонные различия в частоте формирования «блоков» могут отражать изменения во взаимоотношениях возбудителя чумы с переносчиком в тот или иной период. Так, в осенний период для чумного микроба «более выгодна» адаптация к организму блохи для сохранения, чем образование «блока» и дальнейшая трансмиссия [1].

Выявлены особенности переживания возбудителя чумы в организме самок и самцов *C. tesquorum altaicus* в период зимней диапаузы. В эксперименте показано, что самки *C. tesquorum altaicus*, по сравнению с самцами, более приспособлены к выживанию в условиях низкой температуры и принудительного голодания [2]. По результатам опытов чумной микроб переживает холодный период года в имаго *C. tesquorum altaicus* в агрегированном состоянии («глыбках»), при этом чаще в самках, чем в самцах (рис. 2). Данный факт установлен как весной, так и летом следующего после заражения насекомых года. Половые различия у блох в сохранении возбудителя достоверны (весной $t = 2,9$; $p < 0,01$, летом $t = 2,5$; $p < 0,05$). Аналогично результатам весенних наблюдений, максимальное число особей с возбудителем в агрегированном состоянии среди перезимовавших блох летом отмечено во время первых трех подкормок, затем число таких особей у обоих полов снижается [1–2].

Таким образом, биопленка (бактериальные «глыбки») играет важную роль не только в обеспечении трансмиссии чумы с помощью блох, но и

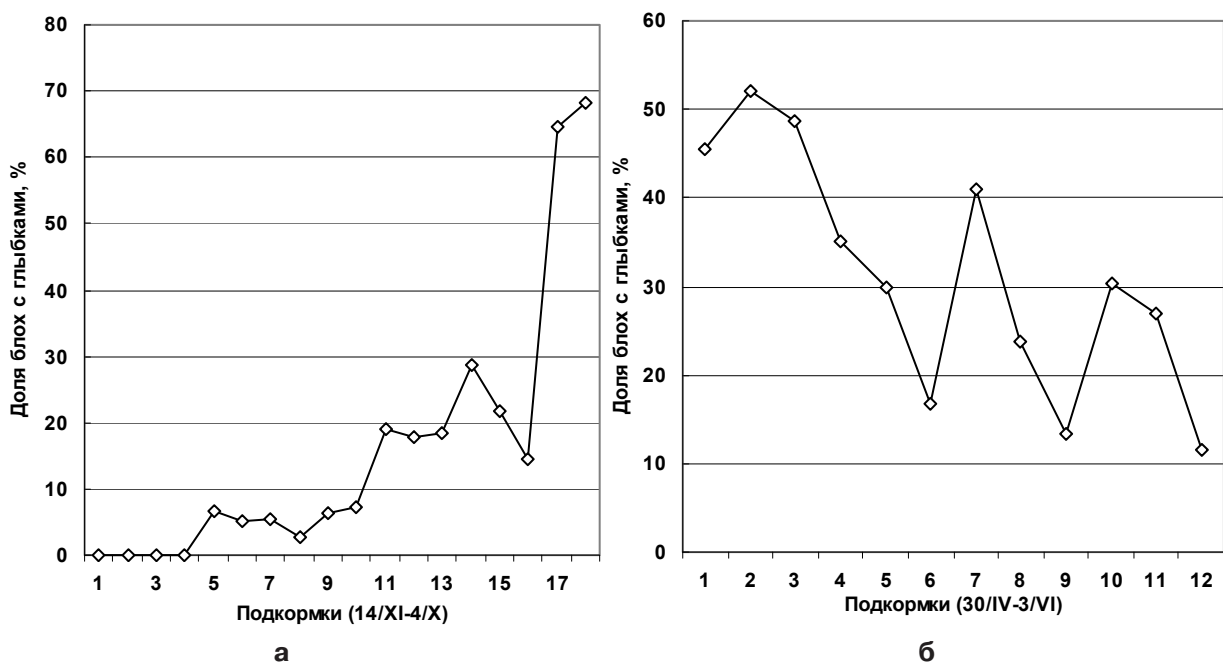


Рис. 1. Выявление «глыбок» чумного микроба у *C. tesquorum altaicus*: а – блох выплода текущего года осенью; б – перезимовавших блох весной следующего года.

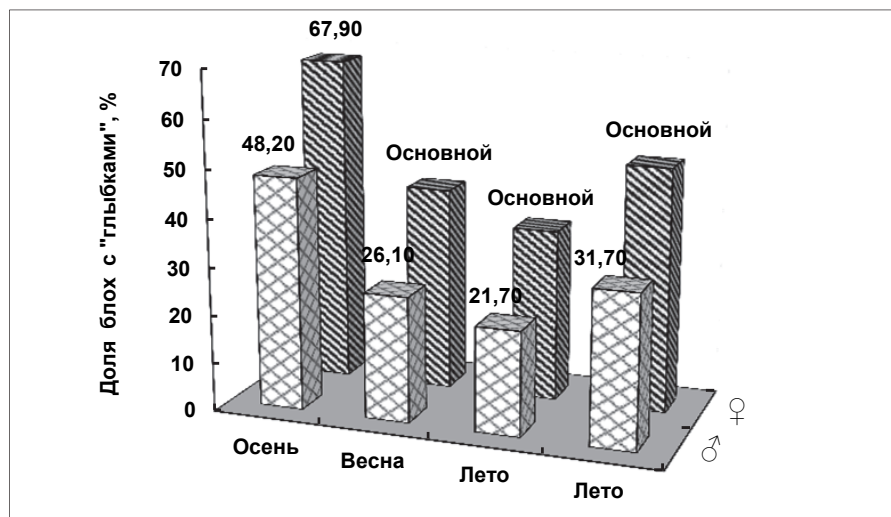


Рис. 2. Накопление у самок и самцов *C. tesquorum altaicus* бактериальных «глыбок» осенью и сохранение их до весны и лета следующего года.

в сохранении возбудителя этими насекомыми. Результаты проведенного анализа указывают на преобладающее значение самок *C. tesquorum altaicus* в сохранении чумного микроба и раскрывают некоторые механизмы его переживания в организме блох в холодное время года в Тувинском природном очаге чумы. Микроб в виде биопленок («глыбок») при неоптимальных условиях в осенний период накапливается преимущественно в желудочно-кишечном тракте самок основного переносчика. В период зимовки имаго в их организме продолжается процесс появления измененных клеток возбудителя [5] и агрегирования отдельных клеток в конгломераты. В таком состоянии чумной микроб может длительное время сохраняться в блохах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Базанова Л.П., Никитин А.Я., Маевский М.П. Сезонные особенности динамики агрегированного состояния возбудителя чумы в организме

Citellophilus tesquorum altaicus (Siphonaptera) // Мед. паразитол. — 2004. — № 2. — С. 3–6.

2. Базанова Л.П., Никитин А.Я., Маевский М.П. Сохранение возбудителя чумы в зимний период самками и самцами *Citellophilus tesquorum altaicus* // Мед. паразитол. — 2007. — № 4. — С. 34–36.

3. Бактериальная биопленка и особенности ее образования у возбудителя чумы и других патогенных иерсиний / Л.М. Куклева [и др.] // Пробл. особо опасных инфекций. — 2011. — Вып. 110. — С. 5–11.

4. Кутырцев В.В., Коннов Н.П., Волков Ю.П. Возбудитель чумы: ультраструктура и локализация в переносчике. — М.: Медицина, 2007. — 224 с.

5. Изменчивость *Yersinia pestis* в организме блохи / М.П. Маевский [и др.] // Журн. микробиол. — 1994. — № 3. — С. 16–21.

6. Costerton J., Stewart P., Greenberg E. Bacterial biofilms: a common case of persistent infections // Science. — 1999. — Vol. 284. — P. 1318–1322.

Сведения об авторах

Базанова Любовь Петровна — д.б.н., старший научный сотрудник зоолого-паразитологического отдела ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» (664047, г. Иркутск, Трилиссера, 78; e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru)

Никитин Алексей Яковлевич — д.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник зоолого-паразитологического отдела ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» (664047, г. Иркутск, Трилиссера, 78; e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru)