

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

1.5.11. – Микробиология (медицинские науки)

Научная статья

УДК 579.61+579.861.2

doi: 10.48612/agmu/2022.17.2. 64.76

**АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ
И АДАПТИВНЫЕ СВОЙСТВА СТАФИЛОКОККОВ,
ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ НАЗЕМНЫХ СОЛЯНЫХ СООРУЖЕНИЙ**

*Марина Валентиновна Кузнецова¹, Марьям Гасангусейновна Маммаева²,
Лариса Юрьевна Нестерова¹, Лариса Викторовна Кириченко², Виталий Алексеевич Демаков¹

¹Институт экологии и генетики микроорганизмов, Пермь, Россия

²Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера, Пермь, Россия

Аннотация. Высокий адаптационный потенциал стафилококков, наряду с фенотипическим разнообразием, способствует сохранению этих бактерий в различных биотопах с экстремальными условиями, в том числе в высокоминерализованных средах. **Цель.** Определить солеустойчивость, чувствительность к солям тяжелых металлов и антибиотикам, а также биопленкообразующую способность бактерий рода *Staphylococcus*, изолированных с соляных поверхностей сильвинитовых и галитовых сооружений. **Материалы и методы.** Идентификацию микроорганизмов проводили с использованием диагностического набора «СТАФИ тест 24» и на основании анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК. Биологические свойства бактерий изучали стандартными методами. Толерантность стафилококков к NaCl, KCl и солям тяжелых металлов определяли методом серийных разведений. **Результаты.** Изучены гемолитическая активность, биопленкообразующая способность, антибиотикочувствительность, резистентность к солям тяжелых металлов, натрия и калия 26 штаммов бактерий рода *Staphylococcus*. 16 (61,5 %) культур показали устойчивость к макролидам, 3 культуры – к оксациллину, что, возможно, свидетельствует об их антропогенном происхождении. При изучении солеустойчивости стафилококков показано, что минимальная бактерицидная концентрация хлоридов натрия и калия для большинства культур были более 5 М, при этом ингибирующее действие KCl на рост бактерий было менее выражено. Культуры бактерий *Staphylococcus aureus* по сравнению с коагулазоотрицательными стафилококками демонстрировали лучший рост и более интенсивное биопленкообразование в присутствии солей натрия. Толерантность стафилококков к тяжелым металлам уменьшалась в ряду: Mn ≥ Cu > Ni > Zn > Cd. Резистентность к макролидам сопровождалась толерантностью к соли Cd, тогда как чувствительные к этому антибиотику культуры показывали устойчивость к высоким концентрациям Mn. У последних была более выражена способность к биопленкообразованию по сравнению с устойчивыми штаммами. **Заключение.** Проявление дифференциальной чувствительности стафилококков к изученным факторам дает дополнительную информацию для оценки экологического потенциала данных микроорганизмов и понимания вопросов, связанных с их распространением и выживаемостью в клинических условиях.

Ключевые слова: *Staphylococcus*, наземные соляные сооружения, биологические свойства, антибиотики, соли тяжелых металлов

Для цитирования: Кузнецова М. В., Маммаева М. Г., Нестерова Л. Ю., Кириченко Л. В., Демаков В. А. Антибиотикочувствительность и адаптивные свойства стафилококков, изолированных из наземных соляных сооружений // Астраханский медицинский журнал. 2022. Т. 17, № 2. С. 64–76. doi: 10.48612/agmu/2022.17.2.64.76.

* © Кузнецова М.В., Маммаева М.Г., Нестерова Л.Ю., Кириченко Л.В., Демаков В.А., 2022

Original article

ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY AND ADAPTIVE PROPERTIES OF STAPHYLOCOCCI ISOLATED FROM ARTIFICIAL SALT CONSTRUCTIONSMarina V. Kuznetsova¹, Maryam G. Mammaeva², Larisa Yu. Nesterova¹, Larisa V. Kirichenko²,
Vitaliy A. Demakov¹¹Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm, Russia²Perm State Medical University Named after Academician E.A. Wagner, Perm, Russia

Abstract. The high adaptive potential of staphylococci, along with phenotypic diversity, contributes to their preservation of in various biotopes with extreme conditions, including highly mineralized environments. **Aim.** Determine the salt tolerance, susceptibility to heavy metals and antibiotics, as well as the biofilm formation of *Staphylococcus* bacteria isolated from the salt surfaces of sylvinit and halite constructions. **Materials and methods.** Identification of microorganisms was carried out using the diagnostic kit “STAPY test 24” and on the basis of the analysis of the nucleotide sequence of the 16S rRNA gene. The biological properties of bacteria were studied using standard methods. Tolerance of staphylococci to NaCl, KCl and heavy metal salts were determined by the method of serial dilutions. **Results.** The hemolytic activity, biofilm-forming ability, antibiotic susceptibility, resistance to salts of heavy metals, sodium and potassium of 26 strains of staphylococci were studied. Sixteen (61,5 %) cultures showed resistance to macrolides, three - to oxacillin, which may indicate their anthropogenic origin. The study of salt tolerance of bacteria, was shown that the minimum bactericidal concentration of sodium and potassium chlorides for most cultures were more than 5 M, while the inhibitory effect of KCl on bacterial growth was less pronounced. Strains of *S. aureus* bacteria, in comparison with coagulase-negative staphylococci, demonstrated better growth and more intense biofilm formation in the presence of sodium salts. Tolerance of staphylococci to heavy metals decreased in the following order: Mn ≥ Cu > Ni > Zn > Cd. Macrolide resistance was accompanied by tolerance to the Cd salt, while cultures sensitive to this antibiotic showed resistance to high Mn concentrations. The latter had a more pronounced ability to biofilm formation in comparison with resistant strains. **Conclusion.** The manifestation of the differential sensitivity of staphylococci to the studied factors provides additional information for assessing the ecological potential of these microorganisms and understanding issues related to their distribution and survival in a clinical setting.

Keywords: *Staphylococcus*, artificial salt constructions, biological properties, antibiotics, heavy metals salts

For citation: Kuznetsova M. V., Mammaeva M. G., Nesterova L. Yu., Kirichenko L. V., Demakov V. A. Antibiotic susceptibility and adaptive properties of staphylococci isolated from artificial salt constructions. Astrakhan Medical Journal. 2022; 17 (2): 64–76. doi: 10.48612/agmu/2022.17.2.64.76 (In Russ.).

Введение. Стафилококки – грамположительные, убиквитарные микроорганизмы, влияющие как на состояние природных экосистем, так и на здоровье животных и человека [1]. Они успешно колонизируют, адаптируются и длительно существуют в различных «динамических» природных и антропогенных биотопах. Бактерии этой группы обнаружены в воздушной среде различных техногенных территорий [2], в рекреационных зонах пресных и морских водоемов [3, 4], в почвах различных типов и карстовых пещерах [5, 6, 7], а также в сточных водах очистных сооружений [8, 9]. Большинство представителей рода *Staphylococcus* входят в состав нормальной микробиоты человека и млекопитающих. При определенных условиях некоторые из них могут вызывать инфекции кожи, мягких тканей, раневые инфекции, а также вовлекаться в развитие хронических и/или системных патологий [10]. *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermidis* являются распространенными возбудителями инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи [10, 11].

Высокий адаптационный потенциал стафилококков объясняется множеством стратегий, используемых этими микроорганизмами, в том числе их фенотипическим разнообразием, способностью образовывать длительно переживающие покоящиеся формы, а также метаболической гибкостью в присутствии преходящих или длительных стрессорных воздействий [12]. К механизмам адаптации к факторам окружающей среды у представителей этой таксономической группы можно отнести высокую биопленкообразующую способность и солеустойчивость [13, 14]. Большая часть различий между

бактериями в пределах одного вида связана с наличием факторов, кодируемых мобильными генетическими элементами, которые обеспечивают главным образом резистентность к антибактериальным препаратам и тяжелым металлам [15, 16, 17]. Стафилококки могут приобретать биологическую устойчивость при продолжительном контакте с биоцидами или ионами тяжелых металлов в природных средах, а также в условиях сельскохозяйственных предприятий и медицинских учреждений [8]. Эти микроорганизмы обнаруживаются в питьевой воде, продуктах питания, сточных водах, на коже и слизистых оболочках здоровых людей, а также в различных медицинских материалах [4, 8, 11, 18]. В настоящее время исследование совместной устойчивости бактерий к антибиотикам и тяжелым металлам является актуальным, поскольку штаммы с такими свойствами представляют значительную проблему для здравоохранения во всем мире [11, 17, 19, 20].

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). В более ранних исследованиях показано, что воздушная среда и абиотические поверхности НСС, используемых для солелечения пациентов с инфекционными заболеваниями органов дыхательной системы, могут быть обильно обсеменены патогенными и условно-патогенными микроорганизмами антропогенного происхождения, в том числе и бактериями рода *Staphylococcus* [21, 22]. Если мониторинг и изучение клинических штаммов стафилококков осуществляется активно, то исследований, посвященных разнообразию и оценке биологических особенностей бактерий, выделенных с абиотических поверхностей НСС, обнаружено не было.

Цель: определить солеустойчивость, чувствительность к солям тяжелых металлов и антибиотикам, а также биопленкообразующую способность бактерий рода *Staphylococcus*, изолированных с соляных поверхностей сильвинитовых и галитовых сооружений.

Материалы и методы исследования. В качестве объектов исследования использовали штаммы рода *Staphylococcus* ($n = 26$), изолированные из 11 НСС Пермского края в период 2017–2018 гг. [23]. Выделение бактерий проводили методом прямого «сухого» высева на желточно-солевой агар или на агаризованную «Питательную среду для выделения стафилококков» (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболонск, Россия). Идентификацию осуществляли бактериологическим методом и с помощью диагностического набора «СТАФ Итест 24» («Erba Lachema», Чехия). Окончательную верификацию штаммов осуществляли на основании анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК путем сравнения нуклеотидной последовательности фрагментов с известными типовыми штаммами стафилококков, как описано [24]. В исследование были взяты только штаммы с индивидуальным генотипом согласно гер-ПЦР: 11 штаммов *S. epidermidis*, по 5 штаммов *S. aureus* и *S. saprophyticus*, 2 штамма – *S. simulans* и по 1 – *S. cohnii urealyticum*, *S. hominis* и *S. warneri*.

Чувствительность бактерий к антибактериальным препаратам определяли диско-диффузионным методом согласно МУК 4.2.1890-04 на агаре Мюллера-Хинтона («Difco», Франция). В работе были использованы стандартные диски с антибиотиками (мкг): оксациллин (1), эритромицин (15), азитромицин (15), клиндамицин (2), ванкомицин (30), гентамицин (10), амикацин (30), тетрациклин (30), ципрофлоксацин (5) и левофлоксацин (5) (ООО НИЦФ, Россия).

Гемолитическую активность культур оценивали после 24-часовой инкубации при 37° С на 5 % кровяном агаре.

Биопленкообразование штаммов определяли по общепринятой методике в плоскодонных 96-луночных полистироловых иммунологических планшетах («Медполимер», Россия) [25]. Ночную культуру бактерий, выращенную в среде LB («Luria-Bertani», «Amresco», USA) и стандартизованную до 2,0 по McFarland, разводили в 100 раз и вносили по 200 мкл в лунки планшета. Культивирование проводили в статическом режиме при температуре 37° С 24 часа. Содержимое лунок удаляли, двукратно промывали лунки фосфатно-буферной средой и после высушивания окрашивали водным генцианвиолетом (0,1 %) 30 мин. Биомассу биопленки оценивали после экстракции красителя этанолом (96 %) по оптической плотности (ОП₅₇₀, ед) с помощью мультимодального планшетного ридера «Benchmark Plus» («Bio-Rad», США).

Для определения влияния солей на рост стафилококков чистые культуры бактерий выращивали в течение ночи в LB-бульоне в объеме 5,0 мл при 35 ± 2° С, стандартизовали до оптической плотности 0,11–0,12 («Ultraspec 3300», Австрия; $\lambda = 600$ нм, $l = 1$ см), разводили 1:100 и вносили в объеме 200 мкл с хлоридом натрия или хлоридом калия в лунки полистиролового плоскодонного планшета. Минимальную подавляющую концентрацию (МПК) растворов NaCl и KCl устанавливали методом

серийных разведений, используя концентрации от 1 до 5 М с шагом 0,5 М. Минимальную бактерицидную концентрацию (МБК) определяли с помощью высева на агаризованную среду LB из лунок соответствующих разведений. Влияние солей на рост бактерий оценивали с помощью оптической плотности культуры (ед. ОП₆₀₀) через 24 часа культивирования в присутствии 1,0 и 2,0 М NaCl и KCl. Контролем служили лунки с культурами *Staphylococcus* в LB-бульоне.

В качестве показателя устойчивости (толерантности) стафилококков к солям тяжелых металлов использовали МПК, которую определяли методом двукратных серийных разведений в микропланшетах. Инкубацию проводили при 35 ± 2 °С на среде LB в присутствии растворов солей: MnSO₄, ZnSO₄, CuSO₄, NiSO₄ и CdCl₂ в диапазоне концентраций 0,05–100 мМ.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Statistica v.10 («StatSoft», США). Для оценки количественных показателей рассчитывали медиану и квартили – Me (Q1–Q3). Достоверность отличий двух зависимых выборок оценивали с помощью критерия Уилкоксона (*W*-test), независимые выборки сравнивали с использованием критерия Манна-Уитни (*U*-test). Связь между признаками выявляли при помощи непараметрического коэффициента ранговой корреляции Спирмена (*R_s*). Для сравнения качественных признаков применяли χ^2 (с поправкой Йейтса) или точный критерий Фишера (*F*-test). При *p* < 0,05 делали вывод о наличии статистически значимой разницы.

Результаты исследования и их обсуждение. Исследование чувствительности к антибиотикам показало, что большинство штаммов стафилококков обладало устойчивостью к макролидам – эритромицину и азитромицину (*n* = 16; 61,5 %). К оксацилину, который является общепринятым маркером чувствительности стафилококков к β -лактамам антибиотикам, были устойчивы 3 культуры коагулазоотрицательных стафилококков (КОС). При этом одна из культур (*S. saprophyticus*) была нечувствительна еще и к тетрациклину и ципрофлоксацину. Все исследованные штаммы были чувствительны к клиндамицину, ванкомицину, аминогликозидам (амикацину и гентамицину), а также левофлоксацину.

Анализ биопленкообразующей способности выделенных штаммов позволил установить, что показатель массивности биопленки варьировал в достаточно широких пределах: от 0,091 до 0,928 ОП₅₇₀, ед., Me (Q1–Q3) для данной выборки составили 0,168 (0,120–0,208). 5 (19,2 %) штаммов формировали биопленки с биомассой более 0,2 ОП₅₇₀, ед. и только 2 культуры – более 0,3 ОП₅₇₀ ед. Уровень биопленкообразования в группе коагулазоположительных стафилококков (КПС), включающей в себя *S. aureus*, был недостоверно выше, чем у бактерий других видов – 0,174 (0,120–0,208) ОП₅₇₀, ед. против 0,162 (0,091–0,928) ОП₅₇₀, ед. Гемолитическими оказались 9 (34,6 %) культур, при этом только в двух случаях способность к гемолизу выявлена у *S. aureus*.

В экспериментах по изучению влияния хлоридов натрия и калия на рост микроорганизмов определено, что показатель МПК этих соединений по отношению к стафилококкам в большинстве случаев был 3,5 М. При этом в присутствии 3 М KCl рост наблюдался у 25 (96,2 %) штаммов, а при действии 3 М NaCl – у 21 (80,8 %) штамма. Показатель МПК 4 М NaCl наблюдался только для 4 (15,4 %) штаммов, в то время как в присутствии KCl в той же концентрации росли 12 (46,2 %) культур (*F*-test; *p* < 0,05). При 3,5 М NaCl росли 4 культуры КОС, при 3,5 М KCl – 12 культур, одна из которых *S. aureus*. Закономерно, что исследуемые штаммы были более устойчивы к хлориду калия, чем натрия (*W*-test; *p* = 0,003), при этом установлена умеренная связь между показателями МПК для этих солей (*R_s* = 0,357; *p* < 0,05). Как для NaCl, так и для KCl показатель МБК определить не удалось, поскольку концентрация 5 М, которая является максимальной для растворов этих солей, не останавливала рост большинства культур стафилококков. Показатели оптической плотности (Me(Q1–Q3)) бактерий через сутки культивирования в LB-среде в присутствии 1,0 и 2,0 М NaCl составили 0,511 (0,354–0,570) и 0,262 (0,223–0,313) ОП₆₀₀, ед., соответственно, и были достоверно ниже, чем в контроле – 0,720 (0,553–0,783) ОП₆₀₀, ед. При росте бактерий с добавлением KCl ростовые характеристики оказались сопоставимыми с таковыми в присутствии NaCl для обеих концентраций соли: 0,527 (0,459–0,607) ОП₆₀₀, ед. и 0,258 (0,237–0,315) ОП₆₀₀, ед. Плотность суспензии КПС через 24 часа в присутствии 1,0 и 2,0 М NaCl была достоверно выше, чем у КОС (0,599 против 0,446 ОП₆₀₀, ед.; *U*-test; *p* = 0,034) и (0,315 против 0,240 ОП₆₀₀, ед.; *U*-test; *p* = 0,023). Аналогичные тенденции выявлены и для 1,0 и 2,0 М KCl (рис. 1).

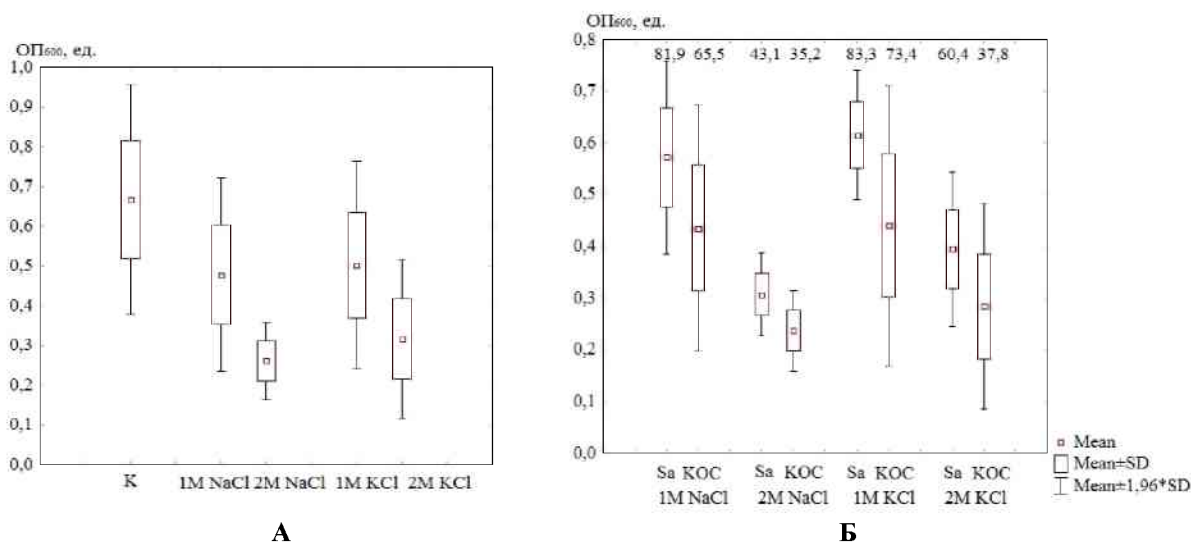


Рис. 1. Диапазон показателя оптической плотности бактериальной суспензии штаммов стафилококков через 24 часа культивирования в LB-среде в присутствии 1,0 и 2,0 М NaCl и KCl: А – всей выборки; Б – в группах *S. aureus* (КПС) и КОС.

Цифры вверху – рост от контроля (рост культур в LB-бульоне) в процентах.
Исследование проведено на 13 штаммах (5 – *S. aureus*, 8 – КОС)

Fig. 1. The range of the optical density of the bacterial suspension of staphylococcal strains after 24 hours of cultivation in LB-medium in the presence of 1.0 and 2.0 M NaCl and KCl: А – the entire sample; Б – in the groups *S. aureus* (coagulase-positive staphylococci) and coagulase-negative staphylococci. The numbers at the top are the growth from the control (growth of cultures in LB-broth) in percent. The study was carried out on 13 strains (5 – *S. aureus*, 8 – coagulase-negative staphylococci)

Изучение толерантности стафилококков к солям тяжелых металлов показало, что их МПК значительно варьировали (от 0,05 до 25,0 мМ). Устойчивость к тяжелым металлам снижалась в ряду: $Mn \geq Cu > Ni > Zn > Cd$ (рис. 1, А). Минимальный ингибирующий эффект проявляли соли Mn, Cu и Ni, в присутствии 1,56 мМ которых наблюдался рост практически всех культур. Однако сульфат цинка в данной концентрации останавливал рост 100 % штаммов. Наиболее токсичным оказался Cd. Присутствие в среде соли этого металла в концентрации выше 0,2 мМ подавляло рост 24 (92,3 %) штаммов, при этом рост 15 (57,7 %) культур останавливался уже при 50 мкМ. Умеренная положительная корреляция выявлена между МПК Mn/Cu ($R_s = 0,408$), Mn/Ni ($R_s = 0,411$), Cu/Ni ($R_s = 0,478$), Zn/Cu ($R_s = 0,442$) и Zn/Cd ($R_s = 0,487$; $p < 0,05$).

С учетом результатов определения антибиотикочувствительности исследуемые штаммы были разделены на чувствительные (группа I) и устойчивые (группа II) к макролидам с целью оценки связи между резистентностью к антибактериальным препаратам и другими биологическими свойствами. Макролидоустойчивые стафилококки имели тенденцию к формированию более массивной биопленки, чем антибиотикоустойчивые культуры: Me (Q1–Q3) составили 0,189 (0,102–0,493) ОП₅₇₀, ед. и 0,154 (0,107–0,198) ОП₅₇₀, ед., соответственно. Кроме того, доля штаммов с высокой биопленкообразующей способностью (более 0,250 ед. ОП₅₇₀) также была больше в I группе, но разница была статистически незначимой (табл.). Удельный вес штаммов с гемолитической активностью в двух группах, отличающихся по чувствительности к макролидам, оказался сопоставимым (30 % против 37,5%).

Аналогично результатам, полученным в общей выборке, выявлены достоверные отличия между показателями МПК NaCl и KCl в группах штаммов чувствительных (*W*-test; $p = 0,027$) и устойчивых ($p = 0,043$) к макролидам стафилококков. Корреляционный анализ показал умеренную связь между показателями МПК NaCl и KCl как в I ($R_s = 0,448$), так и во II ($R_s = 0,661$) группе бактерий. Оказалось, что МПК NaCl более 4 М обнаруживалась по отношению к 10 % штаммов, чувствительных к макролидам. Среди устойчивых таких штаммов было почти в 2 раза больше. В то же время 4 М KCl выдерживали 70 % чувствительных культур, что существенно больше, чем во II группе, но разница была статистически недостоверна в обоих случаях. Оказалось, что среди чувствительных к макролидам штаммов чаще, чем среди устойчивых встречались культуры, толерантные к высоким концентрациям Mn (50 % против 6,3 %), однако реже – устойчивые к Cd (20 % против 43,8 %) (табл.).

Таблица. Биологические свойства чувствительных и устойчивых к макролидам стафилококков, n (%)
Table. Biological properties of macrolide-sensitive and resistant staphylococci, n (%)

Признак	Группа штаммов		Достоверность отличий, p (F-test)	
	Чувствительные к макролидам (n = 10)	Устойчивые к макролидам (n = 16)		
Массивность биопленки $\geq 0,250$ ОП ₅₇₀ , ед	3 (30,0)	1 (6,3)	0,142	
Гемолиз	3 (30,0)	6 (37,5)	0,517	
МПК	NaCl ≥ 4 М	1 (10,0)	3 (18,8)	0,496
	KCl ≥ 4 М	7 (70,0)	5 (31,3)	0,063
	(а) Mn $\geq 12,5$ мМ	5 (50,0)	1 (6,3)	0,018
	(б) Cu $\geq 3,13$ мМ	10 (100)	16 (100)	н.о.
	(б) Ni $\geq 3,13$ мМ	10 (100)	14 (87,5)	0,369
	(в) Zn $\geq 0,2$ мМ	10 (100)	16 (100)	н.о.
	(в) Cd $\geq 0,2$ мМ	2 (20,0)	7 (43,8)	0,139

Примечание: (а) – слабо опасные, (б) – умеренно опасные, (в) – сильно опасные согласно ГОСТ 17.4.1.02-83; н.о. – не определяли

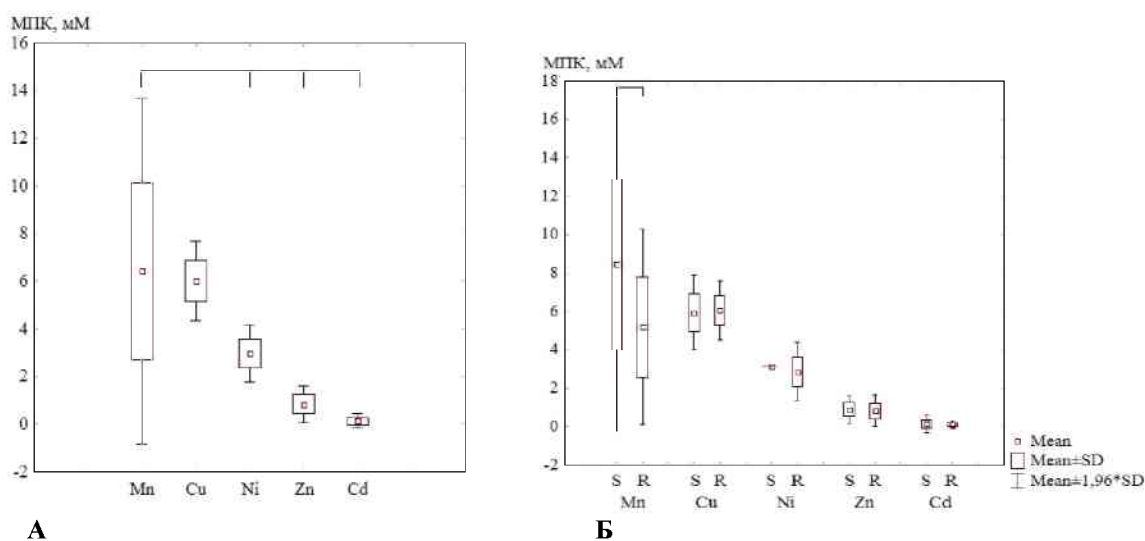


Рис. 2. Диапазон показателя МПК солей тяжелых металлов в отношении:
А – всей выборки, Б – чувствительных (S) и устойчивых (R) к макролидам штаммов *Staphylococcus*
Fig. 1. The range of the indicator of the minimum inhibitory concentration of salts of heavy metals in relation to: A – the entire sample, B – sensitive (S) and resistant (R) *Staphylococcus* strains to macrolides

Обсуждение. Способность бактерий успешно колонизировать и сохранять жизнеспособность в условиях различных экологических ниш, несмотря на ограничивающие их рост факторы, объясняется многочисленными адаптационными процессами, происходящими в клетках. Известно, что в ответ на осмотический стресс в клетках бактерий рода *Staphylococcus* накапливаются осмопротекторы, такие как холин, глицин, бетаин, пролин, и др., повышается количество белка клеточной стенки Ebh (гомолог белка внеклеточного матрикса), который образует мостики между клеточной стенкой и цитоплазматической мембраной, что способствует структурному гомеостазу клетки [26]. Кроме того, изменяется фосфолипидная структура мембраны [27], например, синтезируется кардиолипин, который необходим для выживания при длительном солевом стрессе и для генерации L-форм [28]. Изучение свойств стафилококков, выделенных из высокоминерализованных экосистем, имеет как общебиологическое, так и важное эколого-эпидемиологическое значение.

Обнаружение представителей нормальной или условно патогенной микробиоты человека в санаторных зонах пещер, а также в наземных солелечебницах, как правило, связывают с интенсивностью антропогенной нагрузки на соляное сооружение [6, 21, 22]. Поскольку стафилококки составляют значительную долю микробного репертуара кожи человека, а также слизистых верхних дыхательных путей [1, 10], их выделение с абиотических поверхностей НСС не является случайным. Видовой спектр выделенных стафилококков, в котором преобладали представители КОС (80,7 %), объясняется тем, что эти бактерии, в первую очередь *S. epidermidis*, являются основными кожными

комменсалами, обеспечивающими колонизационную резистентность. Кроме того, галотолерантность делает представителей этого таксона способными колонизировать среды с низким содержанием воды и высокой соленостью, что определяет их конкурентное преимущество перед многими другими «антропофильными» микроорганизмами в данном экотопе.

Выявление макролидоустойчивых стафилококков в НСС представляется вполне закономерным, поскольку большая часть потока сооружений – это пациенты с заболеваниями верхних дыхательных путей, при которых антибиотики группы макролидов имеют высокую клиническую значимость. За исключением представителей некоторых видов большинство стафилококков имеют природную чувствительность к макролидам. Процент макролидоустойчивых стафилококков варьирует в разных странах и в некоторых случаях может коррелировать с резистентностью к метициллину, однако в представленных исследованиях подобной зависимости выявлено не было. Литературные данные о зависимости между резистентностью к макролидам и видовой принадлежностью стафилококков достаточно противоречивы. В одних работах отмечается превалирование КОС среди макролидоустойчивых, в то время как в других – выявлено большее количество среди подобных штаммов КПС, которые зачастую имели устойчивость и к метициллину [29, 30, 31, 32]. Необходимо отметить, что все эти данные получены в клинических исследованиях. В представленной работе количество устойчивых к макролидам штаммов было сопоставимо в группах: из 16 (61,5 %) резистентных культур 3 являлись *S. aureus* (60 % от КПС) и 13 (61,9 % от КОС) – представителями других видов стафилококков.

Образование биопленки считается одним из основных факторов вирулентности микроорганизмов. Известно, что клинические изоляты стафилококков формируют умеренную или массивную биопленку на абиотических поверхностях в большом проценте случаев и для КОС эта способность более выражена [1]. Стафилококки, изолированные из НСС, хотя и имеют, по-видимому, антропогенное происхождение, массивную биопленку не формируют (только 2 культуры показали биомассу более 0,3 ОП₅₇₀, ед.). Кроме того, не обнаружено разницы между биопленкообразованием КПС и КОС. Как правило, сочетание у штаммов устойчивости к антибиотикам и способности формировать массивную биопленку способствует развитию хронических инфекций и существенно ограничивает терапевтические возможности. G. Di Bonaventura и соавторы показали, что биопленкообразование у макролидо-чувствительных штаммов *S. aureus* было выше по сравнению с устойчивыми как в кислородных, так и в микроаэрофильных условиях [33]. Полученные данные совпадают с выводами этого исследования, хотя в группах, разделенных по чувствительности к макролидам, были представители и других видов стафилококков.

Изучение влияния солей на рост стафилококков идет достаточно активно, что вызвано, в том числе, необходимостью оптимизировать протоколы скрининга представителей рода *Staphylococcus*. Американское общество микробиологов рекомендует использовать для этих целей концентрацию NaCl от 6,5 до 7,5 % (1,2 М) [34]. Однако есть сведения, что уже в концентрациях 1 % и 3 % NaCl увеличивал лаг-фазу, снижал скорость роста и показатель максимальной плотности *S. aureus*, при этом степень подавления роста была концентрационнозависима [35]. В то же время другие авторы отмечают, что штаммы *S. aureus* хорошо росли при 10 % и даже 15 % NaCl [36]. По-видимому, фенотипическое разнообразие и большой потенциал адаптации бактерий рода *Staphylococcus* определяют существенные различия в их устойчивости к осмотическому стрессу. Представленные исследования показали, что более 80 % стафилококков были толерантны к концентрации 3 М (17,4 %) NaCl, однако рост всех штаммов, в большей степени КОС, подавлялся на 18–35 % в присутствии уже 1 М (5,8 %) соли (рис. 1, Б). Кроме того, существуют данные о том, что адаптация стафилококков к осмотическому стрессу обеспечивает «перекрестную защиту» от действия консервантов [36] и некоторых антибиотиков [27, 37]. Сравнение макролидоустойчивых и чувствительных стафилококков, выделенных из НСС, в отношении толерантности к соли, показало, что МПК NaCl более 4 М в большем количестве случаев имели устойчивые культуры, чем чувствительные, но разница была статистически незначима.

Тяжелые металлы поступают в окружающую среду в результате естественных или антропогенно-обусловленных процессов и часто обнаруживаются в различных биотопах в количестве, превышающем предельно-допустимые концентрации [38]. Ингибирование роста бактерий ионами металлов связано с различными метаболическими процессами в клетке, в том числе: с нарушением функции белков, производством активных форм кислорода и истощением антиоксидантов, а также с повреждением мембраны и генотоксичностью [39]. Большинство представителей различных бактериальных таксонов способны приобретать повышенную резистентность к действию ионов тяжелых металлов. Механизмы, позволяющие бактериям адаптироваться к присутствию тяжелых металлов, включают их

накопление и поглощение, минерализацию, комплексообразование, системы оттока, восстановление ионов металлов или использование металла в качестве конечного акцептора электронов во время аэробного дыхания [40]. Помимо систем сбора железа и марганца, стафилококки обладают и другими системами транспортировки переходных металлов, такими как Nik, NixA, Adc и Cnt [28]. A. Singh и соавторы показали, что NiSO₄ и ZnSO₄ полностью подавляли рост *S. aureus* ATCC25923 в концентрации уже 10 мМ [40], что согласуется и с результатами данного исследования: показатели МПК для Ni и Zn не превышали 3,13 мМ и 1,56 мМ, соответственно, для большинства штаммов. МПК солей тяжелых металлов по отношению к штаммам из НСС сопоставимы с аналогичными показателями для клинических [41] и изолированных от животных стафилококков [17]. Добавление в ростовую среду NaCl в концентрации 0,5 и 1 М не сопровождалось увеличением толерантности клеток стафилококков к тяжелым металлам [17].

Об одновременном выявлении у бактерий устойчивости к противомикробным препаратам и солям тяжелых металлов сообщалось во многих обзорных и экспериментальных статьях [12, 39]. Некоторые исследования показывают, что загрязнение тяжелыми металлами в естественных условиях может иметь важное значение для поддержания и распространения антимикробной устойчивости [16]. В большом количестве случаев детерминанты, обеспечивающие нечувствительность к антибиотикам и тяжелым металлам, локализованы в одних мобильных генетических элементах [17, 20]. Существуют данные о том, что устойчивость к метициллину у *S. aureus* коррелирует с устойчивостью к Zn [34]. Кроме того, резистентность к Cu у бактерий различных видов может коррелировать с нечувствительностью к макролидам, включая эритромицин [39]. В данном исследовании, напротив, показано, что среди чувствительных к макролидам штаммов чаще, чем у резистентных встречались культуры, толерантные к высоким концентрациям Mn. Однако 43,8 % устойчивых к макролидам стафилококков были толерантны к повышенной концентрации Cd, тогда как среди чувствительных таковых было только 20 % (табл.). Объяснением этой тенденции может служить то, что ген *cadA*, обеспечивающий устойчивость к кадмию, находится на крупных плазидах различных групп, в которых могут присутствовать и многочисленные гены резистентности к антибиотикам [16]. Известно, что оперон *cadCA*, участвует в устойчивости как к Cd, так и к Zn за счет работы белка CadA, являющегося Cd²⁺/ATФазным транспортером. В представленном исследовании выявлена умеренная положительная корреляция между устойчивостью стафилококков к Zn и Cd ($R_s=0,487$), что может свидетельствовать о наличии *cadA*-зависимого молекулярного механизма резистентности у части выделенных штаммов.

Адаптация бактерий к любому стрессу, которая обеспечивает перекрестный эффект с антибиотическим ответом, усложняет управление резистентностью к антибиотикам у патогенов человека, включая стафилококки [1, 42]. Однако, что касается факторов стафилококковой вирулентности, воздействие, например, высоких концентраций соли ингибирует их активность, делая бактерии менее вирулентными. Так, вне макроорганизма экспрессия многих генов, кодирующих факторы патогенности, сильно подавляется в присутствии 1 М хлорида натрия [43], что является одним из способов адаптации патогенных бактерий к изменяющимся условиям.

Заключение. Высокий адаптационный потенциал стафилококков, наряду с фенотипическим разнообразием, способствует сохранению этих бактерий в различных биотопах с экстремальными условиями, в том числе в высокоминерализованных средах. Адаптивный метаболизм стафилококков является эффективной стратегией, ориентированной на выживание и обеспечение конкурентоспособности в ряде экстремальных ситуаций, при этом некоторые эффекты сходны для всех бактерий, другие – являются уникальными для конкретного штамма. С этих позиций изучение различных характеристик стафилококков как санитарно-показательных микроорганизмов позволит оценить влияние экологических факторов на модификацию биологических свойств микроорганизмов.

При изучении солеустойчивости стафилококков показано, что минимальная бактерицидная концентрация хлоридов натрия и калия для большинства культур были более 5 М, при этом ингибирующее действие KCl на рост бактерий было менее выражено. Культуры бактерий *S. aureus* по сравнению с коагулазоотрицательными стафилококками демонстрировали лучший рост и более выраженное биопленкообразование в присутствии солей натрия. Среди исследованных штаммов к солям пяти тяжелых металлов в концентрации 200 мкМ резистентными были более 95 %. Выявленная устойчивость культур к макролидам и оксациллину, вероятно, свидетельствует об их антропогенном происхождении. Резистентность к макролидам сопровождалась толерантностью к хлориду кадмия, тогда как чувствительные к этому антибиотику культуры показывали устойчивость к высоким концентрациям сульфата марганца. Проявление дифференциальной чувствительности стафилококков к

изученным факторам может дать дополнительную информацию, необходимую для оценки экологического потенциала этих бактерий, их распространения и решения проблемы борьбы со стафилококковыми инфекциями.

Раскрытие информации. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Disclosure. The authors declare that they have no competing interests.

Вклад авторов. Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Все авторы в равной степени участвовали в подготовке публикации: разработка концепции статьи, получение и анализ фактических данных, написание и редактирование текста статьи, проверка и утверждение текста статьи.

Authors' contribution. The authors declare the compliance of their authorship according to the international ICMJE criteria. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках НИОКТР АААА-А19-119112290009-1.

Funding source. This work was fulfilled under the State assignment (АААА-А19-119112290009-1).

Список источников

1. Беляева Е. В., Ермолина Г. Б., Борискина Е. В., Кряжев Д. В., Шкуркина И. С. Мониторинг биопленкообразующей способности у циркулирующих в детском стационаре коагулазонегативных стафилококков // Медицинский альманах. 2018. Т. 55, № 4. С. 26–30.
2. Дерябин Д. Г., Фот Н. П. Видовое разнообразие стафилококков в воздушной среде и организме носителей в условиях техногенного химического воздействия // Гигиена и санитария. 2005. № 5. С. 36.
3. Šolić M., Krustulović N. Presence and survival of *Staphylococcus aureus* in the coastal area of Split (Adriatic Sea) // *Marine Pollution Bulletin*. 1994. Vol. 28, no. 11. P. 696–700.
4. Tolba O., Loughrey A., Goldsmith C. E., Millar B. C., Rooney P. J., Moore J. E. Survival of epidemic healthcare (HA-MRSA) and community-associated (CA-MRSA) methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in river -, sea -, and swimming pool water // *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2008. Vol. 211, no. 3–4. P. 398–402.
5. Тарасова Т. Ф., Байтелова А. И., Гурьянова Н. С., Байтелов В. И. Состояние экосистем в условиях загрязнения окружающей среды предприятиями агропромышленного комплекса // Вестник Оренбургского государственного университета. 2015. Т. 185, № 10. С. 441–444.
6. Engel A. S. Microbial diversity of cave ecosystems / In: *Geomicrobiology: Molecular and Environmental Perspective*. Dordrecht, Heidelberg, London, New York : Springer, 2010. P. 219–238.
7. Kelly W. R., Panno S. V., Hackley K. C., Martinsek A. T., Krapac I. G., Weibel C. P., Storment E. C. Bacteria contamination of groundwater in a mixed land-use karst region // *Water Quality, Exposure and Health*. 2009. Vol. 1, no. 2. P. 69–78.
8. Adekanmbi A. O., Falodun O. I. Heavy metals and antibiotics susceptibility profiles of *Staphylococcus aureus* isolated from several points receiving daily input from the Bodija abattoir in Ibadan, Oyo state, Nigeria // *Advances in Applied Microbiology*. 2015. Vol. 13, no. 5. P. 871–880.
9. Fracchia L., Pietronave S., Rinaldi M., Martinotti G. M. Site-related airborne biological hazard and seasonal variations in two wastewater treatment plants // *Water Research*. 2006. Vol. 40, no. 10. P. 1985–1994.
10. Otto M. *Staphylococci in the human microbiome: the role of host and interbacterial interactions* // *Current Opinion in Microbiology*. 2020, no. 53. P. 71–77.
11. Гостев В. В., Сидоренко С. В. Метициллинрезистентные золотистые стафилококки: проблема распространения в мире и России // *Фарматека*. 2015. Т. 299, № 6. С. 30–38.
12. Мулюкин А. Л., Сузина Н. Е., Мельников В. Г., Гальченко В. Ф., Эль-Регистан Г. И. Состояние покоя и фенотипическая вариабельность у *Staphylococcus aureus* и *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* // *Микробиология*. 2014. Т. 83, № 1. С. 15–27.
13. Маянский А. Н., Чеботарь И. В. Стафилококковые биопленки: структура, регуляция, отторжение // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2011. № 1. С. 101–108.
14. Tsai M., Ohniwa R. L., Kato Y., Takeshita S. L., Ohta T., Saito S. *Staphylococcus aureus* requires cardiolipin for survival under conditions of high salinity // *BMC Microbiology*. 2011. Vol. 11, no. 13. P. 1–2.
15. Kahankova J., Pantucek R., Goerke C., Ruzickova V., Holochova P., Doskar J. Multilocus PCR typing strategy for differentiation of *Staphylococcus aureus* siphoviruses reflecting their modular genome structure // *Environmental Microbiology*. 2010. Vol. 12, no. 9. P. 2527–2538.
16. Oger C., Mahillon J., Petit F. Distribution and diversity of a cadmium resistance (*cadA*) determinant and occurrence of IS257 insertion sequences in *Staphylococcal* bacteria isolated from a contaminated estuary (Seine, France) // *FEMS Microbiology Ecology*. 2003. Vol. 43, no. 2. P. 173–183.

17. Xue H., Wu Z., Li L., Li F., Wang Y., Zhao X. Coexistence of heavy metal and antibiotic resistance within a novel composite staphylococcal cassette chromosome in a *Staphylococcus haemolyticus* isolate from bovine mastitis milk // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2015. Vol. 59, no. 9. P. 5788–5792.
18. Abulreesh H. H. Multidrug-resistant staphylococci in the environment // *International Conference on Biotechnology and Environment Management IPCBEE*. 2011, Vol. 18. IACSIT Press, Singapore.
19. Argudín M. A., Lauzat B., Kraushaar B., Alba P., Agersø Y., Cavaco L. M. Medicine heavy metal and disinfectant resistance genes among livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates // *Veterinary Microbiology*. 2016, no. 19. P. 88–95.
20. Chudobova D., Dostalova S., Blazkova I., Michalek P., Ruttkay-Nedecky B., Sklenar M. Effect of ampicillin, streptomycin, penicillin and tetracycline on metal resistant and non-resistant *Staphylococcus aureus* // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2014. Vol. 11, no. 3. P. 3233–3255.
21. Федотова М. Ю., Горовиц Э. С., Баранников В. Г. Особенности микрофлоры воздушной среды соляных микроклиматических палат // *Пермский медицинский журнал*. 2005. Т. 22, № 3. С. 118–121.
22. Frączek K., Gorny R. L. Microbial air quality at Szczawnica sanatorium, Poland // *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2011. Vol. 18, no. 1. P. 63–71.
23. Кузнецова М. В., Маммаева М. Г., Кириченко Л. В., Шишкин М. А., Демаков В. А. Структура микробных сообществ наземных соляных сооружений Пермского края // *Вестник ПГУ. Серия: Биология*. 2020. № 2. С. 120–127.
24. Baker G. C., Smith J. J., Cowan D. A. Review and re-analysis of domain-specific 16S primers // *Journal of Microbiological Methods*. 2003. Vol. 55, no. 3. P. 541–555.
25. O'Toole G. F., Kaplan H. B., Kolter R. Biofilm formation as microbial development // *Annual Review of Microbiology*. 2000. no. 54. P. 49–79.
26. Kuroda M., Tanaka Y., Aoki R., Shu D., Tsumoto K., Ohta T. *Staphylococcus aureus* giant protein Ehb is involved in tolerance to transient hyperosmotic pressure // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2008. Vol. 374, no. 2. P. 237–241.
27. Crompton M. J., Dunstan R. H., Macdonald M. M., Gottfries J., Von Eiff C., Roberts T. K. Small changes in environmental parameters lead to alterations in antibiotic resistance, cell morphology and membrane fatty acid composition in *Staphylococcus lugdunensis* // *PLoS ONE*. 2014. Vol. 9, no. 4. P. 92296.
28. Song L., Zhang Y., Chen W., Gu T., Zhang S., Jia Q. Mechanistic insights into staphylopin-mediated metal acquisition // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2018. Vol. 115, no. 15. P. 3942–3947.
29. Степанов А. С., Васильева Н. В. Оценка распространенности механизмов устойчивости *Staphylococcus spp.* среди изолятов, выделенных из клинического материала // *Проблемы медицинской микологии*. 2016. Т. 18, № 3. С. 45–48.
30. Otsuka T., Zaraket H., Takano T., Saito K., Dohmae S., Higuchi W. Macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance phenotypes and genotypes among *Staphylococcus aureus* clinical isolates in Japan // *Clinical Microbiology and Infection*. 2007. Vol. 13, no. 3. P. 325–327.
31. Petrikkos G., Vallianou N., Evangelopoulos A., Gourni M., Bagatzouni D., Syriopoulou V. Prevalence of macrolide resistance genes among staphylococci in Cyprus // *Journal of Chemotherapy*. 2006. Vol. 18, no. 5. P. 480–484.
32. Uzun B., Güngör S., Pektaş B., Gökmen A. A., Yula E., Koç F. Macrolide-lincosamide-streptogramin B (MLSB) resistance phenotypes in clinical *Staphylococcus* isolates and investigation of telithromycin activity // *Mikrobiyoloji Bülteni*. 2014. Vol. 48, no. 3. P. 469–476.
33. Di Bonaventura G., Monaco M., de Araujo F. P., Baldassarri L., Pantosti A. Adhesion and biofilm formation by *Staphylococcus aureus* clinical isolates under conditions relevant to the host: relationship with macrolide resistance and clonal lineages // *Journal of Medical Microbiology*. 2019. Vol. 68, no. 2. P. 148–160.
34. Isenberg H. D. (ed.). *Clinical microbiology procedures handbook*, 2nd ed. Washington, DC: ASM Press, American Society Press for Microbiology. 2004. 2298 p. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2004.11.003.
35. Omotoyinbo O. V., Omotoyinbo B. I. Effect of varying NaCl concentrations on the growth curve of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* // *Cell Biology*. 2016. Vol. 4, № 5. P. 31–34.
36. Abu-Ghazaleh B. M. Effect of sodium chloride on subsequent survival of *Staphylococcus aureus* in various preservatives // *Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2016. Vol. 11, no. 7. P. 955–963.
37. Choi S., Jung J., Jeon C. O., Park W. Comparative genomic and transcriptomic analyses of NaCl-tolerant *Staphylococcus sp.* OJ82 isolated from fermented seafood // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2014. Vol. 98, no. 2. P. 807–822.
38. Issazadeh K., Jahanpour N., Pourghorbanali F., Raeisi G., Faekhondeh J. Heavy metals resistance by bacterial strains // *Annals of Biological Research*. 2013. Vol. 4, no. 2. P. 60–63.
39. Yazdankhah S., Skjerve E., Wasteson Y. Antimicrobial resistance due to the content of potentially toxic metals in soil and fertilizing products // *Microbial Ecology in Health and Disease*. 2018. Vol. 29, no. 1. P. 1548248.
40. Singh A., Mishra M., Tripathi P., Sachan S. Resistance of heavy metals on some pathogenic bacterial species // *African Journal of Microbiology Research*. 2015. Vol. 9, no. 16. P. 1162–1164.
41. Lina A. S., Al-Saadi D. Heavy metals tolerance and antibiotics susceptibility profiles of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical sources in Baquba city // *Maghrebian Journal of Pure and Applied Science*. 2017. Vol. 13, no. 1. P. 130–144.

42. Onyango L. A., Alreshidi M. M. Adaptive Metabolism in staphylococci: survival and persistence in environmental and clinical settings // *Journal of Pathogens*. 2018. Vol. 2018, no. 378. P. 1–11.
43. Chan P. F., Foster S. J. The role of environmental factors in the regulation of virulence-determinant expression in *Staphylococcus aureus* 8325-4 // *Microbiology*. 1998. Vol. 144, no. 9. P. 2469–2479.

References

1. Belyaeva E. V., Ermolina G. B., Boriskina E. V., Kryazhev D. V., Shkurkina I. S. Monitoring of biofilm formation ability of coagulase-negative staphylococcus circulating in children's inpatient clinic. *Meditsinskiy'al'manakh = Medical Almanac*. 2018; 4 (55): 26–30. (In Russ.).
2. Deryabin D. G., Fot N. P. Species diversity of staphylococci in the air and in the body of carriers under conditions of man-made chemical exposure. *Gigiena i sanitariya = Hygiene and sanitation*. 2005; 5: 36. (In Russ.).
3. Šolić M., Krustulović N. Presence and survival of *Staphylococcus aureus* in the coastal area of Split (Adriatic Sea). *Marine Pollution Bulletin*. 1994; 28 (11): 696–700.
4. Tolba O., Loughrey A., Goldsmith C. E., Millar B. C., Rooney P. J., Moore J. E. Survival of epidemic healthcare (HA-MRSA) and community-associated (CA-MRSA) methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in river -, sea -, and swimming pool water. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2008; 211 (3-4): 398–402. doi: 10.1016/j.ijheh.2007.06.003.
5. Tarasova T. F., Baitelova A. I., Guryanova N. S., Baitelov V. I. Condition of ecosystems in a polluted environment of agricultural enterprises. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo Universiteta = Vestnik of the Orenburg State University*. 2015; 185 (10): 441–444. (In Russ.).
6. Engel A. S. Microbial Diversity of Cave Ecosystems. In: *Geomicrobiology: Molecular and Environmental Perspective*. Dordrecht, Heidelberg, London, New York : Springer; 2010: 219–238.
7. Kelly W. R., Panno S. V., Hackley K. C., Martinsek A. T., Krapac I. G., Weibel C. P., Storment E. C. Bacteria contamination of groundwater in a mixed land-use karst region. *Water Quality, Exposure and Health*. 2009; 1 (2): 69–78.
8. Adekanmbi A. O., Falodun O. I. Heavy metals and antibiotics susceptibility profiles of *Staphylococcus aureus* isolated from several points receiving daily input from the Bodija abattoir in Ibadan, Oyo state, Nigeria. *Advances in Applied Microbiology*. 2015; 13 (5): 871–880. doi: 10.4236/aim.2015.513091.
9. Fracchia L., Pietronave S., Rinaldi M., Martinotti G. M. Site-related airborne biological hazard and seasonal variations in two wastewater treatment plants. *Water Research*. 2006; 40 (10): 1985–1994. doi: 10.1016/j.watres.2006.03.016.
10. Otto M. Staphylococci in the human microbiome: the role of host and interbacterial interactions. *Current Opinion in Microbiology*. 2020; (53): 71–77. doi: 10.1016/j.mib.2020.03.003.
11. Gostev V. V., Sidorenko S. V. Methicillin-resistant staphylococci: the problem of distribution in the world and Russia. *Farmateka = Farmateka Journal*. 2015; 299 (6): 30–38. (In Russ.).
12. Mulyukin A. L., Suzina N. E., Mel'nikov V. G., Gal'chenko V. F., El'-Registan G. I. Dormant state and phenotypic variability of *Staphylococcus aureus* and *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*. *Mikrobiologiya = Microbiology*. 2014; 83 (1): 15–27. (In Russ.).
13. Mayanskii A. N., Chebotar I. V. Staphylococcal biofilms: structure, regulation, rejection. *Zhurnal'mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2011;(1): 101–108. (In Russ.).
14. Tsai M., Ohniwa R. L., Kato Y., Takeshita S. L., Ohta T., Saito S. et al. *Staphylococcus aureus* requires cardiolipin for survival under conditions of high salinity. *BMC Microbiology*. 2011; 11 (13): 1–2. doi: 10.1186/1471-2180-11-13.
15. Kahankova J., Pantucek R., Goerke C., Ruzickova V., Holochova P., Doskar J. Multilocus PCR typing strategy for differentiation of *Staphylococcus aureus* siphoviruses reflecting their modular genome structure. *Environmental Microbiology*. 2010; 12 (9): 2527–2538. doi: 10.1111/j.1462-2920.2010.02226.x.
16. Oger C., Mahillon J., Petit F. Distribution and diversity of a cadmium resistance (*cadA*) determinant and occurrence of IS257 insertion sequences in staphylococcal bacteria isolated from a contaminated estuary (Seine, France). *FEMS Microbiology Ecology*. 2003; 43 (2): 173–183. doi: 10.1111/j.1574-6941.2003.tb01056.x
17. Xue H, Wu Z, Li L, Li F, Wang Y, Zhao X. Coexistence of heavy metal and antibiotic resistance within a novel composite staphylococcal cassette chromosome in a *Staphylococcus haemolyticus* isolate from bovine mastitis milk. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2015; 59 (9): 5788–5792. doi: 10.1128/AAC.04831-14.
18. Abulreesh H. H. Multidrug-resistant staphylococci in the environment. *International Conference on Biotechnology and Environment Management IPCBEE*. 2011, no. 18, IACSIT Press, Singapore. doi: 10.1007/s12403-009-0006-7.
19. Argudín M. A., Lauzat B., Kraushaar B, Alba P., Agersø Y., Cavaco L. M. et al. Medicine Heavy metal and disinfectant resistance genes among livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates. *Veterinary Microbiology*. 2016; (19): 88–95. doi: 10.1016/j.vetmic.2016.06.004.
20. Chudobova D., Dostalova S., Blazkova I., Michalek P., Ruttkay-Nedecky B., Sklenar M. et al. Effect of ampicillin, streptomycin, penicillin and tetracycline on metal resistant and non-resistant *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2014; 11 (3): 3233–3255. doi: 10.3390/ijerph110303233.

21. Fedotova M. J., Gorovic E. S., Barannikov V. G. Features of the microflora of the air environment of salt microclimatic chambers. *Permskiy meditsinskiy zhurnal = Perm Medical Journal*. 2005; 3 (22): 118–121. (In Russ.).
22. Frączek K., Gorny R. L. Microbial air quality at Szczawnica sanatorium, Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2011; 18 (1): 63–71. doi: 10.17072/1994-9952-2020-2-120-127.
23. Kuznetsova M. V., Mamaeva M. G., Kirichenko L. V., Shishkin M. A., Demakov V. A. Structure of microbial communities of the artificial salt constructions of the Perm region. *Vestnik Permskogo Universiteta = Bulletin of Perm State University*. 2020; 2: 120–127. (In Russ.).
24. Baker G. C., Smith J. J., Cowan D. A. Review and re-analysis of domain-specific 16S primers. *Journal of Microbiological Methods*. 2003; 55 (3): 541–555. doi: 10.1016/j.mimet.2003.08.009.
25. O'Toole G. F., Kaplan H. B., Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Annual Review of Microbiology*. 2000; (54): 49–79. doi: 10.1146/annurev.micro.54.1.49.
26. Kuroda M., Tanaka Y., Aoki R., Shu D., Tsumoto K., Ohta T. Staphylococcus aureus giant protein Ehb is involved in tolerance to transient hyperosmotic pressure. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2008; 374 (2): 237–241.
27. Crompton M. J., Dunstan R. H., Macdonald M. M., Gottfries J., Von Eiff C., Roberts T. K. Small changes in environmental parameters lead to alterations in antibiotic resistance, cell morphology and membrane fatty acid composition in *Staphylococcus lugdunensis*. *PLoS ONE*, 2014; 9 (4): e92296 p. doi: 10.1371/journal.pone.0092296.
28. Song L., Zhang Y., Chen W., Gu T., Zhang S., Jia Q. Mechanistic insights into staphylopin-mediated metal acquisition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2018; 115 (15): 3942–3947. doi: 10.1073/pnas.1718382115.
29. Stepanov A. S., Vasileva N. V. Widespread of *Staphylococcus* spp. resistance mechanisms in isolates from clinical specimens. *Problemy meditsinskoy mikologii = Problems in medical mycology*. 2016; 18 (3): 45–48. (In Russ.).
30. Otsuka T., Zaraket H., Takano T., Saito K., Dohmae S., Higuchi W. et al. Macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance phenotypes and genotypes among *Staphylococcus aureus* clinical isolates in Japan. *Clinical Microbiology and Infection*. 2007; 13 (3): 325–327. doi: 10.1111/j.1469-0691.2006.01632.x.
31. Petrikos G., Vallianou N., Evangelopoulos A., Gourni M., Bagatzouni D., Syriopoulou V. et al. Prevalence of macrolide resistance genes among staphylococci in Cyprus. *Journal of Chemotherapy*. 2006; 18 (5): 480–484. doi: 10.1179/joc.2006.18.5.48.
32. Uzun B., Güngör S., Pektaş B., Gökmen A. A., Yula E., Koçal F. et al. Macrolide-lincosamide-streptogramin B (MLS_B) resistance phenotypes in clinical *Staphylococcus aureus* isolates and investigation of telithromycin activity. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 2014; 48 (3): 469–476. doi: 10.5578/mb.7748.
33. Di Bonaventura G., Pompilio A., Monaco M., Pimentel de Araujo F., Baldassarri L., Pantosti A. et al. Adhesion and biofilm formation by *Staphylococcus aureus* clinical isolates under conditions relevant to the host: relationship with macrolide resistance and clonal lineages. *Journal of Medical Microbiology*. 2019; 68 (2): 148–160.
34. Isenberg H. D. (ed.). 2004. *Clinical microbiology procedures handbook*, 2nd ed., Washington, DC: ASM Press, American Society Press for Microbiology; 2004. 2298 p. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2004.11.003.
35. Omotoyinbo O. V., Omotoyinbo B. I. Effect of varying NaCl concentrations on the growth curve of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Cell Biology*. 2016; 4 (5): 31–34. doi: 10.11648/j.cb.20160405.11
36. Abu-Ghazaleh B. M. Effect of sodium chloride on subsequent survival of *Staphylococcus aureus* in various preservatives. *Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2016; 7(11): 955–963. doi: 10.4236/fns.2016.711094.
37. Choi S., Jung J., Jeon C. O., Park W. Comparative genomic and transcriptomic analyses of NaCl-tolerant *Staphylococcus* sp. OJ82 isolated from fermented seafood. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2014; 98 (2): 807–822. doi: 10.1007/s00253-013-5436-2.
38. Issazadeh K., Jahanpour N., Pourghorbanali F., Raeisi G., Faekhondeh J. Heavy metals resistance by bacterial strains. *Annals of Biological Research*. 2013; 4 (2): 60–63.
39. Yazdankhah S., Skjerve E., Wasteson Y. Antimicrobial resistance due to the content of potentially toxic metals in soil and fertilizing products. *Microbial Ecology in Health and Disease*. 2018; 29 (1): 1548248. doi: 10.1080/16512235.2018.1548248.
40. Singh A., Mishra M., Tripathi P., Sachan S. Resistance of heavy metals on some pathogenic bacterial species. *African Journal of Microbiology Research*. 2015; 16 (9): 1162–1164. doi: 10.5897/AJMR2014.7344.
41. Lina A. S., Al-Saadi. Heavy metals tolerance and antibiotics susceptibility profiles of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical sources in Baquba city. *Maghrebian Journal of Pure and Applied Science*. 2017; 13 (1): 130–144. doi: 10.24237/djps.1301.136A.
42. Onyango L. A., Alreshidi M. M. Adaptive metabolism in staphylococci: survival and persistence in environmental and clinical settings. *Journal of Pathogens*. 2018; 2018 (378): 1–11. doi: 10.1155/2018/1092632.
43. Chan P. F., Foster S. J. The role of environmental factors in the regulation of virulence-determinant expression in *Staphylococcus aureus* 8325-4. *Microbiology*. 1998; 144 (9): 2469–2479. doi: 10.1099/00221287-144-9-2469.

Информация об авторах

М.В. Кузнецова, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биотехнологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук; профессор кафедры микробиологии и вирусологии, Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера, Пермь, Россия, e-mail: mar@iegm.ru.

М.Г. Маммаева, аспирант кафедры гигиены медико-профилактического факультета, Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера, Пермь, Россия, e-mail: mammaeva.mg@yandex.ru.

Л.Ю. Нестерова, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории адаптации микроорганизмов, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук, Пермь, Россия, e-mail: larisa.nesterova@bk.ru.

Л.В. Кириченко, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой гигиены медико-профилактического факультета, Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера, Пермь, Россия, e-mail: lkv-7@yandex.ru.

В.А. Демаков, доктор медицинских наук, профессор, чл.-корр. РАН, директор, заведующий лабораторией молекулярной микробиологии и биотехнологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук, профессор кафедры микробиологии и иммунологии, Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия, e-mail: demakov@iegm.ru.

Information about the authors

M.V. Kuznetsova, Dr. Sci. (Med.), Leading researcher, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms Ural Branch Russian Academy of Sciences, Perm, Russia; Professor of the Department, Perm State Medical University Named after Academician E.A. Wagner, Perm, Russia, e-mail: mar@iegm.ru.

M.G. Mammaeva, Post-graduate student of the Department, Perm State Medical University Named after Academician E.A. Wagner, Perm, Russia, e-mail: mammaeva.mg@yandex.ru

L.Yu. Nesterova, Cand. Sci. (Bio.), Senior scientist, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms Ural Branch Russian Academy of Sciences, Perm, Russia, larisa.nesterova@bk.ru.

L.V. Kirichenko, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department, Perm State Medical University Named after Academician E.A. Wagner, Perm, Russia, e-mail: lkv-7@yandex.ru.

V.A. Demakov, Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director, Head of the Laboratory, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms Ural Branch Russian Academy of Sciences, Perm, Russia; Professor of the Department, Perm State University, Perm, Russia, e-mail: demakov@iegm.ru.*

*Статья поступила в редакцию 20.12.2021; одобрена после рецензирования 15.03.2022; принята к публикации 03.06.2022.

The article was submitted 20.12.2021; approved after reviewing 15.03.2022; accepted for publication 03.06.2022.