

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ОЦЕНКИ ВОЗДЕЙСТВИЯ АНТИМИКРОБНЫХ СРЕДСТВ НА БИОПЛЕНКИ

Изучение биопленок вызывает огромный интерес исследователей, прежде всего из-за способности патогенных бактерий преодолевать в составе биопленок антимикробное действие лечебных препаратов из-за повышенной устойчивости клеток к токсикантам. Большинство методов определения антимикробных свойств новых биоцидных препаратов основано на регистрации снижения численности жизнеспособных микроорганизмов, однако учесть количество клеток в составе биопленок напрямую не представляется возможным или связано с существенными погрешностями.

На первом этапе в качестве основы разрабатываемого подхода использовался известный оптико-редуктазный метод, основанный на способности бактерий восстанавливать метиленовый синий в неокрашенное соединение. Однако применение этого метода ограничено обратимостью восстановления метиленового синего в присутствии кислорода. Это обстоятельство делает данный подход неприемлемым для регистрации редуктазной активности бактерий. На следующем этапе вместо метиленового синего в экспериментах по определению взаимосвязи между числом жизнеспособных клеток и их редуктазной активностью использовали метод анализа с солью тетразолия, основанный на восстановлении редокс индикатора ТТС (2,3,5-трифенил-2Н-тетразолия хлорид) до окрашенного формазана.

В эксперименте по выявлению зависимости количества образованного формазана от метаболической активности в культуральных жидкостях с разной концентрацией жизнеспособных клеток *B.subtilis* 168 установлено, что оптическая плотность спиртового раствора формазана после инкубирования с микробной суспензией пропорциональна количеству метаболически активных микробных клеток. На следующем этапе для установления взаимосвязи между концентрацией антимикробного вещества (BDP) и оптической плотностью окрашенного формазаном раствора к разбавленной культуре клеток *B. subtilis* 168 приливали растворы ТТС и BDP в разных концентрациях. По результатам эксперимента можно сделать вывод, что чем ниже концентрация антимикробного агента, тем больше образуется формазана и, соответственно, тем больше жизнеспособных клеток в культуральной жидкости. Это подтверждает, что существует связь между концентрацией формазана и количеством жизнеспособных клеток. Следовательно, данный метод может быть применим для оценки воздействия антимикробных веществ на биопленки.