

УДК 579.6

Студ. А.М. Козлова, магистрант О.В. Мелешко
Науч. рук. доц. Н.А. Белясова
(кафедра биотехнологии и биоэкологии, БГТУ)

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ АНТИМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА БАКТЕРИИ В СОСТАВЕ БИОПЛЁНОК

На сегодняшний день известно, что большинство бактерий существуют в природе в виде биопленок – особой формы колониальной организации микроорганизмов. Такая форма существования по сравнению с планктонной обуславливает повышенную устойчивость к воздействию неблагоприятных факторов различной природы. Одной из причин устойчивости микроорганизмов в составе биопленок к действию антимикробных средств являются полимерные вещества, входящие в состав матрикса, которые препятствуют проникновению агентов вглубь биопленки [1].

Формирование биопленок микроорганизмами на поверхности производственного и медицинского оборудования приводит к значительным экономическим потерям и нарушению технологических процессов. Поэтому важным направлением является разработка препаратов, обладающих антимикробной активностью по отношению к микроорганизмам в составе биопленок [2].

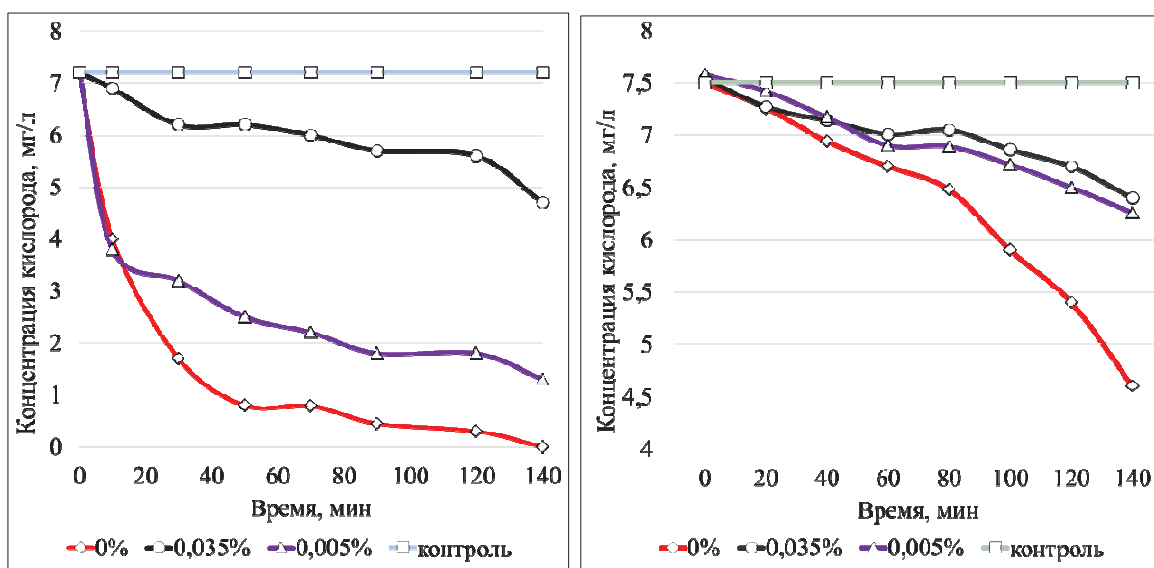
Целью данного исследования является разработка метода оценки эффективности воздействия новых антимикробных препаратов на живые клетки в составе биопленок.

Для снижения погрешности оценки эффективности бактерицидных агентов по отношению к микроорганизмам в составе биопленки выбран подход, связанный с регистрацией дыхательной активности клеток, которая должна коррелировать с их выживаемостью. Данный подход позволяет не разрушать структуру биопленок.

Метод заключается в инкубировании иммобилизованных на носителе бактерий в присутствии биоцидного препарата и определения динамики снижения концентрации молекулярного кислорода в культуральной жидкости.

Общая схема проведения эксперимента включает стадии: (1) получение суточной культуры бактерий; (2) иммобилизация клеток на гранулах полипропилена для получения биопленок; (3) обработка клеток биоцидом; (3) регистрация дыхательной активности клеток в динамике.

На первом этапе исследования проверяли работоспособность метода на планктонной культуре коллекционных бактерий *Pseudomonas fluorescens*. Получены зависимости (рисунок 1), отражающие изменение содержания молекулярного кислорода в культуральных жидкостях планктонных и иммобилизованных на гранулах полипропилена клеток, обработанных полигексаметиленгуанидином в разной концентрации. Контролем служила питательная среда без клеток.



а

б

Рисунок 1 – Изменение содержания молекулярного кислорода в культуральных жидкостях (а) планктонных, (б) иммобилизованных на носителе клеток *P. fluorescens*

Можно видеть, что с увеличением содержания биоцида уменьшается скорость потребления кислорода клетками, причем различия в дыхательной активности планктонных бактерий гораздо более выражены, чем у иммобилизованных клеток. Причиной тому может служить небольшое содержание клеток в матриксе биопленки, поскольку коллекционные бактерии *P. fluorescens* формируют не очень развитые обрастания на носителях. Чтобы увеличить различия в скорости потребления кислорода иммобилизованными клетками в зависимости от содержания биоцида и получить возможность дифференцировать препараты по уровню антибактериальной активности, на следующем этапе воспроизвели эксперимент с использованием бактерий штамма S1 - активных пленкообразователей, выделенных из активного ила и охарактеризованных в параллельном исследовании.

На рисунке 2 представлены результаты оценки уровня потребления кислорода клетками штамма S1 в составе биопленок при воздействии полигексаметиленгуанидина в разной концентрации.

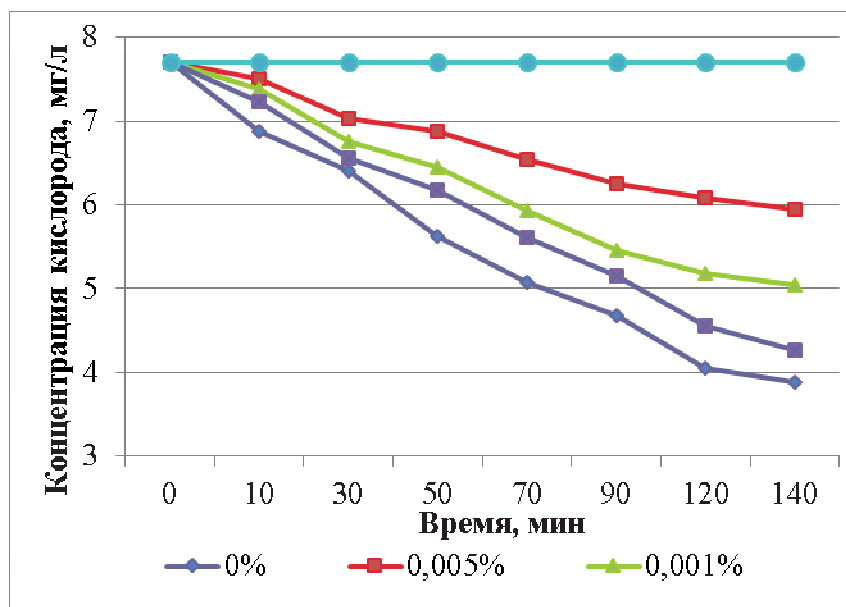


Рисунок 2 – Потребление кислорода бактериями штамма S1, иммобилизованными на гранулах полипропилена, при разной концентрации биоцида

Можно видеть, что соблюдаются отмеченные выше закономерности уменьшения дыхательной активности клеток при увеличении концентрации биоцидного препарата. Подобранные условия эксперимента и использование в качестве активных пленкообразователей бактерий штамма S1 обеспечивает выявление различий в степени воздействия биоцидов на клетки в составе биопленок.

Таким образом, разработанный метод пригоден для оценки эффективности антимикробных препаратов. На следующем этапе исследования будет произведена калибровка значений остаточного содержания молекулярного кислорода в культуральных жидкостях бактерий для определения соответствия данных показателей числу сохранивших жизнеспособность после воздействия биоцида клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Flemming, H.C., Wingender, J. The biofilm matrix / H.C. Flemming // *Nature Reviews Microbiology*. – 2010. – №8. – P. 623–633.
2. Афиногенова, А.Г. Микробные биопленки ран: состояние вопроса / А.Г. Афиногенова, Е.Н. Даровская // *Травматология и ортопедия России*. – 2011. – №3. – С. 119–125.