



Научная сессия БГМУ,  
26 января 2023 г., г. Минск  
Секция 13. «Медико-биологические науки №3  
(биология, химия)»

Республиканское унитарное предприятие  
«Научно-практический центр гигиены»  
г. Минск, Республика Беларусь

# **ПРОБЛЕМА БАКТЕРИАЛЬНЫХ БИОПЛЕНОК НА ОБЪЕКТАХ СРЕДЫ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ОКРУЖЕНИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ**

*ЕМЕЛЬЯНОВА О.А., ДУДЧИК Н.В., АДАМОВИЧ А.В., БИРУК Ю.Ю*

МИНСК, 2023

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОВЕДЕНО В РАМКАХ ВЫПОЛНЕНИЯ ЗАДАНИЯ 02.10 ПОДПРОГРАММЫ «БЕЗОПАСНОСТЬ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ ЧЕЛОВЕКА» ГНТП «НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ КАЧЕСТВА И ДОСТУПНОСТИ МЕДИЦИНСКИХ УСЛУГ».

СПОСОБНОСТЬ К ОБРАЗОВАНИЮ БИОПЛЕНОК, КАК СТРАТЕГИЯ ВЫЖИВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ В ЕСТЕСТВЕННОЙ ПРИРОДЕ, ПРИВОДИТ К БОЛЬШИМ ПРОБЛЕМАМ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ, ОСОБЕННО НА ПРЕДПРИЯТИЯХ ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ, ВОДОПОДГОТОВКИ, А ТАКЖЕ В УСЛОВИЯХ СТАЦИОНАРА. БИОПЛЕНКИ ВЫСТУПАЮТ В КАЧЕСТВЕ РЕЗЕРВУАРА МИКРООРГАНИЗМОВ, УСТОЙЧИВЫХ К ВОЗДЕЙСТВИЮ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ, А ТАКЖЕ ГЕНОВ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ. БАКТЕРИИ И ГРИБЫ, ВХОДЯЩИЕ В СОСТАВ БИОПЛЕНОК, МОГУТ ХАРАКТЕРИЗОВАТЬСЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ К АНТИБИОТИКАМ В 500–1000 РАЗ ПРЕВЫШАЮЩЕЙ МИНИМАЛЬНУЮ ИНГИБИРУЮЩУЮ КОНЦЕНТРАЦИЮ, ЧТО МОЖЕТ СНИЖАТЬ ЭФФЕКТИВНОСТЬ СТАНДАРТНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ ПО ДЕЗИНФЕКЦИИ, КАК В МЕДИЦИНСКИХ УЧРЕЖДЕНИЯХ, ТАК И НА ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВАХ.

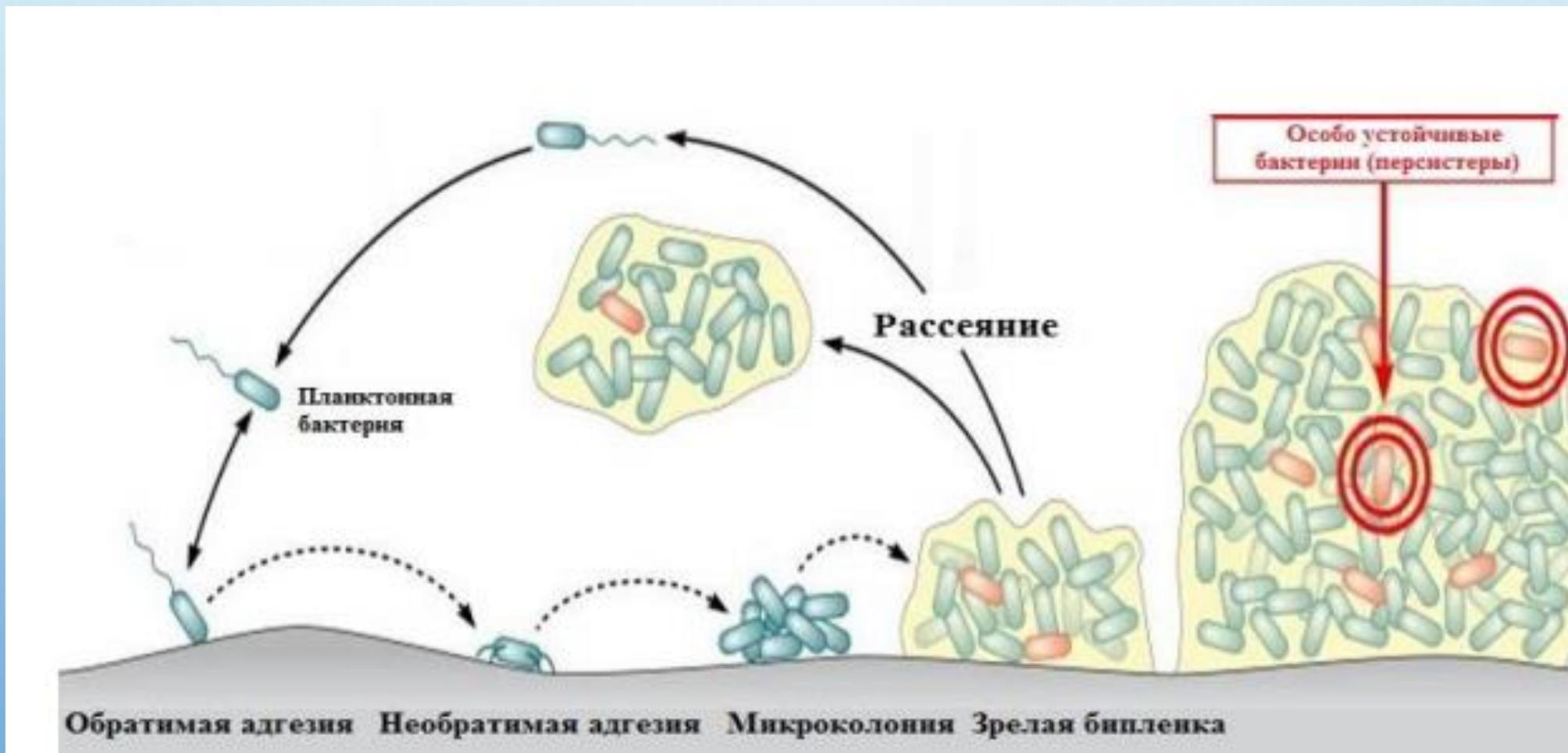
**БИОПЛЕНКА** (АНГЛ. BIOFILM) – ЭТО СТРУКТУРНО ОРГАНИЗОВАННОЕ СООБЩЕСТВО МИКРООРГАНИЗМОВ, ЗАКЛЮЧЕННОЕ ВНУТРИ ПОЛИМЕРНОГО МАТРИКСА, СИНТЕЗИРОВАННОГО ЧЛЕНАМИ СООБЩЕСТВА, И ПРИКРЕПЛЕННОЕ К ЖИВЫМ ИЛИ ИНЕРТНЫМ ПОВЕРХНОСТЯМ.

ХАРАКТЕРНЫМИ ЧЕРТАМИ БИОПЛЕНОК ЯВЛЯЮТСЯ СТРУКТУРНАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ, ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ (БИОПЛЕНКУ МОГУТ ОБРАЗОВАТЬ БАКТЕРИИ, ПРОСТЕЙШИЕ, ГРИБЫ И ВОДОРОСЛИ), СЛОЖНЫЕ РЕГУЛЯТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ, КОНТРОЛИРУЮЩИЕ «ОБЩЕСТВЕННЫЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ» ВНУТРИ СООБЩЕСТВА, И НАЛИЧИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО ЭКЗОПОЛИМЕРНОГО МАТРИКСА (EPS).

НА ДОЛЮ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА ПРИХОДИТСЯ ДО 90 % БИОМАССЫ БИОПЛЕНКИ. ОН СОСТОИТ ИЗ МЕЖКЛЕТОЧНЫХ ПОЛИМЕРНЫХ ВЕЩЕСТВ, УГЛЕВОД-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ, ФИМБРИЙ, ЖГУТИКОВ, АДГЕЗИВНЫХ ВОЛОКОН, МЕЖКЛЕТОЧНОЙ ДНК (РНК И ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК, ЕДНК), КОТОРЫЕ ИСПОЛЬЗУЮТСЯ ДЛЯ ПОДДЕРЖАНИЯ ТРЕХМЕРНОЙ СТРУКТУРЫ БИОПЛЕНКИ И ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЖДУ КЛЕТКАМИ. СТРУКТУРНЫЕ КОМПОНЕНТЫ МАТРИКСА УДЕРЖИВАЮТ БАКТЕРИИ В НЕПОСРЕДСТВЕННОЙ БЛИЗОСТИ, ОБЕСПЕЧИВАЯ СВОБОДНЫЙ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН ОТ КЛЕТКИ К КЛЕТКЕ, ПРИ ЭТОМ ЗАЩИЩАЯ РЕЗИДЕНТНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ ОТ ВОЗДЕЙСТВИЯ ФАКТОРОВ СРЕДЫ ФИЗИЧЕСКОЙ И ХИМИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ.

БЛАГОДАря ЭТИМ СТРУКТУРНЫМ ОСОБЕННОСТЯМ ОРГАНИЗАЦИИ БИОПЛЕНОК, БАКТЕРИИ, ВХОДЯЩИЕ В ИХ СОСТАВ, ЗНАЧИТЕЛЬНО БОЛЕЕ УСТОЙЧИВЫ К АНТИБИОТИКАМ И МНОГИМ НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ ФАКТОРАМ, ЧЕМ ПЛАНКТОННЫЕ КЛЕТКИ.

# СТАДИИ ФОРМИРОВАНИЯ БИОПЛЕНКИ



# МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

СПОСОБНОСТЬ К ПЛЕНКООБРАЗОВАНИЮ ИЗУЧАЛИ ОПТИЧЕСКИМ МЕТОДОМ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА МИКРОТИТРОВАЛЬНЫХ 96-ЛУНОЧНЫХ ПЛАНШЕТАХ.

ОРГАНИЗМЫ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ ЧАШЕК СО СВЕЖИМ АГАРОМ, ИНОКУЛИРОВАЛИ В ТРИПТИКАЗО-СОЕОВОГО БУЛЬОН С 1% ГЛЮКОЗОЙ И ИНКУБИРОВАЛИ ПРИ 37 °С В ТЕЧЕНИЕ 24 ЧАСОВ. ДАЛЕЕ КУЛЬТУРЫ РАЗБАВЛЯЛИ СВЕЖЕЙ СРЕДОЙ (1:100), ПОСЛЕ ЧЕГО ЗАПОЛНЯЛИ ИМИ ЛУНКИ СТЕРИЛЬНЫХ ПЛАНШЕТОВ С ПЛОСКИМ ДНОМ. ДОПОЛНИТЕЛЬНО ГОТОВИЛИ ЛУНКИ ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО И ОТРИЦАТЕЛЬНОГО КОНТРОЛЕЙ.

ПЛАНШЕТЫ ИНКУБИРОВАЛИ В ТЕЧЕНИЕ 24 ЧАСОВ ПРИ 37 °С. ПО ОКОНЧАНИИ ИНКУБАЦИИ СОДЕРЖИМОЕ ЛУНОК УДАЛЯЛИ, А ЛУНКИ ПРОМЫВАЛИ ФОСФАТНО-СОЛЕВЫМ БУФЕРОМ (РН 7,2) ЧЕТЫРЕ РАЗА, ДЛЯ УДАЛЕНИЯ СВОБОДНО ПЛАВАЮЩИХ БАКТЕРИЙ. БИОПЛЕНКУ, ОБРАЗОВАННУЮ ПРИЛИПШИМИ К ЛУНКАМ БАКТЕРИЯМИ, ФИКСИРОВАЛИ 2% РАСТВОРОМ АЦЕТАТА НАТРИЯ И ОКРАШИВАЛИ КРИСТАЛЛИЧЕСКИМ ФИОЛЕТОВЫМ (0,1%). ИЗБЫТОК КРАСИТЕЛЯ УДАЛЯЛИ С ПОМОЩЬЮ ДЕИОНИЗИРОВАННОЙ ВОДЫ И ПЛАНШЕТЫ ОСТАВЛЯЛИ ДЛЯ СУШКИ.

ОПТИЧЕСКУЮ ПЛОТНОСТЬ (OD) ОКРАШЕННОЙ АДГЕЗИВНОЙ БИОПЛЕНКИ ОПРЕДЕЛЯЛИ ПРИ ДЛИНЕ ВОЛНЫ 540 НМ С ИНТЕРПРЕТАЦИЕЙ РЕЗУЛЬТАТОВ ПО КРИТЕРИЮ СТРАНОВИЧ (ТАБЛИЦА 1).

ТАБЛИЦА 1 – ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Среднее значение OD *	Способность к пленкообразованию
$\leq OD_c / OD_c < \sim \leq 2 \times OD_c$	нет/слабая
$2 \times OD_c < \sim \leq 4 \times OD_c$	умеренная
$> 4 \times OD_c$	сильная
* - Пороговое значение оптической плотности (OD <sub>c</sub> ) = среднее значение OD отрицательного контроля + 3-кратное стандартное отклонение (SD) отрицательного контроля.	

# РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПОКАЗАЛИ, ЧТО ВЫРАЖЕННОСТЬ СПОСОБНОСТИ К ОБРАЗОВАНИЮ БИОПЛЕНОК ИЗОЛЯТОВ РАЗЛИЧНА. МАКСИМАЛЬНОЙ СПОСОБНОСТЬЮ К ОБРАЗОВАНИЮ БИОПЛЕНОК ОБЛАДАЛИ БАКТЕРИИ ВИДОВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* И *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*. МИНИМАЛЬНОЙ ПЛЕНКООБРАЗУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТЬЮ ОБЛАДАЛИ ШТАММЫ *ENTEROBACTER FAECALIS*, КОАГУЛАЗООТРИЦАТЕЛЬНЫЕ СТАФИЛОКОККИ (ТАБЛИЦА 2).

ТАБЛИЦА 2 – РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ СПОСОБНОСТИ К ОБРАЗОВАНИЮ БИОПЛЕНОК ШТАММОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ОКРУЖЕНИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ

Штамм	Оптическая плотность (OD)	Интерпретация результатов
Отрицательный контроль	0,256 ± 0,044	-
<i>E. coli</i>	0,968 ± 0,167	умеренная
<i>E. aerogenes</i>	0,712 ± 0,104	умеренная
<i>E. faecalis</i>	0,367 ± 0,096	слабая
<i>S. aureus</i>	1,32 ± 0,068	сильная
<i>P. aeruginosa</i>	1,912 ± 0,087	сильная
<i>S. haemoliticus</i>	0,348 ± 0,12	слабая
<i>S. epidermidis</i>	0,498 ± 0,32	слабая