

Бакаева Т. Н., Титов Л. П.

ФОРМИРОВАНИЕ БИОПЛЕНОК БАКТЕРИЯМИ *LISTERIA MONOCYTOGENES*

*Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии,
г. Минск, Республика Беларусь*

В настоящее время признано, что большинство микроорганизмов в естественных и искусственно созданных окружающих средах существует в виде структурированных, прикрепленных к поверхности объекта сообществ – биопленок, образование которых представляет сложный, строго регулируемый биологический процесс. Биопленки могут формироваться как бактериями одного вида, так и сообществами нескольких видов бактерий, а также могут включать и другие микроорганизмы и состоять как из активно функционирующих клеток, так и покоящихся, некультивируемых форм. Считается, что единственным условием (помимо присутствия микроорганизмов) для образования биопленки является наличие относительно твердой увлажненной поверхности неорганического или органического происхождения [1].

Образование биопленок – один из факторов патогенности микроорганизмов. Этот способ существования бактерий создает большие проблемы в медицинской практике. Бактериальные биопленки обнаруживают более чем в 80% хронических инфекционных и воспалительных заболеваний [2]. Кроме тканей организма хозяина, микробные биопленки колонизируют различные инвазивные устройства, вводимые в организм человека (катетеры, водители ритма сердца, механические протезные сердечные клапаны, ортопедические и др. устройства). По некоторым данным, свыше 60% всех внутрибольничных инфекций происходит в результате деятельности микроорганизмов, находящихся в биопленках.

Для практической медицины особенно важно, что бактерии в биоплёнках характеризуются повышенной выживаемостью в условиях воздействия агрессивных веществ (антибиотики, дезинфектанты) и факторов иммунной системы.

В последнее время все более актуальной становится проблема пищевого листериоза, о чем свидетельствует увеличение вспышек и спорадических случаев, вызванных *Listeria monocytogenes*, в результате употребления пищевых продуктов, первостепенное значение из которых играют молочные, мясные и рыбные изделия.

Целью настоящего исследования было изучить способность формировать биопленки *Listeria monocytogenes*, выделенных как из клинического материала, так и из продуктов питания.

В исследование включено 22 штамма *Listeria monocytogenes*, выделенных из продуктов питания 45% (мясо и мясные полуфабрикаты, сыр, рыба соленая) и клинического материала 55% (плацента, кровь, ликвор, трахеальный аспират). Штаммы относились к серотипам (IIa-40% и IV b-60%). Способность к образованию биопленки определяли методом адгезии к полистиролу в плоскодонных пластиковых планшетах по методу G. O. Toole и R. Kolter [3]. Из суточных культур исследуемых штаммов готовили суспензии в триптиказо-соевом бульоне с оптической плотностью 0,5 МакФарланда. Вносили в лунки планшета и инкубировали при температуре 37°C в течение 24 час. Планктонные формы клеток удаляли путем аспирации, после чего лунки планшета аккуратно промывали стерильным физиологическим раствором, высушивали и добавляли 1% водный раствор красителя кристаллического фиолетового. Через 20 мин экспозиции при комнатной температуре раствор красителя удаляли. Лунки осторожно трехкратно промывали стерильной дистиллированной водой, вносили 200 мкл 95% этанола и инкубировали 30 мин. Для каждого штамма эксперимент был поставлен в трех повторностях. По уровню экстракции красителя этанолом, измеренному в единицах оптической плотности (OD) на фотометре ELx800 (BioTek, США) (длина волны 450нм) оценивали активность формирования биопленки. Для интерпретации полученных данных определяли способность штаммами формировать биопленки в соответствии с критериями, разработанными Stepanovic S. et al. [4]. Уровень оптической плотности сравнивали с отрицательным контролем (бульонная среда без культуры бактерий). Значения OD < 0,1 – считали, что штаммы не обладали способностью к образованию биопленки; 0,1-0,2 – низкая; OD 0,2-0,4 – средняя; OD > 0,4 – высокий показатель. Статистическую обработку проводили по результатам трех опытов. Среднее значение и величину стандартной ошибки подсчитывали в программе Excel.

В ходе проведенного исследования установлено, что все изученные штаммы *Listeria monocytogenes* обладали способностью к образованию биопленок на пластиковой поверхности. 12 изолятов (55%) характеризовались низкой способностью к пленкообразованию, 10 изолятов (45%) характеризовались средней пленкообразующей активностью. Более низкую способность к пленкообразованию проявляли бактерии, выделенные из мяса и мясных полуфабрикатов. Среди клинических изолятов самый высокий показатель пленкообразования был у штамма, выделенного из ликвора от пациента с диагнозом менингит и отно-

сился к серотипу Па. Какой-либо зависимости между серотипом и степенью образованию биопленки не было установлено. По данным других исследователей, опубликованных в литературе, также не было точной корреляции между серотипом и степенью биопленкообразования.

Выводы. Все изученные нами изоляты *Listeria monocytogenes* обладали способностью образовывать биопленки. Какой-либо взаимосвязи между источником выделения листерий и степени выраженности биопленкообразования не установлено. Изучение процесса формирования биопленки *Listeria monocytogenes*, интенсивность биопленкообразования, а также оценка чувствительности бактерий в биопленках, образованных *Listeria monocytogenes* к антибиотикам и дезинфектантам является перспективной задачей дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Davey, M. E. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics / M. E. Davey, G. A. O'Toole // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2000. Vol. 64, N 4. P. 847-867.
2. Hancock, V. Biofilm formation by asymptomatic and virulent urinary tract infectious *Escherichia coli* strains / V. Hancock, L. Ferrieres, P. Klemm // FEMS Immunol. Med. Microbiol. 2007. Vol. 51. P. 212-219.
3. O'Toole, G. F. Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development / G. F. O'Toole, R. Kolter // Mol. Microbiol. 1998. N. 30. P. 295-304.
4. Influence of dynamic conditions on biofilm formation by staphylococci / S. Stepanovic [et al] // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2001. Vol. 20. P. 502-504.