

БИОЛОГИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 615.462:541.6]:579.86.2].015.4

DOI: 10.17816/pmj36672-75

ПОЛИМЕРНЫЕ СИНТЕТИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ КАК ОСНОВА ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ БИОПЛЕНОК СТАФИЛОКОККАМИ

*М.С. Степанов, Е.Е. Кобзаренко, А.П. Годовалов**

*Пермский государственный медицинский университет
им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России, Россия*

POLYMERIC SYNTHETIC MATERIALS AS BASIS FOR BIOFILM FORMATION BY STAPHYLOCOCCI

*M.S. Stepanov, E.E. Kobzarenko, A.P. Godovalov**

E.A. Vagner Perm State Medical University, Russian Federation

Цель. Изучение и сравнение особенностей формирования биопленок *S. aureus* и *S. epidermidis* на синтетических материалах из поливинилхлорида и полистирола.

Материалы и методы. В экспериментах использовали штаммы *S. aureus* и *S. epidermidis*, а также полимерные синтетические материалы. Исследовали выраженность биопленкообразования данных штаммов на полистироле и поливинилхлориде. Биопленкообразование определяли в стерильных плоскодонных планшетах. В часть лунок планшета помещали кусочки поливинилхлорида размером 5×5×1 мм. Культивирование осуществляли при температуре 37 °С в течение 24–48 ч.

Результаты. На поливинилхлориде биопленкообразующая способность стафилококков практически отсутствует. *S. aureus* имеет большую активность в формировании биопленок по сравнению с *S. epidermidis*. При увеличении времени инкубации *S. aureus* увеличивает активность биопленкообразования, а *S. epidermidis* нет.

Выводы. Установлено, что биопленкообразующая активность одних и тех же микроорганизмов различна на полистироле и поливинилхлориде, что может быть обусловлено разной химической структурой материалов.

Ключевые слова. *S. aureus*, *S. epidermidis*, биопленки, полистирол, поливинилхлорид.

© Степанов М.С., Кобзаренко Е.Е., Годовалов А.П., 2019

тел. +7 912 981 51 00

e-mail: AGodovalov@gmail.com

[Степанов М.С. – студент VI курса; Кобзаренко Е.Е. – студент VI курса; Годовалов А.П. (*контактное лицо) – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории, доцент кафедры микробиологии и вирусологии].

Aim. To study and compare the features of formation of biofilms *S. aureus* and *S. epidermidis* on synthetic materials from polyvinylchloride and polystyrene.

Materials and methods. In the experiments, *S. aureus* and *S. epidermidis* strains as well as polymeric synthetic materials were used. Expression of biofilm formation of these strains on polystyrene and polyvinylchloride was studied. Biofilm formation was determined in sterile flat-bottomed tablets. Into a part of tablet holes, pieces of polyvinylchloride measuring 5×5×1 mm were placed. They were cultivated at the temperature 37 °C for 24–48 hours.

Results. On polyvinylchloride, biofilm-forming ability of staphylococci was practically absent. *S. aureus* is more active in formation of biofilms as compared with *S. epidermidis*. As incubation period is increased, *S. aureus* elevates biofilm-forming activity but *S. epidermidis* does not.

Conclusions. It was established that one and the same microorganisms are different in manifestation of biofilm-forming activity on polystyrene and polyvinylchloride that can be conditioned by various chemical structure of these materials.

Key words. *S. aureus*, *S. epidermidis*, biofilm, polystyrene, polyvinylchloride.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в медицинской практике широко используются полимерные синтетические материалы [1, 4]. В связи с этим возникает ряд новых проблем, среди которых основная – формирование на них биопленки микроорганизмами. Микроорганизмы за тысячелетия существования приспособились образовывать новую форму, позволяющую им выживать в разных условиях обитания – биопленку. Биопленки могут образовываться внутри организма человека, на любой поверхности, граничащей с воздухом и жидкостью, а также почти на всех полимерных синтетических материалах, используемых в медицине [3].

Основным материалом, на котором производят изучение ростовых характеристик микроорганизмов и формирования ими биопленок, является полистирол. Из него изготавливают плоскостонные планшеты, которые являются удобной платформой для изучения пленкообразования микроорганизмов. Однако в условиях стационара микробы постоянно встречаются с другими полимерными материалами, на которых

рост биопленок детально не изучен. Кроме этого, полистирол используется преимущественно в лабораторной практике, в отличие от поливинилхлорида (ПВХ), из которого производят катетеры и дренажи, широко применяемые в хирургии. Среди микроорганизмов, выделяемых от пациентов с хирургической патологией, как правило гнойной, широко распространены представители рода *Staphylococcus*.

Цель исследования – изучение и сравнение особенностей формирования биопленок *S. aureus* и *S. epidermidis* на синтетических материалах из поливинилхлорида и полистирола.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследованиях использовали штаммы *S. aureus* ATCC 25923 и *S. epidermidis* ATCC 28922, а также полимерные синтетические материалы: поливинилхлорид и полистирол. Для определения способности микроорганизмов к биопленкообразованию применяли метод O'Toole [5] с некоторыми модификациями: толщину биопленок определяли при помощи окраски генцианвиолетом с последующей его экстракцией спиртом и

учетом оптической плотности на фотометре. Биоленкообразование определяли в стерильных плоскодонных планшетах из полистирола. В часть лунок планшета помещали кусочки ПВХ размером 5×5×1 мм. Остальная часть лунок оставалась пустой, так как контактная поверхность лунки, взаимодействующая с микроорганизмами, являлась полистиролом. Культивирование осуществляли при температуре 37 °С в течение 24 и 48 ч. Все исследования сопровождалось 7-кратными повторами.

Статистическую обработку данных проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента. За пороговый уровень значимости принимали величину $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенных исследований установлено, что формирование биоленок и оценка биоленкообразующей активности микроорганизмов с использованием отдель-

ных кусочков полимерных материалов равных размеров является простым в использовании, не требующим дорогостоящего оборудования методом.

Установлено, что биоленкообразование одних и тех же микроорганизмов отличается на разных полимерных материалах (таблица).

Так, например, биоленкообразующая способность золотистого стафилококка на полистироле выражена сильнее, чем у эпидермального при культивировании в течение 48 ч. Через 24 ч после инкубации *S. aureus* сформировал биоленки только на полистироле, но не на ПВХ. При увеличении сроков инкубации с 24 до 48 ч пропорционально увеличивается биоленкообразующая активность *S. aureus*. *S. epidermidis* за то же время сформировал биоленку только на полистироле. Увеличение сроков культивирования не привело к увеличению массы пленки.

Биоленкообразующая активность стафилококков на полистироле и поливинилхлориде

Параметр	Полистирол		Поливинилхлорид	
	24 ч	48 ч	24 ч	48 ч
<i>S. aureus</i>	0,33 ± 0,10*†	1,72 ± 0,54*#	0,20 ± 0,10	0,18 ± 0,07
<i>S. epidermidis</i>	0,26 ± 0,03*	0,29 ± 0,13*	0,21 ± 0,04	0,19 ± 0,07
Контроль (питательная среда)	0,11 ± 0,00	0,11 ± 0,00	0,17 ± 0,01	0,17 ± 0,01

Примечание: * – $p < 0,05$ при сравнении с контрольными пробами, # – $p < 0,05$ при сравнении между пробами с разными стафилококками; † – $p < 0,05$ при сравнении между пробами с разными сроками инкубации.

При увеличении сроков инкубации было обнаружено, что активность биоленкообразования у золотистого стафилококка на полистироле значительно повышается, что может быть связано с особенностями жизнедеятельности микроорганизма [2].

Результаты, полученные в настоящем исследовании, могут быть объяснены отличиями в структуре поверхностей материалов, в частности разным количеством микроуглублений, играющих роль пунктов адгезии, а также различной гладкостью и формой ма-

териалов [1]. Кроме этого, материалы отличаются по составу активных групп и, соответственно, заряду поверхности, что обуславливает разную адгезию микроорганизмов на начальном этапе [4].

Выводы

Таким образом, биопленкообразующая способность микроорганизмов зависит от многих факторов, среди которых отдельно выделяют характер синтетического материала (структура поверхности) и длительность инкубации. На ПВХ биопленкообразующую активность стафилококки практически не проявляют, в то же время на полистироле такая активность выражена у стафилококков значительно. *S. aureus* имеет большую активность в формировании биопленок по сравнению с *S. epidermidis*. Подобный факт необходимо учитывать в медицинской деятельности, когда результаты тестирования биопленкообразования на полистироле не совпадают с видом используемого в практике материала.

Библиографический список

1. Батог К.А., Яковлев М.В., Детков С.В., Годовалов А.П. Аспекты изучения биоплен-

кообразующей активности условно-патогенных микроорганизмов на стоматологических материалах. Современная стоматология: от традиций к инновациям: материалы междунар. науч.-практ. конф. Тверь 2018; 31–34.

2. Винник Ю.С., Теплякова О.В., Перьянова О.В., Онзуль Е.В., Козлов В.В. Значение пленкообразующей способности культур стафилококков в выборе дренажного полимера и местных антисептиков при инфицированном панкреонекрозе. Вестник экспериментальной и клинической хирургии 2011; 4 (4): 666–670.

3. Николаев Ю.А., Плакунов В.К. Биопленка «город микробов» или аналог многоклеточного организма? Микробиология 2007; 76 (2): 149–163.

4. Стафеев А.А., Зиновьев Г.И. Биопленка на границе конструкционный материал – фиксирующий материал – ткань зуба. Институт стоматологии 2012; 2 (55): 76–77.

5. O'Toole G.A. Microtiter dish biofilm formation assay. J Vis Exp 2011; 47: 2437.

Материал поступил в редакцию 21.09.2019