

ЗНАЧЕНИЕ МИКРОБНЫХ БИОПЛЕНОК В ИНФЕКЦИОННОЙ ПАТОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА
(ОБЗОР)

П.Г. ГЛАДКИХ

*Медицинский институт, Тульский государственный университет,
ул. Болдина, 128, Тула, Россия, 300012, e-mail: pavel-170@mail.ru*

Аннотация. Данная статья посвящена биопленкам – особой форме существования бактерий. Рассматриваются стадии формирования биопленки, регуляторные процессы («чувство кворума»), происходящие в биопленках. Благодаря «эффекту кворума» происходит передача информации следующими путями: контакт между клетками микроорганизмов, синтез диффундирующих в среде феромоноподобных агентов, генерации бактериями физических (электромагнитных и иных) полей. Согласно литературным данным, достоверно установлена роль биопленок как минимум в 60% случаев всех хронических или рецидивирующих инфекций. Установлено что формирование биопленок клинически значимыми штаммами происходит на эндопротезах, катетерах, покрытиях медицинских инструментов, аппаратах искусственной вентиляции легких и других предметах медицинского назначения. Имеются данные результатов экспериментов, согласно которым наиболее устойчивую биопленку в среде желудка способен образовать штамм *Helicobacter pylori* ТК 1402. Также рассматривается роль микробных биопленок в формировании острых и хронических инфекций лор – органов. Также приведены результаты экспериментов, направленных на борьбу с формированием биопленок.

Ключевые слова: биопленка, матрикс, «чувство кворума», биоциды, колонизация.

IMPORTANCE OF MICROBIOFILMS IN INFECTION PATHOLOGY OF HUMAN (REVIEW)

P.G. GLADKIH

Medical institute, Tula state University, Boldina st, 128, Tula, Russia, 300012, e-mail: pavel-170@mail.ru

Abstract. This article deals with biofilms – a special form of existence of bacteria. We consider the stage of formation of biofilm, regulatory processes ("quorum sensing") occurring in biofilms. By the "effect of quorum" is a transfer of information in the following ways: contact between the cells of microorganisms, the synthesis of diffusing in the medium pheromone-like agents generating bacteria physical (and other electromagnetic) fields. According to the literature, well established role of biofilms at least 60% of all chronic or recurrent infections. Established, that the formation of biofilms clinically significant strains occur on endoprosthesis catheters coated medical instruments, ventilators and other medical supplies. There is evidence that the results of experiments according to the most resistant biofilm in a medium capable of forming a gastric strain *Helicobacter pylori* TK 1402. Also discusses the role of microbial biofilm formation in acute and chronic infections of the ENT - organs. In addition, the results of experiments designed to combat the formation of biofilms.

Key words: biofilm matrix "quorum sensing", biocides, colonization.

В настоящее время накопилось достаточно информации о том, что в естественных условиях обитания микроорганизмы существуют преимущественно не поодиночке, а в виде достаточно сложноорганизованных систем и сообществ. Эти сообщества получили название биопленок. Они подвижны, непрерывно изменяются и, в основном, гетерогенны [1]. Биопленки могут быть представлены штаммами как одного вида микроорганизмов, так и нескольких (в основном это представители бактерий или грибов). Особое внимание следует уделить бактериальным биопленкам, поскольку именно они, в большинстве своем ответственны за многие патологические процессы, происходящие в человеческом организме. Тот факт, что бактерии способны образовывать сложные бактериальные сообщества, играющие важную роль в природе, был известен давно, однако феномен коллективного поведения бактерий был описан, по разным источникам, в 1992-1994 годах [2]. Первое описание бактериальных биопленок было проведено в 1936 г. микробиологами Зобелем и Андерсеном [3]. Свободноплавающие бактерии, взвешенные в жидкой питательной среде, представляют лишь типичную лабораторную концепцию, однако в реальности данный вид микробной жизни составляет лишь малую часть способов существования бактерий в экосистеме. Бактерии демонстрируют большую предрасположенность к росту, находясь в колониях, связанных с поверхностями, чем к самостоятельному росту в состоянии свободного существования (например, в составе планктона). С точки зрения микробиологии, термин «бактериальная биопленка» описывает заключенные в матриксе (межклеточное вещество) бактериальные популяции одного или нескольких

Библиографическая ссылка:

Гладких П.Г. Значение микробных биопленок в инфекционной патологии человека (обзор) // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2015. №1. Публикация 3-2. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2015-1/5096.pdf> (дата обращения: 16.02.2015).

видов, прикрепленные друг к другу и (или к органическим или неорганическим поверхностям (субстратам)) [4].

Образование биопленок и их функционирование – сложные процессы, регулируемые и управляемые не только сигналами из окружающей среды, но и межклеточными связями [4]. Однако сами межклеточные связи образуются только после поэтапного формирования биопленки, состоящего из 3 основных стадий:

1. обратимое прикрепление к поверхности (адгезия);
2. перманентное прилипание к поверхности (колонизация);
3. формирование слизистого защитного матрикса биопленки [5].

Нередко выделяют стадию распространения, однако она характерна для образования совокупности биопленок на данном субстрате, в то время как стадии адгезии, прилипания и формирования матрикса характеризуют первичную биопленку [6]. Согласно экспериментальным данным, установлено, что такие бактерии, как стафилококки, стрептококки, псевдомонады, кишечная палочка имеют следующие особенности биопленкообразования: присоединяются друг к другу в течение нескольких минут, образуют прочно соединенные микроколонии в течении 2-4 часов, становятся более толерантными к различным биоцидам в течение 6-12 часов, вовлекаются в полноценные колонии биопленки, очень устойчивые к биоцидам и теряющие планктонные бактерии в течение 2-4 дней в зависимости от вида бактерий и условий роста, быстро восстанавливаются после механических разрушений и вновь формируют зрелую биопленку в течение 24 часов [7, 10]. Матрикс биопленок в большинстве своем представлен белками, липидами, полисахаридами и нуклеиновыми кислотами [11, 12].

Как было сказано ранее, процессами функционирования биопленок управляют особые межклеточные связи, получившие название «quorum sensing» – QS (чувство кворума). «Чувство кворума» включает в себе координированное поведение клеток в бактериальном сообществе при достижении их критической плотности. Как оказалось, у бактерий по типу QS – регуляции функционирует широкий спектр физиологических процессов. Именно посредством «эффекта кворума» происходит передача информации следующими путями: непосредственного контакта между клетками, выработки диффундирующих в среде феромоноподобных химических агентов, генерации клетками физических (электромагнитных и иных) полей [8, 9]. Наиболее полно особенности общения бактериальных клеток описаны при воздействии на них особыми низкомолекулярными водорастворимыми веществами, взаимодействующими с рецепторными регуляторными белками бактериальной клетки, получившими название *аутоиндукторов* (АИ) [13-15].

На сегодняшний день уже достоверно установлена роль биопленок как минимум в 60% случаев всех хронических или рецидивирующих инфекций [15]. Особое внимание следует уделить аспектам, связанным с образованием биопленок на поверхностях оборудования и предметах медицинского назначения, особенно для инвазивных процедур (эндоскопы, аппараты искусственной вентиляции легких, сосудистые, диализные и мочевые катетеры и т. п.), а также на имплантируемых устройствах (ортопедические и сосудистые протезы, стенты, шовный материал и т. п.) [16].

Необходимо сказать, что предметом настоящего обсуждения и интереса являются биопленки, образование которых имеет клиническое выражение, например, в виде *инфекций области хирургического вмешательства* (ИОХВ) или *катетер-ассоциированной инфекции кровотока* (КАИК) [8, 9].

Широко обсуждается проблема бактериальных биопленок, образуемых в органах желудочно-кишечного тракта. Способностью создавать биопленки обладает *Helicobacter pylori*, играющий важнейшую роль в развитии язвенной болезни. Согласно последним экспериментальным данным, наиболее устойчивую биопленку в среде желудка способен образовать штамм *Helicobacter pylori* ТК 1402. Кроме того, изучалась связь между клеточным ростом этого штамма и способность образовывать микроколонии [17]. Было показано, что между ТК 1402 и другими штаммами не было значимых различий с точки зрения аутоагрегации, подвижности и гидрофобности. В то же время, прекультивирование данного штамма в течение 24-48 часов привело к усиленному образованию биопленки. Хронический риносинусит, по современным представлениям, также является заболеванием, ассоциированным с биопленками [18]. Последние довольно часто обнаруживаются в тканях параназальных пазух (до 72% случаев), в отличие от пациентов контрольной группы без клинических проявлений заболевания. С наибольшей частотой из биопленок при хроническом риносинусите исследователи выделяли золотистый стафилококк (50%), гемофильную палочку (28%), синегнойную палочку (22%) и грибы (22%). Установлено, что биопленки в криптах миндалин особенно часто формируют грамотрицательные бактерии, ведущую роль среди которых отводят виду *Haemophilus influenzae* [19].

Уделяя особое внимание этапу колонизации твердых поверхностей, нужно отметить, что материал, из которого изготовлена колонизируемая поверхность, а именно его физико-химические параметры (гидрофильность и гидрофобность, заряд, инертность, гладкость), играют важную роль в возможности и скорости образования биопленок. Поэтому можно выделить два способа универсальной борьбы с подобным явлением. Первый касается использования материалов, способных длительное время самостоятель-

Библиографическая ссылка:

Гладких П.Г. Значение микробных биопленок в инфекционной патологии человека (обзор) // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2015. №1. Публикация 3-2. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2015-1/5096.pdf> (дата обращения: 16.02.2015).

но противостоять колонизации. Так, установлено, что полиуретан, тефлон и силикон являются более «благонадежными» материалами, с точки зрения скорости развития биопленки, для изготовления сосудистых катетеров, нежели полиэтилен [8, 9]. Аналогично, синтетический монофиламентный шовный материал так же имеет преимущество по сравнению плетеной хирургической нитью натурального происхождения. Так же разновидностью данного способа является разработка покрытий или импрегнация материала биоцидом (собирающее понятие, включающее антибиотики, антисептики, дезинфектанты), препятствующие колонизации. Следующим и наиболее важным подходом к предупреждению образования биопленок является использование биоцидов в чистом виде не только для ухода за имплантатами, но и в период клинических проявлений различных инфекционных заболеваний. Установлено, что в случае ухода за имплантатами идеальными агентами для использования являются именно антисептики, обладающие в этом аспекте несомненным преимуществом перед антибиотиками. Хорошим примером является используемый в профилактике или терапии КАИК тауролидин, в форме раствора для закрытия сосудистых катетеров [18]. Особое внимание следует уделить применению *антимикробных веществ* (АМВ). Наиболее ярко взаимодействие АМВ с бактериальной биопленкой показано на примере подавления формирования биопленок *Staphylococcus epidermidis* катионным пептидом варнерином. Варнерин обладает выраженным литическим действием на планктонные бактерии и колонии штамма *Staphylococcus epidermidis*, во многом благодаря активации аутолитических систем бактериальных клеток. Однако важно отметить, что сам варнерин не обладает какой-либо ферментативной активностью [18, 19]. Эти эксперименты с варнерином подтверждают перспективы его использования в новых АМП против стафилококковых инфекций. Нами получены экспериментальные данные в отношении антибиопленочного эффекта диметилсульфоксида при стафилококковых инфекциях. В экспериментах препарат блокировал биопленкообразование бактериями экспериментальной группы.

Заключение. Анализ доступных литературных данных наглядно демонстрирует значимость и актуальность проблемы образования биопленок клинически значимыми штаммами микроорганизмов. Бактерии демонстрируют большую предрасположенность к росту, находясь в колониях, связанных с поверхностями, чем в состоянии свободного существования (планктонная форма). Описанное явление «*quorum sensing*» – QS (чувство кворума), является ключевым моментом в формировании бактериальных биопленок, координирующим поведение клеток в бактериальном сообществе при достижении их критической плотности. Изучается возможность биопленкообразования штаммами *Helicobacter pylori*, играющих ведущую роль в формировании гастрита и язвенной болезни, нередко имеющих тенденции к малигнизации. Активно исследуется роль биопленок в развитии воспалительных процессов различных органов и систем, а также в формировании катетер-ассоциированных инфекций кровотока. Разработана форма тауролидина для закрытия сосудистых катетеров, с целью профилактики КАИК. На данном этапе ведётся активный поиск средств борьбы с биопленками. Необходимо понимание патологических воспалительных процессов с учётом новых данных о бактериальных биопленках, а также разработка эффективных методов борьбы с ними.

Литература

1. Бондаренко В.М. Механизмы формирования патогенности оппортунистическими микроорганизмами // Материалы II Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. М., 2010. С. 42–43.
2. Бондаренко В.М. Роль условно-патогенных бактерий при хронических воспалительных процессах различной локализации. Тверь: Триада, 2011. 88 с.
3. Бехало В.А. Иммунобиологические особенности бактериальных клеток, входящих в состав «медицинских биопленок» // Микробиология. 2010. № 4. С. 97–107.
4. Елинов Н.П. Структурированные и неструктурированные формы существования микромицетов в искусственных и естественных условиях // Проблемы медицинской микологии. 2009. Т. 11. № 3. С. 3–9.
5. Ильина Т.С. Биопленки как способ существования бактерий в окружающей среде и организме хозяина: феномен, генетический контроль и системы регуляции их развития // Генетика. 2004. № 40. С. 1–12.
6. Миленин Д.О. Микробная биопленка *Helicobacter Pylori* и ее роль в патогенезе язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки // Фарматека. 2010. №20. С. 20–24.
7. Чернявский В.И. Бактериальные биопленки и инфекции // *Annals of Mechnikov Institute*. 2013. №1. Р. 86–90.
8. Хренов П.А., Честнова Т.В. Обзор методов борьбы с микробными биопленками при воспалительных заболеваниях // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2013. №1. Публикация 2-13. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2013-1/4102.pdf> (дата обращения: 01.02.2013).

Библиографическая ссылка:

Гладких П.Г. Значение микробных биопленок в инфекционной патологии человека (обзор) // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2015. №1. Публикация 3-2. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2015-1/5096.pdf> (дата обращения: 16.02.2015).

9. Хренов П.А., Честнова Т.В. Эффект диметилсульфоксида в отношении биоплёнообразования штаммами *Staphylococcus aureus* // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2014. № 5-1. С. 140–141.

10. Hall-Stoodley L. Evolving concepts in biofilm infections // *Cell Microbiol.* 2009. Vol. 11. N. 7. P. 1034–1043.

11. Donlan R.M. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms // *Clin. Microbiol. Rev.* 2002. Vol. 15. N. 2. P. 167–193.

12. Bester E. Metabolic differentiation in biofilms as indicated by carbon dioxide production rates // *Appl. Environ. Microbiol.* 2010. Vol. 76. N. 4. P. 1189–1197.

13. Guiot E. Heterogeneity of diffusion inside microbial biofilms determined by fluorescence correlation spectroscopy under two-photon excitation // *Photochem. Photobiol.* 2002. Vol. 75. N. 6. P. 570–579.

14. Dietrich L.E. The phenazine pyocyanin is a terminal signalling factor in the quorum sensing network of *Pseudomonas aeruginosa* // *Mol. Microbiol.* 2006. Vol. 61. N. 5. P. 1308–1321.

15. Flemming H.C. The EPS matrix: the "house of biofilm cells" // *J. Bacteriol.* 2007. Vol. 189. N. 22. P. 7945–7947.

16. Hibbing M.E. Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle // *Nat. Rev. Microbiol.* 2010. Vol. 8. N. 1. P. 15–25.

17. Hurlow J. Clinical experience with wound biofilm and management: a case series // *Ostomy Wound Manage.* 2009. Vol. 55. N. 4. P. 38–49.

18. James G.A. Biofilms in chronic wounds // *Wound Repair Regen.* 2008. Vol. 16. N. 1. P. 37–44.

19. Bjarnsholt T. Why chronic wounds will not heal: a novel hypothesis // *Wound Repair Regen.* 2008. Vol. 16. N. 1. P. 2–10.

References

1. Bondarenko V.M. Mekhanizmy formirovaniya patogennosti opportunisticheskimi mikroorganizmami. Materialy II Ezhegodnogo Vserossiyskogo kongressa po infektsionnym boleznyam. Moscow; 2010. Russian.

2. Bondarenko V.M. Rol' uslovno-patogennykh bakteriy pri khronicheskikh vospalitel'nykh protsessakh razlichnoy lokalizatsii. Tver': Triada; 2011. Russian.

3. Bekhalo V.A. Immunobiologicheskie osobennosti bakterial'nykh kletok, vkhodyashchikh v sostav «meditsinskikh bioplenok». *Mikrobiologiya.* 2010;4:97-107. Russian.

4. Elinov N.P. Strukturirovannye i nestrukturirovannye formy sushchestvovaniya mikromitsetov v iskusstvennykh i estestvennykh usloviyakh. *Problemy meditsinskoy mikologii.* 2009;11(3):3-9. Russian.

5. Il'ina T.S. Bioplenki kak sposob sushchestvovaniya bakteriy v okruzhayushchey srede i organizme khozyaina: fenomen, geneticheskii kontrol' i sistemy regulyatsii ikh razvitiya. *Genetika.* 2004;40:1-12. Russian.

6. Milenik D.O. Mikrobnaya bioplenka *Helicobacter Pylori* i ee rol' v patogeneze yazvennoy bolezni zheludka i dvenadtsatiperstnoy kishki. *Farmateka.* 2010;20:20-4. Russian.

7. Chernyavskiy V.I. Bakterial'nye bioplenki i infektsii. *Annals of Mechnikov Institute.* 2013;1:86-90. Russian.

8. Khrenov P.A., Chestnova T.V. Obzor metodov bor'by s mikrobnymi bioplenkami pri vospalitel'nykh zabolevaniyakh. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. Elektronnoe izdanie [Internet].* 2013 [cited 2013 Feb 01];1:[about 4 p.]. Russian. Available from: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2013-1/4102.pdf>.

9. Khrenov P.A., Chestnova T.V. Effekt dimetilsul'foksida v otnoshenii bioplenkoobrazovaniya shtammami *Staphylococcus aureus*. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy.* 2014;5-1:140-1. Russian.

10. Hall-Stoodley L. Evolving concepts in biofilm infections. *Cell Microbiol.* 2009;11(7):1034-43.

11. Donlan R.M. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev.* 2002;15(2):167-93.

12. Bester E. Metabolic differentiation in biofilms as indicated by carbon dioxide production rates. *Appl. Environ. Microbiol.* 2010;76(4):1189-97.

13. Guiot E. Heterogeneity of diffusion inside microbial biofilms determined by fluorescence correlation spectroscopy under two-photon excitation. *Photochem. Photobiol.* 2002;75(6):570-9.

14. Dietrich L.E. The phenazine pyocyanin is a terminal signalling factor in the quorum sensing network of *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol. Microbiol.* 2006;61(5):1308-21.

15. Flemming H.C. The EPS matrix: the "house of biofilm cells". *J. Bacteriol.* 2007;189(22):7945-7.

16. Hibbing M.E. Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle. *Nat. Rev. Microbiol.* 2010;8(1):15-25.

17. Hurlow J. Clinical experience with wound biofilm and management: a case series. *Ostomy Wound Manage.* 2009;55(4):38-49.

18. James G.A. Biofilms in chronic wounds. *Wound Repair Regen.* 2008;16(1):37-44.

19. Bjarnsholt T. Why chronic wounds will not heal: a novel hypothesis. *Wound Repair Regen.* 2008;16(1):2-10.

Библиографическая ссылка:

Гладких П.Г. Значение микробных биопленок в инфекционной патологии человека (обзор) // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2015. №1. Публикация 3-2. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2015-1/5096.pdf> (дата обращения: 16.02.2015).