

УДК 619:614.48576.8

АНАЛИЗ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ АСПЕКТОВ ДЕЗИНФЕКЦИИ

Тарасова И.И.

*Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности,
г. Щелково, Московская обл.*

Проведен анализ возможных путей формирования устойчивости микрофлоры к дезинфектантам. Обобщены собственные результаты и данные литературы о стратегии разработки и применения дезинфектантов при эрадикации бактерий биопленок.

Для современной дезинфектологии стало очевидно, что подавляющее большинство микроорганизмов (объект обеззараживания) существуют не в виде свободных планктонных клеток, а в сложных организованных сообществах, образующих биопленки [2], либо в рамках ассоциативного симбиоза, включающего бактерии, вирусы, микоплазмы, несовершенные грибы [3, 5, 8]. Формирование таких сложных структур лежит в основе стратегии выживания бактерий не только в окружающих экосистемах, но и в макроорганизмах.

Например, в биопленках микроорганизмы хорошо защищены от антимикробных препаратов и это требует как увеличения концентрации применяемых средств эрадикации, так и изменения стратегии ветеринарно-санитарных мероприятий [4].

Биопленка – это прикрепленное к поверхности микробное сообщество, в котором бактериальные клетки заключены в матрицу внеклеточных полимерных субстанций, продуцируемых микроорганизмами в соответствии с уровнем развития популяции и условиями транскрипции генов.

Реакция микроорганизмов в биопленках на изменение условий окружающей среды существенно отличается от реакции каждого отдельного вида в монокультуре. Такая организация обеспечивает микрофлоре функциональную и физиологическую стабильность и, как следствие, конкурентную устойчивость в соответствующей экологической нише. Экспериментально подтверждено, что более 65 % возбудителей инфекционных заболеваний способны формировать биопленку. У стафилококков, стрептококков, энтерококков, бордетелл, псевдомонад, эшерихий и ряда других видов бактерий в составе клеточной стенки обнаружены оригинальные биофильм-ассоциированные протеины, включающее целое Вар-семейство.

Формирование биопленок характерно и для представителей нормальной микрофлоры человека, хотя и у планктонных клеток наблюдаются различные типы коммуникаций. В большей степени они проявляются при многоклеточном взаимодействии в составе биопленок, формируемых микрофлорой. Это касается синтеза бактериоциноподобных веществ, эндотоксинов, факторов адгезии и т.п.

При образовании биопленки бактерии объединяются в сложный экополисахаридный матрикс, в котором имеются каналы для доставки питательных веществ и выведения переработанных продуктов.

Исследования показали, что в биопленках по-иному, в сравнении с чистыми культурами бактерий, происходят их многочисленные физиологические процессы, в том числе продукция метаболитов и биологически активных веществ. Биопленки развиваются на любой поверхности, контактирующей с жидкостью.

В биопленках по сравнению с планктонной культурой клетки характеризуются измененным спектром экспрессии генов и обладают повышенной устойчивостью к факторам внешней среды и антимикробным агентам. Биопленки представляют единый многоклеточный организм с присущим ему циклом развития, кооперативным поведением составляющих его особей, которое координируется системой Quorum Sensing (QS), основанной на продукции сигнальных молекул, феромонов или аутоиндукторов и способности бактерий воспринимать эти сигналы. Сообщество организует единую генетическую систему в виде плазмид-кольцевых ДНК, несущих поведенческий код для членов биопленки, определяющие их трофические, энергетические и другие связи между собой и внешним миром.

В биопленках микроорганизмы в 100-1000 раз более устойчивы к антимикробным агентам и дезинфектантам, чем планктонные клетки того же вида.

Установлено, что биопленки обеспечивают устойчивое существование возбудителей сапронозов в почвах и водоемах. При этом возможны различные исходы сосуществования их в популяциях с ассоциантами – частичное «отмирание» патогенных микроорганизмов, появление некультивируемых форм (сохраняющих способность реверсировать), а также перехода части популяции в гетероморфное состояние с различными стадиями L-трансформации [6,7].

Вышеизложенные факты следует учитывать как разработчикам, так и потребителям антимикробных и дезинфицирующих средств. Существует две стратегии борьбы с бактериальным загрязнением и инфекцией: эрадикация патогена или ослабление его вирулентности до такой степени, при которой он утрачивает способность адаптироваться к окружающей среде. И одним из подходов является усиление отрыва фрагментов биопленки под воздействием определенных веществ.

Важно подчеркнуть необходимость проведения мероприятий по предотвращению образования и контролю роста биопленок. Они должны быть основаны на знаниях о регуляторных механизмах, определяющих метаболизм бактерий в биопленках.

В связи с этим перспективным методом профилактики образования биопленок является раннее подавление их формирования, ослабление роста и развития полисахаридного матрикса, а также снижение жизнеспособности микроорганизмов с помощью разных компонентов антимикробных и дезинфекционных средств и методических подходов.

Одним из приемов, вызывающим деструкцию биопленки, является обработка активным кислородом (например, озоном) или кислородосодержащими дезинфектантами [1].

Обычно, к таким препаратам медленно развивается привыкание, чему препятствует множественный характер поврежденный активным кислородом различных субклеточных структур – ДНК, белков и мембран [2].

Структура биопленки и особенности физиологии бактерий в ее составе обеспечивают многократно повышенную, по сравнению со свободно живущими бактериями, устойчивость микробиоты к антимикробным препаратам (4).

Накопление активных форм кислорода приводит к окислительному стрессу и прекращению деления клетки вследствие повреждения ДНК. При воздействии активных форм кислорода происходит дробление полисахаридного матрикса биопленки,

Розділ 9. Короткі та дискусійні повідомлення

нарушается ее целостность и происходит разделение на отдельные фрагменты.

Другим способом дробления биопленки может быть использование оксида азота. Экспериментально было установлено, что в низких нетоксичных концентрациях оксид азота вызывает дробление биопленки *P. aeruginosa*. При этом запускается планктонная модель роста и возрастает чувствительность бактерий к антимикробным агентам.

Во время оригинальных исследований, выполненных авторами и сотрудниками института в 1990-2010 г.г. по разработке и применению композиционных дезинфицирующих средств была получена композиция, активно действующим веществом (АДВ) которой являлся активный кислород, в состав также были включены соединения, разрушающие полисахаридный матрикс биопленки и вещества, способствующие «точной» доставке АДВ к объекту эрадикации.

В экспериментах (по сравнению с перекисью водорода) эффективность средства была в 2 раза выше по отношению к репрезентативному штамму – споровой форме *Bacillus subtilis* и в 3 раза выше по отношению к вегетативной микрофлоре – *E. coli* и *St. aureus*.

При существовании в настоящее время обширного рынка отечественных и зарубежных дезинфектантов особенно актуальным становится профессиональный подход к выбору обеззараживающих средств, при этом конечная эффективность которых будет определяться научно-обоснованным алгоритмом их применения.

Периодическая ротация антимикробных средств с разными активно действующими веществами, правильно подобранная рабочая концентрация, экспозиция и температурный режим, мониторинг устойчивости объектов эрадикации к антимикробным препаратам позволяют предупредить формирование резистентной микрофлоры, а также некультивируемых форм.

Список литературы

1. Белянин, И.И. Снижение устойчивости полирезистентных микобактерий к изониазиду при лечении экспериментального туберкулеза озонном и изониазидом // ЖМЭИ. – 2004. – №3. – с.95-98.
2. Бехало, В.А., Бондаренко, В.М., Сысолятина, Е.В., Нагурская, Е.В. Иммунологические особенности бактериальных клеток медицинских биопленок // ЖМЭИ. – 2010. – №4. – с.97-105.
3. Бухарин, О.В. Инфекция – модельная система ассоциативного симбиоза // ЖМЭИ. – 2009. – №1. – с.83-86.
4. Зигангирова, Н.А., Гинцбург, А.Л. Молекулярные подходы к созданию медикаментозных средств для борьбы с хроническими инфекциями // ЖМЭИ. – 2007. – №4. – С. 103-109.
5. Литвин, В.Ю., Пушкарева, В.И., Емельяненко, В.М. Биоценологические основы природных сапронозов (итоги 15-летних наблюдений) // жмэи. – 2004. – №4. – С. 102-108.
6. Мухарская, Л.М., Кирьякова, Л.С., Хайтович, А.Б. Распространение холеры в мире и Украине // ЖМЭИ. – 2004. – №1. – С. 93-96.
7. Павлова, И.Б., Зуев, В.С. Состояние популяции *Salmonella typhimurium* в водной среде под влиянием температуры // ЖМЭИ. – 2004. – №5. – С. 16-19.
8. Пушкарева, В.И., Каминская, А.А., Мойсенович, М.М., Литвин, В.Ю., Алексеева, Н.В., Степанова, Т.В., Романова, Ю.М., Ермолаева, С.А. Взаимодействие бактерий *Burholderia cepacia* с почвенными инфузориями *Tetrahymena pyriformis* в процессе формирования биопленок // Успехи современной биологии. – 2008. – т.128. – №6. – С. 553-561.

ANALYSIS OF MICROBIOLOGICAL ASPECTS OF DESINFECTION

Tarasova I.I.

All-Russian Scientific Research and Technological Institute for Biological Industry, Schelkovo, Moscow Region, Russia

Analysis of problems of formation of resistance of microflora to disinfectants is presented in given article. Own and literature facts about the most perspective ways to development and using of disinfectants at eradication of biofilm bacteria are generalized.