

МИКРОБИОЛОГИЯ

УДК 616-093/098(045)

Оригинальная статья

МАТЕРИАЛЫ К ЭЛЕКТИВНОМУ КУРСУ «МИКРОБНЫЕ СООБЩЕСТВА»

Г.М. Шуб – ГОУ ВПО Саратовский ГМУ им В.И. Разумовского Росздрава, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии, профессор, доктор медицинских наук; **И.Г. Швиденко** – ГОУ ВПО Саратовский ГМУ им В.И. Разумовского Росздрава, профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, доктор медицинских наук; **Е.А. Пронина** – ГОУ ВПО Саратовский ГМУ им В.И. Разумовского Росздрава, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, кандидат медицинских наук; **Н.В. Белобородова** – руководитель кабинета рациональной антибиотикотерапии Департамента здравоохранения г. Москвы, профессор, доктор медицинских наук.

ELECTIVE COURSE MATERIAL «MICROBIAL COMMUNITIES»

G.M. Shub – Saratov State Medical University, Department of Microbiology, Virology and Immunology, Professor, Doctor of Medical Science; **I.G. Shvidenko** – Saratov State Medical University, Department of Microbiology, Virology and Immunology, Professor, Doctor of Medical Science; **E.A. Pronina** – Saratov State Medical University, Department of Microbiology, Virology and Immunology, Assistant Professor, Candidate of Medical Science Summary: Summary; **N.V. Beloborodova** – PhD Head of Rational Antimicrobial Therapy Division of Moscow Healthcare Department, 13th City Childrens' Hospital, Moscow, MD,.

Дата поступления – 3.06.10 г.

Дата принятия в печать – 15.06.2010 г.

Г.М. Шуб, И.Г. Швиденко, Е.А. Пронина, Н.В. Белобородова. Материалы к элективному курсу «Микробные сообщества». Саратовский научно-медицинский журнал, 2010, том 6, № 2, с. 245-247.

В статье представлены данные о формировании и особенностях функционирования микробных сообществ в виде биопленок. Подчеркиваются особенности метаболических процессов и связанных с ними вирулентных свойств бактерий при их существовании в биопленках. Указывается на необходимость учета этих особенностей при проведении антибактериальной терапии.

Ключевые слова: микробные сообщества, биопленки, антибактериальная терапия.

G.M. Shub, I.G. Shvidenko, E.A. Pronina, N.V. Beloborodova. Elective course material «Microbial communities». Saratov Journal of Medical Scientific Research, 2010, vol. 6, iss. 2, p. 245-247.

This article gives an outline of data concerning formation and functioning peculiarities of microbial communities in the form of biofilms. Peculiarities of metabolic processes and virulent properties of bacteria existing in biofilms which are connected to those processes are highlighted in the article. The necessity of taking into account these peculiarities when carrying out antibacterial therapy is also stated.

Key-words: microbial communities, biofilms, antibacterial therapy.

В настоящее время наблюдается переход от традиционного представления о бактериях как строго одноклеточных организмах к представлению о микробных сообществах как целостных структурах, регулирующих свои поведенческие реакции в зависимости от изменения условий обитания.

Сегодня накоплено достаточно данных о механизмах, посредством которых осуществляются внутрипопуляционные, межштаммовые и межвидовые контакты у микроорганизмов, а также их взаимодействия с организмом хозяина [1].

Процесс внутрипопуляционного информационного обмена бактериальных клеток между собой получил название «кворум сенсинг».

Понятие «ощущение кворума» (Quorum Sensing) было предложено в 1994 году [2]. Оно означает восприятие клетками изменений среды, которые наступают при достижении бактериальной культурой некоторой пороговой численности, и реакцию на эти изменения.

К числу описанных процессов, протекающих лишь при достаточно высокой плотности популяции, относятся следующие явления:

- биолюминесценция у морских бактерий *Vibrio fischeri* и *V.harveyi*;
- споруляция у бацилл и актиномицетов;

- стимуляция роста у стрептококков и ряда других микроорганизмов;
- конъюгация с переносом плазмид у *Enterococcus faecalis* и родственных видов, а также у бактерий рода *Agrobacterium*;
- синтез экзоферментов и других факторов вирулентности у патогенов растений (*Erwinia carotovora*, *E.hyacinthii* и др.) и животных (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*);
- образование антибиотиков у представителей рода *Streptomyces* и у *E.carotovora*;
- формирование биопленок у *P.aeruginosa* и других микроорганизмов.

Открытие и изучение биопленок является одним из наиболее важных достижений медицинской и клинической микробиологии последних 20 лет. Все представители нормальной микрофлоры в организме человека существуют в составе биопленок. С их образования также начинается развитие любой инфекции [3; 4; 5, 6].

Биопленки представляют собой сообщества микробов, поддерживающие свой состав и расселяющиеся за счет клеток, которые периодически освобождаются и мигрируют, способствуя распространению инфекции. Биопленки разных микробов имеют сходный принцип строения. Все они содержат бактерии и межклеточный матрикс, в котором выделяют поверхностную оболочку, ограничивающую сообщество от окружающей среды [7; 8; 9, 10.].

Ответственный автор – Пронина Елена Александровна
г.Саратов, Б. Казачья, 112
Тел.: 66 98 20, 89053846710

В состав поверхностной оболочки и матрикса биопленок входят белки, полисахариды, липиды и нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК) [11, 12].

Микроорганизмы, входящие в состав биопленки, существуют в двух формах: фиксированной к поверхности, и планктонной, свободноплавающей, являющейся субстратом распространения инфекции из её первичного локуса.

Формирование биопленки – динамический пошаговый процесс, включающий в себя прилипание к поверхности, рост, образование подвижных форм и внеклеточную продукцию хемокинов, в ответ на изменения окружающей среды.

В цикле формирования биопленки выделяют 4 стадии с общими особенностями, независимо от типа микроорганизмов:

1 Стадия адгезии

2 Стадия необратимого связывания с поверхностью.

3 Стадия созревания.

4 Стадия распространения.

Существование бактерий внутри изолированных биопленок обеспечивает им много преимуществ по сравнению с изолированными клетками. Для практической медицины особенно важно, что бактерии в биопленках имеют повышенную выживаемость в присутствии агрессивных веществ, факторов иммунной защиты и антибиотиков. Бактерии и грибы в биопленках выживают в присутствии антибиотиков, добавленных в количестве, в 500-1000 раз большем, чем их минимальная подавляющая концентрация *in vitro* [13, 14; 15, 16, 17].

В настоящее время идет интенсивное изучение причин такой удивительной устойчивости к антибиотикам у бактерий в биопленках. Установлено, что в основе повышенной выживаемости лежат свойства клеток и внеклеточного матрикса. Устойчивость, обусловленную свойствами клеток биопленок, связывают с уменьшением их свободной поверхности за счет контактов друг с другом и формированием бактерий, получивших название «персистеры». Персистеры находятся в состоянии полной устойчивости практически ко всем препаратам [18, 19].

Бактерии в биопленке находятся в тесной клеточно-клеточной коммуникации. Колонии грамположительных и грамотрицательных бактерий биопленки, взаимодействуя с раздражителем, продуцируют сигнальные «сенсинговые» молекулы, которые регулируют деятельность колонии. Бактерии продуцируют химические субстанции, получившие название аутоиндукторы. С увеличением плотности колонии увеличивается и концентрация аутоиндукторов. Достигнув определенной концентрации, аутоиндукторы связываются с их рецепторами на поверхности мембран соседних бактерий (достижение кворума), активируют внутрибактериальные сигнальные пути, под действием которых меняется экспрессия определенных генов.

Вызванные аутоиндукторами изменения транскрипционной активности генов обуславливают усиление защитной биолюминесценции, вирулентности, продукции бактерицидных пептидов и формирование биопленки [20, 21, 22.]. В последнее время установлено, что более чем в 80% случаев инфекционные поражения организма проходят в форме биопленочной инфекции. Экспериментально показано, что начальные элементы биопленки могут сформироваться в течение двух часов инкубации, достигая максимальной интенсивности уже через 24 часа [23].

На данный момент с образованием биопленки связывают особенности течения инфекционного процесса при ВАП, эндокардите, муковисцидозе, хроническом бактериальном простатите, периодонтите, остром среднем отите.

Среди возбудителей, образующих биопленки, наибольшее клиническое значение имеют *P.aeruginosa*, *S.aureus*, *K. pneumoniae*, *Coagulase – negative staphylococcus*(CNS), *Enterococcus spp.*, *Candida spp.*

Тропность биопленок к инертным поверхностям приводит к колонизации венозных, уретральных и внутриполостных катетеров, эндотрахеальных трубок, протезов и различных имплантатов. Существует определенная взаимосвязь между микроорганизмом и его приверженностью к образованию биопленок на различных медицинских устройствах, имплантированных в ходе операций и манипуляций пациентам.

По мнению А. Гинцбург (2006), очаги биопленок появляются при всех рецидивирующих инфекционно-воспалительных заболеваниях. Когда биопленки достигают определенного размера, от них начинают отрываться части, которые разносятся с кровотоком по организму. Происходит образование новых очагов биопленки, что можно рассматривать как аналог метастазирования злокачественных клеток.

14 мая 2010 г. по инициативе руководства в нашем университете был проведен круглый стол, посвященный проблеме биопленок. В работе круглого стола приняли участие сотрудники кафедр микробиологии, биологической химии, медбиофизики, урологии, хирургических клиник университета, Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (ИБФРМ РАН), ФГУ Саратовский НИИ травматологии и ортопедии Росмедтехнологий. Основным докладчиком по обсуждаемому вопросу выступила руководитель кабинета рациональной антибиотикотерапии департамента здравоохранения г. Москвы, доктор медицинских наук, проф. Н.В. Белобородова. Ею были представлены интересные данные зарубежных авторов и собственных исследований, позволяющие с должной полнотой оценить значимость проблемы образования биопленок при формировании инфекций местного и системного характера, трудности подавления возбудителей, формирующих эти микробные ассоциации и пути их преодоления.

В настоящее время существует несколько направлений по изучению возможностей воздействия на биопленки с целью оптимизации антибактериальной терапии.

Значительное количество публикаций посвящено оценке возможности повышения эффективности терапии инфекций, связанных с образованием биопленок посредством включения в схему антибактериальной терапии кларитромицина. Проф. Н.В. Белобородова представила экспериментальные данные, подтверждающие, способность кларитромицина, при включении в схему антибактериальной терапии, увеличивать ее эффективность при лечении инфекции с образованием биопленок.

Сотрудники ИБФРМ поделились своими достижениями в вопросе изучения биопленок азоспирилл и продемонстрировали прекрасные слайды, иллюстрирующие процесс их формирования и взаимодействия с корневыми волосками. В сообщении были представлены результаты проведенного в ИБФРМ эксперимента, демонстрирующие переход формы существования бактерий в биопленках к планктонной

форме под воздействием кларитромицина. Представленные докладчиками данные экспериментальных исследований являются достаточно убедительными и служат основанием для их продолжения и рассмотрения возможности использования кларитромицина, как компонента схемы антибактериальной терапии в определенных клинических ситуациях.

В оживленной дискуссии приняли участие проф. Г.М. Шуб, проф. В.Б. Бородулин, проф. И.Г. Швиденко, д.б.н. Л.Ю. Матора, проф. В.Н. Николенко. Выступавшие отметили важность не только теоретических, но и практических аспектов проблемы биопленок и подчеркнули, что эти вопросы находят отражение в учебных программах университета.

В завершение работы круглого стола проф. Н.В. Белобородова отметила высокий уровень компетентности саратовской аудитории в обсуждении проблемы биопленок.

Библиографический список

1. Chambless J.D., Hunt S.M., Philip S.S. et al. A three-dimensional computer model of four hypothetical mechanisms protecting biofilms from antimicrobials // *Appl. and Environmental Microbiology*. 2006. V. 72. P. 2-13.
2. Greenberg E., Winans S. Fuqua Quorum-sensing by bacteria // *Ann Rev Microbiol*. 1996. V. 50. P. 727-751.
3. Тец В.В. Клеточные сообщества. СПб., 1998. 15-73 с.
4. Costerton J.W., Stewart P.S., Greenberg E.P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections // *Sci*. 1999. V. 284. P. 1318-1322.
5. O'Toole G.A., Kaplan H.B., Kolter R. Biofilm formation as microbial development // *Ann Rev Microbiol*. 2000. V. 54. P. 49-79.
6. Costerton W., Veeh R., Shirtliff M. et al. The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections // *Clin*. 2003. V.112. P. 1466-1477.
7. Tetz V.V., Rybalchenko O.V. Ultrastructure of colony-like communities of bacteria // *APMIS*, 1997. Vol.105. P. 99-107.
8. Tetz V.V., Rybalchenko O.V., Savkova G.A. Ultrastructure of surface film of bacterial colonies // *J. Gen. Microbiol*. 1993. Vol. 137. P. 1081-1088.
9. Discov D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents // *Nat Rev*. 2003. V.2. P.114-122.
10. Tetz V.V., Korobov V.P., Artemenko N.K. Extracellular phospholipids of isolated bacterial communities // *Biofilms*. 2004. V.1. P. 149-155.
11. Sutherland I.W. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework // *Microbiology*. 2001. V.147. P. 3-9.
12. Sponza D.T. Investigation of extracellular polymer substances (EPS) and physicochemical properties of different activated sludge flocs under steady-state conditions // *Enzyme Microb Technol*. 2003. V.32. P. 375-385.
13. Lasa I., Del Pozo J.L., Penades J.R., Leiva J. Bacterial biofilms and infection // *An. Sist. Sanit. Navar*. 2005. V.28. P. 163-175.
14. Donlan R.M., Costerton J.W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms // *Clinic Microbiol*. 2002. V.15. P. 167-193.
15. Gilbert P., Maira-Litran T., McBain A.J. et al. The physiology and collective recalcitrance of microbial biofilm communities // *Adv. Microb. Physiol*. 2002. Vol.46. P. 202-256.
16. Harrison J.J., Ceri H., Roper N.J. et al. Persister Cells mediate tolerance to metal oxyanions in *Escherichia coli* // *Microbiology*. 2005. V. 151. P. 3181-3195.
17. Shah K.D., Spoering A.N., Lewis K.K. Specialized persister cells and the mechanism of multidrug tolerance in *Escherichia coli* // *Bacteriol*. 2004. V.186. P. 8172-8180.
18. Raffa R.B., Iannuzzo J.R., Levine D.R. et al. Bacterial communication («quorum sensing») via ligands and receptors: a novel pharmacologic target for the design of antibiotic drugs // *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 2005. V.312 (2). P. 417-423.
19. Bauer W.D., Robinson J.B. Disruption of bacterial quorum sensing by other organisms // *Curr. Opin. Biotechnol*. 2002. V.13. P. 234-237.
20. Bauer W.D., Robinson J.B.. Disruption of bacterial quorum sensing by other organisms // *Curr. Opin. Biotechnol*. 2002. Vol.13. P. 234-237.
21. Bonaventura G.Di., Spedicato I., D'Antonio D. et al. Biofilm Formation by *Stenotrophomonas maltophilia*: Modulation by Quinolones, Trimethoprim-Sulfamethoxazole and Ceftazidime // *Antimicrob. Agents Chemother*. 2004. V.48 (1). P. 151-160.