



Биопленки



- Чувство кворума (Quorum Sensing) — способность бактерий (возможно, и других микроорганизмов) общаться и координировать своё поведение за счёт секреции молекулярных сигналов.

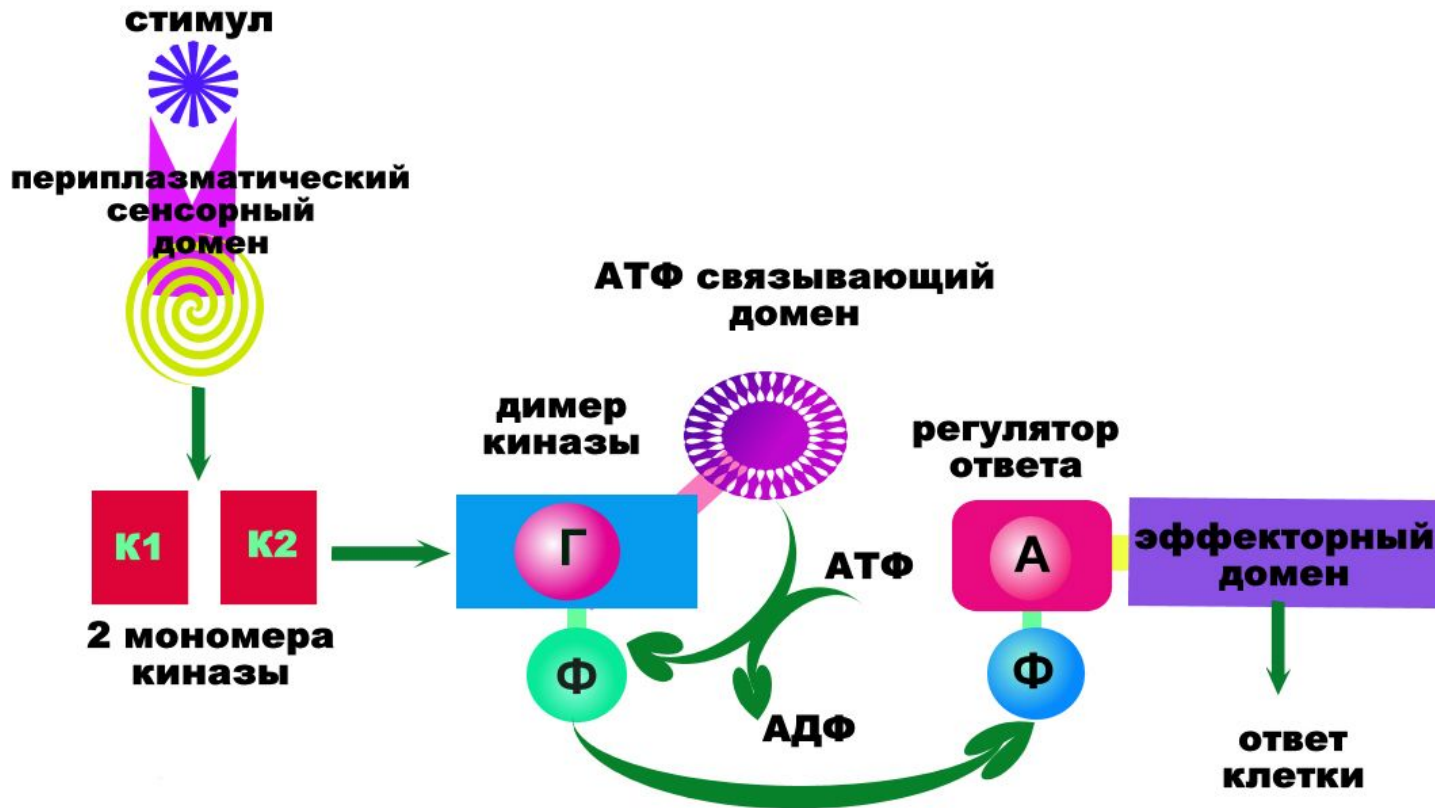
Поведение бактерий в бактериальных сообществах

- «**Quorum sensing**» - это межклеточный механизм бактериального общения, предназначенный для контроля экспрессии генов в зависимости от плотности бактериальной популяции.
- По типу «quorum sensing» регулируется широкий ряд физиологических процессов, включая биолюминесценцию, синтез антибиотиков, детерминант вирулентности, перенос конъюгативных плазмид, формирование микробиопленок .

Цель

- Назначение чувство кворума — координировать поведение или действия между бактериями того же вида или подвида в зависимости от плотности их населения.
- Например, условно-патогенные бактерии *Pseudomonas aeruginosa* могут размножаться в пределах хозяина без ущерба, пока они не достигают определённой концентрации. Но они становятся агрессивными, когда их число становится достаточным, чтобы преодолеть иммунную систему хозяина, приводя к развитию болезни.
- Для того чтобы сделать это, бактериям необходимо сформировать биоплёнки на поверхности тела хозяина.
- Возможно, что терапевтическая ферментативная деградация сигнальных молекул предотвращает образование таких биоплёнок.

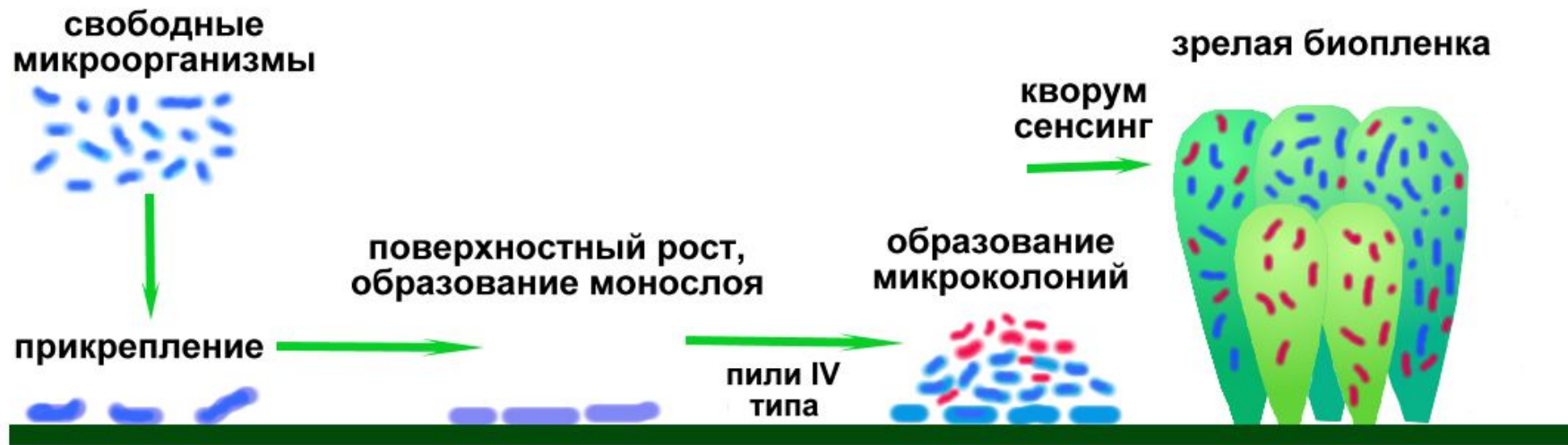
Схема устройства двухкомпонентной системы сигнальной трансдукции прокариот



Двухкомпонентная сигнальная система у патогенных микроорганизмов может приводить к инициации паразитического образа жизни и развитию инфекционного заболевания, а также формированию антибиотикорезистентности

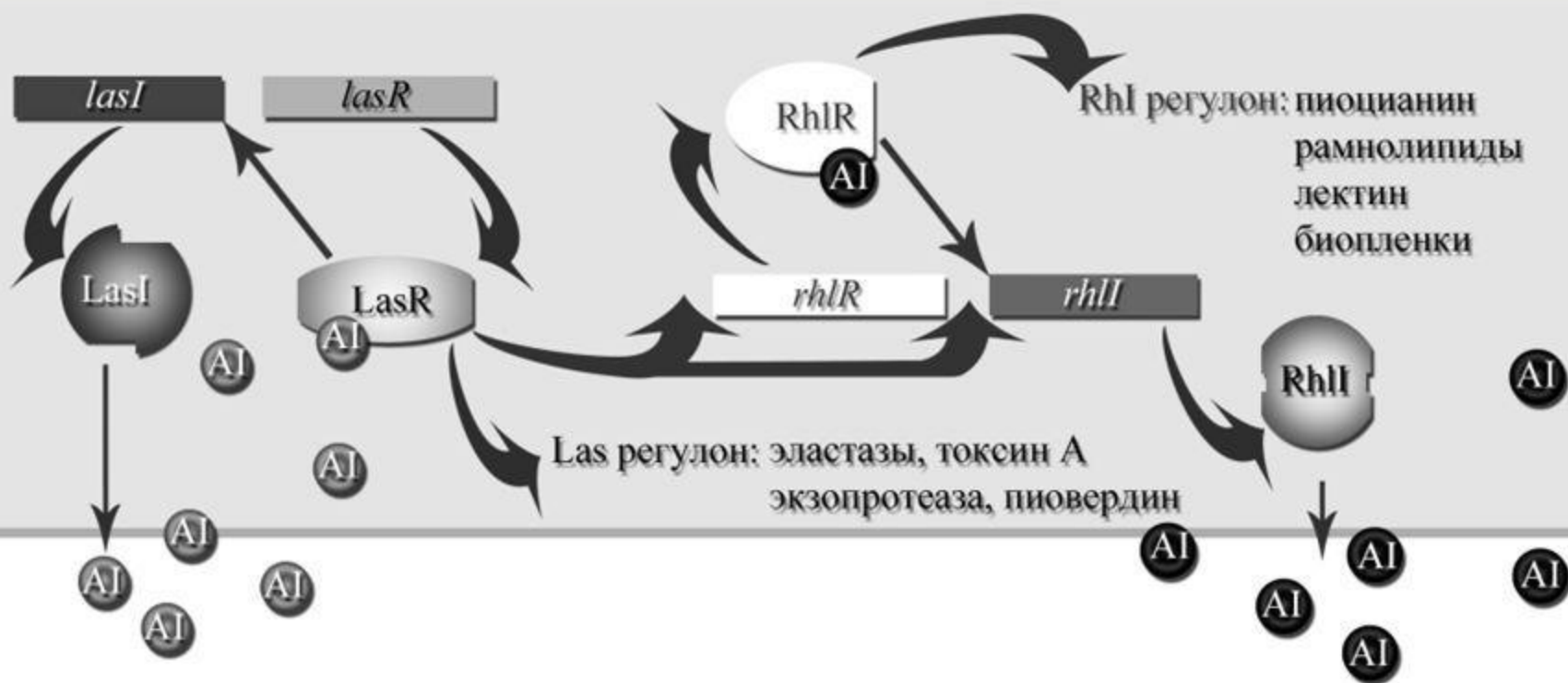
Биопленка

– совокупность микроорганизмов разных видов, прикрепленных к твердой поверхности посредством выделяемого ими полимерного матрикса



Процесс формирования биопленок находится под контролем кворум-сенсинов, которые обеспечивают созревание биопленки и коллективные взаимоотношения между микроорганизмами в ней.

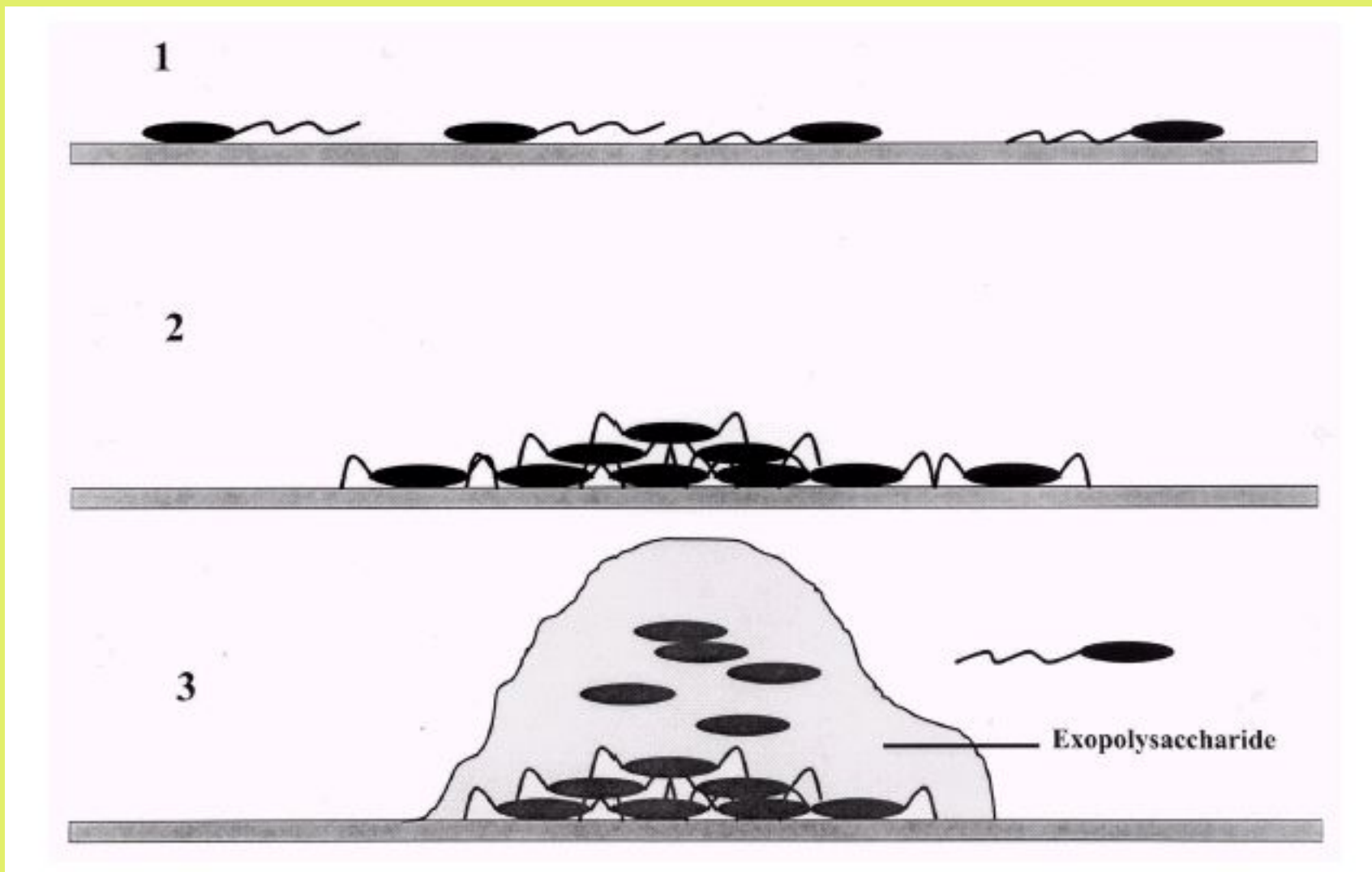
Схема QS регуляции у *P. aeruginosa*



L LasI – N-(3-оксо)-C12-HSL
a RhlI – N-C4-HSL
s

Экспрессия более 600 генов
регулируется QS

Формирование биопленки *P. aeruginosa*



Механизм образования

биопленки

- После прикрепления микроорганизмы размножаются и образуют слой на твердой поверхности, благодаря пиям IV типа. Микроорганизмы передвигаются по поверхности образуя небольшие группы, или микроколонии. Микроколонии дифференцируются в зрелые и приобретают башне- или грибоподобную форму.
- Клетки в зрелой биопленке погружены в полисахаридный матрикс, в котором есть каналы для поступления нутриентов, кислорода и выведения продуктов метаболизма. Быстро растущие микроорганизмы находятся на периферии, где выше концентрация нутриентов и кислорода, медленнорастущие — глубже.
- Бактерии в составе биопленки устойчивы к микробицидным агентам, в том числе и антибиотикам.
- Формирование биопленки в организме приводит к развитию хронических и персистирующих инфекций.
- Кворум- сенсины являются мишенью для разработки новых противомикробных средств, не влияющих на жизнеспособность микроорганизмов, но нарушающих их способность вызывать заболевания.

Поведение бактерий в бактериальных сообществах

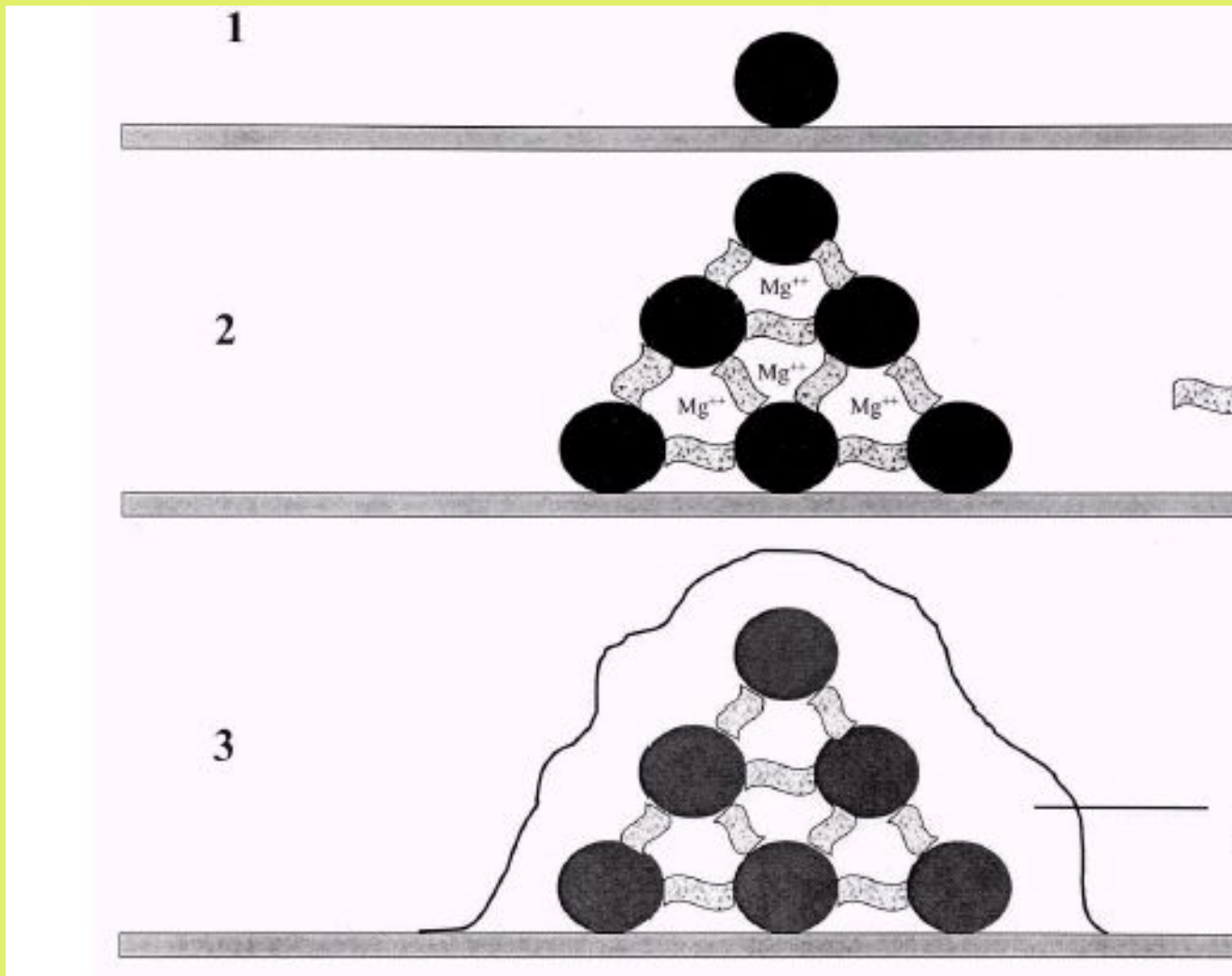
Биопленки представляют высокоорганизованные сообщества бактерий, необратимо прикрепленных к субстрату и друг к другу и защищенных продуцируемым этими клетками внеклеточным полимерным матриксом. Они снабжены каналами для водоснабжения, распределения питательных веществ между членами сообщества и удаления отходов жизнедеятельности.

Биопленки могут быть образованы бактериями одного или нескольких видов и состоят из активно функционирующих и покоящихся (некультивируемых) клеток.

Образование биопленки является одной из основных стратегий выживания бактерий в окружающей среде, поскольку в составе биопленки они защищены от антибактериальных препаратов, включая антибиотики, дезинфектанты, бактериофаги.

Многие хронические инфекции, возникновение которых связано с использованием медицинского имплантированного оборудования - катетеров, протезов, искусственных клапанов сердца, обусловлены способностью бактерий расти в виде биопленок на поверхности этих устройств.

Формирование биопленки *S. epidermidis*



polysaccharide
intercellular
adhesin (PIA) -
полисахаридный
межклеточный
антиген

Гликокаликс

В состав биопленки входят:

- КЛЕТОЧНЫЕ КЛАСТЕРЫ**
- СВОБОДНЫЕ КЛЕТКИ**
- ВНЕКЛЕТОЧНЫЙ МАТРИКС**
- МЕЖКЛАСТЕРНЫЕ КАНАЛЫ**

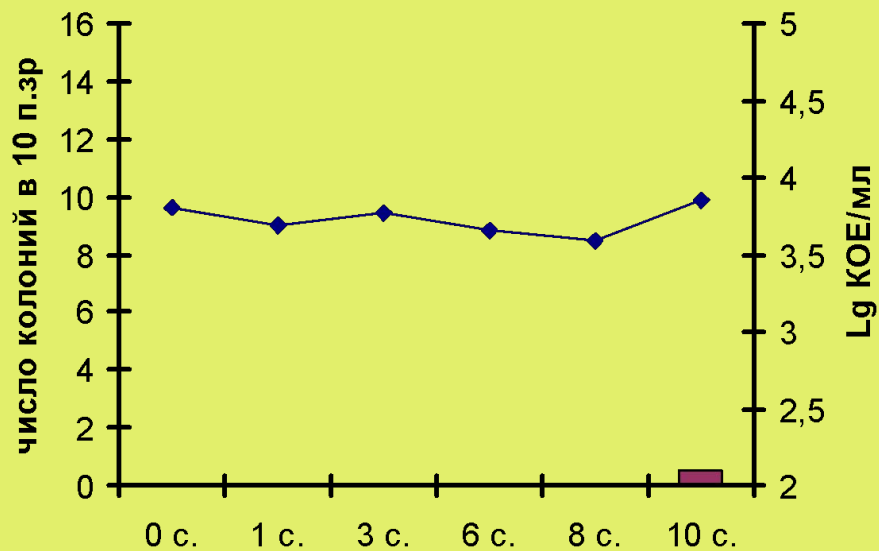
Этапы формирования биопленок

- Неспецифическая (обратимая) адгезия
- Экспрессия генов адгезии
- Вторичная специфическая (необратимая) адгезия
- Созревание биоплёнки (клеточная пролиферация, синтез гликокаликса, формирование трёхмерной структуры)

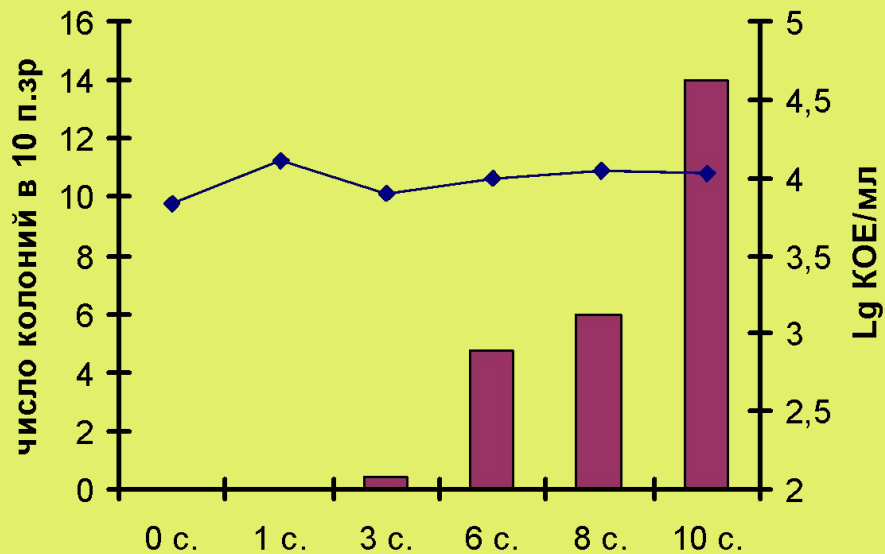
Начальные этапы формирования биопленки *S.typhimurium* на стекле, погруженном в водопроводную воду



Численность *S.typhimurium* в водопроводной воде и их колоний на погруженном в воду стекле

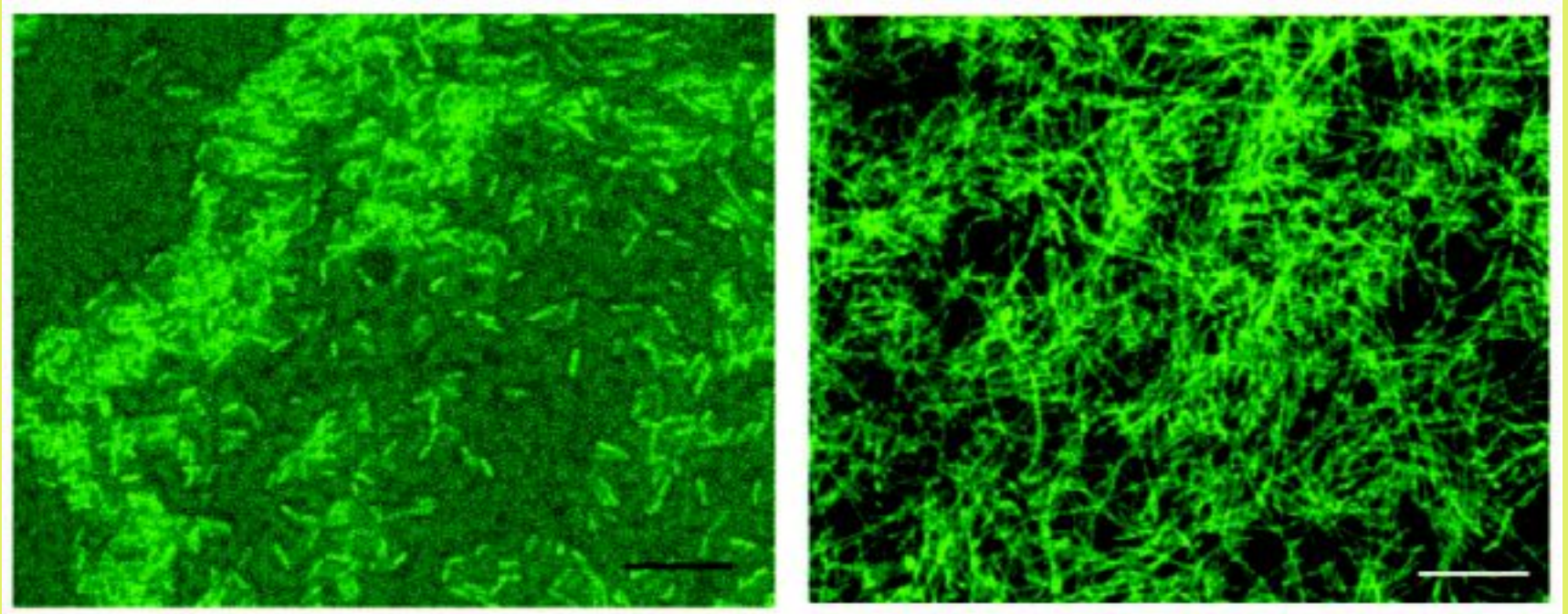


18 °C



25 °C

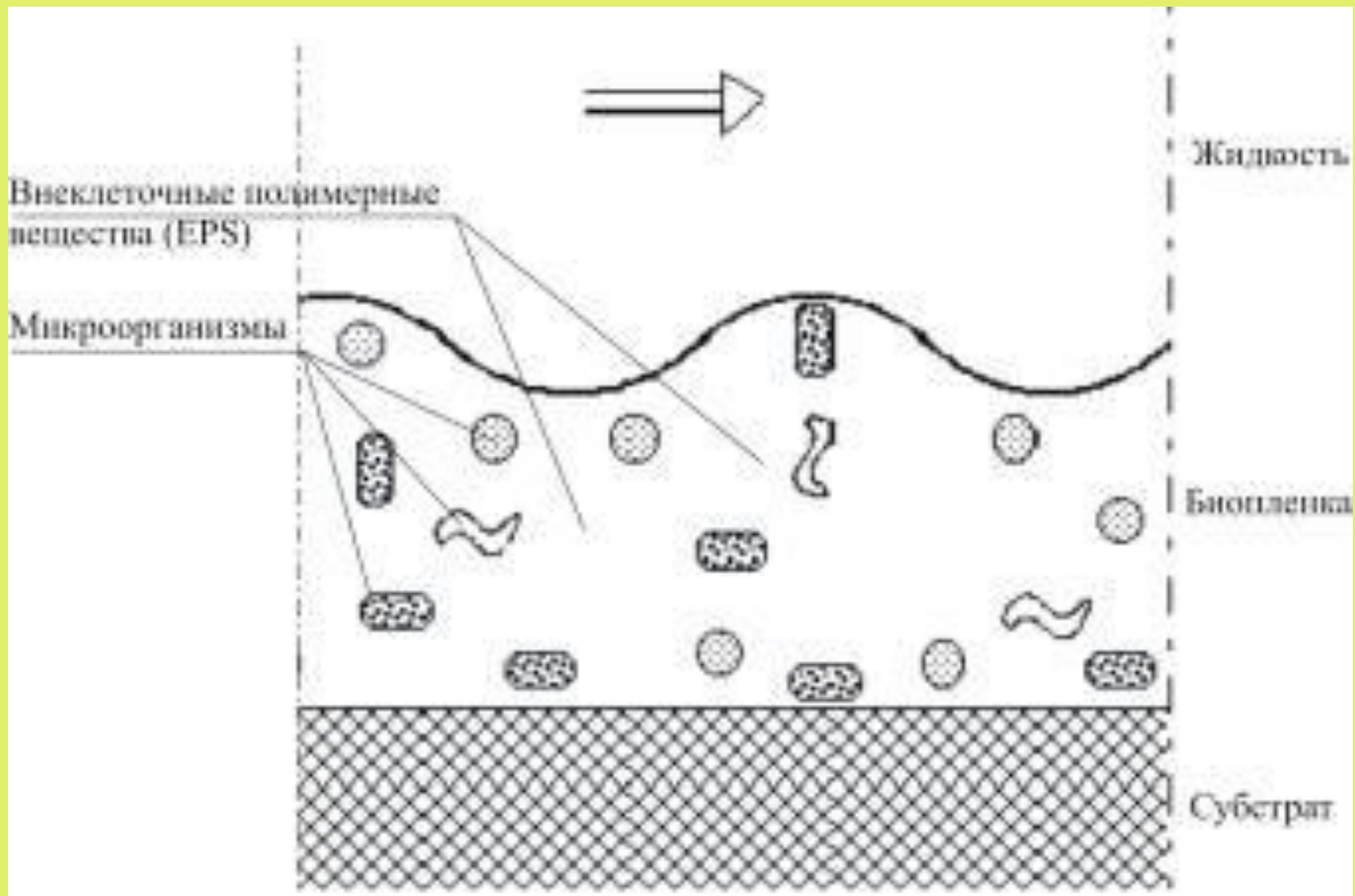
Зависимость структуры биопленки *L.pneumophila* от температуры формирования



25 °С, 8 дней

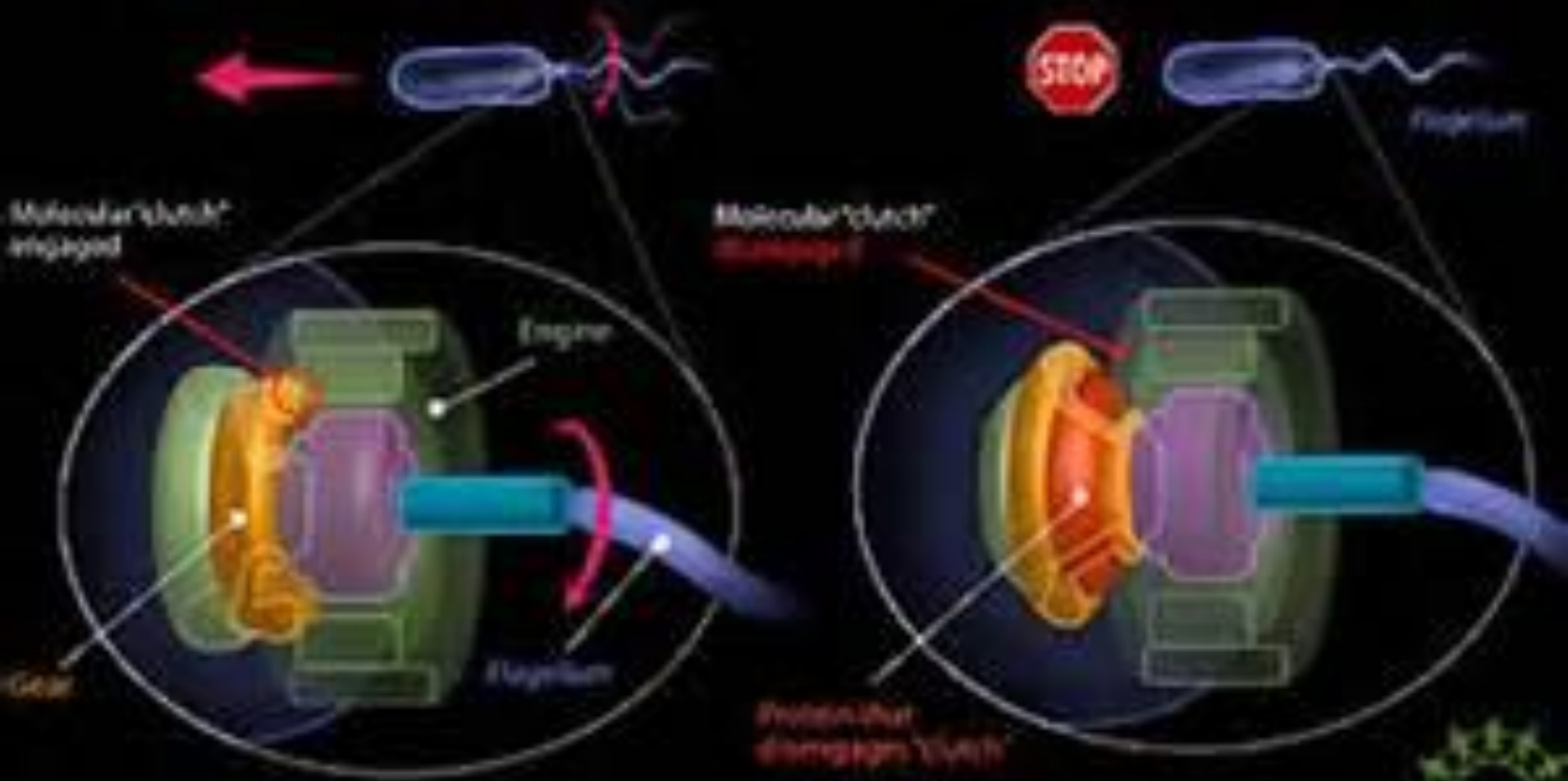
37 °С, 8 дней

Структура биопленки



BACTERIUM SWIMMING

BACTERIUM STATIONARY

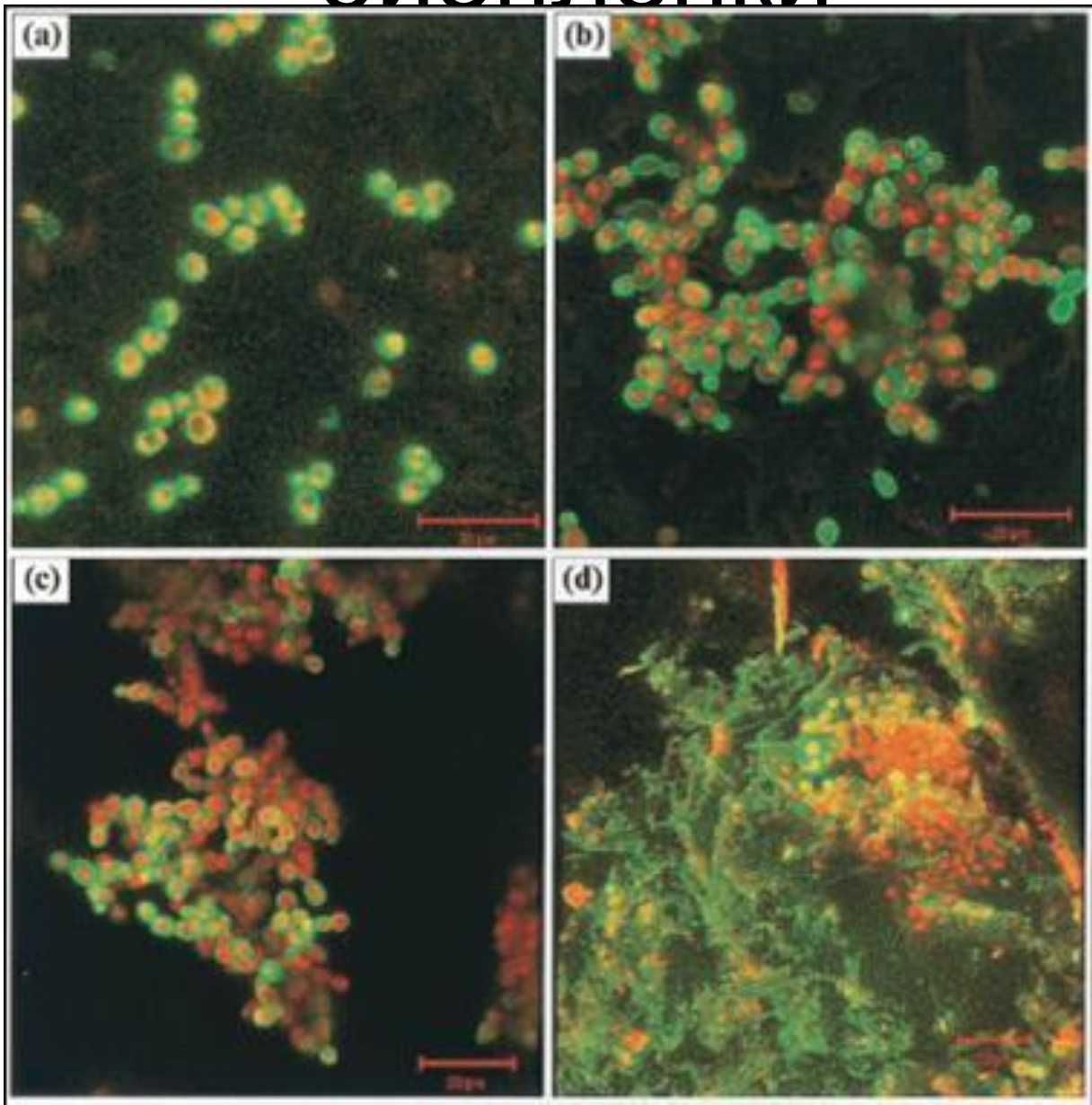


FLAGELLAR "CLUTCH" ENGAGED

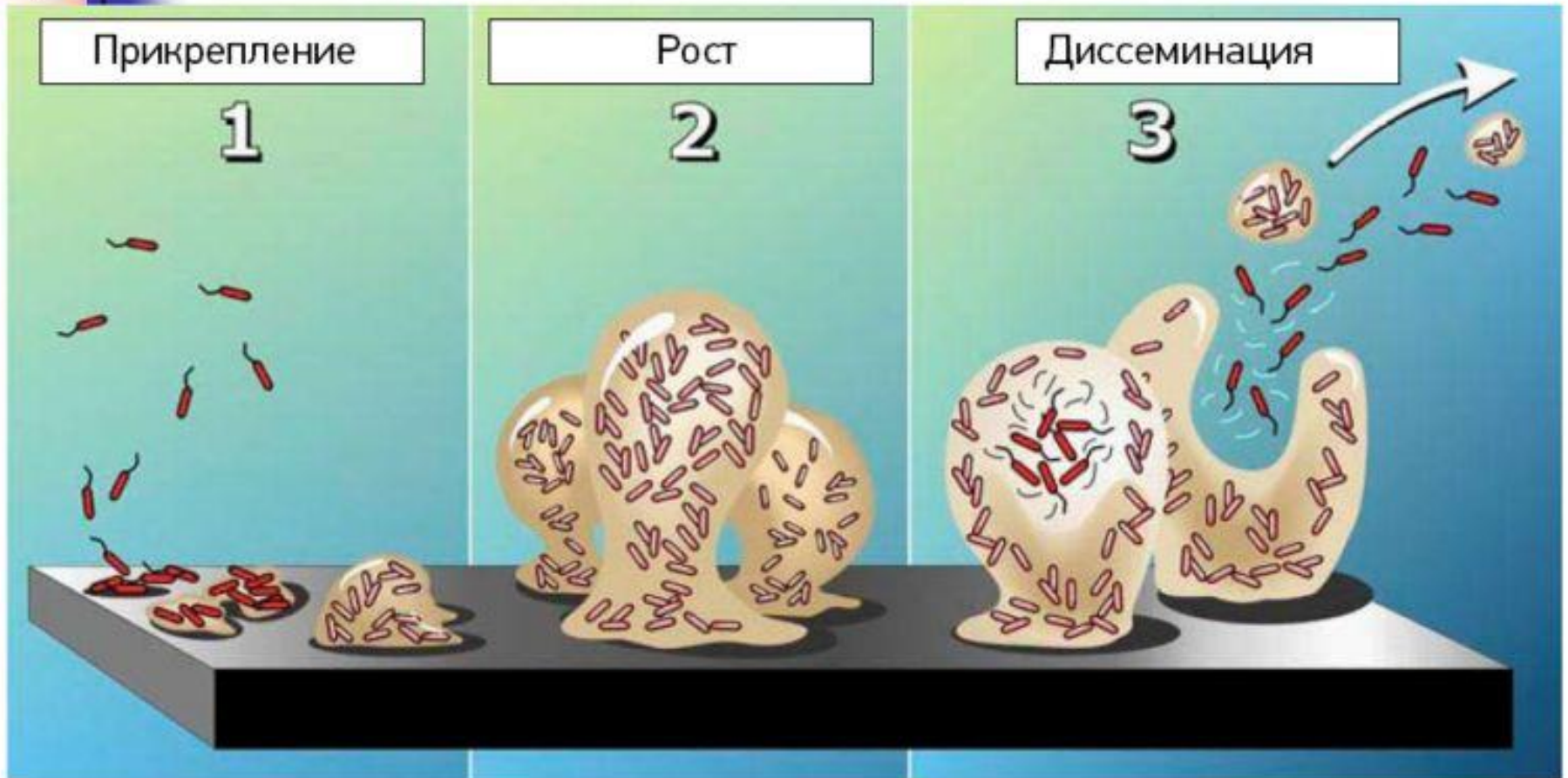
"CLUTCH" DISENGAGED

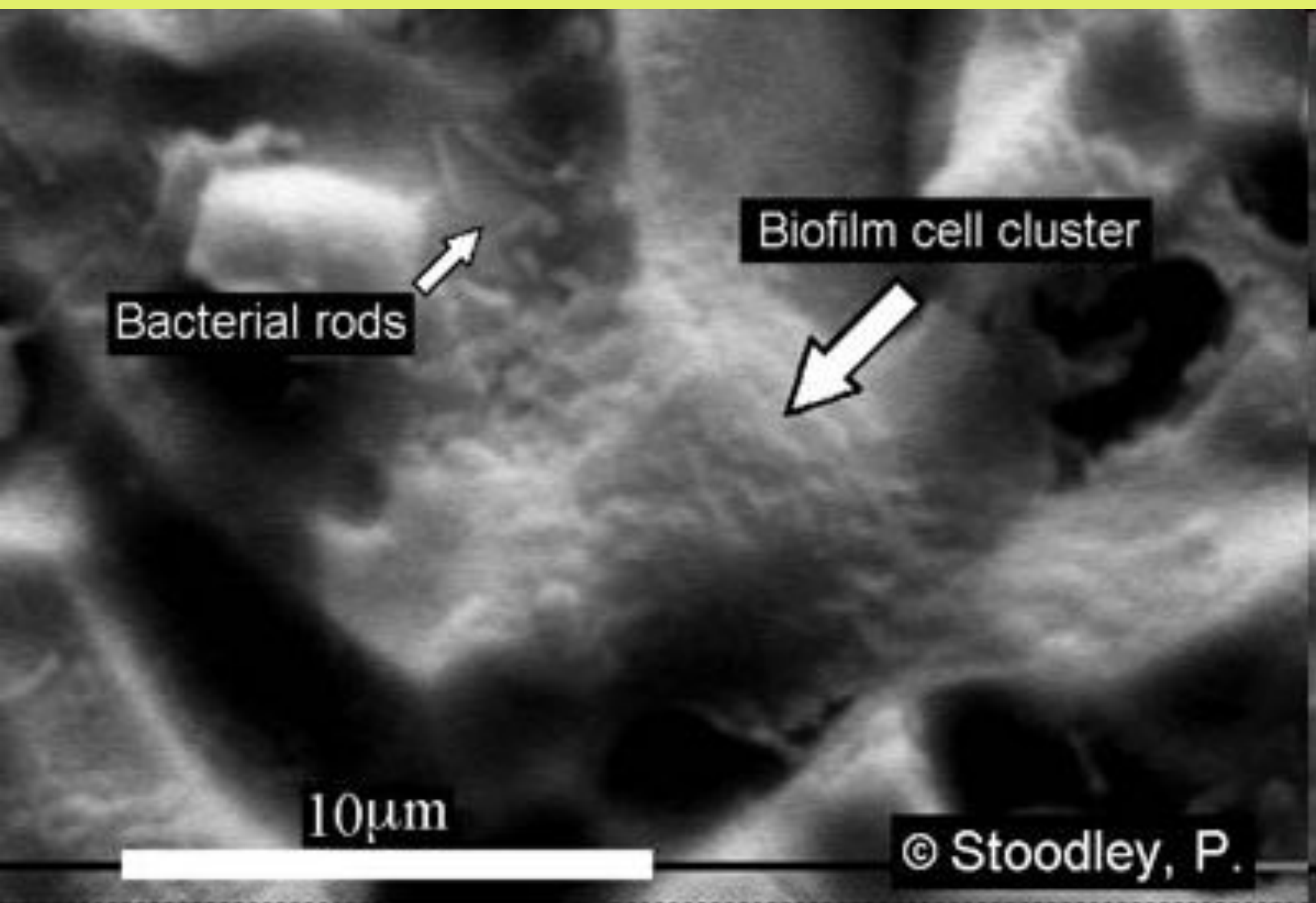


Этапы формирования биопленки



Стадии формирования биопленки





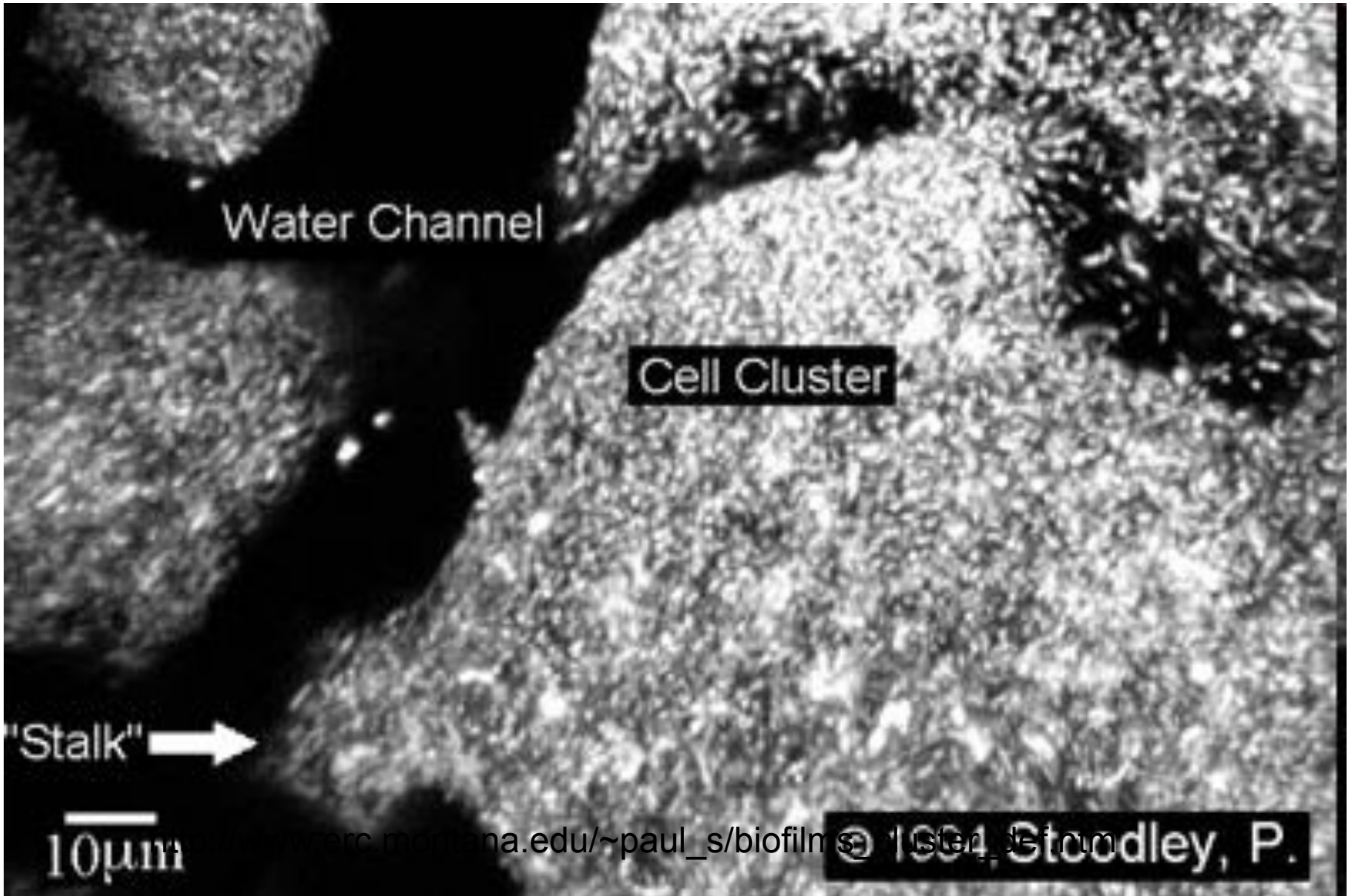
Bacterial rods

Biofilm cell cluster

10µm

© Stoodley, P.

Структура биоплёнки

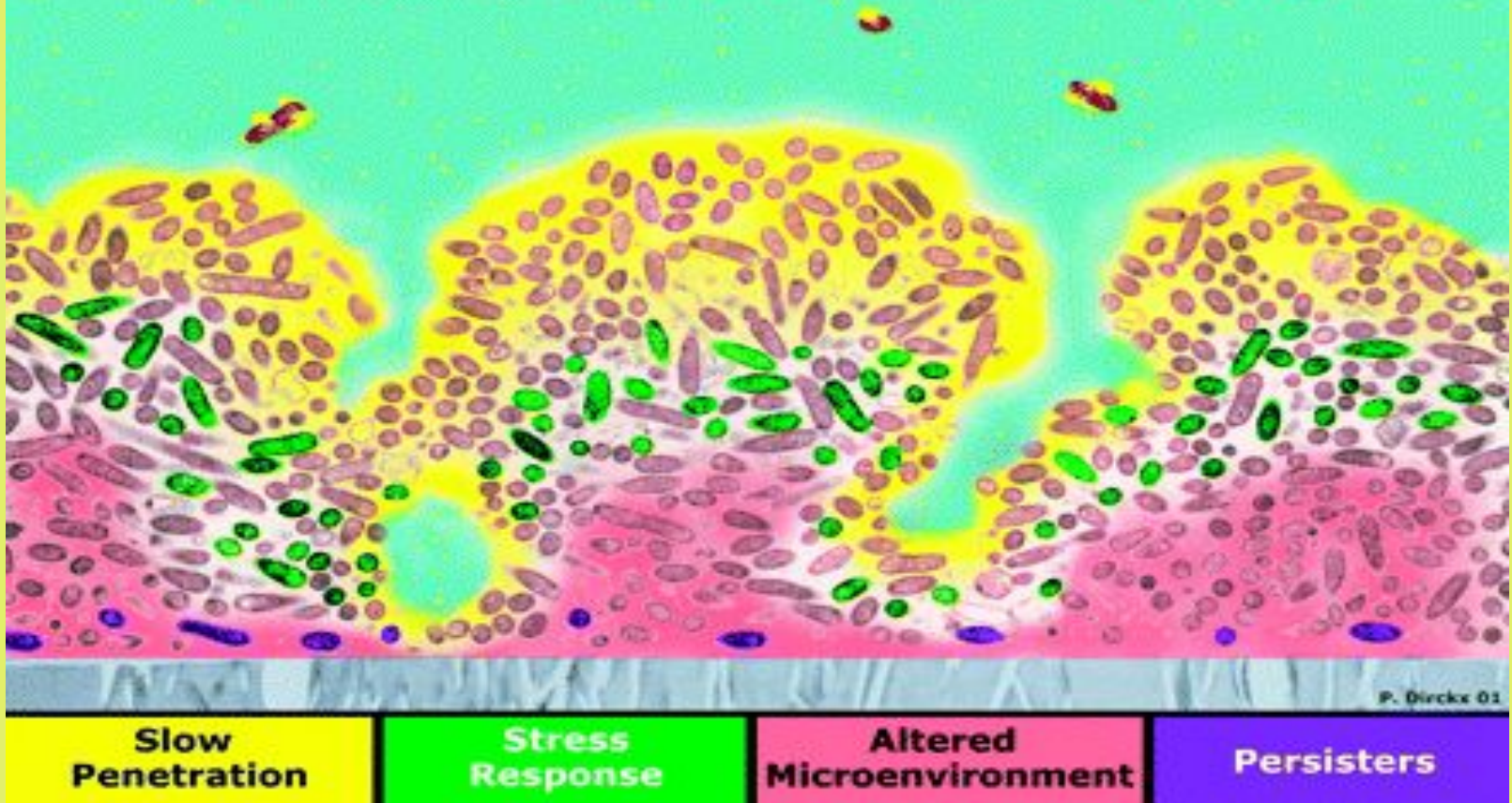


Преимущества существования в составе биопленки

- Более высокая доступность питательных веществ
- Возможность «кондиционирования» условий существования
- Большая устойчивость к внешним микробоцидным воздействиям

Модель организации «защиты» бактерий в биопленках (Chambless D.J, et al, 2006)

Mechanisms of Biofilm Tolerance



МИКРООРГАНИЗМЫ ЗУБНОГО НАЛЁТА И ПАТОГЕНЕЗ ПАРОДОНТИТА



Виды поддесневого налета и их характеристика

Зубоприсоединенный налет — микроорганизмы присоединены к поверхности зуба

Среди бактерий доминируют грамположительные палочки

Микроорганизмы располагаются вдоль апроксимальной поверхности зуба на определенной дистанции от присоединенного эпителия десны

Микроорганизмы генерируют в цемент корня зуба, вызывая кариес цемента корня

Зубоприсоединенный налет минерализуется и образуются поддесневые камни

Неприсоединенный — микроорганизмы свободно расположены в десневой бороздке

Микроорганизмы непостоянны и служат резервуаром для дальнейшего развития воспаления

Бактерии свободно циркулируют в пределах десневой бороздки по направлению к присоединенному эпителию десны

Микроорганизмы способны вызывать развитие хронических форм гингивита

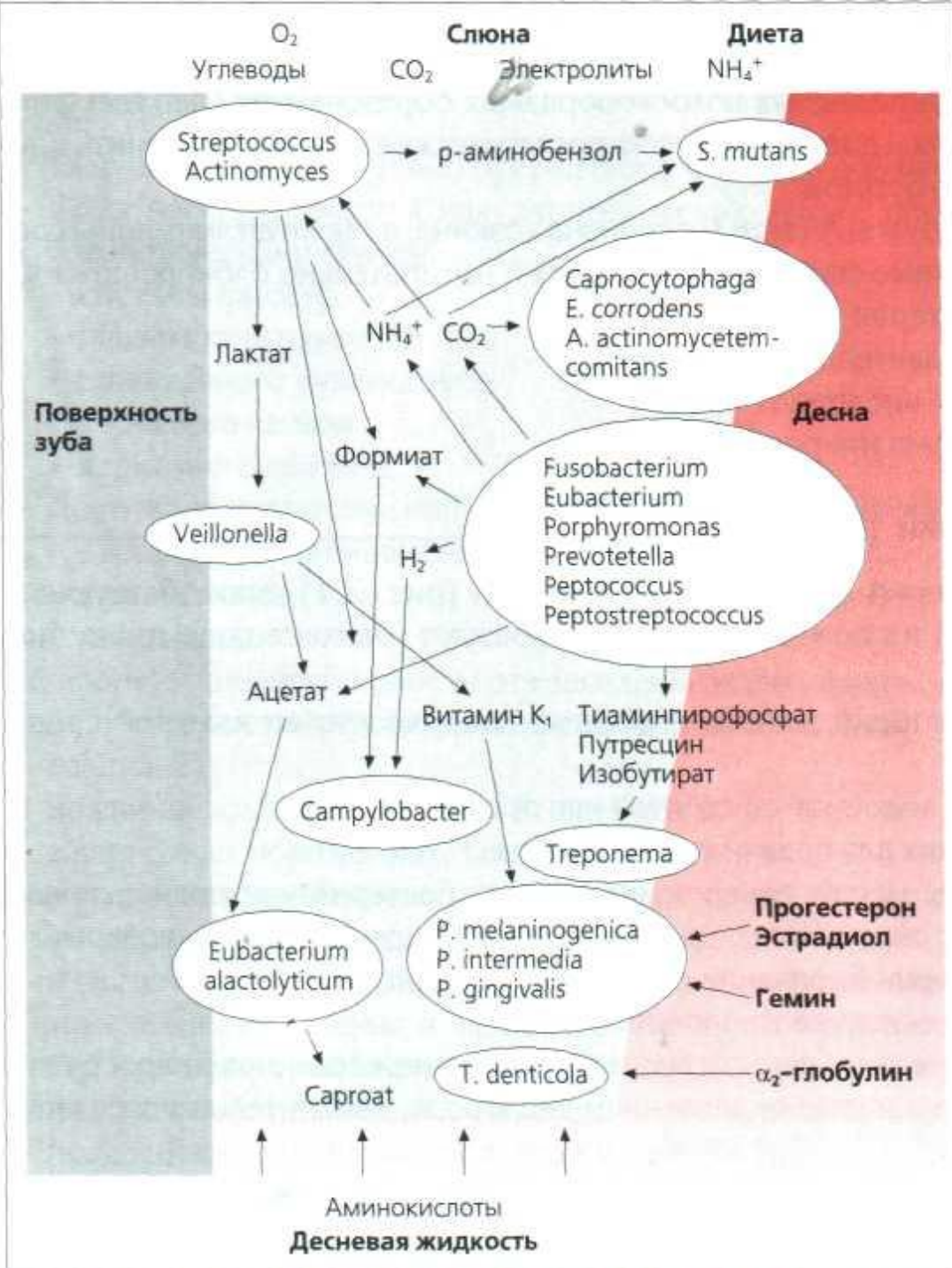
Эпителиально-присоединенный налет — микроорганизмы присоединены к эпителию десны

Среди бактерий преобладают — грамотрицательные (кокки, спирохеты и др.)

Микроорганизмы проникают в соединительнотканную костную структуру периодонта

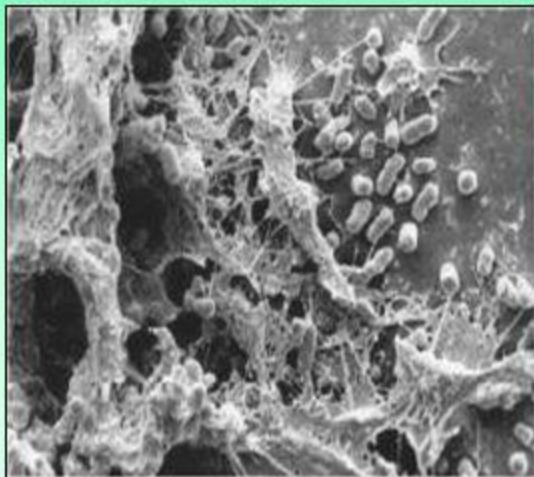
Микроорганизмы могут проникать в эпителий и в соединительную ткань

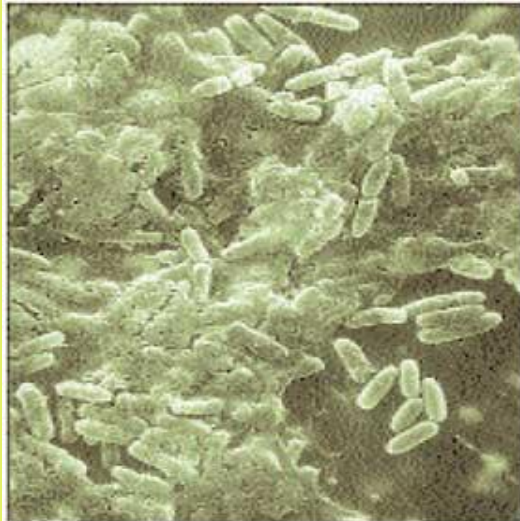
Микроорганизмы ведут к развитию гингивитов и различным формам болезней периодонта



Биопленки

(негативное действие)





▲ Биопленка на поверхности катетера. Электронная микроскопия. (<http://webs.wichita.edu>)



▲ Скопления бактерий, колонизирующих муцин толстого кишечника (University of Dundee, <http://www.dundee.ac.uk/>)

▼ Биопленка на стенке кишечника. Электронная микроскопия. (<http://webs.wichita.edu>)



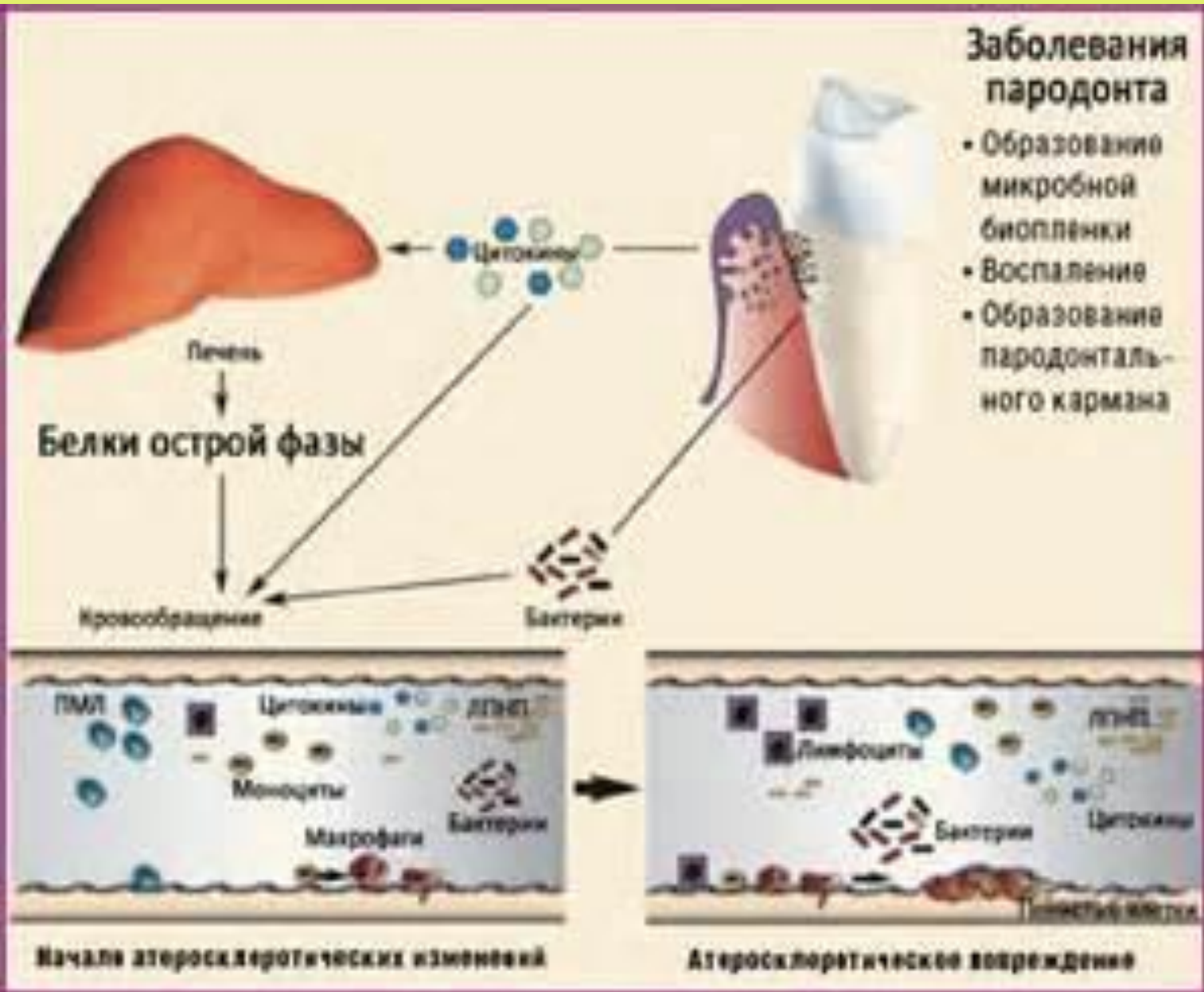
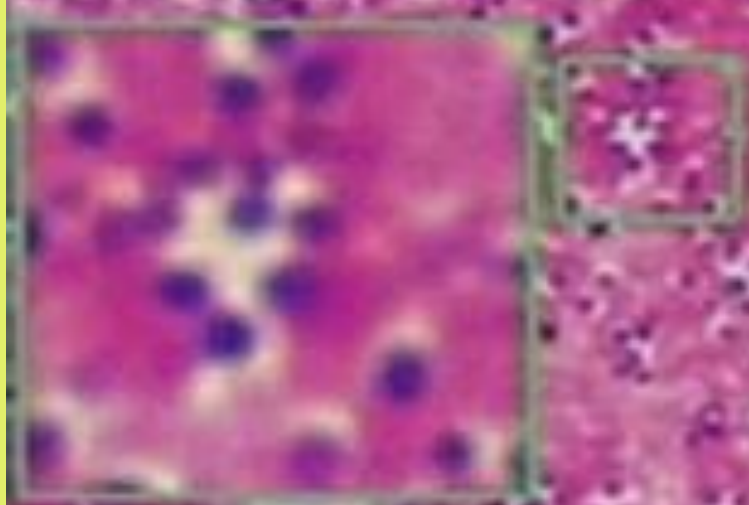


Рис. 2. Предполагаемый механизм связи между развитием атеросклероза сосудов и пародонтитом



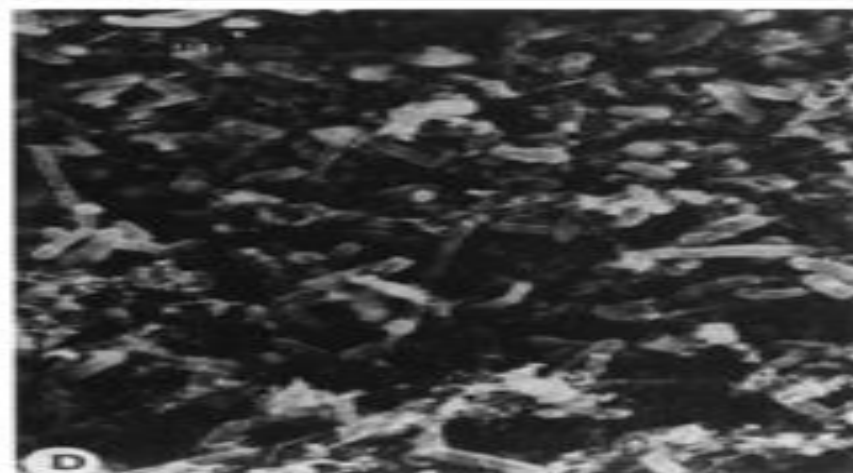
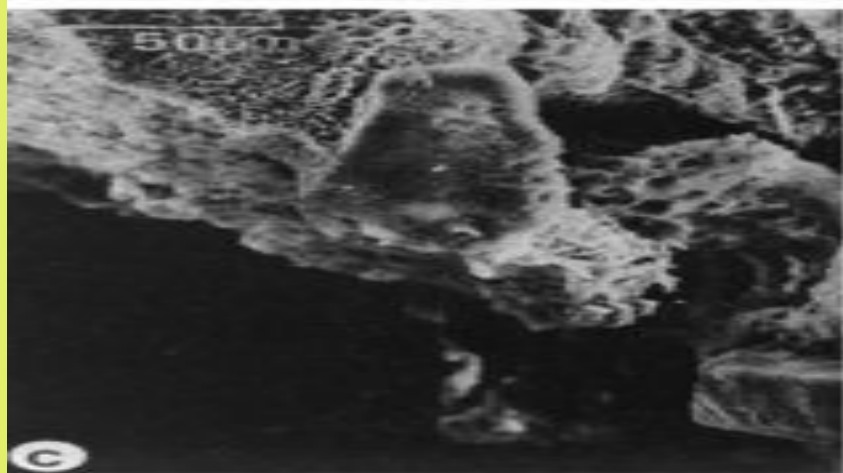
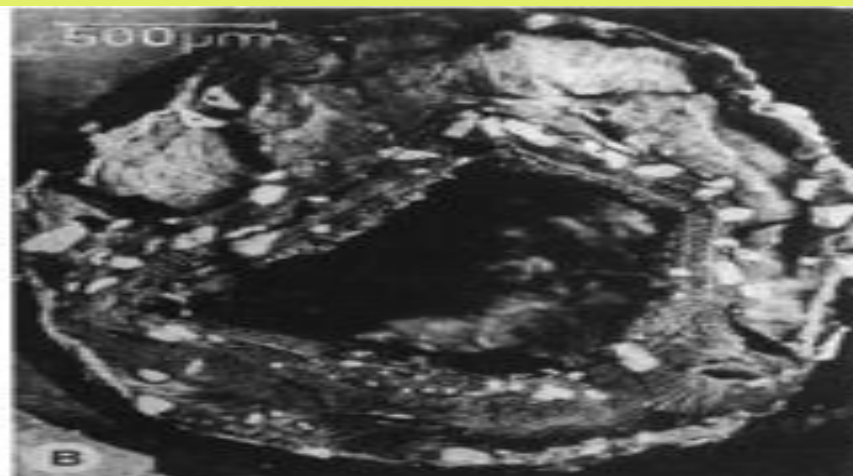
БИОПЛЕНКА *S.epidermidis* с клапана сердца при ИЭ



- Поры и каналы, пронизывающие всю биопленку – образно можно сравнить с *кровеносной системой ткани биопленки*
- Каналы обеспечивают распространение питательных веществ и *обмен продуктами метаболизма* с окружающей жидкостью

Costerton & al 1995


Окклюзия мочевого катетера червеобразной массой бактериальной биопленки



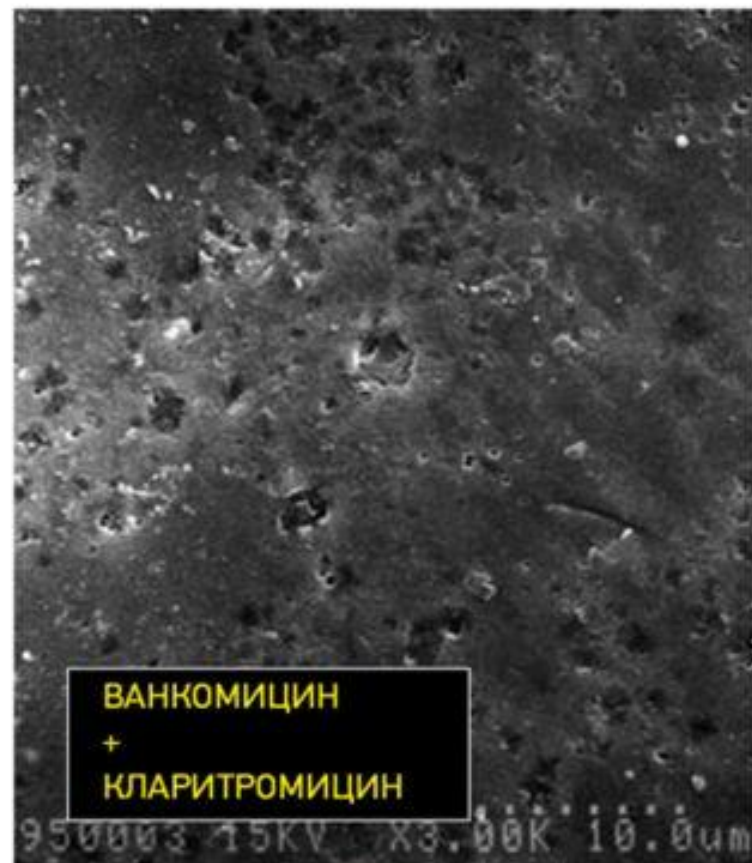
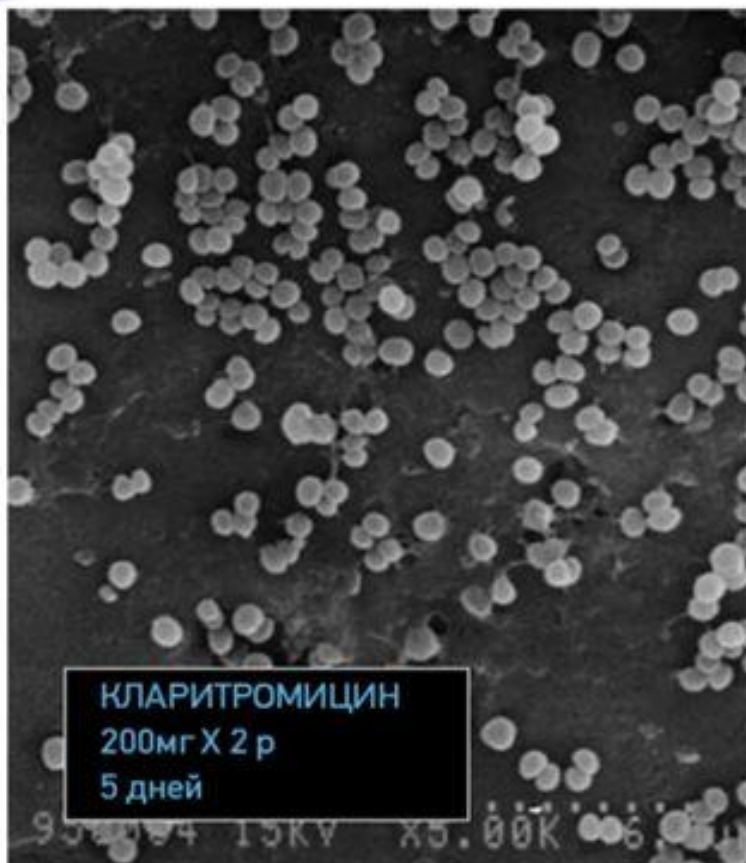


Классы антибактериальных препаратов, эффективность которых повышалась при добавлении кларитромицина, благодаря его способности разрушать биопленки:

- Фторхинолоны 1,7 (офлоксацин, левофлоксацин)
- Гликопептиды 2,3 (ванкомицин)
- Аминогликозиды 2,8 (гентамицин, тобрамицин)
- Цефалоспорины 3,4,6,9 (цефазолин, цефуроксим, цефотиам, цефтазидим)
- Карбапенемы 5 (имипенем/циластатин)

- 
-
- Фрагментацию биопленки обеспечивают Линезолид и Даптомицин, которые целесообразно использовать при недостаточной эффективности ванкомицина в ОРИТ

MRSA-экспериментальная инфекция изменение биопленки



Henk J. Busscher and Henny C. van der Mei

Microbial Adhesion in Flow Displacement Systems

**CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS,
Jan. 2006, Vol. 19, No. 1 p. 127–141**

Система региональных нормативных документов
градостроительной деятельности в Санкт-Петербурге

**РЕГИОНАЛЬНЫЕ ВРЕМЕННЫЕ
СТРОИТЕЛЬНЫЕ НОРМЫ**

**ЗАЩИТА
СТРОИТЕЛЬНЫХ КОНСТРУКЦИЙ,
ЗДАНИЙ И СООРУЖЕНИЙ
ОТ АГРЕССИВНЫХ ХИМИЧЕСКИХ
И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ
ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ**

**РВСН 20-01-2006 Санкт-Петербург
(ТСН 20-303-2006 Санкт-Петербург)**

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ

Правительство Санкт-Петербурга
Санкт-Петербург
2006

Микробиологические исследования, предусмотренные РВСН 20-01-2006 Санкт-Петербург

- МАФАМ
- нитрифицирующие бактерии
- железобактерии
- тиобациллы и сульфатредуцирующие бактерии
- грибы
- сканирующая микроскопия
(дополнительно, при необходимости)

Микроорганизмы, часто входящие в состав природных биопленок

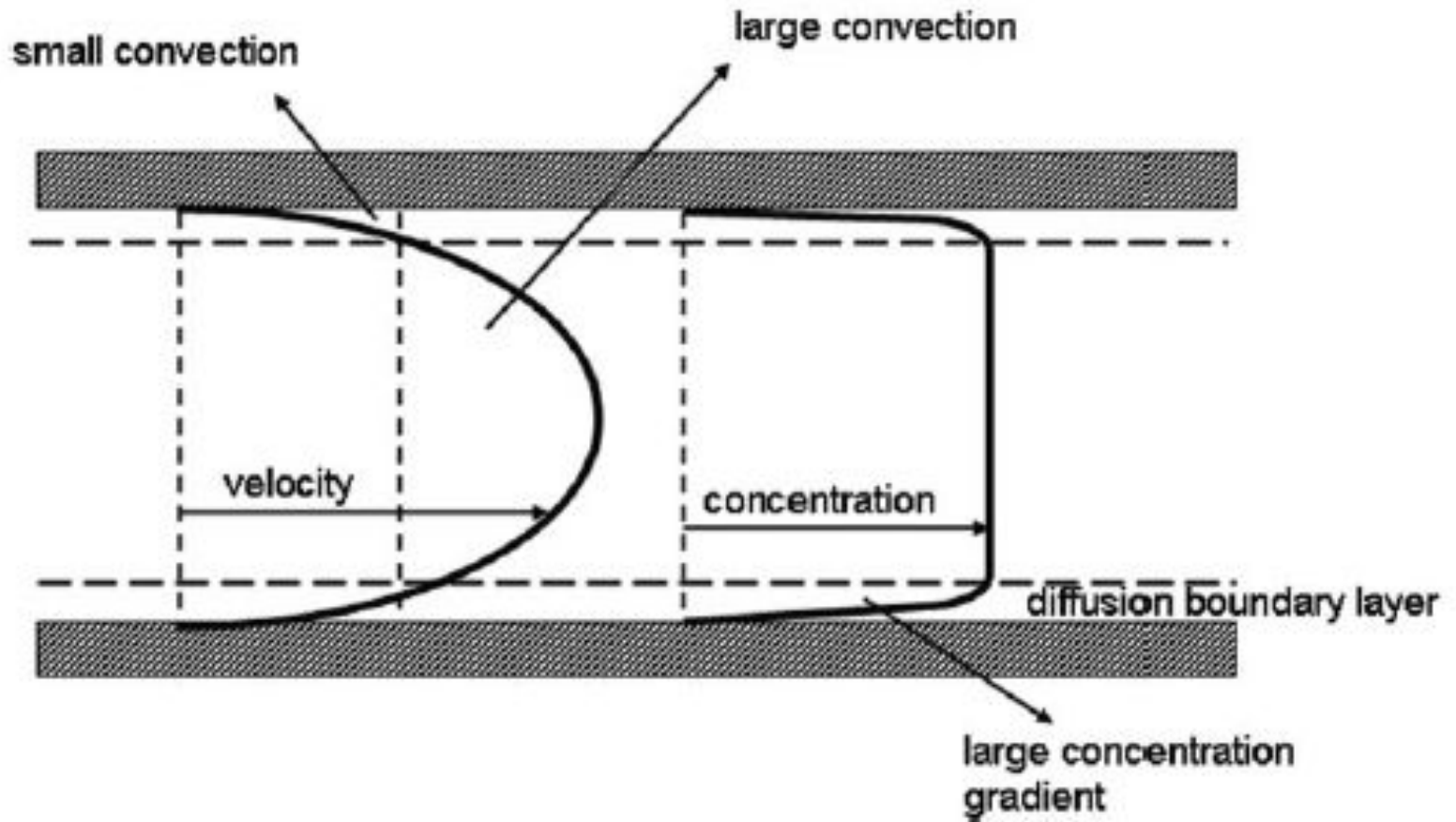
- **железобактерии:** Gallionella, Leptothrix, Crenothrix, Siderocapsa, Arthrobacter
- **нитчатые зооглейные микроорганизмы:** Sphaerotilus dichotomus
- **сульфатредуцирующие микроорганизмы:** Desulfovibrio и Desulfotomaculum
- **гетеротрофные бактерии:** Pseudomonas, Aeromonas, Alcaligenes, Acinetobacter, Arthrobacter, Bacillus, Flavobacterium, Nocardia, Sphingomonas, Agrobacter,
- **грибы:** Cladosporium, Phoma, Alternaria, Exophiala, Aspergillus, Penicillium, Cephalosporium

Pseudomonas fluorescens в трубе из нержавеющей стали:

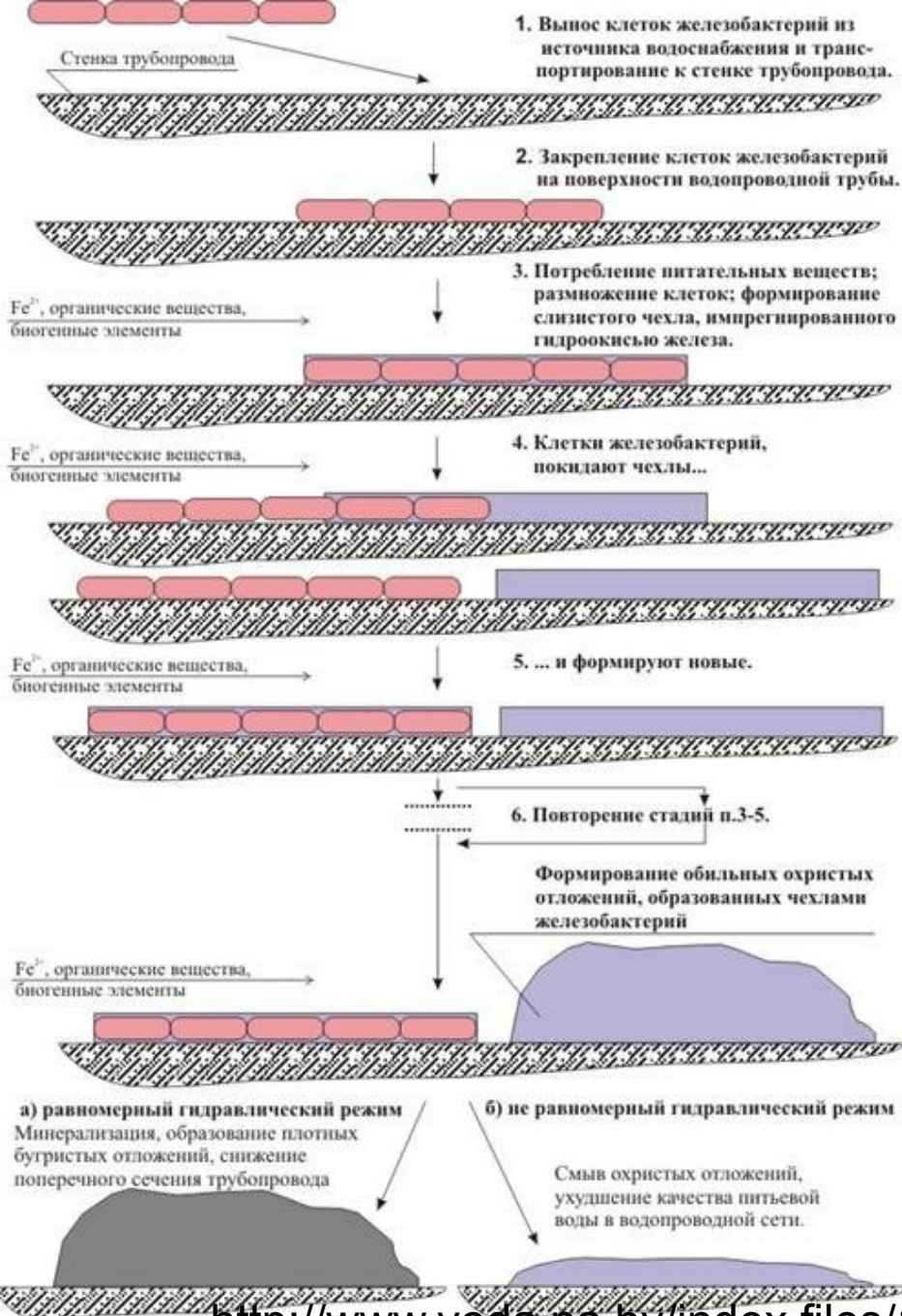
- ***не прикрепляется к стенке при скорости отрыва (shear rates) 6000 to 8000 s⁻¹, что эквивалентно усилию сдвига (to shear forces) 6x10⁻³ and 8x10⁻³ nN)***
- ***смывается со стенки при скорости отрыва 12000 s⁻¹, что эквивалентно усилию сдвига 12x10⁻³ nN)***

Rutter, P. R., and B. Vincent. 1988. Attachment mechanisms in the surface growth of microorganisms, p. 87–107. *In* M. J. Bazin and J. I. Prosser (ed.), *Physiological models in microbiology*. CRC Press, Boca Raton, Fla.

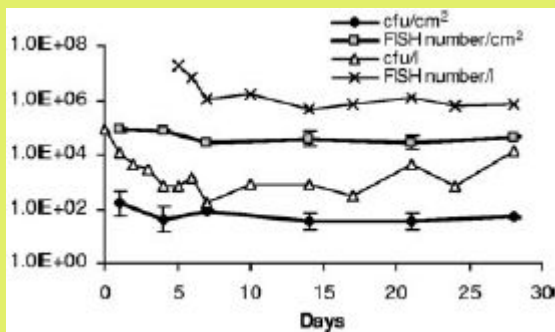
Изменение концентрации бактерий и скорости ламинарного потока в зависимости от глубины



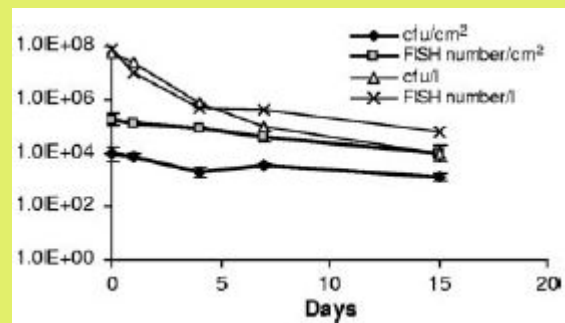
Формирование биопленки железобактериями



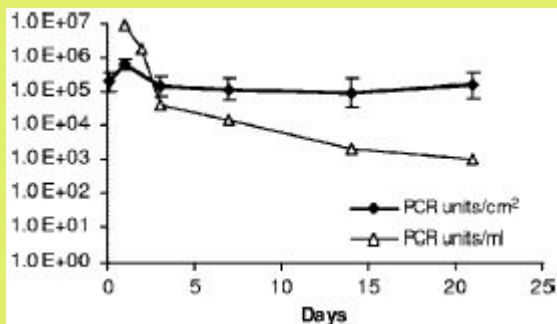
Сроки выявления микроорганизмов в биопленке и истекающей из реактора воде



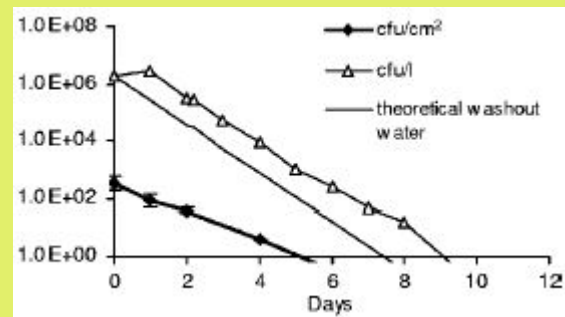
Мycobacterium avium



Legionella pneumophila



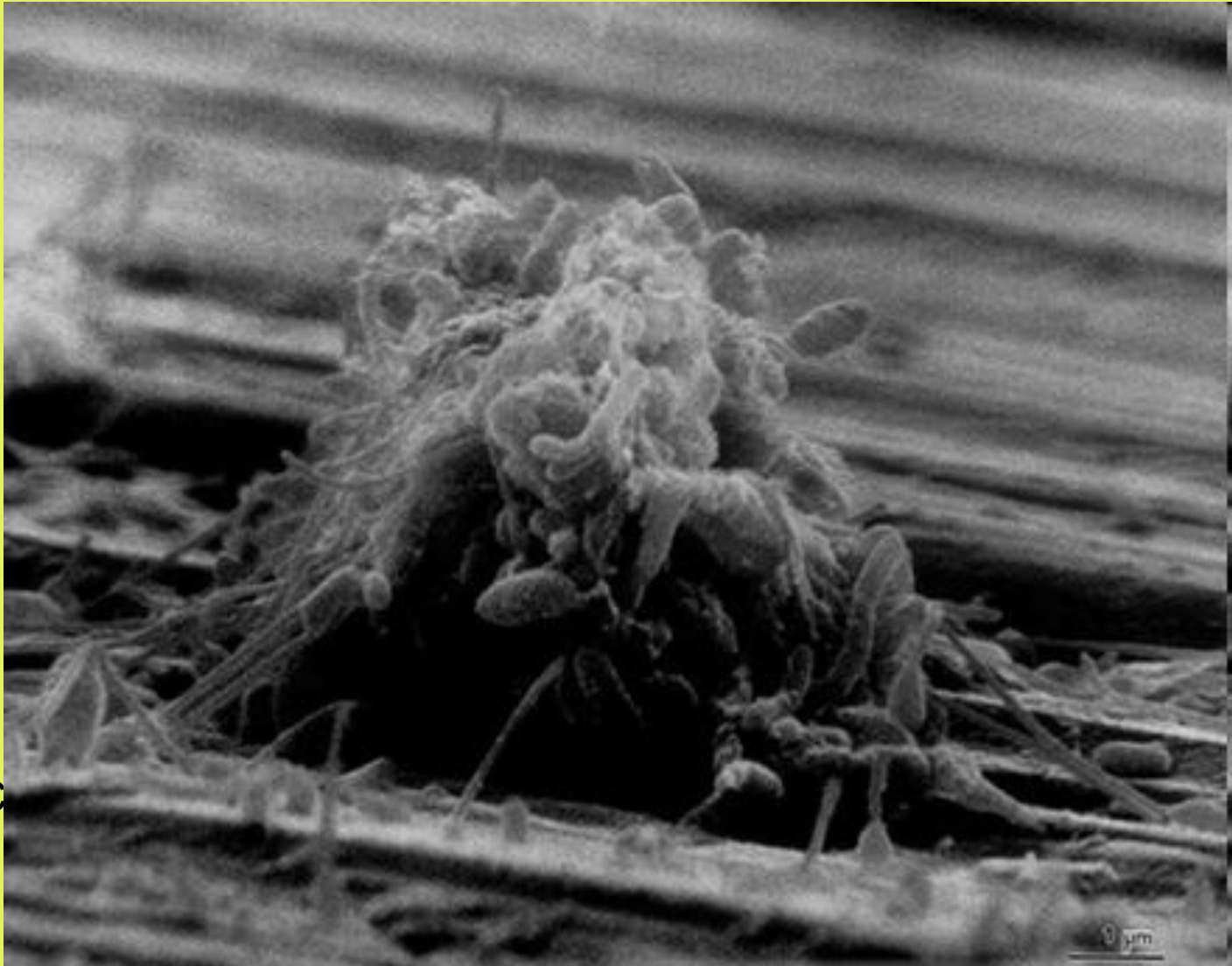
Canine calicivirus (CaCV)



Escherichia coli

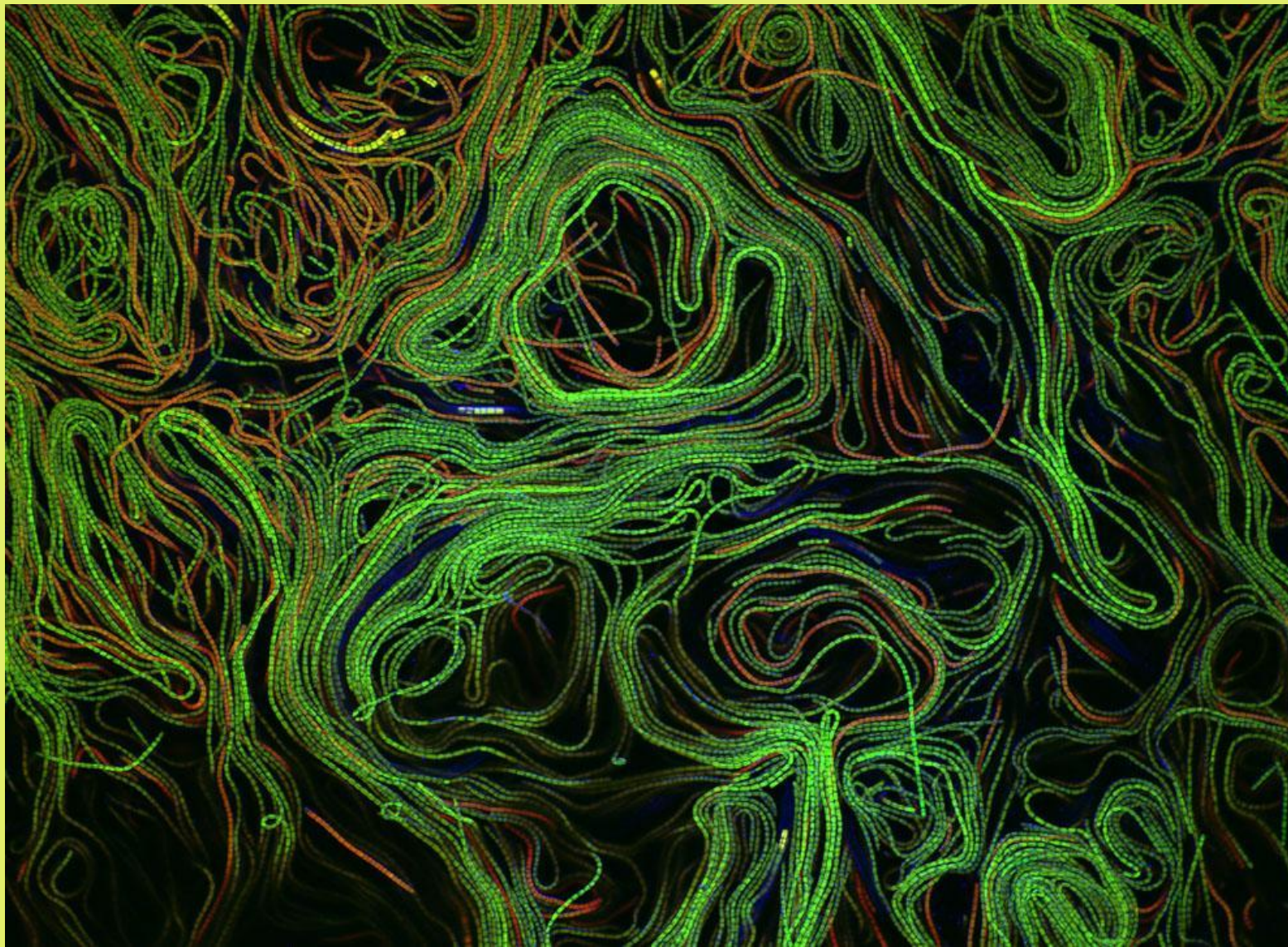
FISH - Fluorescence in situ hybridization

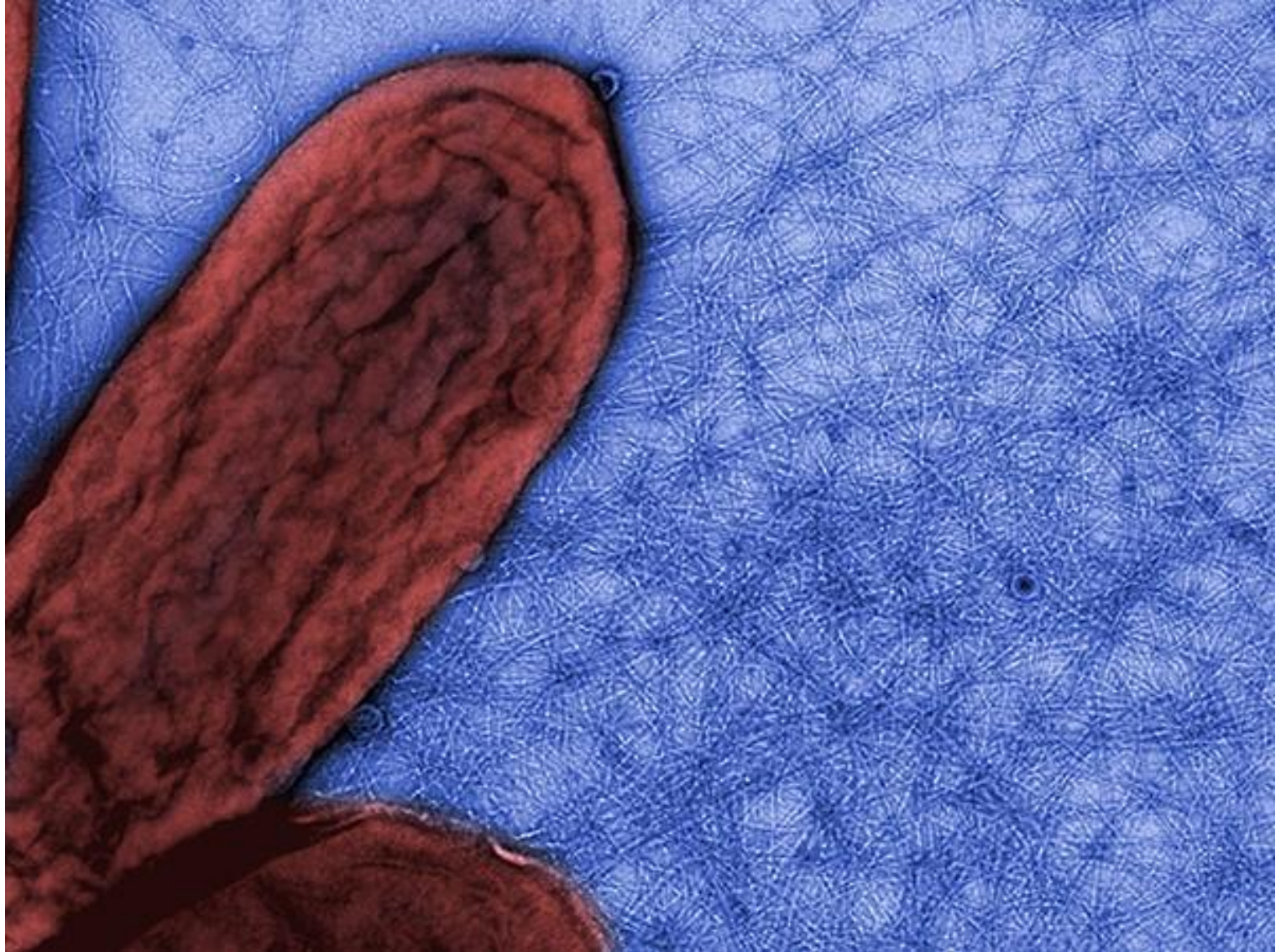
Скан биопленки на металлической поверхности промышленного водовода



С

Биопленка водорослей





Пути предупреждения формирования биопленки

- охрана водоисточников от загрязнений
- удаление биогенных веществ (органических и неорганических)
- применение материалов с минимальным содержанием биогенных веществ
- выбор оптимальных гидродинамических режимов
- применение защитных покрытий, препятствующих адгезии
- уничтожение сформировавшихся биообрастаний

Количество Легионелл в моделях систем водоснабжения в зависимости от материала

Температура а °С	Материал	Содержание <i>Legionella pneumophila</i>
20	Медь	0
	Полибутилен	665
	ХПВХ	2130
40	Медь	2000
	Полибутилен	112000
	ХПВХ	68000
50	Медь	0
	Полибутилен	890
	ХПВХ	60
60	Медь	0
	Полибутилен	0
	ХПВХ	0

Физические методы удаления биопленок

- Санация (песчано-цементной смесью)
- Механическое удаление (соскабливание)
- Промывание водой $>80^{\circ}$

Химическое удаление биопленок

- Хлор
- Хлорамин
- Гипохлорит натрия
- Диоксид хлора
- Перекись водорода
- Озон
- Полигуанидины

Легионелла?
Тогда вам медные трубы.

