

**Модель двувидовой бактериальной биоплёнки *Pseudomonas chlororaphis* и *Escherichia coli* для тестирования антибиоплёночных препаратов.**

**Научный руководитель – Митина Екатерина Романовна**

**Сорокин Владимир Алексеевич**

*Студент (бакалавр)*

МИРЭА - Российский технологический университет, Институт тонких химических технологий, Москва, Россия

*E-mail: vladimir.sorokin.8704@gmail.com*

Биоплёнки - преимущественная форма существования бактерий в природе, обеспечивающая повышенную устойчивость микроорганизмов к неблагоприятным условиям окружающей среды и биоцидным веществам. Наиболее устойчивыми к действию антибиотиков являются поливидовые биоплёнки. Многие бактериальные инфекции, трудно поддающиеся терапии, обусловлены развитием в организме биоплёнок, включающих различные микроорганизмы.

В настоящей работе была разработана модель бинарной биоплёнки бактерий *Pseudomonas chlororaphis* и *Escherichia coli*. Данные микроорганизмы были выбраны, так как являются непатогенными аналогами штаммов, часто обнаруживающихся при бактериальных инфекциях.

Биоплёнки культивировали в 96-луночных планшетах в течение 72 часов. Для получения двувидовой биоплёнки инокуляты *P. chlororaphis* и *E. coli* смешивали в равных объемах. Общее количество биоплёнки определяли окрашиванием 0,1% водным раствором кристаллического фиолетового (КФ) с последующей экстракцией сорбированного красителя этанолом, метаболическую активность клеток определяли окрашиванием тетразолиевым красителем МТТ, восстанавливаемым жизнеспособными клетками до формазана, который экстрагировали диметилсульфоксидом. Оптические плотности (ОП) экстрактов определяли при 595 нм. Эксперименты проводили в 8 повторях [1].

Моновидовая биоплёнка *E. coli* к 48 часам культивирования теряла метаболическую активность - ОП<sub>595</sub> экстрактов формазана составили  $0,073 \pm 0,003$  и  $0,001 \pm 0,005$  для 24 и 48 часов, соответственно, общее количество биоплёнки не увеличивалось (ОП<sub>595</sub> экстрактов КФ составили  $0,274 \pm 0,057$  для 24 часов и  $0,278 \pm 0,039$  для 48 часов). Биоплёнка *P. chlororaphis* в данных условиях не образовывалась, однако для смешанной биоплёнки обнаружен синергетический эффект: для 24-часовой биоплёнки ОП<sub>595</sub> экстрактов формазана составила  $0,091 \pm 0,004$ , а экстрактов КФ -  $0,374 \pm 0,048$ . После 48 часов метаболическая активность смешанной биоплёнки также уменьшалась, а общее количество оставалось постоянным. 72-часовые биоплёнки метаболической активности не проявляли.

Таким образом, в ходе работы подобраны условия культивирования бинарной биоплёнки *P. chlororaphis* и *E. coli*, которые при совместном росте проявляют синергию в образовании биоплёнки, что часто наблюдается при развитии бактериальных инфекций, обусловленных поливидовыми биоплёнками. В дальнейшем полученная модель будет использоваться для поиска антибиоплёночных агентов, эффективных для поливидовых биоплёнок.

### **Источники и литература**

- 1) Плакунов В.К. Универсальный метод количественной характеристики роста и метаболической активности микробных биопленок в статических моделях // Микробиология. 2016. Т. 85. № 4. С. 484–489