

INFLUENCE OF NANOSELENIUM ON THE FORMATION OF BIOFILM *E. FAECALIS* AND *C. ALBICANS* IN ASSOCIATION

Sinetar E.A., Pokas E.V., Avdeeva L.V.

ВПЛИВ НАНОСЕЛЕНУ НА БІОПЛІВКОУТВОРЕННЯ *E. FAECALIS* ТА *C. ALBICANS* В АСОЦІАЦІЇ

В

ідомо, що інфекційні захворювання викликають різні види мікроорганізмів або їхні асоціації, що здатні утворювати біоплівки. Найчастіше в етіопатогенезі запальних процесів різної локалізації провідну роль відіграють представники родів *Staphylococcus*, *Enterococcus*, родини *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, дріжджоподібні гриби роду *Candida*, які можуть міститись у складі біоплівок у моно- та мікст-культурах. Бактерії у складі біоплівок у 1000 разів стійкіші до антибактеріальних препаратів та інших факторів зовнішнього середовища порівняно з тими ж бактеріями у планктонній формі [1].

Велика увага приділяється ролі біоплівок у розвитку катетер-асоційованих інфекцій сечовивідних шляхів (КАІСВШ). Особливість патогенезу катетер-асоційованих інфекцій полягає у тому, що, з одного боку, штами бактерій — потенційних збудників запального процесу — мають здатність до адгезії, з іншого боку, сама установка катетера та його анатомічне розташування створюють умови для контамінації катетерів мікроорганізмами з подальшим утворенням біоплівки. Процес утворення біоплівки складний і залежить від багатьох факторів: матеріалу, з якого виготовлено катетер, гідродинамічних умов, фізичних і хімічних властивостей рідин, що контактують з катетером, біологічних властивостей мікроорганізмів [2]. Поширення біоплівкоутворюючих штамів обумовлює необхідність їх всебічного вивчення, а також розробки напрямів боротьби

з біоплівками, зокрема підходів до запобігання їх утворення.

Раніше нами було встановлено, що утворення біоплівки *in vitro* на поверхнях катетерів, що найчастіше використовують у медичній практиці, залежить від матеріалу катетера, а також від експозиції у суспензії мікроорганізмів. Також показано, що за умов катетеризації 48 годин і більше підвищується ризик колонізації сечовивідних шляхів *C. albicans* та розвитку інфекційних ускладнень. Це стало підставою вважати, що силіконові катетери непридатні для тривалої катетеризації, оскільки на їхніх фрагментах спостерігався більший рівень адгезії клітин *C. albicans* порівняно з латексними катетерами [3].

У літературних джерелах описують різні заходи профілактики катетер-асоційованих інфекцій сечовивідних шляхів (КАІСВШ) для запобігання розвитку біоплівок на катетерах. Останніми роками широко використовують препарати з наночастинок різних металів. На думку авторів, протимікробне селенове покриття на катетерах уповільнює формування біоплівок *S. aureus* [4, 5].

Мета роботи: дослідити вплив наноаквахелату селену на біоплівкоутворення *E. faecalis* і *C. albicans* в асоціації на силіконовому катетері.

Матеріали та методи. Біоплівкоутворення на силіконовому катетері вивчали з використанням асоціації штамів *E. faecalis* 48 і *C. albicans* 48, виділеної у пацієнта ВРІТ.

У роботі використовували препарат наноаквахелату селену (карбок-

¹СИНЕТАР Е.О.,

¹ПОКАС О.В.,

²АВДЕЄВА Л.В.

¹ДУ "Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України", м. Київ

²Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, м. Київ

УДК 544.182/.546.23:579.262+579.86/.87

Ключові слова:
Enterococcus faecalis, Candida albicans, силіконові катетери, селен, біоплівка.

ВЛИЯНИЕ НАНОСЕЛЕНА НА БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЕ *E. FAECALIS* И *C. ALBICANS* В АССОЦИАЦИИ

Синетар Э.А., Покас Е.В., Авдеева Л.В.

Цель: изучение действия наноаквахелата селена на биопленкообразование *E. faecalis* и *C. albicans* в ассоциации на силиконовом катетере.

Методы. Исследование проводили с применением бактериологических и электронно-микроскопических методов.

Результаты. На наружной и внутренней поверхностях фрагмента катетера, не обработанного наноселеном, нами было выявлено объединение клеток *C. albicans* с последующей их группировкой (агломератов) и меньшее количество прикрепленных клеток *E. faecalis*. Тогда как на внешней и внутренней поверхностях фрагментов катетера, обработанного наноселеном в концентрации

0,01 мг/мл, наблюдали меньшее количество прикрепленных клеток *E. faecalis* и *C. albicans* по сравнению с контролем.

Выводы. Препарат наноаквахелата селена в концентрации 0,01 мг/мл приводит к уменьшению количества прикрепленных клеток исследуемых штаммов, влияя при этом на изменение морфологических признаков (сморщивание) клеток *C. albicans*, что может свидетельствовать о действии селена на клеточную стенку исследуемого штамма. Концентрация наноселена 0,0025 мг/мл приводила к формированию биопленки исследуемых штаммов в течение 24 часов, поэтому препарат не рекомендуется использовать в низких концентрациях.

Ключевые слова: **Enterococcus faecalis, Candida albicans, силиконовые катетеры, селен, биопленка.**

**INFLUENCE OF NANOSELENIUM
ON THE FORMATION OF BIOFILM *E. faecalis*
AND *C. albicans* IN ASSOCIATION**

Sinetar E.A., Pokas E.V., Ardeeva L.V.

*State Institution "The L.V. Gromashevsky Institute
of Epidemiology and Infectious Diseases of NAMS
of Ukraine", Kyiv*

*Zabolotny Institute of Microbiology and Virology
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv*

The Objective. To determine the action of selenium on nanoaquaahelate biofilm formation of *E. faecalis* and *C. albicans* in association on the silicone catheter.

Methods. The study was performed using bacteriological and electron microscopic techniques.

Results. We found *C. albicans* cells association with subsequent groupings (agglomerates) and a smaller number of attached cells of *E. faecalis* on the outer

and inner surfaces of the unprocessed nanoselenium catheter fragment. At the same time, the internal and external surfaces of the catheter fragments treated nanoselenium at a concentration of 0.01 mg/ml was observed lower number of attached cells of *E. faecalis* and *C. albicans* compared to controls.

Conclusions. The drug nanoaquaahelate selenium concentration of 0.01 mg/ml reduces the number of attached cells of the test strains, affecting the change in morphological traits (shrivelling) cells of *C. albicans* which may indicate the effect of selenium on the cytoderm of the test strain. Concentration of nanoselenium 0.0025 mg/ml led to the formation of biofilm in the test strains for 24 hours, and the drug is not recommended to be used in low concentrations.

Keywords: *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, silicone catheters, selenium, biofilm

силовані наночастинки Se), люб'язно наданий компанією "Наноматеріали і нанотехнології", у концентрації 0,2 мг/мл [6].

Для дослідження впливу наноаквахелату селену на біоплівкоутворення асоціацій досліджуваних штамів мікроорганізмів фрагменти катетерів занурювали на 1 годину у розчин препарату селену у субінгібуючій концентрації: 0,01 мг/мл — для *C. albicans*; 0,0025 мг/мл — для *E. faecalis*. Фрагменти обробленого катетера підсушували при кімнатній температурі й вносили у завись бактеріальної суспензії *E. faecalis* і *C. albicans*, що містила 10^7 кл/мл кожного у співвідношенні 1:1. У якості контролю використовували фрагменти катетера без попередньої обробки препаратом. Витримували у термостаті при 37°C протягом 24 годин, фарбували 1% генціанвіолетом і фіксували 96% етиловим спиртом. Результати оцінювали за кількістю прикріплених клітин на поверхні катетерів з використанням скануючого електронного мікроскопа Tescan Mira 3 LMU виробництва Чехія [3]. Дослідження проводилося триразово.

Результати та їх обговорення. За результатами проведених нами досліджень встановлено, що у пацієнтів, які перебували у відділенні реанімації та інтенсивної терапії (ВРІТ) і підлягали катетеризації, в етіологічній структурі КАІСВШ переважали представники роду *Enterococcus* як у монокультури, так і в асоціації з дріжджоподібними грибами роду *Candida* [7].

Відомо, що початковим етапом утворення мікробної біоплівки є адгезія мікроорганізмів до будь-якої поверхні біогенного та абіогенного походження [2]. Нами показано, що на зовнішній поверхні фрагментів силіконового

катетера без попередньої обробки препаратом селену вже на 24-ту годину відбувалося прикріплення клітин *E. faecalis*, розташованих поодинокі або зібраних попарно (рис. 1).

Клітини *C. albicans* розташовувалися поодинокі та у вигляді скупчень (агломератів). При цьому вони були подовженими або перебували у стадії поділу. Загалом фрагмент катетера був покритий не суцільно розташованими клітинами *C. albicans*, а у вигляді агломератів, що може свідчити про ймовірність подальшого утворення біоплівки. Відзначено, що на фоні утворення агломератів з клітин *C. albicans* було менше адгезованих клітин *E. faecalis* (рис. 1).

Раніше нами було визначено мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК) наноаквахелату селену, яка становила для *C. albicans* 0,02 мг/мл, для *E. faecalis* — 0,005 мг/мл [8]. Для подальшого вивчення впливу наноаквахелату селену на біоплівкоутворення

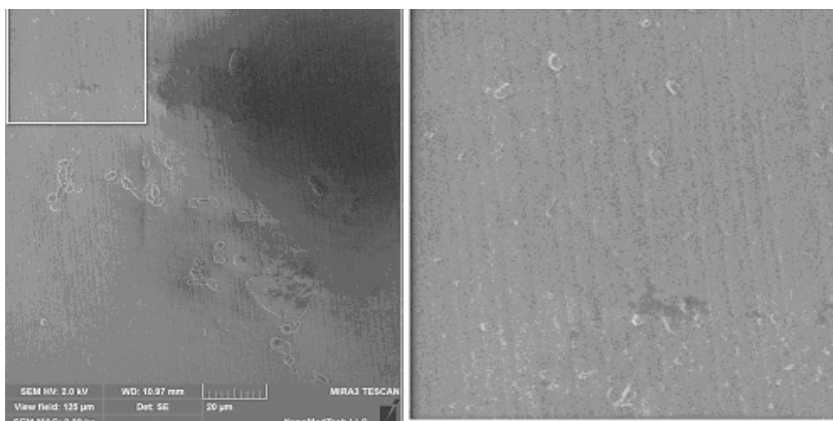
E. faecalis і *C. albicans* в асоціації зовнішню поверхню фрагментів силіконового катетера обробляли у субінгібуючих концентраціях 0,01 мг/мл і 0,0025 мг/мл.

На зовнішній поверхні фрагментів катетера, обробленого наноселеном у концентрації 0,01 мг/мл, було виявлено меншу кількість прикріплених клітин *E. faecalis* і *C. albicans* порівняно з контролем. При цьому прикріплені клітини *C. albicans* мали змінені морфологічні ознаки (зморшкування), що, можливо, пов'язане з дією селену на клітинну стінку *C. albicans*. Змін морфології клітин *E. faecalis* за концентрації селену 0,01 мг/мл нами не виявлено (рис. 2).

Слід відзначити, що на зовнішній поверхні фрагментів катетерів, оброблених наноселеном, спостерігали більше прикріплених клітин *E. faecalis*, ніж на внутрішній поверхні катетера (рис. 2, 3).

На внутрішній поверхні фрагмента катетера, не обробленого наноселеном, нами було виявлено

Рисунок 1
**Прикріплення (адгезія) клітин *C. albicans* і *E. faecalis*
на зовнішній поверхні силіконового катетера
(24-та година спостереження)**



Примітка: збільшена частина площі фотографії вказує на наявність клітин *E. faecalis*.

но об'єднання клітин *C. albicans* з подальшим утворенням угруповань (агломератів) і меншу кількість прикріплених клітин *E. faecalis* (рис. 4). На внутрішній поверхні катетера, обробленого наноселеном, спостерігали поодинокі клітини *C. albicans* і *E. faecalis*. Клітини *C. albicans* морфологічно не були змінені порівняно з клітинами, які були прикріплені до зовнішньої поверхні катетера. Концентрація наноселену 0,01 мг/мл не призводила до утворення агломератів клітин *C. albicans* (рис. 4).

У літературних джерелах наведено, що наноаквахелати металів мають не тільки бактерицидну та бактериостатичну активність, але й стимулюючий вплив на популяцію мікроорганізмів [9]. Ними встановлено, що використання субінгібіуючої концентрації селену для *E. faecalis* (0,0025 мг/мл) призводило до швидкого біоплівкоутворення обох досліджуваних штамів у середині силіконового катетера (рис. 5).

Про це свідчить наявність тяжів, каналів та пор, відсутність поодиноких клітин досліджуваних штамів. У контролі (рис. 4) спостерігали лише прикріплені клітини, їх поділ та угруповання (агломерати) в окремих ділянках фрагмента досліджуваного катетера. На зовнішній поверхні катетера, обробленого препаратом селену у концентрації 0,0025 мг/мл, нами виявлено тільки угруповання клітин досліджуваних штамів (рис. 6).

Таким чином, препарат наноаквахелату селену у концентрації 0,01 мг/мл призводить до зменшення кількості прикріплених клітин досліджуваних штамів, впливає на зміну морфологічних оз-

нак (зморшкування) клітин *C. albicans*, що можна трактувати як дію селену на клітинну стінку досліджуваного штаму. Наноселен у концентрації 0,0025 мг/мл за 24 години призводив до формування біоплівки досліджуваних штамів мікроорганізмів, тому цей препарат не варто використовувати у низьких концентраціях.

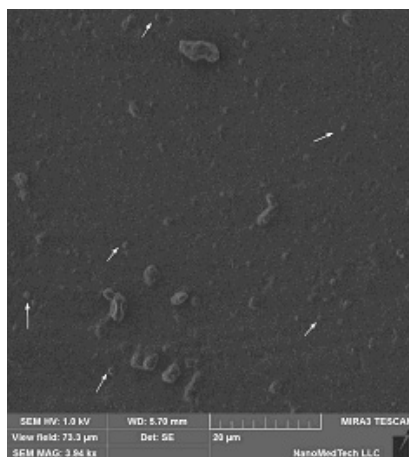
ЛІТЕРАТУРА

1. Микробные биопленки в хирургии: механизмы образования, лекарственная устойчивость, пути решения проблемы / Ю.С. Винник, О.В. Перянова, Е.В. Онзуль, О.В. Теплякова // Новости хирургии. — 2010. — Т. 8, № 6. — С. 115-125.

2. Госпитальная микрофлора и биопленки / Н.И. Габриэлян, Е.М. Горская, Н.И. Романова, О.М. Цирульникова // Вестник

Рисунок 2

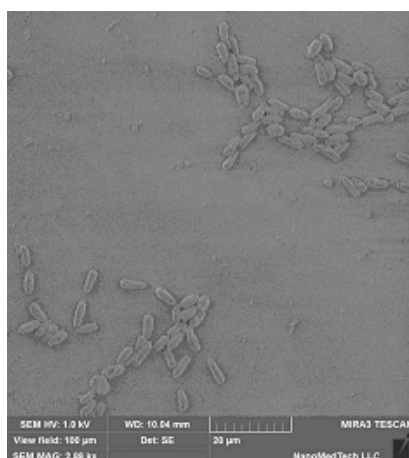
Адгезія клітин *C. albicans* і *E. faecalis* на зовнішній поверхні силіконового катетера, обробленого наноселеном у концентрації 0,01 мг/мл



Примітка: стрілками показано клітини *E. faecalis*.

Рисунок 4

Утворення агломератів *C. albicans* і *E. faecalis in vitro* всередині силіконового катетера через 24 години



трансплантології и искусственных органов. — 2012. — Т. XIV, № 3. — С. 83-91.

3. Формування біоплівки *Candida albicans* на поверхні медичних катетерів: дослідження *in vitro* / Е.О. Синетар, Л.В. Авдєєва, М.А. Скорик, О.І. Брич // Довкілля та здоров'я. — 2014. — № 1 (68) — С. 28-32.

4. Нанотехнології у педіатричній практиці: стан, перспективи досліджень / І.С. Чекман, Н.О. Горчакова, О.М. Охотнікова, Н.Ю. Яковлева // Український медичний часопис. — 2010. — № 6 (80). — С. 47-50.

5. Nanotechnology pediatric application / M.C. Machado, D. Chend, K.M. Targinio, T.J. Webster // Pediatr. Res. — 2010. — Vol. 67 (5). — P. 500-504.

6. Патент України на корисну модель № 29280 Аквахелат нанометалу; Косінов М.В., Каплуненко В.Г.; МПК (2006): C07F 19/00, C12N 1/20; Опубл. 10.01.2008, бюл. № 1/2008.

7. Антибіотикостійкість та адгезивні властивості збудників катетер-асоційованих інфекцій сечовивідних шляхів / Е.О. Синетар, О.І. Брич, М.М. Лоскутова, І.П. Ткачик // Мікробіологічний журнал. — 2014. — Т. 76, № 3. — С. 41-46.

8. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів: методичні вказівки МВ 9.9.5-143-2007. Офіційне вид. — К.: МОЗ України, 2007. — 79 с.

9. Наномодифіковане живильне середовище для культивування мікобактерій / В.Б. Борисович, В.Г. Каплуненко, М.В. Косінов та ін. // Наноматеріали у біології. Основи нановетеринарії. — Київ, 2010. — С. 336-342.

Рисунок 5

Формування біоплівки *C. albicans* і *E. faecalis in vitro* під дією селену у концентрації 0,0025 мг/мл всередині силіконового катетера протягом 24 годин

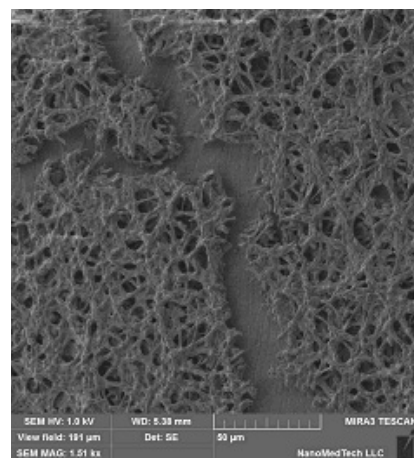


Рисунок 3
Адгезія клітин *C. albicans* і *E. faecalis* на внутрішній поверхні силіконового катетера, обробленого наноселеном у концентрації 0,01 мг/мл



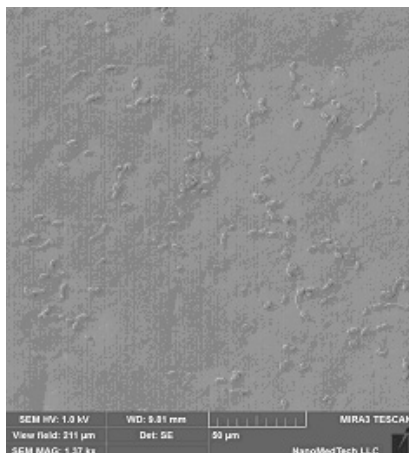
REFERENCES

1. Vinnik Yu.S., Perianova O.V., Onzul E.V., Tepliakova O.V. *Novosti khirurgii*. 2010; 8 (6) : 115-125 (in Russian).
2. Gabrielian N.I., Gorskaia E.M., Romanova N.I., Tsiurulnikova O.M. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2012; XIV (3) : 83-91 (in Russian).
3. Synetar E.O., Avdieieva L.V., Skoryk M.A., Brych O.I. *Dovkillia ta zdorovia*. 2014; 1 (68) : 28-32 (in Ukrainian).
4. Chekman I.S., Horchakova N.O., Okhotnikova O.M., Yakovlieva N.Yu. *Ukrainskyi medychnyi chasopys*. 2010; 6 (80) : 47-50 (in Ukrainian).
5. Machado M.C., Chend D., Targuinio K. M., Webster T.J. *Pediatr. Res*. 2010; 67 (5) : 500-504.
6. Kosinov M.V., Kaplunenko V.H. *Akvakhelat nanometalu [Aquahelats of Nanometals]*. Patent UA N 29280; IPC (2006): S07F 19/00, C12N 1/20. Publ. 10.01.2008, Bul. 1/2008 (in Ukrainian).
7. Synetar E.O., Brych O.I., Loskutova M.M., Tkachyk I.P. *Mikrobiolohichnyi zhurnal*. 2014; 76 (3) : 41-46 (in Ukrainian).
8. *Vyznachennia chutlyvosti mikroorhanizmv do antybakterialnykh preparativ : metodychni vказivky MV 9.9.5-143-2007. Ofitsiine vydannia [Determination of Antibiotic Sensitivity of Microorganisms. Guidelines 9.9.5-143-2007. Official Publication]*. Kyiv : MOZ Ukrainy; 2007 : 79 p. (in Ukrainian)
9. Borysovych V.B., Kaplunenko V.H., Kosinov M.V., Borysovych B.V., Borysovych V.B. *Nanomodyfikovane zhyvylyne seredovyshche dlia kulturyvannia mikobakterii [Nanomodified Growth Medium for the Cultivation of Mycobacteria]*. In: *Nanomaterialy v biolohii. Osnovy nanoveterynarii [Nanomaterials in Biology. Fundamentals of Nanoveterinary]*. Kyiv: Avitsena; 2010 : 336-342 (in Ukrainian).

Надійшла до редакції 28.04.2014

Рисунок 6

**Угрупування клітин
C. albicans і E. faecalis
in vitro під дією селену
у концентрації 0,0025 мг/мл
на поверхні силіконового
катетера протягом 24 годин**



CHARACTERISTICS OF NATURAL NANOOBJECTS – KAOLIN

Korchak G.I.

ВЛАСТИВОСТІ ПРИРОДНОГО НАНООБ'ЄКТА – КАОЛІНУ



КОРЧАК Г.І.

ДУ "Інститут
гігієни та
медичної екології
ім. О.М. Марзєєва
НАМН України",
м. Київ

УДК 613:678.046.3

Вірхливий розвиток науки з вивчення властивостей наноматеріалів та нанотехнологій залучає у цей процес все більшу кількість різновидів сполук. Серед них відомий з давніх часів каолін (китайська глина), або біла глина (Bolus alba) справедливо розглядається як природний наноб'єкт, і саме такий підхід дозволив надзвичайно поширити його застосування на новій науковій основі. З фізичної точки зору це передусім використання вискодисперсних фракцій глини, а також розробка методів для отримання якомога більшої кількості нанорозмірних частинок в її гранулометричному складі. Звідси походять перспективи використання каоліну у різних галузях нанотехнології з перевагою його як природної сполуки, хімічний склад якої та біоенергетична властивість споріднені з організмом людини. Крім того, глинисті мінерали мають високу адсорбційну та іонообмінну активність, що відповідає вимо-

СВОЙСТВА ПРИРОДНОГО НАНООБ'ЄКТА – КАОЛІНА

Корчак Г.І.

Каолин (белая глина, или китайская глина) рассматривается исследователями как природный нанобъект, и именно такой подход позволил расширить его использование на новой научной основе. С физической точки зрения это прежде всего использование вискодисперсных фракций глины, а также разработка методов для получения как можно большего количества наноразмерных частиц в ее гранулометрическом составе. При этом возможна очистка глин от таких минералов, как кварц и гидрослюда. Это позволит расширить возможности ее применения. Глинистые минералы обладают высокой адсорбционной и ионообменной активностью, что отвечает требованиям к энтеросорбентам. В современной медицине большое внимание уделяют энтеросорбции как естественному связыванию и выведению из организма экзо-, эндотоксинов и других соединений. Среди многих разновидностей глин только белые каолиновые глины безопасны по своей структуре и энергетике для слизистой желудочно-кишечного тракта, кожи и раневых поверхностей. Фармакологическим комитетом Украины и многих других стран белая глина разрешена для внутреннего применения. Кроме указанного, каолин является прекрасным поставщиком в организм кремния, магния, кальция, фосфора, железа, цинка, лития, меди, бериллия, кобальта и некоторых других микроэлементов, необходимых живому организму. Именно это выгодно отличает белую глину как энтеросорбент от многих других сорбентов, полученных искусственным путем. В наше время глину используют как составную наноконструкцию с серебром, медью, кобальтом и др. Глины как прекрасные адсорбенты проявляют физическое и химическое взаимодействие с микроорганизмами. При этом глины разделяются на бактерицидные и небактерицидные (происходит адсорбция, но микроорганизмы сохраняют жизнеспособность). Бактерицидный механизм глин является химическим. Такие глины действуют губительно на широкий спектр микроорганизмов, в том числе и на антибиотикорезистентные штаммы. Перспективным является использование их при инфекциях, для которых нет эффективных антибиотиков.

© Корчак Г.І. СТАТТЯ, 2014.