

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-

**1 СИНЕТАР Е.О.,
1 ПОКАС О.В.,
2 АВДЕЄВА 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.**

© Синетар Е.О., Покас О.В., Авдеева Л.В. СТАТТЯ, 2014.

№ 4 2014 ENVIRONMENT & HEALTH 42

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

Sineta E.A., Pokas E.V., Avdeeva 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 nanoaquahelate 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 nanoaquahelate 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 асоціації 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 монокультурі, 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

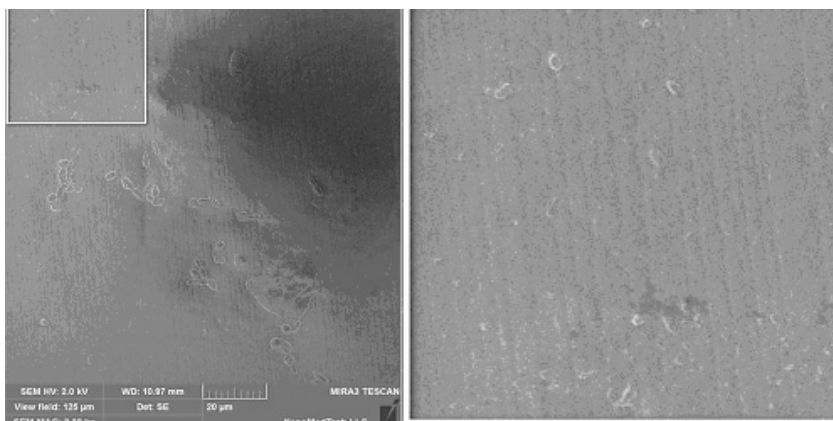
E. faecalis і *C. albicans* в асоціації зовнішню поверхню фрагментів силіконового катетера обробляли у субінгібуючих концентраціях 0,01 мг/мл і 0,0025 мг/мл.

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 *S. albicans* з подальшим утворенням угруповань (агломератів) і меншу кількість прикріплених клітин *E. faecalis* (рис. 4). На внутрішній поверхні катетера, обробленого наноселеном, спостерігали поодинокі клітини *S. albicans* і *E. faecalis*. Клітини *S. 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 *S. 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]. Нами 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-

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



нак (зморщування) клітин *S. 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.

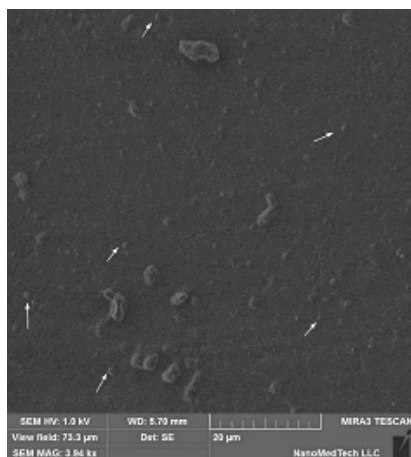
ЛІТЕРАТУРА

1. Микробные биопленки в хирургии: механизмы образования, лекарственная устойчивость, пути решения проблемы / Ю.С. Винник, О.В. Перьянова, 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

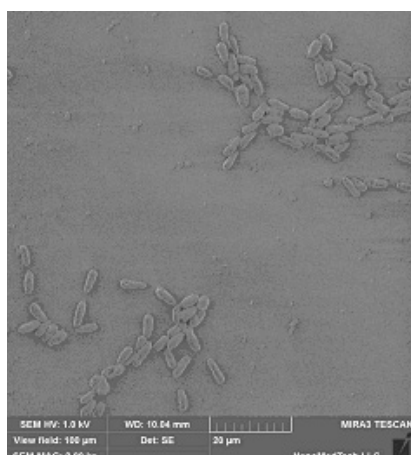
Рисунок 2

Адгезія клітин *S. 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 *S. 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.

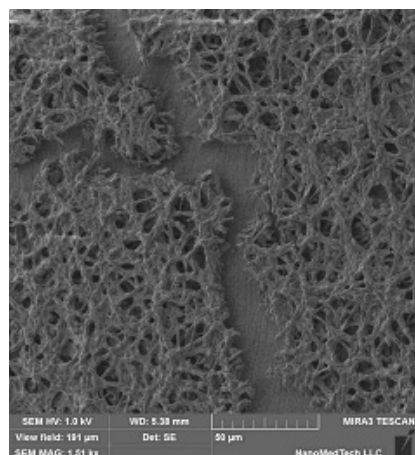
6. Патент України на корисну модель № 29280 Аквахелат нанометалу; Косінов М.В., Каплуненко В.Г.; МПК (2006): C07F 19/00, C12N 1/20; Опубл. 10.01.2008, бюл. № 1/2008.

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



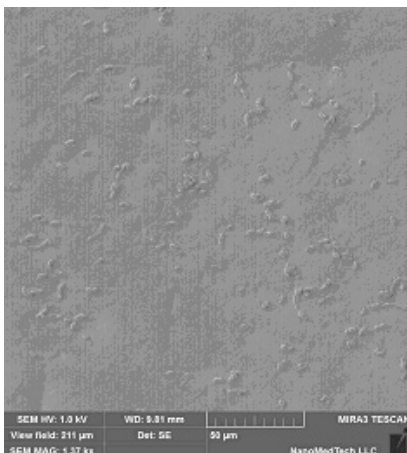
REFERENCES

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., Targinio 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 vkazivky 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 V.V., Borysovych V.B. *Nanomodyfikovane zhyvylyne seredovyshche dlia kultyvuvannia 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

В

КОРЧАК Г.І.

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

УДК 613:678.046.3

урхливий 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 (Volus 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 ранах поверхности. 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 наноконструктив 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.