

УДК 57.083.138.4

ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЕНОК КИШЕЧНЫМИ БАКТЕРИЯМИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ЭКСТРАКТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

©2013 З.Ю. Самойлова, Н.Г. Музыка, Г.В. Смирнова, О.Н. Октябрьский

Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь

Поступила 04.06.2013

В данной статье рассмотрено влияние ряда экстрактов лекарственных растений на биопленкообразующую способность бактерий *Escherichia coli*. Установлено модулирующее влияние ряда экстрактов лекарственных растений на способность бактерий к биопленкообразованию. Исследованы взаимосвязи между способностью бактерий к биопленкообразованию и редокс-свойствами испытуемых экстрактов.

Ключевые слова: экстракты растений, полифенолы, биопленки, бактерии *Escherichia coli*.

Современные клинические наблюдения свидетельствуют о том, что микробиоценозы в кишечнике человека и животных являются интегральной частью организма хозяина и функционируют как своеобразный орган. Подобно тому, как эукариотические клетки органов и тканей высших организмов дифференцировались и выполняют определенные функции, так и симбиотические ассоциации анаэробных бактерий также специализировались, регулируя конкретные биохимические реакции и физиологические функции макроорганизма в естественных условиях его обитания. Состояние микрофлоры кишечника напрямую зависит от особенностей питания хозяина. Результаты многих исследований свидетельствуют о положительном влиянии компонентов растительной пищи на экологию кишечных бактерий [1]. В последние годы особое внимание исследователей сосредоточено на растительных полифенолах, обладающих выраженным антиоксидантным действием на макроорганизм. Существует предположение о том, что прямое антиоксидантное действие полифенолы проявляют лишь непосредственно в кишечнике хозяина [2], при этом его микрофлора активно участвует в метаболизме полифенолов. Ранее нами было показано, что полифенолы и богатые полифенолами экстракты растений оказывают защитное действие на бактерии *Escherichia coli* от окислительного стресса [3-5].

Следует отметить, что представители нормальной микрофлоры существуют в организме человека и животных в форме фиксированных сообществ, представляющих собой биопленки. В таком виде нормальная микрофлора, как перчатка, покрывает слизистые оболочки и становится менее чувствительной к воздействию неблагоприятных факторов физической, химической и биологической природы или их комбинаций по сравнению со свободно плавающими бактериями, а также может препятство-

tyabr@iegm.ru

вать колонизации патогенных микроорганизмов.

Однако влияние полифенол-содержащих биосубстратов на способность кишечных бактерий образовывать биопленки мало изучено.

Целью данной работы явилось изучение влияния экстрактов растений, широко используемых в народной и официальной медицине, на образование биопленок бактериями *Escherichia coli*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Водные экстракты были приготовлены из коммерческих фармпрепаратов (ОАО «Красногорск-лексредства», «Иван-чай»), зеленый и черный чай – из препаратов Greenfield “Golden Ceylon”.

Влияние экстрактов на биопленкообразующую способность оценивали по методу [6]. Также определяли радикал-связывающую активность [7], металл-хелатирующую способность экстрактов *in vitro* [8], продукцию пероксида экстрактами [9], а также содержание полифенолов в испытуемых экстрактах [10].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Выявлено достоверное повышение удельного биопленкообразования бактериями *E. coli* BW25113 при обработке экстрактами брусники, липы, толокнянки и чёрного чая в 2-3 раза по сравнению с клетками, не обработанными экстрактами.

Обработка бактериальных клеток экстрактами из частей березы, кукурузы, чаги и пустырника способствовала достоверному увеличению удельного биопленкообразования в 1,3-1,8 раза. В этих же условиях обработка клеток бактерий экстрактами крапивы и ламинарии оказывала противоположный эффект и приводила к достоверному снижению удельного биопленкообразования в 1,4 и 1,2 раза, соответственно, по сравнению с клетками, не обработанными экстрактами.

Результаты экспериментов по определению радикал-связывающей (РСА) и металл-хелатирующей (МХА) активности *in vitro* и измерению скорости продукции пероксида свидетельствуют о наличии редокс-активности у испытуемых экстрактов. Установлено, что наибольшей РСА *in vitro* обладали

Самойлова Зоя Юрьевна, к.б.н., научный сотрудник, e-mail: samzu@mail.ru; Музыка Надежда Геннадьевна, к.б.н., старший научный сотрудник, e-mail: muzukan@mail.ru; Смирнова Галина Васильевна, д.б.н., ведущий научный сотрудник, e-mail: smirnova@iegm.ru; Октябрьский Олег Николаевич, д.б.н., проф., зав. лабораторией, e-mail: ok-

экстракты черного и зеленого чая, а также экстракты толокнянки, брусники и душицы, наименьшей – хвоща и ламинарии. Наибольшей МХА обладали экстракты зеленого и черного чая, а также череды, толокнянки и березы, наименьшей – экстракты подорожника, эхинацеи и брусники. Обнаружено, что среди испытуемых экстрактов с наибольшей скоростью продуцировали пероксид экстракты черного и зелёного чая, толокнянки и брусники, с наименьшей – экстракты ламинарии, эхинацеи и ноготков. Выявлена корреляция между содержанием в испытуемых экстрактах полифенолов и их РСА активностью, а также способностью продуцировать пероксид (коэффициенты корреляции r составили +0,97 и +0,89, соответственно).

Корреляционный анализ данных указывает на наличие связей между удельным биопленкообразованием в обработанных экстрактами культурах и способностью экстрактов продуцировать пероксид ($r = +0,89$), а также содержанием полифенолов в испытуемых экстрактах ($r = +0,73$). Следует отметить, что характер влияния зеленого чая на удельное биопленкообразование в этих условиях отличается от обнаруженной зависимости. Это можно объяснить особыми свойствами компонентов зеленого чая, в частности, их проникающей способностью.

Полученные результаты свидетельствуют о модулирующем влиянии ряда экстрактов лекарственных растений на биопленкообразующую способность кишечных бактерий. Показано, что характер влияния может варьировать в зависимости от редокс-свойств испытуемых экстрактов и содержания в них полифенолов.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ, соглашение 8114, гранта Президента РФ МК-1763.2012.4 для молодых ученых, гранта №12-И-4-2072 по Программе

интеграционных проектов Президиума УрО РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Parkar S.G., Stevenson D.E., Skinner M.A. The potential influence of fruit polyphenols on colonic microflora // *Int. J. Food Microbiol.* 2008. V. 124. P. 295-298.
2. Halliwell B., Rafter J., Jenner A. Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidants or not? // *Amer. J. Clin. Nutr.* 2005. V. 81 (suppl.). P. 268S-276S.
3. Smirnova G.V., Samoylova Z.Y., Muzyka N.G., Oktyabrsky O.N. Influence of polyphenols on *Escherichia coli* resistance to oxidative stress // *Free Radic. Biol. Med.* V. 46. P. 759-768.
4. Smirnova G.V., Vysochina G.I., Muzyka N.G., Samoylova Z.Y., Kukushkina T.A., Oktyabrsky O.N. Evaluation of antioxidant properties of medicinal plants using microbial test systems // *World J. Microbiol. and Biotechnol.* 2010. V. 26. P. 2269-2276.
5. Oktyabrsky O., Vysochina G., Muzyka N., Samoiloza Z., Kukushkina T., Smirnova G. Assessment of antioxidant activity of plant extracts using microbial test systems // *J. Appl. Microbiol.* 2009. V. 106. P. 1175-1183.
6. Naves P., Prado G. del, Huelves L., Gracia M., Ruiz V., Blanco J., Rodriguez-Cerrato V., Ponte M.C., Soriano F. Measurement of biofilm formation by clinical isolates of *Escherichia coli* is method-dependent // *J. Appl. Microbiol.* 2008. V. 105. P. 585-590.
7. Shyur L.-F., Tsung J.-H., Chen J.-H., Chiu C.-Y., Lo C.-P. Antioxidant properties of extracts from medicinal plants popularly used in Taiwan // *Int. J. Appl. Sci. Eng.* 2005. V. 3. P. 195-202.
8. Kim H.-J., Chen F., Wang X., Chung H.Y., Jin Z. Evaluation of antioxidant activity of vetiver (*Vetiveria zizanioides* L.) oil and identification of its antioxidant constituents // *J. Agric. Food Chemistry.* 2005. V. 53. P. 7691-7695.
9. Seaver L.C., Imlay J.A. Alkyl hydroperoxide reductase is the primary scavenger of endogenous hydrogen peroxide in *Escherichia coli* // *J. Bacteriol.* 2001. V. 183. P. 7173-7181.
10. Wu L.-C., Hsu H.-W., Chen Y.-C., Chin C.-C., Lin Y.-I., Ho J.A. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya // *Food Chem.* 2006. V. 95. P. 319-327.

BIOFILM FORMATION BY THE ENTERIC BACTERIA UNDER TREATMENT WITH MEDICINAL PLANT EXTRACTS

©2013 Z.Y. Samoiloza, N.G. Muzyka, G.V. Smirnova, O.N. Oktyabrsky

Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural branch of RAS, Perm

The influence of a number of medicinal plant extracts on biofilm formation by bacteria *Escherichia coli* was investigated. Some of the extracts were found to provoke modulating effects on bacterial biofilm-forming ability. Correlations between bacterial biofilm formation and redox-properties of the plant extracts were studied.

Key words: plant extracts, polyphenols, bacterial biofilms, bacteria *Escherichia coli*.

Zoya Samoiloza, Candidate of Biology, researcher, e-mail: samzu@mail.ru; Nadezhda Muzyka, Candidate of Biology, senior researcher, e-mail: muzykan@mail.ru; Galina Smirnova, Doctor of Biology, leading researcher, e-mail: smirnova@iegm.ru; Oleg Oktyabrsky, Doctor of Biology, professor, head of laboratory, e-mail: oktyabr@iegm.ru