Актуальная стратегия эрадикации сформированных биопленок при использовании магнитных наноструктур

© В. И. Румянцева, Е. И. Кошель

*Национальный исследовательский университет ИТМО
Россия, 197101 г. Санкт-Петербург, проспект Кронверкский, 49.*

Email: viktoriya_rumyantceva@scamt-itmo.ru

В качестве наиболее эффективной стратегии борьбы с биопленками предложен магнитоуправляемый керамический нанокompозит с контролируемыми параметрами релиза активного компонента под воздействием высокочастотного магнитного поля.

Ключевые слова: биопленки, наноструктурные композиты, антибактериальные свойства, контролируемые параметры, биоциды.

Образование биопленок на биотических и абиотических поверхностях является критической проблемой в самых разных областях, от сельского хозяйства и промышленности до медицины. Поскольку биопленки оптимизируют выживание большинства микроорганизмов, колонизации могут подвергаться любые поверхности, включая человеческое тело и медицинские устройства. Инфекция имплантатов абиотических устройств, находящихся в прямом контакте с пациентом, является одним из серьезных и частых медицинских осложнений [1-3]. Ткани и органы человека также подвержены колонизации микроорганизмами, что провоцирует воспаление при таких заболеваниях, как муковисцидоз, отит и перикардит [4].

Терапия воспаления, связанного с биопленкой, представляет собой серьезную проблему, поскольку бактерии внутри биопленки в 100–1000 раз более устойчивы к обычным антибактериальным агентам, эффективным против свободно плавающих (планктонных) бактериальных клеток. Низкая эффективность биоцидов против биопленок определяется их механическими и химическими свойствами, что препятствует глубокому проникновению антибиотика. Еще одна важная проблема - клетки с пониженным метаболизмом, известные как «персистеры» [5]. Следовательно, для эффективной антибактериальной терапии биопленки следует предварительно дезинтегрировать. Однако агрессивные антибактериальные составы и грубое механическое действие недопустимы для использования внутри организма [6-8]. Практического и нетравматичного подхода к решению этой проблемы пока нет. Наиболее эффективные стратегии борьбы с биопленками по-прежнему основаны на травматичных и дорогостоящих процедурах удаления биопленок или замены пораженных поверхностей [4,8-11]. С увеличением числа имплант-зависимых операций и осложнений, вызванных образованием и развитием биопленки, необходимость в разработке эффективной терапии постоянно возрастает. Описанные выше проблемы можно решить с помощью механического разрушения биопленки с последующим интенсивным высвобождением биоцидных компонентов.

Биоцид-конъюгированные наночастицы и наноструктурные композиты, энтрапированные активными веществами являются отличной возможностью для неинвазивной терапии, поскольку благодаря небольшому размеру и уникальным физико-химическим

свойствам такие системы могут проявлять ценные свойства в биомедицинской практике [12-15].

В настоящей работе рассмотрены механизмы влияния нанокомпозитов на основе наночастиц магнетита на бактериальные клетки и их консорциумы: механическая дезинтеграция, синергетическое антибактериальное воздействие компонентов композита и др., а также разница во влиянии на биопленку составляющих потенциального композита в отдельности (рис. 1).

Рис. 1. Разница во влиянии антибиотика, магнитных наночастиц и композита на деградацию биопленки.

В результате проведенного сравнительного анализа подобраны материалы для разработки новых высокоэффективных композитов. Среди них наиболее перспективными выделены магнитные биосовместимые наночастицы для придания композиту уникальных свойств, карбонат кальция и его производные в виде керамического каркаса. Оптимальный протокол получения нанокомпозита состоит из синтеза наночастиц магнетита методом соосаждения с помощью ультразвука [16] и синтеза микрочастиц на их основе методом соконденсации при добавлении насыщенных растворов хлорида кальция, карбоната натрия и биоактивного соединения [17].

В ходе изучения свойств полученного наноструктурированного композита отмечены механизмы медленного, самопроизвольного, и быстрого, инициируемого, релиза активного компонента через матричный каркас (рис. 2). Отмечены преимущества работы магнитной системы, позволяющей производить локализацию биоцидных компонентов в очаге инфицирования.

Рис. 2. Кривые высвобождения биоцидного компонента магнитного керамического композита: 1 – пассивный релиз; 2 – инициируемое высвобождение.

Эффективность антибактериального действия разработанного нанокompозита против сформированных биопленок определялась на модельных штаммах микроорганизмов: грамположительных *S. aureus* и грамотрицательных *E. coli*. В качестве биоцида был использован антибиотик ципрофлоксацин (ЦФ), обладающий широким спектром действия против различных видов бактерий. Биомассу биопленки и количество живых клеток в ней исследовали через 24 ч инкубации с исследуемыми образцами (табл. 1). Количество биомассы анализировали по количеству связывающего красителя, кристаллического фиолетового, оставшегося после промывки биопленок. Чем выше эффективность композита или антибиотика, тем меньшее количество красителя связывается с биопленкой, что определяет количественную характеристику последней.

Таблица 1. Эффективность нанокompозита против образованных биопленок *E. coli* и *S. aureus*

Состав образца	Масса биопленки после обработки (M ± SD)		Эффективность ЦФ в составе нанокompозита по сравнению со свободной формой ЦФ, %
	ЦФ ¹ в свободной форме	ЦФ в составе нанокompозита	
<i>E. coli</i>			
-	0,951±0,07		-
нанокompозит	0,516±0,05		-
нанокompозит с 0,15 мкг/мл ЦФ	0,443±0,02	0,275±0,02	38
<i>S. aureus</i>			
-	1,575±0,08		-
нанокompозит	0,370±0,02		-
нанокompозит с 2,5 мкг/мл ЦФ	0,853±0,06	0,239±0,01	72

Как и ожидалось, антибиотик, иммобилизованный в нанокompозите, показал более высокую эффективность против образовавшихся биопленок, чем антибиотик в его исходной форме. На основании полученных данных можно судить о синергетическом дей-

ствии нанокompозита и ципрофлоксацина, в первую очередь, для грамположительных видов бактерий – эффективность по отношению к *S. aureus* составила 72%.

Таким образом, были доказаны преимущества применения нанокompозитных материалов для комплексной борьбы с биопленочными образованиями, в частности на абиотических поверхностях, что является перспективным заделом для дальнейших исследований в данной области, в том числе проводимых на антибиотикорезистентных штаммах микроорганизмов и с применением других биоцидных компонентов, а также проводимых *in vivo* для всесторонней оценки возможности применения разработанного комплекса в фармакологической и медицинской практике.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 19-74-00125.

Литература

1. Arciola C. R., Campoccia D., Ehrlich G. D. Biofilm-based implant infections in orthopaedics // Biofilm-based healthcare-associated infections. 2015. Pp. 29-46.
2. Arciola C. R., Campoccia D., Montanaro L. Implant infections: adhesion, biofilm formation and immune evasion // Nature Reviews Microbiology. 2018. Vol. 16. Pp. 397-409.
3. Montanaro L., Speziale P., Campoccia D. Scenery of Staphylococcus implant infections in orthopedics // Future Microbiology. 2011. Vol. 6. Pp. 1329-1349.
4. Bouza E., Garcia-Garrote F., Cercenado E. *Pseudomonas aeruginosa*: a survey of resistance in 136 hospitals in Spain // Antimicrobial Agents and chemotherapy. 1999. Vol. 43. Pp. 981.
5. Prax M., Bertram R. Metabolic aspects of bacterial persisters // Frontiers in cellular and infection microbiology. 2014. Vol. 4. Pp. 148.
6. Römling U., Kjelleberg S., Normark S. Microbial biofilm formation: a need to act // Journal of internal medicine. 2014. Vol. 276. Pp. 98-110.
7. Ribet D., Cossart P. How bacterial pathogens colonize their hosts and invade deeper tissues // Microbes and infection. 2015. Vol. 17. Pp. 173-183.
8. Percival S. L., Suleman L., Vuotto C. Healthcare-associated infections, medical devices and biofilms: risk, tolerance and control // Journal of medical microbiology. 2015. Vol. 64. Pp. 323-334.
9. Høiby N., Bjarnsholt T., Moser C. ESCMID guideline for the diagnosis and treatment of biofilm infections 2014 // Clinical microbiology and infection. 2015. Vol. 21. Pp. S1-S25.
10. Mermel L. A., Allon M., Bouza E. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 update by the Infectious Diseases Society of America // Clin Infect Dis. 2009. Vol. 49. Pp. 1-45.
11. Lebeaux D., Ghigo J. M., Beloin C. Biofilm-related infections: bridging the gap between clinical management and fundamental aspects of recalcitrance toward antibiotics // Microbiology and molecular biology reviews: MMBR. 2014. Vol. 78. Pp. 510.

12. Chifiriuc M. C., Grumezescu A. M., Andronescu E. Water dispersible magnetite nanoparticles influence the efficacy of antibiotics against planktonic and biofilm embedded *Enterococcus faecalis* cells // *Anaerobe*. 2013. Vol. 22. Pp. 14-19.
13. Niemirowicz K., Durnas B., Tokajuk G. Magnetic nanoparticles as a drug delivery system that enhance fungicidal activity of polyene antibiotics // *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 2016. Vol. 12. Pp. 2395-2404.
14. Cotar A. I., Grumezescu A. M., Andronescu E. Nanotechnological solution for improving the antibiotic efficiency against biofilms developed by gram-negative bacterial strains // *Lett. Appl. NanoBioSci*. 2013. Vol. 2. Pp. 97-104.
15. Rumyantceva V. I., Rumyantceva V. I., Koshel E. I. Biocide-conjugated magnetite nanoparticles as an advanced platform for biofilm treatment // *Therapeutic delivery*. 2019. Vol. 10. Pp. 241-250.
16. Shapovalova O. E., Drozdov A. S., Brushkova E. A. Room-temperature fabrication of magnetite-boehmite sol-gel composites for heavy metal ions removal // *Arab. J. Chem*. 2020. Vol. 13. Pp. 1933-1944.
17. Rumyantceva V. I., Rumyantceva V. I., Andreeva Y. I. Magnetically Controlled Carbonate Nanocomposite with Ciprofloxacin for Biofilm Eradication // *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. Vol. 22. Pp. 6187.

Actual strategy for formed biofilms eradication using magnetic nanostructures

V. I. Rumyantceva, E. I. Koshel

ITMO University

49-A Kronverkskiy prospekt, 197101 St. Petersburg, Russia.

Email: viktoriya_rumyantceva@scamt-itmo.ru

A magnetically controlled ceramic nanocomposite with controlled release parameters of the active component under the influence of a high-frequency magnetic field has been proposed as the most effective strategy for combating biofilms.

Keywords: biofilms, nanostructured composites, antibacterial properties, controlled parameters, biocides.