

## ЭКОЛОГО-МЕДИЦИНСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ АДГЕЗИИ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ БИОПОВРЕЖДЕНИИ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ

Р.А.ПЕТРОСЯН\*, А.Р.ПЕТРОСЯН\*\*, И.Л.КАЗАНЧЯН\*\*\*, Э.К.АФРИКЯН\*\*\*

\*Министерство охраны природы Республики Армении, 375002, Ереван

\*\*Центр гигиенического и противоэпидемиологического надзора Минздрава Армении, 378310, г.Эчмиадзин

\*\*\*Республиканский Центр депонирования микробов НАН и Министерства образования и науки Республики Армении, 378510, г. Абовян

Изучены молекулярно-кинетические закономерности процессов биообращения и биоповреждения полимерных материалов с использованием концепции "микрoэкологических ниш" и анализа адгезии микроорганизмов. Установлено, что пусковым механизмом биообращения служит пассивная адгезия, предшествующая активной адгезии, ответственной за биоразрушение полимерных материалов.

Ուսումնասիրվել են պոլիմերային նյութերի կենսապատվածության և կենսաքայքայման պրոցեսների մոլեկուլակինետիկ օրինաչափությունները, օգտագործելով «միկրոէկոլոգիական խորշերը» հայեցակարգը և վերլուծելով մանրէների ադիզիան: Պարզվել է, որ կենսապատվածության սկզբնական մեխանիզմը պասիվ ադիզիան է, որը նախորդում է պոլիմերային նյութերի կենսաքայքայման պատճառ հանդիսացող ակտիվ ադիզիային:

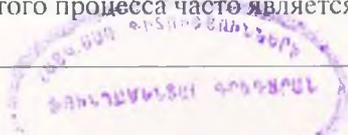
Molecular and kinetic regularities of microbial growth and biodeterioration processes of polymeric materials by using of "microecological niches" conception and analysis of adhesion of microorganisms have been studied. It has been found that the passive adhesion is a starting mechanism of microbial growth and precedes active adhesion responsible for biodeterioration of polymeric materials.

*Полимерные материалы - адгезия микроорганизмов - биоповреждение - экология*

Качество среды обитания, разнообразие и совокупность факторов внешнего воздействия во многом определяют этиологию экологических заболеваний. Они представляют собой самостоятельную область научных исследований, интерес к которым особенно возрос в последние годы [1].

Действием экологических факторов объясняются и сложные механизмы физических, химических и биологических превращений компонентов природной среды, которые приводят к развитию процессов старения [3]. Эти процессы охватывают как живые организмы, так и неживые искусственно созданные компоненты окружающей среды. Так, известно, что постоянно действующее ионизирующее облучение вызывает повреждение генетического аппарата, подавление клеточного деления и иммунитета, развитие заболеваний крови, рака и наследственных болезней. В результате создается опасность преждевременного старения макроорганизма [9].

Для синтетических полимерных материалов действие ионизирующего излучения приводит к молекулярно-химическим превращениям - окислительной деструкции и старению полимерного субстрата. Неблагоприятным последствием этого процесса часто является загрязнение



природной среды инородными продуктами-токсикантами, вовлекаемыми в биохимические циклы и опасными для жизнедеятельности человека.

Процессы старения синтетических материалов изучены достаточно подробно [2, 8]. Однако дискуссионными являются вопросы, связанные с выяснением пусковых механизмов биоразрушения органических и неорганических систем. В частности, недостаточно полно установлена роль адгезии микроорганизмов в развитии биообрастания и деструкции полимерных материалов. Явление адгезии микробов имеет важное общебиологическое и медицинское значение для многих природных процессов [11]. В последние годы на основе всесторонних исследований этого явления с использованием достижений современной генетической инженерии разрабатываются принципы и методы так называемой антиадгезивной терапии инфекционных заболеваний.

В настоящей работе представлены результаты комплексных исследований, связанных с установлением роли адгезии микроорганизмов в биообрастании и биоповреждении различных классов синтетических полимерных материалов. Предпринята попытка концептуального описания некоторых общих молекулярно-кинетических закономерностей адгезии в процессах биоразрушения полимерных систем и развитии инфекционных заболеваний с использованием понятия "микрoэкологических ниш".

**Материал и методика.** Объектами исследования служили образцы синтетических полимерных материалов, в т.ч. композиционных, классов фторопластов, полидиенов, полиамидов, отличающихся технологией получения и переработки, а также микрорельефом поверхности.

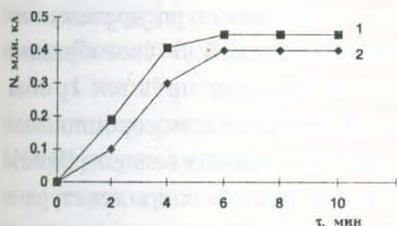
Использован комплекс физико-химических, химико-аналитических и микробиологических методов, описанных в работах [4, 5].

Адгезию/десорбцию микроорганизмов с поверхности полимерного субстрата изучали ультразвуковым методом с помощью прибора УЗА-01 с пьезокерамическим излучателем ЦТС-19 (частота  $f=2,16$  МГц, мощность излучения  $P_i=2$  Вт). Процесс десорбции осуществляли в следующем режиме акустической обработки: частота ультразвука - 2,16 МГц, мощность ультразвука - 0,4-0,8 Вт, продолжительность воздействия ультразвука - 4-6 мин. Определяли количество десорбированных микроорганизмов и показатель адгезии (ПА,%) [4].

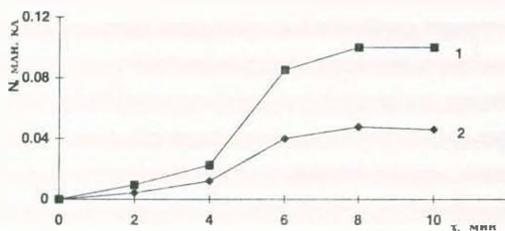
**Результаты и обсуждение.** Адгезия и десорбция микроорганизмов. Исследования показали, что адгезия микроорганизмов на поверхности полимерного материала начинается через 3-5 мин с момента контакта и достигает максимального значения через 15 ч инкубации биоагента на субстрате.

Установлено, что действие ультразвукового поля происходит в относительно мягких условиях, не вызывая температурных флуктуаций и кавитационных эффектов. Характерно, что десорбированные микроорганизмы сохраняют жизнеспособность ( $99,8 \pm 0,5\%$ ) в течение всего периода воздействия ультразвука на систему "микроорганизм+субстрат". Морфологические изменения ультраструктуры клеток микроорганизмов и деструктивные превращения полимерных материалов не обнаружены.

На рис. 1 и 2 приведены кинетические кривые изменения количества десорбированных спор гриба *Aspergillus niger* ВКМ F-33 и *Aspergillus flavus* ВКМ F-747 от времени ультразвуковой обработки фторопластовой пленки



**Рис. 1.** Изменение количества десорбированных спор (N, млн.сп.) гриба *Asp. niger* ВКМ F-33 от времени ультразвуковой обработки (t, мин.) пленки Ф-26: (f=2,16 МГц, мощность 0,8(1) и 0,4 (2) Вт).



**Рис. 2.** Изменение количества десорбированных спор (N, млн.сп.) *Asp. niger* ВКМ F-33 (1) и *Asp. flavus* ВКМ F-747 (2) от времени ультразвуковой обработки (f=2,16 МГц, мощность 2 Вт) хемосорбционного материала.

Ф-26 (поверхность гладкая) и хемосорбционного материала объемно выраженной текстуры. Из хода кривых следует, что микроорганизмы хорошо адгезируются на указанных материалах независимо от физической текстуры поверхности и их объема. Адгезия спор грибов происходит не мгновенно, а в форме приспособительной эволюции с наличием лаг-фазы. Спектроскопические исследования при этом показали, что молекулярная структура материала не повреждается, а биообрастание и адгезия микроорганизмов инициируются загрязнителями органической природы, используемыми грибами в качестве источников углеродного питания. Перманганатная окисляемость (ПО) материалов- как показатель технологической загрязненности- изменялась в пределах от 12,6 до 41,6 мг/л.

**Таблица 1. Результаты комплексных исследований полимерных материалов**

Наименование материала	Топографическая характеристика	ПО, мг/л	ВП, %	ГУ, балл	ПА, %
Фторопластовая пленка Ф-26	Поверхность гладкая	12,6	11,2	2	80
Искусственная кожа с фторполимерным покрытием	Поверхность тисненая	38,4	8,7	3	76
Высокообъемная ткань фторопластовой основы	Поверхность микронсоднородная	32,9	42,5	4	85
Смесевой хемосорбционный материал (на основе целлюлозного волокна и волокон ВИОН КН-1 + ВИОН АН-3 в соотношении 70:30%)	Объемно-выраженная текстура	41,6	50,3	4	90

*Примечание:* ПО-перманганатная окисляемость; ВП-водопоглощение; ГУ-грибоустойчивость; ПА-показатель адгезии.

Текстурные особенности поверхности и объема указанных материалов, по данным микроскопических наблюдений, свидетельствовали о том, что они, как и тиснения искусственных кож, являются местами скопления технологических загрязнителей-остатков пластификаторов, замасливателей, наполнителей и других ингредиентов. Текстурные

неоднородности, включающие загрязнители и статистически распределенные на поверхности и в объеме материалов, представляют собой своеобразные “микрoэкологические ниши”, к которым легко адаптируются грибы. Хорошей моделью подобного субстрата служит смесевой хемосорбционный материал на основе целлюлозного волокна и ионообменных волокон ВИОН КН-1 и ВИОН АН-3. Выраженная объемно-поверхностная текстура в сочетании с высокой степенью водопоглощения-50,3% и перманганатной окисляемости - 41,6мг/л приводит к максимальной адгезии грибов (ПА=90%) и биоповреждению хемосорбционного материала (табл. 1).

*Активная и пассивная адгезия грибов на полимерном субстрате.*

Концепция “микрoэкологических ниш” явилась основополагающей в раскрытии пускового механизма процессов биообрастания и биодеструкции. Исследования показали, что для материалов с высоким уровнем собственной стабильности взаимодействие с биоагентом завершается биообрастанием, не нарушающим макромолекулярную структуру полимерного субстрата. Подобный процесс наиболее типичен для фторопластов разных марок. Насыщенность макромолекул атомами фтора делает фторопласты неприемлемыми в качестве питательного субстрата для грибов, так как токсический эффект фтор-атомов превышает эффект сенсбилизации деструкции. Надо полагать, что биообрастание фторопластов инициируется остатками замасливателей на основе вазелинового масла (от 1 до 3%), используемыми для их переработки. Следовательно, для материалов с повышенной собственной стабильностью и содержащих до 3% органических загрязнителей (источники питания) имеет место **пассивная**, т.е. опосредованная адгезия грибов, приводящая в основном к биообрастанию полимерного субстрата. Этот вид адгезии происходит не на “чистом полимере”, а в слое технологических загрязнителей, используемых грибами для развития и жизнедеятельности.

Установлено также, что в том случае, когда в процессе взаимодействия биоагента с субстратом в результате развития обменных процессов (выделение ферментов и оргкислот) происходит химическое связывание, то имеет место **активная** адгезия. Она приводит к биодеструкции с нарушением не только молекулярной, но и надмолекулярной структур. Таким образом, не любой вид адгезии способен вызвать биодеструкцию и не всегда биообрастание на уровне 3 баллов может быть фактором, лимитирующим эксплуатационную пригодность полимерного материала. Следовательно, адгезия грибов является наиболее чувствительным индикатором подверженности полимерного материала биообрастанию и биоповреждению и должна отражаться в комплексе ключевых признаков, ответственных за их эксплуатационную пригодность.

*Адгезия микробов и развитие инфекционных процессов.*

Медико-биологические и иммунологические исследования свидетельствуют о том, что пусковым механизмом большинства инфекционных

заболеваний (за исключением трансмиссивных инфекций) является адгезия микробных агентов (сапрофитов) на специфических мембранах слизистых [3].

Способность микробных агентов адгезироваться определяется комплексом факторов. основополагающими являются функционирующая микрофлора контакта и наличие ферментов, сосредоточенных в фимбриальных структурах. В частности, для холерных вибрионов и микоплазм такими ферментами являются нейраминидаза, гиалуронидаза и лецитиназа, взаимодействующие с поверхностной структурой клетки с образованием цитоплазматического эффекта [7].

Наличие ферментов еще не является достаточным условием развития адгезии. Важно транспортирование ферментов в зоны соответствующих экологических ниш, где происходит их взаимодействие с компонентами биоценоза, распознавание комплементарных структур и формирование факторов патогенности. Перечисленные процессы во многом определяются составом и взаимодействием сочленов биоценоза в нормальной микрофлоре макроорганизма, а механизм адгезии регулируется геномом патогенных микробных агентов.

*Общие молекулярно-кинетические закономерности адгезии.*

Сравнительный анализ полученных экспериментальных данных и теоретические обобщения позволяют сделать предположение о том, что роль нормальной микрофлоры биоценоза у макроорганизма в первом приближении аналогична функционированию “микроэкологических ниш” при биообрастании и биоповреждении полимерного материала. В обоих случаях микробному агенту необходимо преодолевать экологический барьер (перистальтика кишечника, движение ресничек эпителия для макроорганизма и микротрещины, топографические препятствия поверхности и объема у полимерного субстрата). Развитие же активной адгезии (деструкция полимерного субстрата) и генерирование инфекции происходят по принципу распознавания комплементарных структур микробной клетки и реципиента. Присутствие сопутствующей флоры, фауны и нормальной микрофлоры макроорганизма способно по аналогии с загрязнителями “микроэкологических ниш” полимерных материалов инициировать развитие инфекционных заболеваний.

Надо отметить, что в иммунологических исследованиях при интерпретации механизмов адгезии недостаточно полно учитывается субстратная специфика реципиента, что недопустимо для полимерных материалов медицинского назначения, особенно тех, которые активно используются в практике сердечно-сосудистого протезирования. Это в основном эластомеры и сложные полиэфиры, контактирующие с кровью и позволяющие исключить адгезию тромбоцитов [12]. Достигается это посредством регулирования химической природы полимерного субстрата и его поверхностных свойств.

*Активная адгезия и биоразрушение.*

Полученные результаты позволяют в определенной степени расширить наши представления о возможных механизмах адгезии микроорганизмов на полимерных субстратах. Так, становится очевидным, что при всех случаях взаимодействия микробного агента с субстратом подверженность материала биодеструкции определяется уязвимостью его макромолекулярной структуры, надмолекулярной организации и компонентов полимерной матрицы. Механизм адгезии регулируется физиолого-биохимической активностью микроорганизмов-биодеструкторов и наличием статистически распределенных "микрoэкологических ниш". Ценоз указанных ниш формируется из остатков тех компонентов, промежуточных материалов и других загрязнителей, которые сохраняются на полимерном субстрате со стадии синтеза и технологической переработки в конкретное изделие. В тех случаях, когда загрязнители усваиваются микробами и развивается активная адгезия, происходит активация обменных процессов (синтез ферментов и оргкислот), разрушающих материал.

В наших исследованиях активная адгезия наблюдается для хемосорбционных материалов, содержащих до 70% целлюлозного волокна [4], резинотехнических материалов [6] и хлоропреновых каучуков, где в биодеструкции участвуют ферменты целлюлаза, каталаза и пероксидаза [4-6]. Предварительное УФ-облучение хлоропреновых каучуков, согласно спектроскопическим исследованиям, приводит к образованию высоких концентраций карбонильных групп СНО ( $1780 \text{ см}^{-1}$ ), увеличивающих отрицательный заряд поверхности. Эффект УФ-облучения в данном случае аналогичен эффекту кислотного травления для поли-2окси-этилметакрилата, изменяющих его свойства в пользу адгезии [10]. Следовательно, величина поверхностного заряда существенно влияет на развитие адгезии. Сам процесс предварительного УФ-облучения и последующего инфицирования полимерного субстрата микроорганизмами-биодеструкторами может служить перспективным методом биологической утилизации синтетических материалов, исключаям нежелательное загрязнение окружающей среды и приемлемым по санитарно-гигиеническим требованиям. К числу показателей, инициирующих адгезию, относятся также гидрофильность (как влагоудерживающий фактор), способность поверхности полимерного материала накапливать статическое электричество (как грязеудерживающий фактор) и низкая величина поверхностной свободной энергии, понижающая потенциальный барьер развития адгезионных взаимодействий.

Таким образом, развитие деструктивных превращений полимерных материалов под воздействием микробных агентов, как и этиология инфекционных заболеваний, имеет много общих закономерностей в плане интерпретации молекулярных механизмов адгезии микроорганизмов на субстратах различной природы. При этом принципиально важно, особенно

для биообрастания и биоповреждения полимерных материалов, разграничение роли и вклада пассивной и активной адгезии. Установлено, что пусковым механизмом биообрастания служит пассивная адгезия, предшествующая активной адгезии, ответственной за биоразрушение полимерных материалов. Общей стадией для развития обоих видов адгезий является формирование "микрoэкологических ниш", инициирующих биообрастание, способное перейти в биоразрушение. Концепция пассивной адгезии может быть применима для описания биообрастания труднодеструктурируемых полимерных материалов.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Антонов В.Б. Клинич. мед., 3,15-19,1993.
2. Микробное повреждение материалов. Сб. Изд-во Академии наук Арм. ССР, Ереван, 180 с., 1985.
3. Петровская В.Г. Журн. микробиол., эпидемиолог. и иммунолог. 8, 24-30, 1982.
4. Петросян Р.А., Газарян Е.А., Неделин Н.П. Гигиена и санитария, 4, 73-74, 1989.
5. Петросян Р.А., Тоноян В.Д., Газарян Е.А., Хачатурян Р.Н., Акопян Э.А. Журн. прикл. химии, 63, 5, 1109-1113, 1990.
6. Сафарян З.С., Петросян Р.А. Биолог. журн. Армении, 38, 6, 546-548, 1985.
7. Уралева В.С., Кубырева И.В., Черпахина И.Я., Трубникова В.А. Журн. микробиол., эпидемиолог. и иммунолог., 7, 51-53, 1983.
8. Фойгт И. Стабилизация полимеров против действия света и тепла. 574, Л., 1979.
9. Фролькис В.В. Старение и увеличение продолжительности жизни, 17-19, Л., 1988.
10. Auslan M., Johnson G. J. Biomedical Materials Research, 21, 921-935, 1987.
11. R. Berkley et al. Eds. Microbial Adhesion to Surfaces. , E. Horwood Ltd, Chichester, 560pp., 1980.
12. Wang S.-G. Polym. J., 21, 2, 173-189, 1989.

Поступила 01.X.1999