Самкова А. Ю., Ткачук Н. В., Зелена Л. Б.

МЕТОД ВИМІРЮВАННЯ БІОМАСИ БІОПЛІВКИ ЗА ФАРБУВАННЯМ ЇЇ КРИСТАЛІЧНИМ ФІОЛЕТОВИМ

Активність мікробної корозії визначається взаємодією мікроорганізмів і металу, яка відбувається в біоплівці [1]. За своєю сутністю біоплівки є структурованими мікробними спільнотами, оточеними біополімерним матриксом, які утворюються внаслідок адгезії мікроорганізмів до біотичного чи абіотичного субстрату [2]. Є ряд методів вимірювання біомаси та життєздатності біоплівки [3]. Серед них на увагу заслуговує метод фарбування біоплівки для визначення її загальної біомаси. Метою даної роботи було проаналізувати застосування, переваги та недоліки методу вимірювання біомаси біоплівки за фарбування її кристалічним фіолетовим.

Метод фарбування біоплівки для визначення її загальної біомаси застосовується для непрямого вимірювання біомаси біоплівки адсорбцією/десорбцією барвника (зазвичай кристалічного фіолетового) [3]. Через простоту використання та відносно низьку вартість цей метод часто використовується для кількісної оцінки формування біоплівки в статичних мікропланшетних аналізах. При цьому метод фарбування біоплівок кристалічним фіолетовим, описаний O'Toole та Kolter у 1998 р. для виявлення мутантів з дефіцитом біоплівки [4], став «золотим стандартом» для кількісної оцінки біоплівок [5]. Наприклад, цим методом досліджено біомасу біоплівки сульфатвідновлювальних бактерій *Desulfovibrio vulgaris* та *Desulfobacterium corrodens* [6], *Desulfovibrio oryzae* [7].

Метод має як недоліки, так і переваги. Недоліки: недостатня відтворюваність, недостатня чутливість, завищення або заниження біомаси біоплівки, залежно від етапу відмивання, відсутність стандартизованого протоколу, має місце неспецифічне зв'язування з аніонними білками та іншими негативно зарядженими молекулами (капсулами, ліпополісахаридами та нуклеїновими кислотами), що призводить до неможливості розрізняти живі та мертві бактеріальні популяції. Ці питання сприяють великій мінливості між вибірками, що може ускладнити інтерпретацію результатів скринінгу біоплівки. Перевагами цього методу є низька вартість, універсальність (можливість застосування для ряду мікроорганізмів, як грампозитивних, так і грамнегативних), висока пропускна здатність, він не потребує видалення біоплівки, підходить для якісних та кількісних вимірювань біоплівок, утворених на різноманітних поверхнях [4-5]. Отже, метод фарбування біоплівки кристалічним фіолетовим для визначення її загальної біомаси має переваги та недоліки, є «золотим стандартом» для дослідження бактеріальних біоплівок, застосовується для дослідження біоплівок, утворених корозійно активними бактеріями.

Список використаних джерел

1. Андреюк К. І. Мікробна корозія підземних споруд. Київ, 2005. 258 с.
2. Ерошенко Д. В. Влияние факторов внешней среды на первые этапы образования биопленок бактериями *Staphylococcus epidermidis* : дис. … канд. біол. наук. Пермь, 2015. 137 с.
3. Azeredo J., Azevedo N. F., Briandet R. et al. Critical review on biofilm methods // Critical Reviews in Microbiology. 2017. Vol. 43 (3). P. 313–351.
4. O'Toole G. A., Kolter R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: A genetic analysis // Mol. Microbiol. 1998. Vol. 28. P. 449–461.
5. Haney E. F., Trimble M. J., Cheng J. T., Vallé Q., Hancock R. E. W. Critical Assessment of Methods to Quantify Biofilm Growth and Evaluate Antibiofilm Activity of Host Defence Peptides // Biomolecules. 2018. Vol. 8. Is. 29. P. 1–22.
6. Sivakumar K., Scarascia G., Zaouri N., Wang T., Kaksonen A. H., Hong P.-Y. Salinity-Mediated Increment in Sulfate Reduction, Biofilm Formation, and Quorum Sensing: A Potential Connection Between Quorum Sensing and Sulfate Reduction? // Front. Microbiol. 2019. Vol. 10. Art. 188. P. 1–13.
7. Ткачук Н. В., Мазур П. Д., Зелена Л. Б. Биопленкообразование штаммов *Desulfovibrio oryzae* // Трансграничное сотрудничество в области экологической безопасности и охраны окружающей среды: материалы V Междунар. науч.-практ. конф., 4–5 июня 2020 г. / ГГУ им. Ф. Скорины. Гомель, 2020. С. 220–224.