

*А. О. Ткаченко, Н. Ю. Волчек*

## **ВЛИЯНИЕ АНТИСЕПТИКОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В СТОМАТОЛОГИИ, НА ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЕНОК**

*Научный руководитель: канд. мед. наук, И. А. Гаврилова*

*Кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии,*

*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

***Резюме.** В статье приведены результаты работы по изучению влияния средств, применяемых в стоматологии и обладающих противомикробным действием, на планктонные и биоплёночные формы тест-микробов, а также на способность микробов образовывать биоплёнки.*

***Ключевые слова:** Биоплёнки, микроорганизмы, антисептики.*

***Resume.** The article presents the results of work on the study of the effect of agents used in dentistry and having an antimicrobial effect on planktonic and biofilm forms of test microbes, as well as on the ability of microbes to form biofilms.*

***Keywords:** Biofilms, microorganisms, antiseptics.*

**Актуальность.** Способность инфекционных патогенов образовывать биопленки – одна из наиболее эффективных стратегий колонизации и персистенции возбудителя в организме человека. В настоящее время до 80% хронических бактериальных инфекций ассоциируют с существованием микроорганизмов в форме биопленок (БП) [1]. В стоматологии «теория биопленок» расценивается как основная этиопатогенетическая концепция кариозного процесса и заболеваний маргинального периодонта [3]. БП представляет собой гетерогенное сообщество микроорганизмов, окруженное полимерным органическим матриксом и фиксированное к субстрату биотической или абиотической природы. Микроорганизмы в составе БП демонстрируют изменение фенотипа, темпов роста, уровня экспрессии генов вирулентности [1,3]. Кроме того, по сравнению с планктонными, биоплёночные формы микроорганизмов характеризуются повышенной резистентностью к действию противомикробных средств (антибиотиков, антисептиков, дезинфектантов) и факторов иммунной защиты макроорганизма [5]. В настоящее время не существует ни одного лекарственного средства, рекомендованного при заболеваниях, вызванных биопленочными формами бактерий. Затяжной характер воспалительного процесса, отсутствие средств, активных в отношении таких форм существования микроорганизмов требуют поиска

путей для решения проблемы, один из которых – использование лекарственных препаратов, влияющих как на различные этапы развития БП, так и на уже сформированную БП.

**Цель:** Изучить ингибирующую активность антисептиков, применяемых в стоматологии, на образование биопленок микроорганизмов.

**Задачи:**

1. Провести сравнительную оценку чувствительности планктонных и биопленочных форм микроорганизмов к антисептикам.
2. Исследовать биопленкообразующую способность культур в присутствии сублетальных концентраций антисептиков.

**Материалы и методы.** В работе изучали чувствительность планктонных и биопленочных форм микроорганизмов к средствам с противомикробной активностью, применяемых в стоматологии, а также оценивали ингибирующую активность антисептиков на способность микроорганизмов образовывать БП. В качестве тест-микроорганизмов были использованы типовые штаммы бактерий *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 и грибов *Candida albicans* ATCC 10231. Изучалось антисептическое действие растворов хлоргексидина (0,05%) и перекиси водорода (3%), а также ополаскивателей для полости рта различных фирм-производителей (Splat, Colgate и Listerine). Все средства использовались в рекомендуемой концентрации и двукратных субоптимальных разведениях (1/2–1/8). Для выращивания экспериментальных БП применяли статический метод культивирования в плоскодонном 96-луночном полистироловом планшете [4]. Для совместного культивирования полимикробных биопленок бактерий и грибов применяли среду ТСБ (триптиказо-соевый бульон), модифицированную добавлением глюкозы. Чувствительность к антисептикам планктонных форм тест-микробов исследовалась с применением разработанных сотрудниками лаборатории ВБИ БГМУ тест-систем, принцип работы с которыми основан на регистрации роста тест-микроба по изменению цвета питательной среды с редокс-индикатором тетразолием хлористым [2]. Модификация этого метода была использована для оценки чувствительности выращенных БП к антисептикам. Биопленкообразующая способность в присутствии антисептиков оценивалась после окрашивания БП кристаллическим фиолетовым и последующего экстрагирования красителя с измерением оптической плотности полученного раствора. Опыты проводили в трех повторах, высчитывали среднее значение показателя.

**Результаты и их обсуждение.** В эксперименте по оценке чувствительности планктонных форм тест-микробов к действию антисептиков стафилококки оказались чувствительны ко всем концентрациям исследуемых веществ. Планктонные формы *C. albicans* оказались устойчивы к ополаскивателям Colgate (во всех исследуемых концентрациях), Listerine (25% и 12,5%) и к 0,00625% хлоргексидину (ХГ). Аналогичные результаты были получены и при оценке чувствительности к антисептикам суспензированной смеси стафилококков и кандид.

Все используемые в исследовании антисептики в рабочей концентрации и в разведениях оказались неэффективными в отношении биопленочных форм стафилококков, грибов и полимикробных БП.

В следующей серии опытов, предусматривающей оценку роста биоплёночных форм микробов в присутствии антисептиков, дополнительно было оценено ингибирующее действие ополаскивателей и перекиси на образование БП при имитации практического использования данных средств – полоскания.

При анализе полученных данных было установлено, что в случае со стафилококками ХГ ингибирует образование БП при концентрациях в среде 0,00625–0,05%. Полоскание перекисью не оказывает эффекта на рост биопленок, однако при внесении в питательную среду  $H_2O_2$  ( $\geq 1,5\%$ ) она эффективно предотвращает образование стафилококковых БП. Присутствие субингибиторных концентраций Splat заметно подавляет рост БП, чего не отмечается при полоскании данным средством. Colgate и Listerine при полоскании и при добавлении в среду ингибируют образование БП.

При оценке результатов изучения того же параметра для грибов установлено, что ХГ ингибирует образование БП при концентрациях в среде 0,00625–0,025%. Полоскание перекисью вновь не оказало значительного эффекта на рост биоплёнок, однако присутствие её во всех субингибиторных концентрациях эффективно тормозит образование кандидами БП. Как имитация полоскания ополаскивателем Splat, так и присутствие его в субингибиторных концентрациях эффективно подавляют рост БП. Colgate и Listerine при полоскании и при добавлении в среду заметно тормозят биоплёнокообразование.

Оценка способности смеси испытуемых микробов образовывать БП в присутствии антисептиков показала результаты аналогичные для БП *S. albicans* для ХГ. Имитация полоскания перекисью не отличилась эффективным ингибированием роста полимикробных БП, она заметно снижает биоплёнокообразование только в концентрации 1,5%. Ополаскиватель Splat в его субингибиторных концентрациях эффективно подавляет рост БП, однако полоскание им не препятствует образованию полимикробных БП. Colgate и при полоскании, и при добавлении в среду ингибирует образование БП. Listerine оказался неэффективен при полоскании, но его присутствие в субингибиторных концентрациях заметно подавляет рост БП.

#### **Выводы:**

1. Планктонные формы стафилококков чувствительны к хлоргексидину в концентрациях 0,00625–0,5%, перекиси водорода 0,375–3% и всем испытуемым ополаскивателям полости рта (Splat, Colgate, Listerine). Ополаскиватель Colgate и низкие концентрации Listerine не обладают ингибирующей активностью в отношении планктонных форм грибов и смеси планктонных форм исследуемых микробов.

2. Все антисептики неэффективны в отношении зрелых БП стафилококков, грибов и полимикробных биопленок.

3. Наблюдается ингибирование биопленкообразующей способности стафилококков при добавлении к культуре сублетальных концентраций ХГ и 1,5% перекиси водорода. Имитация использования ополаскивателя Colgate в эксперименте предотвращает формирование БП тест-микроорганизмов. Добавление ополаскивателя Splat в сублетальных концентрациях на этапе роста БП обладает наибольшей эффективностью для предотвращения их образования.

*A. O. Tkachenko, N. Y. Volchek*  
**INFLUENCE OF ANTISEPTICS USED IN DENTISTRY, ON THE FOR-  
MATION OF BIOFILMS**

*Tutor: Candidate of Medical Sciences I. A. Gavrilova*  
*Department of Microbiology, Virology, Immunology,*  
*Belarusian State Medical University, Minsk*

**Литература**

1. Гостев В. В. Бактериальные биопленки и инфекции / В. В. Гостев – Журнал инфектологии. – 2010 – №2(3). – С. 4–15.
2. Тест-система для определения устойчивости бактерий к дезинфектантам : инструкция по применению № 146-1108 утв. МЗ РБ от 26.11.2008.
3. Beikler, T. Oral biofilm-associated diseases: trends and implications for quality of life, systemic health and expenditures / T. Beikler, T. F. Flemmig // *Periodontology* 2000. – 2011. – Vol. 55. – P. 87–103.
4. From in vitro to in vivo Models of Bacterial Biofilm-Related Infections / D. Lebeaux, A. Chauhan, O. Rendueles, C. Beloin // *Journal of Pathogens*. – 2013. – Vol. 2 (2). – P. 288–356.
5. Use of antimicrobial peptides against microbial biofilms: advantages and limits [Text] / G. Batoni, G. Maisetta, F. L. Brancatisano [et al.] // *Current Medicinal Chemistry*. – 2011. – Vol. 18 (2). – P. 256–279.