

ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЕНКИ ВОЗБУДИТЕЛЯМИ ОДОНТОГЕННОЙ ИНФЕКЦИИ

Кабанова А.А., Плотников Ф.В.

УО «Витебский государственный медицинский университет»

*кафедра стоматологии детского возраста и челюстно-лицевой хирургии,
кафедра хирургии ФПК и ПК*

Актуальность. Воспаление следует рассматривать как эволюционно сложившийся процесс, направленный на ликвидацию и ограничение зоны повреждения и вызвавших его экзогенных и эндогенных факторов (1). Инфекционный процесс является проявлением взаимодействия макроорганизма и микроорганизмов. Течение воспалительного процесса зависит от показателей реактивности организма, определяемых действием белков острой фазы, цитокинов, активностью системы фагоцитов, состоянием механизмов специфической резистентности, наследственных факторов, свертывающей, антиоксидантной (АО) и других систем организма (2). Другим важным компонентом развития гнойно-воспалительного процесса является микробный фактор. Как правило, при одонтогенной инфекции из очага поражения высевают смешанную микрофлору: в 65% – анаэробные бактерии и в 35% – аэробные. В настоящее время основной частью микробиологов признано, что большинство микроорганизмов в естественных и искусственно созданных окружающих средах существует в виде структурированных, прикрепленных к поверхности сообществ – биопленок (3). Биопленка – микробное сообщество, характеризующееся клетками, которые прикреплены к поверхности или друг к другу, заключены в матрикс синтезированных ими внеклеточных полимерных веществ, и демонстрируют изменение фенотипа, выражающееся в изменении параметров роста и экспрессии специфичных генов (4).

Цель исследования – определить способность возбудителей одонтогенной инфекции формировать биопленки.

Материалы и методы. Обследовано 17 пациентов с диагнозом острый гнойный одонтогенный периостит нижней челюсти, находившихся на лечении в УЗ «Витебская областная стоматологическая поликлиника» и в стоматологическом отделении УЗ «Витебская областная клиническая больница» в течение 2012-2013 годов. Во время операции периостеотомии у всех пациентов производился забор раневого отделяемого для проведения микробиологического исследования. По стандартным методикам проводилось выделение микроорганизма, его идентификация. С использованием

разработанного нами метода проводилось определение способности выделенных микроорганизмов образовывать биопленки. Штамм бактерий выращивают на мясо-пептонном агаре при 37°C в течение 24 часов. В асептических условиях с помощью бактериологической петли готовят взвесь микроорганизмов в бульоне Мюллера-Хинтона с оптической плотностью на денситометре 0,5 единиц оптической плотности, что соответствует концентрации $1,5 \cdot 10^8$ КОЕ/мл. В лунки планшета вносят по 150 мкл полученной взвеси бактерий, на один штамм отводят 12 лунок. Отрицательным контролем служат лунки с 150 мкл бульона Мюллера-Хинтона. Планшет инкубируют в термостате при температуре 37°C в течение 24 часов. Из лунок с помощью стерильной пипетки удаляют содержимое. Лунки промывают четырехкратно дистиллированной водой с помощью автоматической мойки MB-350 производства «Технофорум». Биопленку фиксируют путем добавления в лунки по 160 мкл 2,5% раствора глютарового альдегида. После пятиминутной инкубации планшет четырехкратно промывают и вносят по 170 мкл 0,25% раствора кристаллического фиолетового на 5 минут, после чего снова повторяют процедуру отмывки планшета четыре раза и высушивают в течение 10 минут. В лунки добавляют по 200 мкл 33% раствор уксусной кислоты и инкубируют при комнатной температуре 10 минут до полной экстракции красителя в кислоту. Измерение проводят на многоканальном спектрофотометре Ф300 при длине волны 620 нм. Способность бактерий образовывать биопленку составляет среднее арифметическое значений оптической плотности (ОП) 12 лунок. Определяют минимальное значение оптической плотности (ОПБ) для лунок с микроорганизмами, образующими биопленку: $ОПБ = \text{среднее значение ОП лунок контроля} + (3 \times \text{стандартное отклонение среднего значения ОП лунок контроля})$. По полученным на спектрофотометре данным рассчитывают среднее значение оптической плотности двенадцати опытных лунок. По таблице 1 определяют способность микроорганизма формировать биопленку.

Результаты исследования. Из раневого отделяемого выделен *S. aureus* у двух обследуемых пациентов (12%), у 1 пациента выделен β -гемолитический стрептококк (6%), у 11 пациентов – *S. epidermidis* (65%), у 3 пациентов возбудитель не выделен (17%).

Способность микроорганизма формировать биоплёнку	Оптическая плотность
Отсутствует	$ОП \leq ОПБ$
Низкая	$ОПБ < ОП \leq 2 \times ОПБ$
Умеренная	$2 \times ОПБ < ОП \leq 4 \times ОПБ$
Высокая	$4 \times ОПБ < ОП$

Таблица 1. Способность микроорганизмов формировать биопленку. С использованием описанной выше методики выявлено, что *S. epidermidis* формирует слабую биопленку, *S. aureus* - умеренную, а β -гемолитический стрептококк – не способен формировать биопленку.

Выводы. Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать вывод, что возбудители одонтогенной инфекции способны формировать микробное сообщество – биопленку. При этом выраженность данной способности у возбудителей различна. Дальнейшее изучение феномена биопленкообразования возбудителями одонтогенной инфекции представляется серьезной и важной задачей для современной медицины.

Список литературы

1. Гусев, Е.Ю. Иммунология системного воспаления / Е.Ю. Гусев, А.В. Осипенко // Иммунология Урала. – 2001. – № 1. – С. 4–8.
2. Ксембаев, С.С. Острые одонтогенные воспалительные заболевания челюстей. Диагностика и лечение ангио- и остеогенных нарушений / С.С. Ксембаев, И.Г. Ямашев. – М. : МЕДпресс-информ, 2006. – 128 с.
3. Davey, M.E. Microbial Biofilms: from Ecology to Molecular Genetics / M. E. Davey, G.A. O'Toole // Microbiology and Molecular Biology Reviews. – 2000. – № 64 (4). - P. 847-867.
4. Donlan, R.M. Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms / R.M. Donlan, J.W. Costerton // Clinical Microbiology Reviews. – 2002. – № 15 (2). – P. 167-193.