

УСТОЙЧИВОСТЬ БИОПЛЕНКИ ПЕРИОДОНТАЛЬНОГО КАРМАНА К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ

Колчанова Н.Э., Окулич В.К., Чернявский Ю.П.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский
университет»*

Витебск, Беларусь

kolchn@yandex.ru

В статье представлены данные об антибиотикорезистентности биопленкообразующих микроорганизмов персистирующих в периодонтальном кармане при хроническом периодонтите. Изучено 20 изолятов Streptococcus spp., способных формировать биопленки. При сравнении МПК₉₀ для изолятов Streptococcus spp. в составе биопленки обнаружено, что МПК увеличилась от 2 до 512 раз для всех антибиотиков по сравнению с их МПК₉₀ для планктонных форм, кроме моксифлоксацина.

Ключевые слова: *биопленка, антибиотики, хронический периодонтит.*

RESISTANCE OF THE PERIODONTAL POCKET BIOFILM TO ANTIBACTERIAL DRUGS

Kalchanava N.E., Okulich V.K., Cherniavsky Y.P.

Vitebsk State Order of People's Friendship Medical University

Vitebsk, Belarus

The article presents data on antibiotic resistance of biofilm-forming microorganisms persist in the periodontal pocket with chronic periodontitis. 20 biofilm-forming isolates of Streptococcus spp. have been studied. When comparing MIC₉₀ for Streptococcus spp. isolates in biofilm MIC was found to have increased from 2 to 512 times for all antibiotics compared to their MIC₉₀ for planktonic forms other than mocsyfloxacine.

Keywords: *biofilm, antibiotics, chronic periodontitis.*

Согласно информации ВОЗ проблема устойчивости к противомикробным препаратам является одной из 10 стоящих перед человечеством глобальных угроз здоровью населения [2].

Цель исследования. Определить устойчивость биопленки периодонтального кармана к антибактериальным препаратам.

Материалы и методы. Определение МПК антибиотика для планктонных форм микроорганизмов проводили согласно стандарту EUCAST v.11.0 [3]. С целью определения МПК антибиотиков для бактерий в составе биопленки применяли разработанный и запатентованный ранее способ [1]. В отличие от стандартного метода, определения МПК антибиотиков для микроорганизмов в составе биопленки проводили в несколько этапов. Изначально формировали биопленку в планшете. Определение количества КОЕ/мл в сформированной биопленке проводили после разрушения матрикса биопленки с помощью ультразвука. Количество микробных клеток в образце определяли спектрофотометрически. С этой целью содержимое пяти лунок планшета после обработки биопленки ультразвуком переносили в кювету и измеряли оптическую плотность на спектрофотометре СФ-26 (суммарный объем

бактериальной суспензии составлял 750 мкл), измеряли оптическую плотность при длине волны 620 нм и оптическом пути 1 см. Исходя из данных, что $0,2 E_{оп}$ соответствует концентрации бактерий 2×10^6 КОЕ/мл, производили перерасчет необходимого количества микроорганизмов, вносимых в лунки для определения МПК биопленкообразующих форм бактерий, согласно стандарту EUCAST v.11.0 [3].

Результаты исследования. Для изучения эффективности возможного применения антибактериальных препаратов для лечения тяжелых форм и обострения хронического периодонтита проведено сравнение МПК антибиотиков для планктонных форм бактерий и микроорганизмов в составе биопленок. С этой целью изучено 20 изолятов *Streptococcus spp.*, способных формировать биопленки, выделенных от пациентов с хроническим периодонтитом.

Изоляты *Streptococcus spp.* планктонных форм оказались наиболее чувствительны к амоксициллину, меропенему и тигециклину (100% чувствительных изолятов), моксифлоксацину – 95%, ципрофлоксацину – 90% чувствительных изолятов и имипенему – 80% чувствительных изолятов. В то же время, к бензилпенициллину только 75% исследуемых изолятов продемонстрировали чувствительность (таблица 1).

Таблица 1. – Чувствительность клинических изолятов *Streptococcus spp.* (планктонные формы), критерии EUCAST 11.0 [3]

Антибактериальный препарат	S, %	R, %	МПК ₅₀	МПК ₉₀	Me; LQ - UQ	Min/max
Амоксициллин-клавуланат	100	0	0	0,125	0,125; 0,125-0,125	0,063/0,125
Бензилпенициллин	75	25	0,125	8	0,125; 0,125-4,13	0,016/256
Имипенем	80	20	0,016	1	0,016; 0,016-0,016	0,016/4
Меропенем	100	0	0,016	0,063	0,016; 0,016-0,031	0,016/0,5
Моксифлоксацин	95	5	0,063	1	0,063; 0,016-0,5	0,016/2
Ципрофлоксацин	90	10	0,25	0,5	0,25; 0,125-0,5	0,015/4
Тигециклин	100	0	0,016	0,25	0,016; 0,016-0,016	0,016/0,5

Изоляты *Streptococcus spp.* в составе биопленки оказались наиболее чувствительны к фторхинолонам: ципрофлоксацину – 75%, моксифлоксацину – 85% чувствительных изолятов, а также к тигециклину – 85%. Чувствительность к карбапенемам была значительно ниже: меропенему – 70%, имипенему – 60% чувствительных изолятов (таблица 2). Очень резко снизилась чувствительность микроорганизмов в составе биопленки по сравнению с планктонными формами для амоксициллина (со 100% до 25% чувствительных изолятов) и бензилпенициллину (с 75% до 5% чувствительных изолятов).

Таблица 2. – Чувствительность клинических изолятов *Streptococcus spp.* в составе биопленки

Антибактериальный препарат	S, %	R, %	МПК ₅₀	МПК ₉₀	Me; LQ - UQ	Min/max
Амоксициллин-клавуланат	25	75	16	64	24; 4,1-64	0,125/256
Бензилпенициллин	5	95	32	256	48; 8-256	0,25/256
Имипенем	60	40	0,5	2	0,5; 0,5-2	0,125/32
Меропенем	70	30	0,5	1	0,5; 0,38-1	0,016/32
Моксифлоксацин	80	20	0,25	1	0,38; 0,13-1	0,016/32
Ципрофлоксацин	75	25	0,5	2	0,5; 0,25-1,5	0,125/32
Тигециклин	85	15	0,016	0,5	0,1; 0,016-0,5	0,016/4

При сравнении МПК₉₀ для изолятов *Streptococcus spp.* в составе биопленки обнаружено, что МПК увеличилась от 2 до 512 раз для всех антибиотиков по сравнению с их МПК₉₀ для планктонных форм, кроме моксифлоксацина. Увеличение МПК₉₀ наблюдалось для β-лактамов – пенициллинов (бензилпенициллин в 32 раза, амоксициллин-клавуланат в 512 раз; для карбапенемов (имипенем в 2 раза, меропенем в 16 раз); для глицилциклинов (тигециклин в 2 раза); для фторхинолонов (ципрофлоксацин в 4 раза).

При сопоставлении интенсивности биопленкообразования различными изолятами *Streptococcus spp.* и кратности увеличения МПК₉₀ изученных антибиотиков для микроорганизмов в составе биопленки в сравнении с МПК₉₀ для планктонных форм выявлена положительная корреляция для следующих антибиотиков. Кратность увеличения МПК₉₀ для амоксициллина-клавуланат составила от 0,125 до 256 ($r=0,71$; $p<0,05$); для бензилпенициллина от 0,25 до 256 ($r=0,67$; $p<0,05$); для имипенема от 0,125 до 32 ($r=0,56$; $p<0,05$); для меропенема от 0,016 до 32 ($r=0,66$; $p<0,05$); для моксифлоксацина от 0,016 до 32 ($r=0,74$; $p<0,05$); для ципрофлоксацина от 0,125 до 32; ($r=0,67$; $p<0,05$); для тигециклина от 0,016 до 4; ($r=0,60$; $p<0,05$).

Полученные данные указывают на то, что интенсивное пленкообразование является одним из механизмов множественной антибиотикорезистентности, возможно связанным со снижением проникающей способности антибиотика через слой матрикса биопленки [2].

Выводы. При сравнении МПК₉₀ для изолятов *Streptococcus spp.* в составе биопленки обнаружено, что МПК увеличилась от 2 до 512 раз для всех антибиотиков по сравнению с их МПК₉₀ для планктонных форм, кроме моксифлоксацина. Увеличение МПК₉₀ наблюдалось для β-лактамов – пенициллинов (бензилпенициллин в 32 раза, амоксициллин-клавуланат в 512 раз; для карбапенемов (имипенем в 2 раза, меропенем в 16 раз); для глицилциклинов (тигециклин в 2 раза); для фторхинолонов (ципрофлоксацин в 4 раза). При сопоставлении интенсивности биопленкообразования изолятами *Streptococcus spp.* и кратности увеличения МПК₉₀ изученных антибиотиков для микроорганизмов в составе биопленки в сравнении с МПК₉₀ для планктонных форм выявлена положительная корреляция для исследованных антибиотиков.

Список литературы

1. Способ определения минимальной подавляющей концентрации антибиотика для бактерий, способных формировать биопленку : пат. Респ. Беларусь, МПК С 12 Q 1/18 / Окулич В. К., Кабанова А. А., Плотников Ф. В., Сенькович С. А., Колчанова Н. Э. ; заявитель и патентообладатель Витебский гос. мед. ун-т. – № а 20150466 ; заявл. 21.09.15 ; опубл. 30.08.18, Афіц. бюл. № 4. – С. 90.

2. Antibiotic resistance of bacterial biofilms / N. Hoiby [et al.] // Int. J. Antimicrob. Agents. – 2010. – Vol. 35, N 4. – P. 322–332.

3. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 11.0, 2021 [Electronic resource] // The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing : [web site]. – 2021 Jan. – Mode of access: <http://www.eucast.org>. – Date of access: 01.01.2021.