

Шишкова Ю.С., Бабикова М.С., Головин Н.С., Филимонова О.И.

Факторы колонизационной резистентности слизистых оболочек ротовой полости у лиц, использующих стоматологические ортопедические конструкции: особенности биопленкообразующей активности микроорганизмов

Кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет, г.Челябинск

Shishkova Yu.S., Babikova M.S. Golovin N. S., Filimonova O.I.

Factors of colonization resistance of oral mucous membranes in individuals using dental orthopedic constructions: peculiarities of biofilm-forming activity of microorganisms

Резюме

В статье представлены результаты оценки биопленкообразующей способности микрофлоры ротовой полости у лиц, использующих стоматологические ортопедические конструкции. Установлено, что микроорганизмы, выделенные из ротовой жидкости лиц, использующих съемные зубные протезы и имплантаты, обладают выраженной способностью к образованию биопленок, в сравнении с микрофлорой лиц без стоматологических ортопедических конструкций ($p \leq 0,05$).
Ключевые слова: колонизационная резистентность слизистых оболочек, ротовая жидкость, биопленки

Summary

The article presents the results of assessing the biofilm-forming ability of the oral microflora in individuals using dental orthopedic constructions. It has been established that microorganisms isolated from oral fluid of persons using removable dentures and implants have a pronounced ability to form biofilms, in comparison with the microflora of persons without dental orthopedic constructions ($p \leq 0,05$).

Keywords: colonization resistance of mucous membranes, oral fluid, biofilms

Введение

Нормальная микрофлора ротовой полости является одним из факторов, препятствующих адгезии и размножению патогенных бактерий на слизистой оболочке полости рта, тем самым принимая участие в реализации одного из механизмов локальной противoinфекционной защиты - колонизационной резистентности слизистых оболочек [1]. Слизистая оболочка ротовой полости покрыта биопленкой из микроорганизмов, которые по видовому составу строго соответствуют своей области обитания. Изменение количественного состава или удаление биопленки освобождает вакантные участки для других микроорганизмов, включая выраженных патогенов. В настоящее время установлено, что одной из причин, приводящих к изменениям структуры биопленки, является применение ортопедических конструкций в стоматологической практике [2]. В связи с этим, *целью* исследования явилось проведение анализа способности к образованию

биопленок микроорганизмов ротовой жидкости у лиц, использующих съемные и несъемные стоматологические ортопедические конструкции.

Материалы и методы

Для проведения исследования сформировали 2 группы лиц по 15 человек, использующих съемное и несъемное протезирование и группу лиц с интактными зубными рядами (контроль, 15 человек). Средний возраст в группе лиц, использующих съемные протезы, составил $63,75 \pm 1,14$ лет, в группе контроля $61,20 \pm 1,69$ лет, в группе лиц, использующих имплантаты - $31,5 \pm 13,5$ лет и в группе контроля - $33,25 \pm 7,25$ лет. Основой материала съемных ортопедических конструкций являлась акриловая пластмасса, а несъемных ортопедических конструкций металлокерамика.

Для оценки биопленкообразующей способности микроорганизмов проводили бактериологическое исследова-

Таблица 1. Биопленкообразующая способность микроорганизмов, выделенных из ротовой жидкости лиц, использующих съемные стоматологические ортопедические конструкции и лиц с интактными зубными рядами (медiana и квартили десятичного логарифма оптической плотности)

Микроорганизм	Съемные стоматологические ортопедические конструкции	Лица с интактными зубными рядами
<i>Streptococcus</i> spp.	2,2 (2,2 - 2,3)	1,5 (1,5 - 1,6) $p=0,000000$
<i>S. epidermidis</i>	2,1 (2,0 - 2,1)	1,3 (1,3 - 1,3) $p=0,030303$
<i>S. saprophyticus</i>	2,0 (1,6 - 2,0)	1,3 (1,2 - 1,5) $p=0,002165$
<i>Enterococcus</i> spp.	1,6 (1,5 - 1,6)	1,0 (1,0 - 1,1) $p=0,002165$
<i>S. aureus</i>	2,3 (2,3 - 2,3)	1,5 (1,5 - 1,6) $p=0,100000$

Таблица 2. Биопленкообразующая способность микроорганизмов, выделенных из ротовой жидкости лиц, использующих несъемные стоматологические ортопедические конструкции и лиц с интактными зубными рядами (медiana и квартили десятичного логарифма оптической плотности)

Микроорганизм	Несъемные стоматологические ортопедические конструкции	Лица с интактными зубными рядами
<i>Streptococcus</i> spp.	2,0 (1,8 - 2,3)	1,6 (1,5 - 1,7) $p=0,000000$
<i>S. epidermidis</i>	1,6 (1,5 - 1,8)	1,3 (1,2 - 1,4) $p=0,000022$
<i>S. saprophyticus</i>	1,7 (1,6 - 1,7)	1,2 (1,2 - 1,3) $p=0,002165$
<i>Enterococcus</i> spp.	1,1 (1,1 - 1,3)	1,0 (1,0 - 1,1) $p=0,025974$
<i>S. aureus</i>	2,4 (2,2 - 2,5)	1,6 (1,5 - 1,7) $p=0,100000$

ние ротовой жидкости. Сбор ротовой жидкости осуществляли в стерильный контейнер. Первичный посев проводили на 5% кровяной агар, желточно-солевой агар и коммерческую питательную среду CHROMagar Orientation. Для идентификации грамотрицательных микроорганизмов применяли ЭНТЕРОтест 24, грамположительных кокков – СТРЕПТО-тест 16. В каждой группе среди выделенных 39 штаммов микроорганизмов (14 штаммов *Streptococcus* spp., 10 – *S. epidermidis*, 6 – *Enterococcus* spp., 6 – *S. saprophyticus*, 3 – *S. aureus*) оценивали способность к биопленкообразованию фотометрически по оптической плотности экстрагируемого красителя [3]. Учет результатов проводили с помощью фотометра «Anithos 2020» при длине волны 492 нм. Статистическую обработку данных проводили с использованием методов описательной статистики и выборочных сравнений с помощью пакета Statistica (v. 8.0, StatSoftInc.) Для сопоставления по оптической плотности рассчитали медиану и квартили десятичного логарифма оптической плотности, U-критерий Манна – Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Известно, что биопленки представляют собой микробное сообщество, состоящее из клеток, которые прикреплены к поверхности или друг к другу, заключенные в матрикс экстрацеллюлярных полимерных веществ [3]. Биопленки могут состоять из одного вида бактерий или, что встречается более часто, могут быть полимикроб-

ными, содержать многочисленные разнообразные виды микроорганизмов [3, 4]. В настоящее время установлено, что не только патогенная флора, но и большинство представителей нормальной микрофлоры в организме человека образуют биопленки, отличающиеся между собой интенсивностью биопленкообразования [5]. Среди возбудителей, образующих биопленки, наибольшее клиническое значение при заболеваниях полости рта имеют, в т.ч. *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp. и *S. Aureus* [6].

В результате проведенных нами исследований было установлено, что у лиц, использующих стоматологические ортопедические конструкции, в ротовой жидкости культивировались *Streptococcus* spp., *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *Enterococcus* spp. (Таблица № 1, № 2), которые также имели значимо более высокое значение образования биопленки в сравнении с группой контроля ($p \leq 0,05$), при этом значение медианы оптической плотности в ротовой жидкости у лиц, использующих съемное протезирование составило *Streptococcus* spp. 2,2 (2,2 - 2,3) $p=0,000000$, *S. epidermidis* 2,1 (2,0 - 2,1) $p=0,030303$, *S. saprophyticus* 2,0 (1,6 - 2,0) $p=0,002165$, *Enterococcus* spp. 1,6 (1,5 - 1,6) $p=0,002165$; у лиц, использующих несъемное протезирование *Streptococcus* spp. 2,0 (1,8 - 2,3) $p=0,000000$, *S. epidermidis* 1,6 (1,5 - 1,8) $p=0,000022$, *S. saprophyticus* 1,7 (1,6 - 1,7) $p=0,002165$, *Enterococcus* spp. 1,1 (1,1 - 1,3) $p=0,025974$; у лиц, с интактными зубными рядами, соответственно 1,5 (1,5 - 1,6), 1,3 (1,3 - 1,3), 1,3 (1,2 - 1,5), 1,0 (1,0 - 1,1) и 1,6 (1,5 - 1,7), 1,3 (1,2 - 1,4), 1,2 (1,2 - 1,3), 1,0 (1,0 - 1,1).

Обращает внимание, тот факт, что медианы оптической плотности экстрагируемого красителя из биопленки *S.aureus* в ротовой жидкости у лиц, использующих съемные и несъемные протезы, с высоким и практически с одинаковым значением 2,3 (2,3 -2,3) и 2,4 (2,2 -2,5), при этом не зарегистрировано статистически значимого отличия с группой контроля 1,5 (1,5 - 1,6) и 1,6 (1,5 - 1,7), в каждом из сравнений $p=0,100000$. При этом по результатам исследований Е.В. Беляева, В.В. Кичикова, у здоровых лиц, не имеющих жалоб при обследовании, среди представителей добавочной микрофлоры *S.aureus* также обладал наиболее выраженными адгезивными свойствами и способностью к пленкообразованию [7].

Заключение

Таким образом, нами определено, что микроорганизмы, выделенные из ротовой жидкости лиц, использующих съемные зубные протезы и имплантаты, обладают выраженной способностью к образованию биопленок, в сравнении с микрофлорой лиц без стоматологических ортопедических конструкций. Скорее всего, это может быть связано с тем, что акриловая пластмасса, используемая для основы съемных стоматологических ортопедических конструкций, при эксплуатации разрушается с образованием микропор, создавая ниши для селекции микроорганизмов с выраженным биопленкообразующим потенциалом, а образующийся между базисом протеза и протезным ложем «парниковый эффект», способствует культивированию микрофлоры с персистентными свойствами. Кроме того, проведенными нами ранее исследованиями показано, что у лиц, использующих стоматологическое протезирование, отмечается изменение

состояния факторов противонфекционной защиты, а именно снижается уровень секреторного ингибитора протеиназы лейкоцитов и лизоцима, что может способствовать выживанию бактерий с активным образованием биопленок на слизистой оболочке ротовой полости и зубных протезах [8, 9, 10]. Кроме того, в условиях микротравматизации эпителия при использовании стоматологических ортопедических конструкций, наличия микроорганизмов с выраженной биопленкообразующей активностью, функционирующих в условиях сниженной локальной противонфекционной защиты, существует опасность развития воспалительных процессов в ротовой полости. ■

Шишкова Ю.С., д.м.н., проф. кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск; Бабикова М.С. соискатель кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск; Головин Н.С. аспирант кафедры ортопедической стоматологии и ортодонтии ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск; Филимонова О.И., д.м.н., проф., заведующая кафедрой ортопедической стоматологии и ортодонтии ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск; Автор, ответственный за переписку Бабикова М.С., 454048, г. Челябинск, ул. Сулимова 49а, кв. 43, 8951-473-11-80, marina.babikova.86@mail.ru

Литература:

1. Фазылова Ю.В., Хитров В.Ю., Закиров Ф.Х. Колонизационная резистентность и гуморальные факторы защиты слизистой оболочки полости рта у больных с хроническими воспалительными заболеваниями пародонта. *Казанский медицинский журнал* 2007; 5: 469–472.
2. Червинец В.М., Червинец Ю.В., Самоукина А.М. Формирование биопленок антагонистическими штаммами лактобацилл полости рта. *Стоматология* 2012; 1: 16–19.
3. Побожьева Л.В., Колецкий И.С. Роль биопленки в патогенезе воспалительных заболеваний полости рта и способы ее устранения. *Лечебное дело* 2012; 2: 9–12.
4. Ильина Т.С., Романова А.Л., Ильина Т.С. Биопленки как способ существования бактерий в окружающей среде и организме хозяина: феномен, генетический контроль и системы регуляции их развития. *Генетика* 2004; 40: 1–12.
5. Гостев В.В., Сидоренко С.В. Бактериальные биопленки и инфекции. *Журнал инфектологии* 2010; 3: 4–15.
6. Соколова Т.Н. Микробные биопленки и способы их обнаружения. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета* 2014; 4 (48): 12–15.
7. Беляев Е.В., Кичикова В.В., Никифорова В.А. Исследование способности к образованию биопленки представителей микробиоценоза слизистой носоглотки практически здоровых людей. *Медицинский альманах* 2014; 4 (34): 49–51.
8. Шишкова Ю.С., Липская А.Д. Оценка функционального ответа нейтрофилов в зависимости от активности биопленкообразования *Proteus mirabilis*. *Медицинская иммунология* 2015; 17 (S): 190.
9. Хасанова Д.М., Липская А.Д., Емелина А.С. Содержание секреторного ингибитора протеиназы лейкоцитов в слюне у лиц, использующих стоматологические ортопедические конструкции. *Российский иммунологический журнал* 2014; 8 (3), 469–471.
10. Шишкова Ю.С., Филимонова О.И., Емелина А.С. и др. Содержание лизоцима в слюне пациентов с несъемными зубными протезами. *Российский иммунологический журнал* 2014; 8 (3), 478–480.