

Авторы:

Губайдуллин Азат Гирфанович

аспирант

Градусова Мария Юрьевна

студентка

Лазарева Анна Юрьевна

студентка

Научный руководитель:

Габидуллин Юлай Зайнуллович

д-р мед. наук, профессор

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный
медицинский университет» Минздрава России
г. Уфа, Республика Башкортостан

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ АНТИЛИЗОЦИМНОЙ АКТИВНОСТИ
МОНОКУЛЬТУР PORPHYROMONAS GINGIVALIS
И AGGREGATIBACTER ACTINOMYCETEMCOMITANS
И ИХ СОКУЛЬТИВИРУЕМЫХ ВАРИАЦИЙ**

Аннотация: в статье сравнительно охарактеризована антилизоцимная, активность *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* и их сокультивируемых вариаций, которые являются одними из доминирующих патогенов, вызывающих специфические пародонтиты у человека. Материалом для исследований послужили 134 штамма условно-патогенных микроорганизмов, выделенных от 540 больных с инфекционными заболеваниями пародонта. В ходе исследования было установлено, что совместно культивируемые вариации *P. gingivalis* + *A. actinomycetemcomitans* чаще обладают антилизоцимной активностью, чем их монокультуры, что необходимо учитывать при оценке этиологической значимости этих бактерий, выделенных в виде ассоциаций при инфекционных процессах ротовой полости.

Ключевые слова: персисгентные свойства, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, пародонтит, антилизосимная активность.

В последние годы наблюдается значительный рост инфекционных заболеваний пародонта, вызванных ассоциациями условно-патогенных микроорганизмов. Пародонтиты характеризуется выраженным клиническим полиморфизмом, связанным с одновременным воздействием нескольких этиологических агентов, каждый из которых имеет комплекс факторов патогенности [2; 3]. Изменение этиологической структуры инфекционной заболеваемости, по мнению многих исследователей, связано с неблагоприятной экологической обстановкой, нерациональным применением различных антибактериальных препаратов, а также нарушением естественной резистентности макроорганизма к различным видам ассоциированных культур [3; 7].

Межбактериальные взаимодействия, как один из механизмов формирования ассоциаций микроорганизмов при микст-инфекциях и изменения в проявлении патогенных свойств представителями условно-патогенных бактерий с учетом их симбиотических связей изучены недостаточно [4; 6].

Исходя из вышеизложенного, целью нашего исследования явилось изучение антилизосимной активности монокультур *Porphyromonas gingivalis* и *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* и их сокультивируемых штаммов.

Материалы и методы исследования

Материалом для наших исследований послужили 134 штамма условно-патогенных микроорганизмов, выделенных от 540 больных с инфекционными заболеваниями пародонта: 32 штамма бактерий *P. gingivalis*, 82 штамма бактерий *A. actinomycetemcomitans*, 32 сокультивируемые вариации *P. gingivalis* + *A. actinomycetemcomitans*, а также 10 штаммов каждого микроорганизма, выделенных от практически здоровых людей.

Изучение антилизосимной активности проводили по методике Бухарина О.В [5]. Для этого к 1,5% – ному питательному агару добавляли различные дозы

яичного лизоцима и разливали в чашки Петри. После застывания среды и ее подсушивания, на поверхность наносили штрихами и в виде креста суточные агаровые культуры *A. actinomycetemcomitans*, и *P. gingivalis*. Чашки инкубировали сутки при 37° С, после чего выросшие колонии обрабатывали парами хлороформа в течение 10 минут, а затем на чашки наслаивали слой 0,7% питательный агар с 0,1 мл одно-миллиардной взвеси суточной агаровой культуры *Micrococcus lysodeikticus* и ставили в термостат при 37° С на сутки. Учет результатов проводили по наличию зон его роста. Тест-культура вырастала вокруг колоний тех микроорганизмов, которые нейтрализовали внесенный в слой агара яичный лизоцим. Антилизозимную активность исследуемых культур выражали в микрограммах инактивированного в среде лизоцима [6].

Результаты и их обсуждения

Исследования антилизозимной активности показали, что из 32 клинических штаммов *P. gingivalis* антилизозимной активностью (АЛА) обладали 10 ($31,3 \pm 5,6\%$) культур и не обладали 22 ($68,8 \pm 5,6\%$). При титровании лизоцима в среде для определения антилизозимной активности выявили, что 2 ($20,0 \pm 5,0\%$) штамма могли инактивировать лизоцим в концентрации выше 10 мкг/мл, 3 ($30,0 \pm 5,3\%$) в концентрации до 10 мкг/мл и 5 ($50,0 \pm 5,5\%$) инактивировали лизоцим в концентрации до 5 мкг/мл. Из 82 штаммов *Aggr.act* не инактивировали лизоцим 40 ($48,8 \pm 5,5\%$) культур и инактивировали лизоцим 42 ($51,2 \pm 5,5\%$), при этом 9 ($21,4 \pm 4,4\%$) штаммов могли инактивировать лизоцим в концентрации выше 10 мкг/мл, 15 ($35,7 \pm 5,2\%$) в концентрации 5–10 мкг/мл и 18 ($42,9 \pm 5,4\%$) инактивировали лизоцим в концентрации до 5 мкг/мл.

В следующей серии опытов нами было проведено изучение антилизозимной активности при совместном культивировании этих микроорганизмов.

Результаты исследования показали, что из 32 совместно культивируемых вариаций *P. gingivalis* + *A. actinomycetemcomitans* 28 ($87,5 \pm 5,8\%$) вариаций обладали способностью инактивировать лизоцим, из которых 10 ($35,7 \pm 7,1\%$) вариаций в концентрации выше 10 мкг/мл, 14 ($50,0 \pm 7,1\%$) в концентрации 5–10 мкг/мл,

4 ($14,3 \pm 3,4\%$) вариации инактивировали лизоцим в концентрации до 5 мкг/мл и не инактивировали лизоцим 4 ($12,5 \pm 5,8\%$) вариации.

Обращает на себя внимание тот факт, что сокультивируемые вариации *P. gingivalis* и *A. actinomycetemcomitans* проявляют антилизозимную активность при более высоких концентрациях лизоцима, чем их монокультуры, что возможно связано с взаимным индуцированием антилизозимной активности этих микроорганизмов (табл. 1, рис. 1).

Таблица 1

Антилизозимная активность клинических штаммов *P.gingivalis* и *A.actinomycetemcomitans*, а также их сокультивируемых вариаций

Штаммы / Степень активности	<i>P. gingivalis</i>		<i>A.actinomycetemcomitans</i>		<i>P. gingivalis</i> + <i>A.actinomycetemcomitans</i>	
	Абс.	$P \pm m \%$	Абс.	$P \pm m \%$	Абс.	$P \pm m \%$
Низкая (до 5 мкг/мл)	5	$50,0 \pm 8,8$	18	$42,9 \pm 5,4$	4	$14,3 \pm 3,4$
Средняя (5–10 мкг/мл)	3	$30,0 \pm 8,1$	15	$35,7 \pm 5,2$	14	$50,0 \pm 7,1$
Высокая (выше 15 мкг/мл)	2	$20,0 \pm 7,1$	9	$21,4 \pm 4,4$	10	$35,7 \pm 7,1$
Всего активных штаммов	10	$31,3 \pm 8,2$	42	$51,2 \pm 5,5$	28	$87,5 \pm 5,8$
Общее количество штаммов	32	–	82	–	32	–

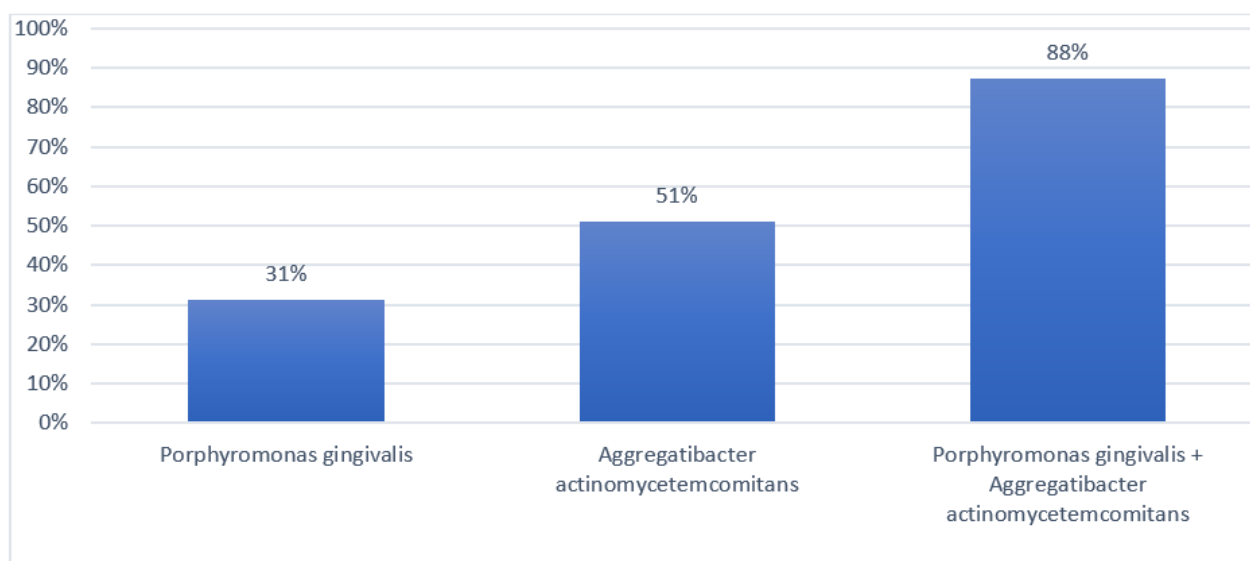


Рис. 1. Антилизотимная активность клинических штаммов *P.gingivalis* и *A.actinomycetemcomitans*, а также их сокультивируемых вариаций, %

Заклучение

Таким образом, результаты наших исследований дают нам основание полагать, что совместно культивируемые вариации *P. gingivalis* + *A. actinomycetemcomitans* чаще обладают антилизотимной активностью, чем их монокультуры, что необходимо учитывать при оценке этиологической значимости этих бактерий, выделенных в виде ассоциаций при инфекционных процессах ротовой полости.

Список литературы

1. Баяхметова А.А. Исследование пародонтопатогенной микрофлоры пародонтальных карманов при пародонтите молекулярно-генетическим методом / А.А. Баяхметова, А.А. Екешева // Наука и мир. – 2016. – Т. 2. – №3 (31). – С. 73–76.
2. Безрукова И.В. Быстро прогрессирующий пародонтит. – М., 2004.
3. Белобородова Н.В. Роль микробных сообществ или биопленок в кардиохирургии / Н.В. Белобородова, И.Т. Байрамов // Антибиот. химиотер. – 2008. – №11–12. – С. 44–59.
4. Бухарин О.В. Лизотим микроорганизмов / О.В. Бухарин, Н.В. Васильева, Б.Я. Усвятцов. – Томск, 1984. – 214 с.
5. Бухарин О.В. Механизмы выживания бактерий. / О.В. Бухарин, А.Л. Гинцбург, Ю.М. Романова, Г.И. Эль-Регистан. – М.: Медицина, 2005. – 367 с.
6. Бухарин О.В. Персистенция патогенных бактерий. – М., 1999. – 366 с.
7. Габидуллин Ю.З. Особенности некоторых свойств, определяющих патогенный потенциал сокультивируемых вариаций бактерий *Enterobacter*, *Citrobacter*, *serratia*, *E.Coli*, *Proteus*: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Челябинск, 2015. – 40 с.