

ВЛИЯНИЕ ЦИТРАТА И ЛАКТАТА ЦИНКА НА БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЕ ТЕСТ-ШТАММА *STREPTOCOCCUS MUTANS***В.С. Макулова¹, И.А. Буторова¹, О.В. Романычева², И.А. Белова¹**¹ *Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Москва, Россия*² *АО «СВОБОДА», Москва, Россия*

В настоящее время при разработке составов зубных паст или других очищающих композиций для полости рта большое внимание уделяется компонентам, способным предотвращать развитие кариеса – патологического процесса, при котором происходит деминерализация и размягчение твердых тканей зуба с последующим образованием полости под действием органических кислот, появление которых связано с деятельностью микроорганизмов. Ключевым механизмом возникновения и развития кариеса зубов является формирование зубной бляшки, плотно прикрепляющейся к поверхности зубов и образующей биопленку, которая представляет собой сложное по организации сообщество одного или нескольких видов микроорганизмов, прикрепленных к поверхности зубов и погруженных в синтезированный ими полимерный матрикс, состоящий из полисахаридов, гликопептидов, нуклеиновых кислот и липидов. Образование биопленок – это сложный динамический процесс, состоящий из нескольких этапов, первым и ключевым из которых является адгезия клеток на поверхности зубов [1–3].

Из литературных данных известно, что цитрат цинка обладает антимикробной активностью и способен препятствовать образованию зубной бляшки, а лактат цинка может сдерживать развитие бактерий, продуцирующих летучие соединения серы, а также способен связывать летучие соединения серы с образованием нерастворимых соединений, устраняя неприятный запах изо рта [4].

В связи с этим в данной работе было исследовано влияние цитрата и лактата цинка на адгезию тест-микроорганизма *Streptococcus mutans* ATCC 25175, который имеет наибольшее значение в развитии кариеса.

Метод оценки заключался в культивировании тест-штамма на поверхности полистирольных чашек Петри. После инкубации планктонные бактерии удаляли вместе с питательной средой, а оставшиеся биопленки исследовали путем окрашивания красителем кристаллическим фиолетовым, который способен связываться с клетками и матриксом биопленок с последующим элюированием красителя этиловым спиртом и спектрофотометрией полученных растворов [3, 5].

Соединения цинка, как правило, вводят в состав зубных паст в концентрациях около 0,5 % масс., для чистки зубов используют порядка 1 г зубной пасты, исходя из этого было рассчитано количество цитрата и лактата цинка для исследования.

Для культивирования тест-штамма *Streptococcus mutans* ATCC 25175 использовали жидкую питательную среду для выделения стрептококков, имеющую следующий состав (на 1 л): ГМФ-основа – 8,4 г, гидролизат казеина солянокислый – 14,4 г, глюкоза – 5,0 г, натрия ацетат трехводный – 1,0 г.

Суспензию тест-штамма *Streptococcus mutans* ATCC 25175 в жидкой питательной среде с концентрацией бактерий 10^5 КОЕ/мл, соответствующей среднему содержанию *Streptococcus mutans* в полости рта [1], готовили из предварительно выращенной культуры в пробирках на скошенной агаризованной среде в течение 24 ч при температуре 36 °С. Затем в приготовленную суспензию добавляли цитрат и лактат цинка и перемешивали до полного растворения. Далее вносили по 5 мл подготовленной суспензии в стерильные полистирольные чашки Петри диаметром 60 мм в трех повторностях и культивировали в термостате при температуре 36 °С в течение 24 часов. В качестве контрольного образца использовалась жидкая питательная среда для выделения стрептококков с инокулятом без цитрата и лактата цинка. По окончании инкубации планктонные клетки удаляли из чашек Петри, 4 раза промывали их стерильной водопроводной водой (по 5 мл) и проводили окраску биопленок: добавляли по 5 мл 0,1 %-го водного раствора кристаллического фиолетового и выдерживали в течение 45 минут при комнатной температуре. Несвязавшийся краситель удаляли путем пятикратной отмывки (по 5 мл) стерильной водопроводной водой. После этого в чашки Петри добавляли по 5 мл 96 %-го этилового спирта для экстракции связавшегося с клетками красителя (рисунок 1).



Рисунок 1. Фотография растворов, полученных путем экстракции этиловым спиртом связавшегося с клетками красителя: 1 – контрольный образец, 2 – образец, содержащий цитрат цинка, 3 – образец, содержащий лактат цинка

Затем измеряли оптическую плотность растворов при длине волны 583 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя, равной 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали этиловый спирт. Длину волны, при которой проводили измерения, определяли по максимуму на спектре поглощения водного раствора кристаллического фиолетового. Все действия для контрольных чашек Петри были аналогичны таковым для опытных образцов. Средние значения оптической плотности представлены на рисунке 2.

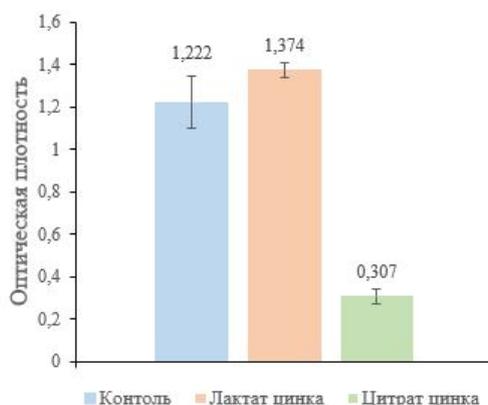


Рисунок 2. Средние значения оптической плотности растворов, полученных путем экстракции этиловым спиртом связавшегося с клетками красителя

Снижение значения оптической плотности растворов по сравнению с контролем в случае образцов, содержащих цитрат цинка, свидетельствует о том, что способность клеток *S. mutans* к адгезии и последующему биопленкообразованию на поверхности полистирольных чашек Петри в присутствии данного компонента снижается, в отличие от образцов, содержащих лактат цинка в том же количестве. Данный результат позволяет использовать цитрат цинка в концентрации 0,5 % масс. в составах очищающих композиций для полости рта с целью предотвращения формирования биопленок бактерий *Streptococcus mutans*, способных вызывать кариес. В случае лактата цинка необходимы дополнительные исследования при его больших концентрациях, также представляет интерес исследование антимикробной активности лактата цинка в отношении бактерий, продуцирующих летучие соединения серы.

Литература

1. Правосудова Н.А., Мельников В.Л. Микробиология полости рта. Учебно-методическое пособие для студентов медицинских вузов. Пенза, 2013. 89 с.
2. Flemming Н.С. Biodeterioration of synthetic materials – A brief review // Materials and Corrosion. 2010. V. 61 (12). P. 986–992.
3. Симонова И.Р., Головин С.Н., Веркина Л.М., Березняк Е.А., Титова С.В. Методы культивирования и изучения бактериальных биопленок // Известия вузов. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. 2017. № 1. С. 73–79.
4. Голованенко А.Л., Березина Е.С., Алексеева И.В. Цинксодержащие лекарственные препараты как перспективные средства для профилактики и лечения кариеса // Медицинский альманах. 2023. № 3 (76). С. 113–118.
5. Савилов Е.Д., Маркова Ю.А., Немченко У.М., Носкова О.А., Чемезова Н.Н., Кунгурцева Е.А., Духанина А.В. Способность к биопленкообразованию у возбудителей инфекций, выделенных от пациентов крупного многопрофильного детского стационара // Тихоокеанский медицинский журнал. 2020. № 1. С. 32–35.