

# Формирование биопленок на стоматологических полимерных материалах как основа персистенции микроорганизмов при патологии зубов и пародонта

Л.В. ДИДЕНКО\*, д.м.н., проф., зав. лабораторией

Г.А. АВТАНДИЛОВ\*\*, к.м.н., старш. научн. сотр.

Е.В. ИППОЛИТОВ\*\*\*, к.м.н., доц.

Е.В. ЦАРЕВА\*\*\*\*, старш. лаборант

Т.А. СМЕРНОВА\*, к.м.н., старш. научн. сотр.

Н.В. ШЕВЛЯГИНА\*, к.м.н., научн. сотр.

В.Н. ЦАРЕВ\*\*, д.м.н., проф., зав. кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии

\*Лаборатория анатомии микроорганизмов ФГБУ НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ

\*\*Лаборатория биоинжиниринга и материаловедения НИМСИ

\*\*\*Кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии

\*\*\*\*Кафедра пропедевтики стоматологических заболеваний

ГБОУ ВПО МГМСУ им. А.И. Евдокимова МЗ РФ

## Biofilm formation on dental polymeric materials as a basis of microorganism persistence at teeth and periodontium pathology

L.V. DIDENKO, G.A. AVTANDILOV, E.V. IPPOLYTOV, E.V. TSAREVA, T.A. SMIRNOVA, N.V. SHEVLYAGINA, V.N. TSAREV

**Резюме:** Изучены процессы микробной колонизации и персистенции микроорганизмов на полимерных материалах медицинского назначения.

Для проведения данного исследования использовались образцы (пластины размером 1x1 см) полимерных пластмасс для производства съемных зубных протезов на основе полиуретана и акрила («Денталур» ОАО НИИР Россия, «Фторакс» «Пластмасса бесцветная» («АО Стома, Украина»), которые были проинкубированы с клиническими изолятами *P. aeruginosa*, *S. aureus* в питательной среде Luria-Bertani broth течение 24, 48 час и 7, 14 суток и в течение 1,5 и 3 месяцев при температуре 37°C. Динамика процесса взаимодействия микроорганизмов с полимерными материалами была изучена с помощью метода сканирующей электронной микроскопии в сканирующем ионно-электронном микроскопе Quanta 200 3D (FEI Company, USA). После инкубации образцы фиксировались 10 % раствором нейтрального формалина, традиционное для СЭМ обезвоживание спиртами или ацетоном не проводилось, что позволило сохранить нативную структуру образцов, в том числе и экзоточный матрикс биопленок.

Получены электронно-микроскопические данные об этапах взаимодействия бактерий с поверхностью медицинских пластмасс. Показано, что на абиотических поверхностях формировались биопленки и возникали биодеструктивные изменения пластмасс. Данные микроскопического исследования, свидетельствующие о морфофункциональной сохранности и соответственно жизнеспособности бактерий при длительном их нахождении на поверхности пластмасс в составе биопленок, были подтверждены бактериологически спустя 1,5 и 3 месяца инкубации. Обсуждается вопрос о возможности длительной персистенции патогенных для человека микроорганизмов на искусственных протезах.

**Ключевые слова:** микробные биопленки, полимерные пластмассы, композиты, резина, биодеструкция, сканирующая электронная микроскопия.

**Abstract:** Study the processes of bacterial colonization and persistence on the surface of polymeric plastics.

Plates (1x1 cm) of polymer plastics (polyurethane and acrylic) were used («Dentalur» Russia, «Ftoraks» «Plastic colorless» Stoma, Ukraine). These materials are applied for manufacturing medical dentures. Polymeric plates were incubated in the Luria-Bertani nutrient broth with clinical isolates of *P. aeruginosa*, *S. aureus* during 24, 48 hours, 7 and 14 days, 1, 5 and 3 months at a temperature of 37°C. After incubation, the samples were fixed in 10% neutral formalin solution. Interaction of bacteria with polymeric materials was studied using scanning electron microscopy (SEM). Traditional SEM dehydration of samples by alcohols or acetone was not carried out, that allowed to study the native structure of extracellular matrix.

The stages of interaction between bacteria and surfaces of polymers were investigated. Bacterial biofilms on the polymeric surfaces provoked their biodestruction changes. The possibility of long-term persistence of human pathogenic microorganisms on artificial prostheses is discussing.

**Key words:** bacterial biofilms, polymeric plastic, composites, resine, biodestruction, scanning electron microscope.

В последние годы в практике стоматологического материаловедения все шире используются различные композитные материалы, стеклоиономерные цементы, акриловые пластмассы, полиуретан, стекловолоконные и прочие полимеры для протезирования, имплантации, реставрации и реконструкции зубных рядов [2, 4, 6, 10, 11]. Поскольку все эти изделия прямо или косвенно контактируют с тканями организма человека, в частности, пародонтом, эмалью и дентином, слизистой оболочкой полости рта, к ним предъявляются жесткие санитарно-гигиенические требования. Однако в перечне требований отсутствуют нормативы, касающиеся колонизации этих материалов резидентной и патогенной микрофлорой [3, 4].

Вместе с тем, искусственные полимерные материалы, в том числе материалы медицинского назначения, могут быть колонизированы микроорганизмами и подвергаться процессам биокоррозии или биодеструкции [1, 5, 11, 14, 16]. Такого рода исследования наиболее актуальны в стоматологической практике, поскольку все используемые зуботехнические материалы длительное время находятся в ротовой полости, постоянно контактируя с микрофлорой, в составе которой могут быть патогенные виды бактерий и грибов [1, 3, 5, 6, 8]. Более того, способность патогенных микроорганизмов прикрепляться к предполагаемому для использования биоматериалу и его способность к формированию биопленки должны рассматриваться как важнейший фактор противодействия механизмам врожденного иммунитета и, соответственно, развития патологии [6, 9, 11].

Особое значение имеет образование микробных биопленок на поверхности реставрационных (пломбировочных) материалов, используемых для лечения кариеса зубов и его осложнений. Установлено, что микробная биопленка активно образуется в пораженной инфекцией полости зуба, корневых каналах и даже дентинных канальцах [6, 13, 16].

За последние годы появились работы зарубежных и некоторых отечественных исследователей, которые посвящены изучению адгезии микробов к композитным материалам, стеклоиономерным цементам и пластмассам, используемым для реставрации зубного ряда и последующей колонизации с развитием типичной микробной биопленки смешанного типа [1, 6, 15, 18]. Однако этапность процесса формирования биопленки, механизмы регуляции, кворум-сенсинга и особенности участия в этих процессах микроорганизмов разных типов остаются недостаточно изученными.

### ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить этапы формирования микробной биопленки на некоторых полимерных материалах медицинского назначения и продемонстрировать особенности персистенции в зависимости от участвующих этиологических агентов.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для проведения данного исследования были выбраны широко распространенные в медицинской практике полимерные пластмассы для производства съемных зубных протезов на основе полиуретана («Денталур» производства «ОАО НИИР», Россия) и полиметилакрила («Фторакс» производства «АО Стома», Украина). В исследованиях *in vitro* были

выбраны клинические изоляты грамотрицательных и грамположительных бактерий *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* для изучения процессов их взаимодействия с образцами полимеров.

Динамика процесса взаимодействия микроорганизмов с полимерными материалами была изучена с помощью метода сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Образцы полимеров (пластины размером 1 x 1 см) помещались в питательный LB бульон (Luria-Bertani broth), в который предварительно засеивали культуру бактерий в концентрации 10<sup>6</sup>/мл. Инкубация образцов проводилась в термостате в течение 24, 48 часов и 7, 14 суток и в течение 1,5 и 3 месяцев при температуре 37°C. При инкубации образцов дополнительного внесения питательной среды не производилось, и таким образом, стимулировался процесс образования биопленки в прогрессивно истощающейся среде [17].

После инкубации образцы фиксировались 10% раствором нейтрального формалина. Следует отметить, что в процессе подготовки образцов не применялась традиционное для СЭМ обезвоживание спиртами или ацетоном. Отсутствие дегидратации образцов позволило сохранить их нативную структуру, и, в частности, структуру экзоклеточного матрикса биопленок, на 90% состоящего из воды [13].

Поверхности образцов полимерных пластмасс были изучены с помощью двулучевого сканирующего электронного микроскопа Quanta 200 3D (FEI Company, USA) в режимах высокого вакуума, при ускоряющих напряжениях 5 и 10 kV, с предварительным напылением золотом (999) в установке SPI-Module Sputter/Carbon Coater System (SPI Inc., США).

Для оценки морфофункционального состояния бактерий, длительно находившихся на поверхности искусственных материалов, было проведено ультраструктурное исследование соскобов биопленки. Образцы были приготовлены по общепринятой методике для исследования методом ультратонких срезов и проанализированы в просвечивающем электронном микроскопе JEM 100B (JEOL, Япония).

Оценка жизнеспособности бактерий, сформировавших биопленку на сроках 1,5 и 3 мес., была произведена посредством посева бактериального налета с поверхности пластмасс в питательный бульон и на агаризированную 1% среду LB.

В клинической части исследования проводили сканирующую микроскопию образцов биопленки из корневых каналов, полученной путем соскоба у пациентов с хроническим апикальным периодонтитом.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования для всех изученных образцов были установлены общие закономерности взаимодействия микроорганизмов с поверхностью пластмасс и процессы, связанные с формированием очагов бактериальной персистенции на искусственных полимерных материалах.

Поэтапно процесс взаимодействия микроорганизмов с поверхностью пластмасс может быть представлен следующим образом (рис. 1–6).

Первый этап — образование безмикробной пленки. На сканограммах образование безмикробной пленки соответствует появлению участков более высокой электронной плотности (рис. 1а, б). Данный этап является чрезвычайно важным для после-

дующей успешной адгезии бактерий к пластмассам. Безмикробная пленка, состоящая из продуктов жизнедеятельности микроорганизмов и компонентов питательной среды, меняет заряд поверхности с отрицательного на положительный, тем самым обеспечивая отрицательно заряженным бактериям прикрепление к поверхности за счет сил электростатического взаимодействия [16].

Второй этап — адгезия одиночных бактерий к поверхности (рис. 2а, ба). Наиболее интенсивно бактерии адгезируются в области дефектов, образовавшихся при механической обработке материала. На ранних сроках инкубации, 24 часа, синегнойная палочка, у которой хорошо развит жгутиковый аппарат, адгезируется лучше, чем безжгутиковый стафилококк (рис. 6б). Жгутики относятся к нитевидным выростам клеточной поверхности, они состоят из спиральной нити толщиной 12–18 нм, крючка и базального тела, в совокупности именуемого жгутиковым мотором, который обеспечивает движение бактерий к источнику питания, на чьей поверхности могут быть особые химические соединения — аттрактанты [9]. Перитрихальные жгутики осуществляют поступательное движение и роение клеток, а полярные могут обеспечивать и движение бактерий по поверхности. У безжгутиковых бактерий реализация адгезии происходит посредством увеличения экспрессии поверхностных адгезинов (белок Вар и экзополисахариды (PIA или PNAG), которые способствуют прикреплению к субстрату и обеспечивают межклеточные взаимодействия [12, 16, 17].

На третьем этапе происходит образование микроколоний (деление и объединение бактериальных клеток в единую структуру). На этом этапе можно было видеть начало синтеза экзоклеточного матрикса, который объединяет бактерии и является облигатным признаком формирования биопленки (рис. 3а, 6б).

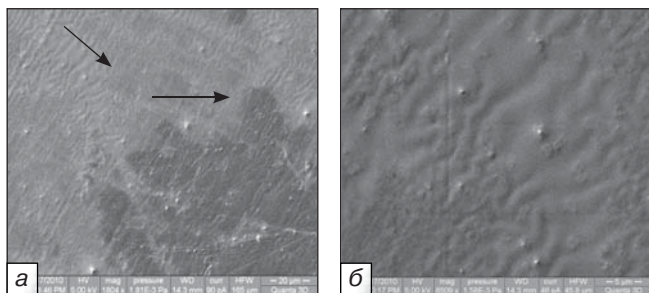


Рис. 1. Образование безмикробной пленки (а), ячеистое строение безмикробной пленки при большем увеличении (б) 24 часа инкубации

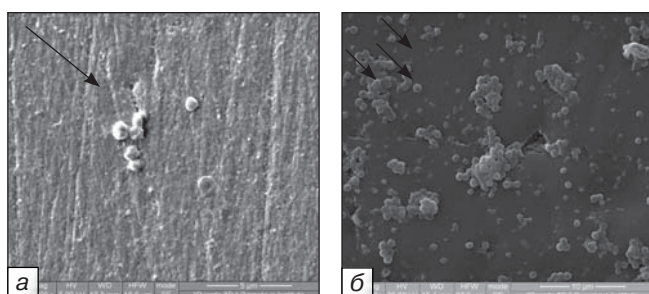


Рис. 2. Адгезия стафилококка (а), образование микроколоний (б) 24, 48 час инкубации

Четвертый этап — формирование зрелых биопленок с массивным экзоклеточным матриксом (рис. 3б, 6в). Экзоклеточный матрикс, в состав которого входят гомо- и гетерополисахариды, уроновые кислоты, аминокислоты, липополисахариды, различные минералы (кальций, фосфор и в небольших количествах магний, калий, натрий), выполняет защитную функцию, препятствуя диффузии бактерицидных агентов и действию физических факторов, таких как ультрафиолетовое облучение, изменения pH, осмотический шок, высыхание, участвует в образовании полимикробных биопленок [6, 11, 13, 14].

Далее от зрелых биопленок отщуривались особые структуры — номады, состоящие из бактерий, окруженных матриксом (рис. 4а). Кроме номад на поверхности биопленок были видны бактерии с четкими контурами без покрытия массивным экзоклеточным матриксом (рис. 4б). Очевидно, что номады и поверхностно локализованные бактерии обеспечивают популяции распространение в окружающей среде. При длительной инкубации (1, 5 и 3 мес.) синегнойная палочка и золотистый стафилококк находились на поверхности полимерных пластмасс в составе массивных биопленок. Биопленки могли фрагментарно отслаиваться от поверхности и растрескиваться, при этом внутри биопленки визуализировались морфологически сохраненные бактерии (рис. 4а, б). Возможно, растрескивание биопленки, так же как и номады, обеспечивает выход из нее жизнеспособных бактерий.

При длительной колонизации бактериями поверхности изученных полимеров происходит формирование дополнительных дефектов поверхности и увеличение объема ранее существовавших. Бيوдеструктивные изменения в пластмассах возникают в результате действия бактериальных эстераз (ферментов, расщепляющих эфирные связи полимеров)

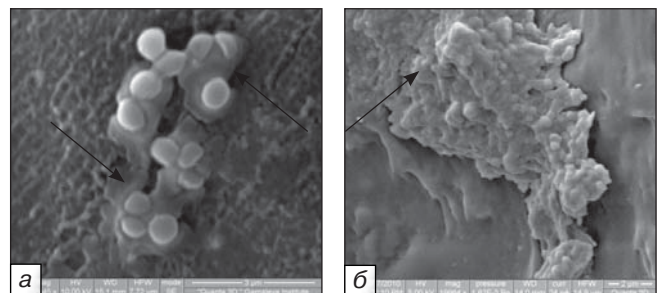


Рис. 3. Начало синтеза экзоклеточного матрикса ↑ (а), зрелая биопленка с номадами ↑ (б)

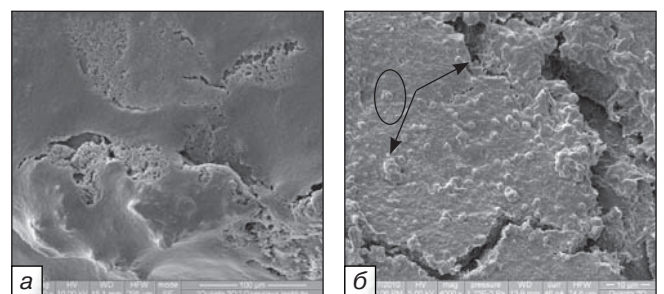


Рис. 4. Биопленка на поверхности пластмассы, 3 мес. инкубации (а) Растрескивание биопленки ↑, бактерии на поверхности (б)



и продуктов их жизнедеятельности, в частности, органических кислот [7, 14].

В дефектах пластмасс бактериальные биопленки способны к длительному сохранению, поскольку надежно защищены от агрессивного воздействия внешней среды (механического удаления, воздействия антибактериальных препаратов). В связи с этим, можно обоснованно утверждать, что образованные на полимерных материалах биопленки обеспечивают длительную персистенцию патогенных для человека возбудителей, потенциально являясь очагами хронической инфекции. Следует отметить, что в реальной клинической ситуации наличие биопленок в полости рта, в состав которых может входить патогенная микрофлора, создает угрозу развития воспалительных процессов не только локального порядка, но и для всего организма в целом. Это связано с возможной миграцией защищенных экзополиматриksom жизнеспособных бактерий в желудочно-кишечный и дыхательный тракт при глотании и вдыхании, а также диссеминации гематогенным и лимфогенным путем.

Анализ ультратонких срезов соскобов с поверхности пластмасс показал, что на ранних сроках инкубации до 14 суток в препарате были представлены в основном бактерии с сохранной структурой, типичной для вегетативных форм бактерий, и незначительное количество форм бактерий с дефектной клеточной стенкой (ДКС). С увеличением сроков инкубации в препаратах соотношение форм бактерий смещалось в сторону увеличения форм с ДКС, но сохранялись и бактерии в типичной вегетативной форме с признаками деления. На основе этих данных можно заключить, что бактерии в формирующихся биопленках сохраняют жизнеспособные клетки, как в вегетативной форме, так и в формах с ДКС, способных к реверсии в типичные вегетативные формы.

Следует отметить и наличие лизированных бактерий в биопленках (рис. 5а, б). По существующим представлениям наличие лизированных бактерий в биопленке может быть результатом так называемого «каннибализма», или аутофагии. Аутофагические модели были описаны на молекулярном уровне у многих бактерий при нехватке питательных веществ в среде обитания. Некоторые бактерии в колонии начинают выделять в окружающую среду токсины, направленные на уничтожение тех бактерий в той же популяции, которые не производят антитоксины [13]. Продукция бактериями токсинов и антитоксинов рассматривается как фактор их персистенции в стрессовых для бактериальной популяции условиях [10].

Данные микроскопического исследования (рис. 6), свидетельствующие о морфофункциональной сохранности и, соответственно, жизнеспособности бак-

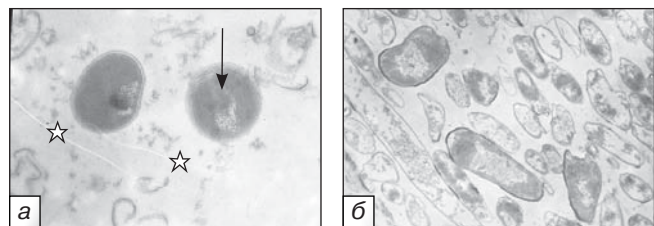


Рис. 5. Ультратонкие срезы: *S. aureus* (а), *P. aeruginosa* (б) — вегетативные клетки, детрит ↑ 3 мес. инкубации

терий при длительном их нахождении на поверхности пластмасс в составе биопленок, были подтверждены бактериологически. Посев соскоба с поверхности биопленок пластмасс спустя 1,5 и 3 месяца инкубации показал наличие жизнеспособных бактерий в биопленках, образовавшихся колонии.

При исследовании типичной зрелой биопленки, полученной при соскобе из корневого канала «периодонтитного» зуба (рис. 7), мы обнаружили много общих элементов с морфологической картиной зрелой биопленки. В частности, выявлены элементы матрикса биопленки, а также кокковидные и палочковидные бактерии, собранные в скопления сходные с теми, которые наблюдались в эксперименте *in vitro* на заключительном этапе сформировавшейся биопленки (рис. 3 и 6в). Основным отличием, которое наблюдалось при исследовании зрелой биопленки из инфицированных корневых каналов, является ее смешанный полимикробный характер.

Ведущее значение в процессе микробной адгезии и последующей колонизации с формированием биопленки, по-видимому, имеет способность ряда бактерий (стрептококков, актиномицетов) к биосинтезу собственных экзополимеров, что хорошо демонстрирует рис. 3.

Считается, что развившийся на сахарозе внешний полисахаридный слой стрептококковой биопленки уменьшает активность нейтрофилов по уничтожению микробов. Совокупность полисахаридов и бактерий биопленки может индуцировать «стимул неподконтрольности фагоцитозу» и таким образом индуцировать «нарушение фагоцитоза» [6, 8, 19]. Полисахариды могут быть не единственными компонентами среды в ротовой полости, которые индуцируют образование биопленки микроорганизмов. Мочевина, минералы, углекислый газ наряду с белками и глюкпротеинами служат источниками энергии и питания для бактерий, вызывающих кариес зубов и пародонтит. Влияние этих дополни-

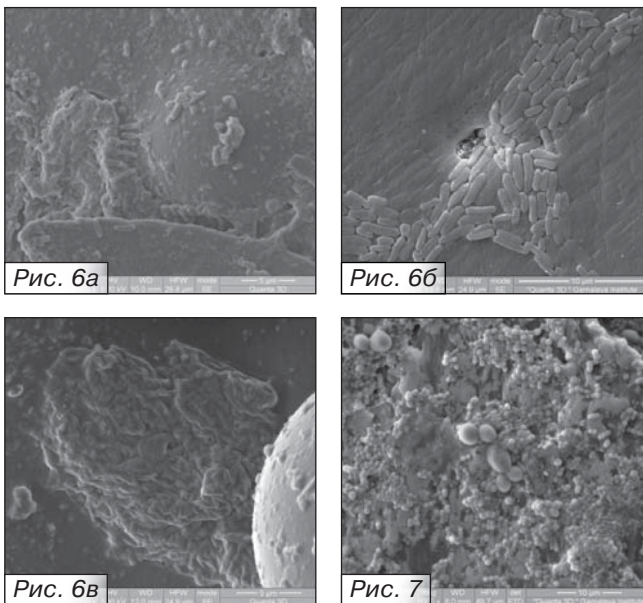


Рис. 6. Этапы формирования биопленки *P. Aeruginosa*

а) адгезия б) микроколонии в) биопленка

Рис. 7. Зрелая смешанная биопленка (в соскобе из корневого канала больного периодонтитом)

тельных факторов на фагоцитоз организма хозяина, процессы биосинтеза цитокинов, хемокинов, дефензинов (эндогенных антимикробных пептидов) и экспрессии TLR рецепторов требует дальнейших исследований [7, 8, 18].

### Заключение

Проведенное исследование показало принципиальную возможность изучить процессы взаимодействия микроорганизмов с искусственными материалами медицинского назначения в экспериментальных условиях. Разработанная экспериментальная модель образования биопленок на абiotических поверхностях может служить основой для проведения исследований с помощью СЭМ, которые позволят вести успешную борьбу с биопленками, формирующимися в естественных условиях при

патологии зубов и пародонта. Целесообразность применения микроскопических методов основана на том, что только визуальный контроль способен дать оценку морфофункционального состояния как самих бактерий, так и экзополиматрикса биопленок при использовании тех или иных антибактериальных средств. Сочетание микроскопических методов с традиционными бактериологическими методами исследования, посредством которых можно оценить наличие жизнеспособных бактерий, объективизирует оценку эффективности средств борьбы с биопленками.

**Поступила 12.10.2015**

*Координаты для связи с авторами:  
127473, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20/1*

### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Автандилов, Г.А. Биодеструкция зубных протезов из полимерных материалов (экспериментальное исследование): Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — 2013. — 26 с.
2. Автандилов Г. А. Biodestrukcia zubnych protezov iz polymernych materialov (experimentalnoe issledovanie): Avtoref. dis. ... kand. med. Nauk. — 2013. — 26 s.
3. Арутюнов С.Д., Царев В. Н., Седракан А. Н., Сулемова Р. Х., Комов Е. В. Сравнительный анализ адгезии микробной флоры рта к базисным материалам зубных протезов на основе полиуретана и акриловых пластмасс // Пародонтология. 2008. №4. С. 3–8.
4. Arutjunov S.D., Carev V. N., Sedrakjan A. N., Sulemova R. H., Komov E. V. Sravnitel'nyj analiz adgezii mikrobnoj flory rta k bazisnym materialam zubnyh protezov na osnove poliuretana i akrilovyh plastmass // Parodontologija. 2008. №4. С. 3–8.
5. Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю) (с изменениями на 15 января 2013 года) / 2013. Гл. II. Разд. 18. С. 1142–1215.
6. Edinye sanitarno-epidemiologicheskie i higienicheskie trebovaniya k tovaram, podlezhashim sanitarno-epidemiologicheskomu nadzoru / 2013. Gl. II. Razd. 18. S. 1142–1215.
7. Зайченко О. Ю., Ильин В. К., Воложин А. И., Новиков Н. Д., Лебеденко И. Ю., Дешевая Е. Д. Испытание акриловых пластмасс на стойкость к искусственной биодеструкции в имитационной модели с применением микробной ассоциации // Российский стоматологический журнал. 2002. №3. С. 19–24.
8. Zajchenko O. Ju., Il'in V. K., Volozhin A. I., Novikov N. D., Lebedenko I. Ju., Deshevaya E. D. Ispytanie akrilovyh plastmass na stojkost' k iskusstvennoj biodestrukcii v imitacionnoj modeli s primeneniem mikrobnoj asociacii // Rossijskij stomatologicheskij zhurnal. 2002. №3. С. 19–24.
9. Кисельникова Л. П., Кириллова Е. В., Царев В. Н., Артемова В. О. Микробиологический мониторинг состояния биопленки зуба при применении хлоргексидина и ксилита в комплексном лечении кариеса у детей раннего возраста // Стоматология детского возраста и профилактика. 2009. Т. 8. №2. С. 74–82.
10. Kisel'nikova L. P., Kirillova E. V., Carev V. N., Artemova V. O. Mikrobiologicheskij monitoring sostojanija bioplenki zuba pri primenenii hlorgeksidina i ksilita v kompleksnom lechenii kariesa u detej rannego vozrasta // Stomatologija detskogo vozrasta i profilaktika. 2009. T. 8. №2. S. 74–82.
11. Царев В.Н., Митронин А.В., Черджиева Д.А. Определение изменения видового состава вирулентной микрофлоры при язвенном пульпите на этапах эндодонтического лечения // Эндодонтия Today. 2011. №3. С. 5–10.
12. Tsarev V.N., Mitronin A.V., Cherdzieva D.A. Opredelenie izmeneniya vidovogo sostava virulentnoy microflory pri yazvennom pulpit na etapah endodonticheskogo lecheniya // Endodontiya Today.- 2011. -№ 3. — С. 5–10.
13. Царев В. Н., Николаева Е. Н., Ипполитов Е. В., Грецов Е. В. Экспрессия рецепторов TLR-2 и TLR-4 на лимфоидных клетках как

маркер инфекционных поражений пародонта // Инфекционные болезни. 2015. Т. 11. №2. С. 71–76.

Tsarev V. N., Nikolaeva E. N., Ippolitov E. V., Gretcov E. V. Ekspressiya receptorov TLR-2 i TLR-4 na lymfoidnyh kletkah na limfoidnyh kletkah kak marker infekcionnyh porazheniy parodonta // Infectionnyye bolezni. 2015. T. 11. №2. S. 71–76.

8. Чеботарь И. В., Маянский А. Н., Кончакова Е. Д. Нейтрофилы и бактериальные биопленки: диалектика взаимоотношений // ЖМЭИ. 2013. №6. С. 105–112.

Chebotar I. V., Mayanskyi A. N., Konchakova E. D. Neytrofily b bakterialnye bioplenki: dialektika vzaimootnosheniy // ZhMEI. 2013. №6. S. 105–112.

9. Gonzalez-Pastor J. E., Hobbs E. C., Losick R. Cannibalism by sporulating bacteria // Science. 2003. V. 301. P. 510–513.

10. Gotz F. Staphylococcus and biofilms // Mol. Microbiol. 2002. V. 43. P. 1367–1378.

11. Hadke L. D., Rupp M. E. In vivo models for the study of biomaterials-associated infection by biofilm-forming staphylococci / Eds.: J.L. Pace, M.E. Rupp, R.G. Finch // Taylor & Francis. Bio films, infection, and antimicrobial therapy. 2006. P. 290–299.

12. Hentzer M., Teitzel G. M., Balzer G. J., Heydorn A., Molin S., Givscov M., Parsek M. R. Alginate overproduction affects Pseudomonas aeruginosa biofilm structure and function // J. Bacteriol. 2001. V. 138. P. 5395–5401.

13. Hanning, M. Transmission electron microscopy study of in vivo pellicle formation on dental restorative materials // Eur. J. Oral. Sci. 1997. V. 105. P. 422–433.

14. Howard G. T. Biodegradation of polyuretan a review // Internat. Biodeterior. a. Biodegrad. 2002. V. 49. P. 245–252.

15. Imazato S. In vitro antibacterial effects of the dentin primer of Clearfil Protect Bond / Imazato S., Kuramoto A., Takahashi Y., Ebisu S., Peters M.C. // Dent. Mater. 2006. V. 22. №6. P. 527–532.

16. Jatinderpreet S. Composite resine degradation products from BisGMA monomer modulate the expression of genes associated with biofilm formation and other virulence factors in S. mutans // J. Biomater. Res. 2007. V. 6. №4. P. 34–45.

17. Lebeaux D., Chauhan A., Rendueles O., Beloin C. [text] // From in vitro to in vivo Models of Bacterial Biofilm-Related Infections Pathogens. 2013. №2. P. 288–356.

18. Meier-Davis S. Host response to biofilms / Eds.: J.L. Pace, M.E. Rupp, R.G. Finch // Taylor & Francis. Biofilms, infection, and antimicrobial therapy. 2006. P. 305–320.

19. Monteiro D. R., Gorup L. F., Takamiya A. S., Ruvollo-Filho A. C., de Camargo E. R., Barbosa D. B. The growing importance of materials that microbial adhesion: antimicrobial effect of medical devices containing silver // Int. J Antimicrob. Agents. 2009. №34. P. 103–110.