

## ЛИТЕРАТУРА

1. Асфандияров Р. И., Удочкина Л. А. / Структурные преобразования органов и тканей в норме и при воздействии антропогенных факторов. — Астрахань, 2004. — С. 64—67.
2. Брагина Н. Н., Доброхотова Т. А. Функциональная асимметрия человека. 2-е изд., перераб. и доп. — М.: Медицина, 1988. — 237 с.
3. Васильев А. Ю., Ольхова Е. Б. Лучевая диагностика: Учебник для студентов медицинских вузов. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. — 688 с.: ил.
4. Катерлина И. Р., Изранов В. А., Соловьева И. Г., Рымар О. Д. и др. // Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина. — 2010. — С. 129—132.
5. Никитюк Б. А., Корнетов Н. А. Интегративная биомедицинская антропология. — Томск: Изд. Томск. ун-та, 1998. — 182 с.
6. Николаев В. Г. Роль интегративной антропологии в мониторинге здоровья населения / Актуальные проблемы спортивной морфологии и интегративной антропологии: Материалы междунар. науч. конф., посвященной 70-летию проф. Б. А. Никитюка: под ред. П. К. Лысова. — М., 2003. — С. 23—25.

7. Санджиев Э. А. Структурные преобразования щитовидной железы на этапах старения человека: дис. ... к. м. н. — Астрахань: Астраханская государственная медицинская академия, 2008. — 149 с.

8. Тарарухина О. Б. Ультразвуковая диагностика заболеваний у детей школьного возраста, подвергшихся радиационному воздействию в результате аварии на ЧАЭС: Автореф. дис. ... к. м. н. — М.: Московский научно-исследовательский институт дигностики и хирургии, 1995. — 22 с.

9. Шарайкина Е. П. // Морфология. — 2004. — Т. 126, Вып.4. — С.140.

## Контактная информация

**Змеев Сергей Анатольевич** — аспирант кафедры анатомии человека ВолгГМУ, e-mail: zmeeva.elena@gmail.com

УДК 576.8:616.314.18.-002.4

## КОЛОНИЗАЦИЯ ПОЛОСТИ РТА СТАФИЛОКОККАМИ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ

**А. Ю. Пестов, А. В. Панченко**

*Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии с курсом клинической микробиологии ВолгГМУ*

В результате исследования выявлено, что в состав биоценоза при заболевании тканей пародонта входят 12 видов стафилококков, из которых 1 коагулазоположительный и 11 коагулазоотрицательный. Установлено, что доминирующим видом в сообществе стафилококков является *S. aureus*, имеющий высокие вирулентные свойства и факторы, способствующие персистенции.

*Ключевые слова:* пародонтит, стафилококк, колонизация.

## COLONIZATION OF ORAL CAVITY BY STAPHYLOCOCCI IN PARODONTITIS

**A. Yu. Pestov, A. V. Panchenko**

The study revealed that the composition of the biocenosis in parodontal disease includes 12 species of staphylococci, of which 1 is coagulase-positive and 12 are coagulase-negative. It was established that the predominant species of staphylococci in the association is *S. aureus*, which has strongly virulent properties and factors contributing to their persistence.

*Key words:* parodontitis, staphylococci, colonization.

В настоящее время рост числа заболеваний, вызываемых условно-патогенными микроорганизмами (УПМ), становится серьезной проблемой клинической стоматологии и обусловлен частым носительством бактериальных патогенов [1, 3, 4, 8].

Среди возбудителей инфекционных заболеваний с различными клиническими проявлениями большое место принадлежит стафилококкам, которые на протяжении последнего столетия являются наиболее значимыми оппортунистическими патогенами в медицинской практике [2, 6].

Стафилококки представляют собой большую гетерогенную группу грамположительных микроорганизмов, которые делятся на коагулазо-положительные

(КПС) и коагулазоотрицательные (КОС). Среди коагулазо-положительных самым известным является *S. aureus*, колонизирующий и поражающий многие органы и ткани, демонстрируя при этом широкий диапазон адаптационных возможностей [9, 5, 7].

Однако, несмотря на большое количество работ, посвященных стафилококкам, роль данного микроорганизма в патологии органов полости рта (пародонтите) остается малоизученной.

Важность и многообразие функций, которые присущи микрофлоре, с одной стороны, и возможность негативных последствий для здоровья человека в случае нарушения ее целостности при колонизации стафилококками, с другой стороны, определили актуальность проблемы.

## ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Определение биоценологических взаимоотношений стафилококков, колонизирующих полость рта при пародонтите, разработка критериев значимости биологических свойств в оценке микроэкологии полости рта.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Для решения поставленных задач за период с 2009 по 2011 гг. на базе кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Волгоградского государственного медицинского университета, Клиники стоматологии ВолгГМУ проведено комплексное обследование 30 больных пародонтитом и 100 практически здоровых людей.

Критерием включения в исследование были возраст от 18 до 65 лет, отсутствие острых и обострений общесоматических заболеваний, отсутствие лекарственной или наркотической зависимости. При выполнении работы соблюдены основные этические принципы.

Клинические симптомы заболевания выявляли при тщательном целенаправленном расспросе, а также путем объективного осмотра, обращая внимание на гигиеническое состояние полости рта, наличие кариеса и его осложнений, состояние тканей пародонта, используя индексы КПУ, гигиены (ГИ), РМА и пародонтита.

Забор материала для бактериологического исследования проводился по методике Крамарь В. С. и Кравцовой Е. О. (1994). Микрофлора изучалась по методу Наепе! (1979) в модификации Канарейкиной С. К. с соавт. (1981).

Качественный и количественный состав микрофлоры полости рта определен в зубном налете, слизистой оболочке языка, нёба и щеки, содержимом пародонтального кармана.

При проведении бактериологического исследования учитывали: 1) общее количество микроорганизмов; 2) стрептококков; 3) лактобактерий; 4) стафилококков; 5) дрожжеподобных грибов; 6) энтеробактерий; 7) анаэробов.

Идентификация выделенных микроорганизмов проводилась на основании морфологических, культуральных, биохимических признаков в соответствии с классификацией Берджи (1980). Для оценки биохимических свойств стрептококков, стафилококков, энтеробактерий, анаэробов использовали тест-системы Strepto-test, Staphy-test, Entero-test, API-20A (Франция).

Все материалы были подвергнуты статистической обработке. Вычисления проводились в среде пакета STATISTICA 5.0, а также с использованием программы статистического и инженерного анализа MS Excel 97.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для выполнения поставленных задач было осуществлено изучение микрофлоры полости рта и определено бактерионосительство *Staphylococcus spp.* у лиц обследуемых групп. С этой целью анализирована микрофлора 550 экологических ниш полости рта, выделено и идентифицировано 1140 культур, из которых было 796 штаммов *Staphylococcus spp.*

По результатам двухкратного обследования с интервалом 1,5—3 месяца был определен тип бактерионосительства: резидентное и транзитное (табл. 1).

Из данных приведенной таблицы видно, что в 1-й группе преобладал резидентный тип бактерионосительства как у КПС, так и КОС. В группе сравнения транзитных КПС было несколько больше (53,6%), однако среди КОС доминировали резидентные виды.

Выявлено, что стафилококки у здоровых людей заселяли один биотоп у 24; два — у 16; три — у 14% обследуемых. Отмечено, что 2—3 биотопа преимущественно было колонизировано эпидермальным стафилококком [(59,2 ± 1,4)%], а 1—2 — золотистым, сапрофитическим и другими видами КОС [(40,8 ± 1,2)%].

У практически здоровых людей обсемененность стафилококками полости рта при любом типе носительства была одинаковой и достоверных отличий не имела ( $p > 0,05$ ).

Рассмотрение колонизации полости рта лиц с патологией тканей пародонта показало, что стафилококки у пациентов этой группы встречались весьма часто, колонизируя все биотопы, при этом в полости рта больных пародонтитом один биотоп они колонизировали у 10; два — у 3; три — у 4, четыре — у 8 и пять — у 5% обследуемых.

У больных пародонтитом *S. aureus* и *S. saprophyticus* были зарегистрированы у 78,1 и 5,5% больных соответственно, реже обнаруживались *S. epidermidis* и *S. haemolyticus* (по 2,6% равнозначно). На долю *S. capitis*, *S. warneri*, *S. gallinarum*, *S. simulans*, *S. cohnii*, *S. hominis*, *S. lentis*, *S. xylosus* приходилось по 1,4% наблюдений равнозначно.

Таблица 1

Частота встречаемости различного типа бактерионосительства стафилококков, выделенных у лиц обследуемых групп

Микро- орга- низм  Группа	Кол-во	КПС	Из них				КОС	Из них			
			резидентные		транзитные			резидентные		транзитные	
			абс.	%	абс.	%		абс.	%	абс.	%
1	73	57	48	84,2	9	15,8	16	12	75,0	4	25,0
2	308	56	26	46,4	30	53,6	252	182	72,2	70	27,8

Рассматривая колонизацию стафилококками при резидентном бактерионосительстве патологических ниш, установили, что *S. aureus* с высокой частотой заселял пародонтальный карман (85,7 %).

Таким образом, биоценоз полости рта у больных пародонтитом при резидентном типе носительства стафилококков характеризовался снижением доминирования КОС и увеличением значимости золотистого стафилококка по сравнению с таковой группы сравнения.

В дальнейшем представлял интерес анализ состава биоценоза отдельных экониш при стафилококковом участии. Так, при анализе биоценоза полости рта у лиц 1-й группы выявлено, что при легкой степени пародонтита микробные ассоциации были представлены в основном аэробными микроорганизмами — стафилококками, стрептококками, лактобактериями, а также анаэробными, при этом соотношение аэробных представителей к анаэробным было 1:1. При средней степени тяжести микрофлора изменялась, и представители анаэробных микроорганизмов по плотности колонизации увеличилось вдвое (2:1). При тяжелой форме заболевания произошла сукцессия, в результате которой резко уменьшилось содержание стафилококков за счет увеличения количества анаэробных представителей (1:500). При этом плотность колонизации в 1000 раз превышала такую аэробных бактерий, а у 10 % больных представительство аэробных видов было минимальным, составляя  $10 \times \text{КОЕ/ед. субстрата}$ . Вытеснение аэробных микроорганизмов анаэробными при прогрессировании пародонтита находит подтверждение в экспериментах Матисовой Е. В. (2010).

Перечисленные изменения в микрофлоре больных обследуемой группы характеризуют дисбактериоз полости рта, обнаруженный у всех обследуемых.

Изучение биологических свойств штаммов *S. aureus* показало, что стафилококки, колонизирующие полость рта больных, отличались мелкими размерами, часть из них была лишена способности синтезировать пигмент. Анализ биохимической активности стафилококков резидентного и транзитрного типа показал, что оксидазная активность чаще регистрировалась у больных пародонтитом (48,6 %), тогда как у практически здоровых людей она наблюдалась в 2 раза реже (23,6 %). По наличию фосфатазной активности высокий показатель установлен у больных пародонтитом (65,3 %). Аналогичная закономерность отмечена для нитратредуктаз, которые чаще обнаруживались у микроорганизмов, выделенных у больных.

Золотистый стафилококк у больных в 92 % наблюдений обладал адгезией, при этом среди резидентных представителей адгезия была выявлена у всех штаммов. Значения лецитиназной и гемолитической активности также были выше у резидентных микроорганизмов. Дезоксирибонуклеазоактивные изоляты чаще регистрировались у больных пародонтитом при резидентном типе носительства (66,7 %), что достоверно превышало значения таковых группы сравнения (11,5 %) ( $p < 0,05$ ).

Коагулазоотрицательные стафилококки проявляли низкую активность всех изученных свойств независимо от обследуемой группы и типа носительства.

При изучении факторов, способствующих персистенции стафилококков, установлено, что антилизоцимная активность (АЛА) *S. aureus* определялась у всех культур при резидентном и транзитрном типе носительства. Большинство микроорганизмов при пародонтите проявляли высокую и умеренную выраженность признака. Низкая АЛА регистрировалась в 9 % наблюдений при резидентном носительстве и в 3 % — при транзитрном.

Анализ антиинтерфероновой активности (АИА) показал, что распространенность этого фактора была наибольшей среди резидентных *S. aureus* при пародонтите (66,7 %). Среднее значение показателя резидентных стафилококков у больных пародонтитом составило  $(3,21 \pm 0,2)$  и  $(2,71 \pm 1,23)$  у. е.

Распространенность и значение АЛА и АИА коагулазоотрицательных стафилококков лиц обследуемых групп были несколько ниже у всей популяции микроорганизмов.

Таким образом, наличие факторов, способствующих персистенции, является необходимой мерой для патогена, направленной на деградацию неспецифической резистентности макроорганизма, с одной стороны, и длительного переживания стафилококков в эконише — с другой.

Полученные результаты биологических свойств стафилококков побудили нас провести анализ вирулентности коллекции стафилококков, используя при этом нумерическую обработку (табл. 2).

Таблица 2

### Распределение стафилококков по степени вирулентности

Степень	Группа							
	больные				сравнения			
	КПС		КОС		КПС		КОС	
	Р	Т	Р	Т	Р	Т	Р	Т
Низкая	—	—	9 75,0	2 50,0	26 100,0	30 100,0	182 100,0	70 100,0
Средняя	12 25,0	3 33,3	3 25,0	2 50,0	—	—	—	—
Высокая	36 75,0	6 66,7	—	—	—	—	—	—

*Примечание.* Р — резидентное носительство, Т — транзитрное носительство, числитель — абсолютное значение, знаменатель — процент.

Из данных табл. 2 следует, что среди *S. aureus*, колонизирующих больных, регистрировалось наибольшее количество высоковирулентных штаммов (75 при резидентном и 66,7 % при транзитрном типе бактерионосительства). Большая часть КОС, выделенных у больных, обладала низкой вирулентностью.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Стафилококки, изолированные при пародонтите, обладали набором отдельных детерминант вирулент-

ности: способность к адгезии, антилизоцимная, антиинтерфероновая, каталазная и гемолитическая активность. Установлено, что маркеры патогенности присутствовали у бактерий в различных сочетаниях. Рассмотренные признаки патогенности ответственны за степень выраженности патологического процесса.

Высокая распространенность поражения тканей пародонта наряду с увеличением плотности колонизации *Staphylococcus spp.* делают возможным быстрое развитие деструктивно-воспалительных процессов в полости рта у больных, что является убедительным доказательством необходимости комплексной терапии стоматологических заболеваний, включающей в себя элиминацию стафилококковой флоры полости рта, а также мероприятия, направленные на коррекцию данной экологической ниши.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Абрамов В. Г.* Колонизация полости рта и ее влияние на лизоцим-антилизоцимные взаимоотношения в экосистеме при кариесе: Автореф. дис. канд. мед. наук. — Волгоград, 2007. — С. 14.
2. *Белобородов В. Б., Митрохин С. Д.* // Инфекции и антимикробная терапия. — 2003. — Т. 5. — № 1. — С. 4—12.
3. *Воронин В. В., Леонтьев В. К., Шестаков В. Т.* // Стоматология. — 2001. — Т. 80, № 6. — С. 15—17.

4. *Каргальцева Н. М.* // Ин-т стоматологии. — 2001. — № 1. — С. 18—21.
5. *Кафарская Л. И.* // Детские инфекции. — 2006. — Т. 5, № 1. — С. 6—11.
6. *Осиян С. А.* Эколого-микробиологическая оценка резидентного стафилококкового бактерионосительства среди детского населения: Дис. ... канд. мед. наук. — Оренбург, 2005. — С. 24—56.
7. *Поспелова С. В.* Характеристика штаммов стафилококков, изолированных при обследовании на бактерионосительство / С. В. Поспелова, Э. С. Горовиц // Проблемы и перспективы современной науки (сборник научных трудов). — 2008. — В. 2. — С. 26—31.
8. *Рабинович И. М., Баненко Г. В., Рабинович О. Ф.* // Стоматология. — 2002. — № 5. — С. 48—50.
9. *Чернуха М. Ю. и др.* Антибиотикорезистентность и возможное происхождение штаммов *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella*, выделенных от детей с дисбактериозом кишечника. — М.: ЖМЭИ, 2005. — № 5. — С. 66—70.

## Контактная информация

**Пестов Артур Юрьевич** — аспирант кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии с курсом клинической микробиологии ВолгГМУ, e-mail: [anna.panchenko@pochta.ru](mailto:anna.panchenko@pochta.ru)

УДК 57.043.615.361.01851-012

## УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ПРОЦЕССА ЛИОФИЛЬНОГО ВЫСУШИВАНИЯ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА СОВРЕМЕННОМ ОБОРУДОВАНИИ

**В. Г. Пушкар, И. В. Новицкая\*, М. Я. Кулаков, К. А. Павлова, А. М. Степурина**

*Кафедра молекулярной биологии и генетики медико-биологического факультета ВолгГМУ\*,  
Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт*

Предложена новая схема лиофильной сушки лабильных иммунобиологических и диагностических препаратов на современном оборудовании. Схема заключается в плавном понижении давления и повышении температуры в сублимационной камере по определенной программе. Предложенная технология позволяет длительно хранить высушенные препараты и полностью сохранить их активность.

*Ключевые слова:* лиофильная сушка препаратов, процесс сублимации.

## DEVELOPMENT OF THE PROCESS OF LYOPHILIZATION OF IMMUNOBIOLOGIC PREPARATIONS USING MODERN EQUIPMENT

**V. G. Pushkar, I. V. Novitskaya, M. Ya. Kulakov, K. A. Pavlova, A. M. Stepurina**

We suggested a new scheme of immunologic and diagnostic agent lyophilization using modern equipment. A freeze-drying program is based on continuous reduction of pressure and a rise in temperature in the sublimation chamber. The presented technology allows a long-term storage of dried preparations with complete preservation of their activity.

*Key words:* freeze-drying, diagnostic preparation, process of lyophilization.

Значительная часть иммунодиагностических препаратов на одном из заключительных этапов производства подвергаются лиофильному высушиванию. Этот технологический этап позволяет стабилизировать свойства препарата и многократно увеличить срок его хранения. Однако подбор па-

раметров лиофилизации в каждом конкретном случае является сложной технологической задачей. Так как этот процесс связан с изменением агрегатного состояния препарата, он напрямую влияет на его иммунологическую активность и возможность длительного хранения.