

сосудам мозга при сохранении на относительно постоянном уровне венозного оттока крови из региона на фоне резко выраженной гипотонии средних и мелких артерий, артериол, капилляров и вен. Такая динамика РЭГ показателей свидетельствует о том, что в процессе развивающейся гипертермии создаются неблагоприятные условия для венозного застоя крови в церебральном бассейне.

ЛИТЕРАТУРА

1. Афанасьева Р. Ф. Оценка теплового состояния человека с целью обоснования гигиенических требований к микроклимату рабочих мест и профилактике охлаждения и перегревания / Р. Ф. Афанасьева, Л. Ф. Басаргина, Ф. М. Шлейфман и др.: Методические рекомендации, МЗ СССР, № 5168. — М., 1990. — 17 с.
2. Бакулин В. С., Макаров В. И., Богомолова М. М. // Вестник ВолГМУ. — 2009. — № 1 (29). — С. 31—34.
3. Исупов И. Б. Системный анализ церебрального кровообращения человека. — Волгоград: Перемена. — 2001. — 108 с.

4. Уилмор Д. Х. Физиология спорта и двигательной активности // Олимпийская литература. — Киев, 2001. — С. 310—400.
5. Galloway S. D. R., Shirrefs S. M., Leipes S. M., et al. // Sports Exercise and Injury. — 1997. — Vol. 1. — P. 27—31.
6. Hughson R. L. Hyperthermia, Hypothermia and Problems of Hydration // Endurance in Sport, Blackwell Scientific Publisher. — 1992. — P. 458—470.
7. Nielsen B. // J. Physiol. — 2001. — Vol 1. — P. 279—286.
8. Noakes T. D. // Phys. Sports. Med. — 1988. — Vol. 16. — P. 24—26.
9. Roberts W. O. // Phys. Sportsmed. — 1989. — Vol. 5. — P. 49—55.

Контактная информация

Бакулин Владимир Сергеевич — д. м. н., доцент, зав. кафедрой спортивной медицины, Волгоградская государственная академия физической культуры, e-mail: spmed@vgafk.ru

УДК 616.314.18.-002-085.322

ОБОСНОВАНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ФАКТОРОВ ПАТОГЕННОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ ПОЛОСТИ РТА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА ПРОБИОТИКАМИ

И. А. Петрова, Э. С. Тёмкин, Н. И. Матвеева, А. В. Липницкий

*Волгоградский государственный медицинский университет,
кафедра терапевтической стоматологии,
Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт*

Целью работы явилось изучение некоторых факторов патогенности микроорганизмов полости рта у лиц с генерализованным гингивитом при проведении противовоспалительной терапии. Изучение отдельных свойств микроорганизмов полости рта больных гингивитами определяли до и после лечения пробиотиком «Споробактерин жидкий».

Ключевые слова: пробиотик «Споробактерин жидкий», заболевания пародонта, микроорганизмы полости рта.

EXPLANATION OF PATHOGENICITY OF ORAL MICROORGANISMS DURING INFLAMMATORY PERIODONTAL DISEASE THERAPY WITH PROBIOTICS

I. A. Petrova, E. S. Temkin, N. I. Matveeva, A. V. Lipnitskiy

The purpose of this study was to examine some factors of pathogenicity of oral microorganisms in humans with generalized gingivitis during anti-inflammatory treatment. A study of some characteristics of oral microorganisms in patients with gingivitis was defined before and after treatment with Sporobacterin liquid probiotic.

Key words: Sporobacterin liquid probiotic, periodontal disease, oral microorganisms.

В этиологии воспалительных заболеваний пародонта и в возникновении их осложнений ведущая роль принадлежит микроорганизмам полости рта [11].

Многообразие функций микробного биоценоза пищеварительного тракта выражается в сложных взаимных связях микрофлоры с макроорганизмом, обеспечивающих постоянство микробного пейзажа. Роль микрофлоры в сохранении зубиоза (гомеостаза) организма

человека определяет необходимость ее исследования не только в условиях нормы, но и при патологических процессах.

В диагностическом плане при выявлении дисбиоза (дисбактериоза), а также для рационального обоснования корректирующей бактериотерапии, изучение свойств микробного спектра полости рта имеет первостепенное значение.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Целью нашего исследования являлось изучение факторов патогенности выделенных микроорганизмов (свойств персистенции и бактериоциногении) у лиц с генерализованными гингивитами и использование выраженности этих свойств в качестве ориентиров для обоснования эффективности противовоспалительной терапии.

Для реализации цели нами были поставлены следующие задачи:

1. Разработать способы определения дисбиоза микрофлоры полости рта для использования их в качестве индикатора состояния микробиоценоза пациентов при заболеваниях пародонта:

- а) скрининговая оценка дисбиоза по выявлению в мазках со слизистой полости рта персистирующих бактерий с антилизосимной (АЛА) и антиинтерферонной (АИА) активностями;

- б) выявление клонов с выраженной бактериоциногенностью (БЦГ) в смешанных популяциях микрофлоры полости рта пациентов с гингивитами.

2. Изучение фенотипической экспрессии свойств персистенции (АЛА и АИА), а также БЦГ микроорганизмов полости рта пациентов с гингивитами до и после лечения пробиотиками.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Были исследованы мазки со слизистой десен 43 пациентов с выраженными гингивитами, диагноз у которых подтвердился клиническими проявлениями — гиперемией, отеком, кровоточивостью, болезненностью и др. Контрольную группу составляли 40 клинически здоровых лиц.

В основу скринингового метода определения дисбиоза микрофлоры полости рта положены способы определения АЛА [5] и АИА [6], а также принцип «отсроченного антагонизма», применяемый для выявления бактериоциногенных свойств бактерий [7].

Мазки у исследуемых лиц брали стерильными ватными тампонами, смоченными агаризованным (0,1%-м) физиологическим (0,8%-м NaCl) раствором. Содержимое мазков засеивали отпечатками на поверхность 1,5% агара Хоттингера в чашках Петри. Для определения АЛА агар Хоттингера содержал 5 и 10 мкг/мл препарата лизоцим (Олайнский завод химреактивов, объединения «Мосмедпрепараты» им. Л. Я. Карпова) с минимальными бактериоцидными концентрациями (МБК) для тест-культуры *Micrococcus lysodecticus* (штамм № 2665 ГИСК им. Т. А. Тарасевича). Для определения АИА в агар Хоттингера вносили человеческий лейкоцитарный интерферон (ЧЛИ) (НПО «Биомед», Пермь) в количестве 2МБК для тест-культуры *Corinebacterium xerosis* ГИСК № 181. Посевы инкубировали в термостате 24—48 ч при 37 °С. Бактерии в выросших макроколониях — бляшках исследуемых проб убивали парами хлороформа в течение 30 мин. После обработки хлороформом на микроколонии исследуемых проб наливали

вторым слоем 3 мл 0,7%-й агаровой питательной среды Хоттингера, смешанной с 0,1 мл. 1-миллиардной взвеси суточной агаровой индикаторной для определения АИА тест-культуры *C. xerosis* 181, а для определения АЛА и бактериоциногенности исследуемых микроорганизмов — тест-культуры *M. lysodecticus* 2665.

Выраженность свойств АИА, АЛА и бактериоциногенности микроорганизмов полости рта пациентов с гингивитами определяли до и после лечения (через 3—5 дней) пробиотиком «споробактерин жидкий», сконструированном на основе штамма *Bacillus subtilis* PAC KM-115 [2], проявляющего ингибирующую активность по отношению к патогенным видам микроорганизмов и обладающего множественной лекарственной устойчивостью. Во всех случаях, как в группе пациентов с гингивитами, так и у здоровых лиц, количественная оценка выраженности персистирующих свойств микробного спектра осуществлялась в миллиметрах. Наличие АЛА, АИА и БЦГ < 1 мм считали отрицательным показателем, а 1—3 мм и > 3 мм — положительным показателем теста.

Лечение препаратом «Споробактерин жидкий» проводили согласно Приказу № 231 Министерства здравоохранения РФ [10] в алгоритме 2 мл 2 раза в день за 20—30 мин до еды в течение 7—14 дней.

Применительно к нашим наблюдениям мы ориентировались на устранение таких клинических проявлений, как гиперемия и отечность десен, кровоточивость, болезненность, изменение клинических симптомов путем определения индексных показателей состояния тканей пародонта, а также на исчезновение из микрофлоры пациентов микроорганизмов, обладающих АЛА, АИА и выраженной бактериоциногенностью.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием общепринятых методов расчета средних арифметических величин, их средних ошибок, доверительных интервалов. Достоверность различий оценивали критерием Стьюдента при его величине менее 0,05 [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Характеристика микрофлоры полости рта, регистрируемая в виде АЛА, АИА и БЦГ, у пациентов по своей выраженности была различной.

Обнаруженные нами различия регистрируемых проявлений АЛА, АИА и бактериоциногенности сведены в табл. 1.

В табл. отдельно не представлены материалы повторного определения АЛА, АИА и БЦГ микрофлоры полости рта пациентов через 3—5 дней после терапии пробиотиком, поскольку эти показатели достоверно не отличались от показателей контрольных групп.

Как видно из табл. 1, уровень различий регистрируемых признаков у больных и здоровых лиц значителен. Наблюдаемые отклонения показателей являются статистически достоверными ($p < 0,05$). В 2 случаях выпадающие значения (табл. 1) контрольной

Таблица 1

Выраженность свойств АЛА, АИА и БЦГ микрофлоры полости рта у пациентов с гингивитами и у здоровых лиц

Группы обследованных пациентов	Регистрируемый показатель	Число обследованных	Выраженность признака					
			<1 мм		1—3 мм		>3 мм	
			абс.	%	абс.	%	абс.	%
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Больные гингивитом	АЛА	43	12	27,9	26	60,4	5	11,6
здоровые		40	31	77,5	8	20	1*	2,5
Больные гингивитом	АИА	30	9	30	19	63,3	2	6,7
здоровые		27	18	66,6	9	33,4	0	-
Больные гингивитом	БЦГ	29	8	27,5	17	58,6	4	13,9
здоровые		20	19	95	0	—	1**	5

*Выраженность АЛА микрофлоры больного ангиной;

**выраженность БЦГ микрофлоры больного бронхитом.

группы при определении АЛА* и БЦГ** могли быть обусловлены заболеваниями ангиной и бронхитом, что отразилось на характеристиках персистенции бактерий, направленной на преодоление механизмов резистентности хозяина.

Биомедицинские аспекты персистенции бактерий в современной литературе охарактеризованы широко [3]. Сохранение жизнеспособности микробных популяций в биоценозе осуществляется за счет приобретения (селекции) ими антагонистических эффектов, выражающихся в устойчивости к защитным механизмам макроорганизма [4].

Фенотипическая выраженность свойств персистенции АЛА и АИА, а также БЦГ микроорганизмов полости рта пациентов с гингивитами была изучена не только до, но и после лечения пробиотиком. Для доказательства эффективности применения препарата при хронических генерализованных гингивитах мы ориентировались на результаты проявления персистирующих свойств микробиоценоза и клинические показатели у пациентов в опытной и контрольной группах.

Установлено, что применение споробактерина [8, 9] в течение 7—14 дней приводило к исчезновению в микробиоценозе полости рта пациентов микроорганизмов, обладающих АЛА, АИА и БЦГ, в резуль-

тате чего спектр микроорганизмов у излеченных и здоровых по выраженности свойств персистенции статистически не отличался. Данный период применения препарата оказался достаточным для нормализации изученных нами признаков микрофлоры полости рта, хотя не исключено, что полного очищения от патогенной флоры при применении монотерапии пробиотиком не происходило.

Клинические наблюдения показали, что после лечения споробактерином у пациентов объективно устранены такие клинические проявления, как гиперемия и отечность десен, кровоточивость, зуд и жжение в области десен, то есть эффективность применения пробиотика подтверждена и по клиническим признакам. Для объективной оценки состояния пародонта до и после лечения пробиотиком «Споробактерин жидкий» определяли следующие индексы [12]:

- индекс папиллярно-маргинально-альвеолярный (РМА);
- числовое значение пробы Шиллера-Писарева (йодное число Свракова);
- пародонтальный индекс (ПИ).

Полученные нами данные динамики индексных показателей состояния тканей пародонта у пациентов с гингивитами сведены в табл. 2.

Таблица 2

Динамика индексных показателей состояния тканей пародонта у пациентов с гингивитами

Наименование группы	Число больных	Динамика показателей					
		индекс РМА		числовое значение пробы Шиллера-Писарева		пародонтальный индекс (ПИ)	
		до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Основная (опытная)	43	1,996	0,0194 $p < 0,001$	2,76	0,042 $p < 0,001$	2,15	0,013 $p < 0,001$

По нашему мнению, основное фармакотерапевтическое действие пробиотика проявляется на уровне пищеварительного тракта, оказывая антагонистическое действие в отношении патогенной микрофлоры и способствуя нормализации микробного спектра макроорганизма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нами изучена информативность методов выявления антилизоцимной и антиинтерферонной активности персистирующих бактерий в мазках со слизистой полости рта пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта. Кроме того, проведена оценка уровня бактериоциногенности клонов из популяции микробноты полости рта пациентов с гингивитами. Предложенные способы выявления дисбиоза могут быть использованы в качестве индикатора состояния микробиоценоза полости рта пациентов. Обоснована целесообразность оценки свойств персистирующих бактерий для характеристики эффективности противовоспалительной терапии пробиотиком на основе *B. subtilis* — споробактерином. Достоинства методов (простота, доступность, неинвазивность) дают возможность рекомендовать их для использования в клинической стоматологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ашмарин И. П., Воробьев А. А. // Статистические методы в микробиологических исследованиях. — Л.: Медгиз, 1962, С. 3—26.
2. Буланцев А. Л., Тихонов Н. Г., Липницкий А. В. Штамм *Bacillus subtilis* PAC, резистентный к рифампицину, ампициллину и стрептомицину, обладающий антибактериальной активностью по отношению к патогенным видам микроорганизмов. Пат. №2115725 Р.Ф., Бюл. изобр. — 1998. — № 20.

3. Бухарин О. В. // Биомедицинские аспекты персистенции бактерий. — ЖМЭИ. — 1994. — № 4 (прил.). — С. 4—14.
4. Бухарин О. В. // Персистенция бактерий. Актовая речь. — Оренбург, 1992, — С. 1—32.
5. Бухарин О. В., Фролов Б. А., Воронина Л. Г. и др. Способ определения антилизоцимной активности микроорганизмов. А. с. № 914622 (СССР), 1982.
6. Бухарин О. В., Соколова В. Ю. Способ определения «антиинтерферонной» активности микроорганизмов. А. с. СССР № 156491 — Открытия № 18, 15.05.1990.
7. Кудлай Д. Г., Лиходед В. Г. Бактериоциногенность. — Л.: Медицина. — 1966. — С. 15—24.
8. Никитенко М. В., Никитенко В. И. Препарат Споробактерин жидкий. Патент на изобретение № 2217154-12.09.2001 г.
9. Никитенко М. В. Новая форма препарата «Споробактерин жидкий» и изучение ее эффективности при лечении дисбактериозов кишечника: Дис. ... канд. мед. наук. — Оренбург, 2004. — 138 с.
10. Об утверждении отраслевого стандарта. «Протокол ведения больных, Дисбактериоз кишечника». Приказ № 231 М.З. РФ 09.06.2003. — М., 2003. — С. 127—130.
11. Пономарева И. Г. Экологическая значимость микрофлоры полости рта в плане стоматологической реабилитации: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Волгоград. — 1993. — 23 с.
12. Тёмкин Э. С., Матвеева Н. И., Петрова И. А. и др. // Вестник ВолГМУ. — 2013. — № 1 (45), — С. 12—14.

Контактная информация

Тёмкин Эдуард Семенович — д. м. н., профессор кафедры терапевтической стоматологии, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: elot@list.ru