

На правах рукописи

Клюева Лидия Александровна

**МИКРОЭКОЛОГИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ
И ИХ КОРРЕКЦИЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ
РЕЦИДИВИРУЮЩЕМ АФТОЗНОМ СТОМАТИТЕ
(на примере города Сургута)**

03.00.16 – экология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Сургут, 2005

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сургутский государственный университет Ханты-Мансийского автономного округа»

Научный руководитель

доктор медицинских наук,
профессор А.В. Куяров

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук,
профессор В.А. Карпин

доктор медицинских наук,
профессор Н.В. Рудаков

Ведущее учреждение – Уральская государственная медицинская академия

Защита диссертации состоится « ____ » _____ 2005 г. в ____ час на заседании диссертационного совета К 800.005.01 в ГОУ ВПО «Сургутский государственный университет ХМАО» по адресу: 628400, Тюменская обл., г. Сургут, ул. Энергетиков, 14.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ ВПО «Сургутский государственный университет ХМАО»

Автореферат разослан « ____ » _____ 2005 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
к.м.н., доцент



В.С. Павловская

2006-4
12723

3 2167900

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Важным разделом современной стоматологии являются заболевания слизистой оболочки полости рта. Находясь под постоянным воздействием внешних и внутренних факторов, она является локальным проявлением различных заболеваний. Изменения слизистой оболочки полости рта часто являются первыми симптомами заболеваний крови, эндокринных нарушений, патологии желудочно-кишечного тракта (Е.В. Боровский и А.Л. Машкилейсон, 2001; Huerta J., 1990).

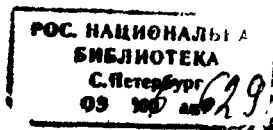
Трудности диагностики патологии слизистой оболочки полости рта заключаются в многообразии заболеваний, локализующихся в этой области, в различии их этиологии и патогенеза и часто в значительном сходстве клинических проявлений. При этом следует отметить, что этиология и патогенез многих заболеваний слизистой оболочки полости рта окончательно не выяснены (Л.М. Лукиных, 2000; Delgado S., 2004).

Действие неблагоприятных факторов внешней среды, нерациональная антибиотикотерапия приводят к нарушению биоценоза слизистых оболочек дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта человека. Наиболее эффективными препаратами для лечения и профилактики дисбиотических состояний являются антибиотики, которые реализуют экологические механизмы в нормализации биоценозов и не вызывают побочных действий (А.А. Воробьев, 2001; Б.А. Шендеров, 1998; Gorbach S., 1990).

Учитывая, что нарушения микрофлоры полости рта способствуют развитию многих стоматологических заболеваний, растет интерес исследователей к применению пробиотиков в стоматологии (Г.Н. Усатова, 1989; Н.А. Шабанская, 1991; Н.В. Кашковская, 1992; Л.В. Морозова, 1993; А.С. Алимбаева, 1997). Расширение сферы их применения выдвигает необходимость поиска микроорганизмов из представителей соответствующих биотопов. Среди них наиболее перспективны лактобактерии рода *Acidophilus*, которые входят в состав микробиоценозов открытых полостей организма человека (В.В. Поспелова с соавт., 1991).

В плане коррекции нарушений микробной экологии акцент делается на применение пробиотиков, принципы отбора и формы применения которых постоянно совершенствуются (В.В. Смирнов с соавт., 1993). При использовании пробиотиков различные исследователи опирались на антагонистическую активность, иммуномодулирующее действие, антибиотикорезистентность, адгезивность, природный синергизм (И.Б. Куваева и К.С. Ладодо, 1991; Т.А. Логадырь, 1990; А.Ю. Лихачева, 1992).

Фрагментарность изучения микробной экологии слизистых полости рта при хроническом рецидивирующем афтозном стоматите во



взаимосвязи с микрофлорой носа и кишечника, совершенствование способов применения эубиотиков определяет актуальность избранной темы в теоретическом и практическом аспектах.

Цель работы. Оценить эффективность коррекции микробиологических нарушений эубиотиками при хроническом рецидивирующем афтозном стоматите.

Задачи исследования.

1. Изучить частоту встречаемости и клиническую характеристику хронического афтозного стоматита в условиях города Сургута
2. Изучить состояние микробной экологии слизистых полости рта при ХРАС во взаимосвязи с микрофлорой носа и кишечника.
3. Исследовать биологические свойства ротовой жидкости и ферментные факторы колонизации микрофлоры слизистых оболочек.
4. Дать оценку биологическим свойствам эубиотиков и разработать диагностическую модель показаний к коррекции нарушений микрофлоры слизистой полости рта и кишечника.
5. Дать оценку клинической и микробиологической эффективности эубиотиков при лечении хронического рецидивирующего афтозного стоматита.

Научная новизна работы

Впервые установлена взаимосвязь между нарушением биоценоза слизистой полости рта, носа и кишечника при хроническом рецидивирующем афтозном стоматите. Выделение *S. aureus* и *S. epidermidis* с гемолитическими свойствами со слизистой носа и зева свидетельствует о дисбактериозе слизистых оболочек полости рта и кишечника. Снижение содержания представителей *Streptococcus*, *Lactobacillus* при увеличении количества дрожжеподобных клеток рода *Candida* и появление в биоценозе полости рта *E. coli* указывает на усугубление дисбиотических состояний этих биотопов.

Впервые изучена взаимосвязь биологических свойств ротовой жидкости и ферментных факторов колонизации микрофлоры слизистых рта при хроническом рецидивирующем афтозном стоматите. Для изолятов микроорганизмов со слизистой носа и зева характерна высокая их ферментативная активность, которая способствует колонизации и персистенции бактерий в условиях повышенного содержания гистамина и мочевины.

Результаты исследования являются основой для дифференцированного подхода к оценке нарушения микробиоценоза полости рта у больных с хроническим рецидивирующим афтозным стоматитом и дают возможность прогнозировать носительство штаммов условно-пато-

генных микроорганизмов и их роль в качестве этиологических агентов при заболеваниях полости рта.

Определена частота встречаемости хронического рецидивирующего афтозного стоматита на примере города Сургута.

Практическая значимость работы.

Работа выполнена по региональной программе «Микробная экология человека в условиях Севера» (номер государственной регистрации темы во ВНИЦ 01.200.1 18565) и Городской целевой программе охраны природы и рационального использования природных ресурсов города Сургута на 2002–2005 годы «Внедрение системы биологической оценки резистентности организма на воздействие экологических факторов»

Разработаны и внедрены в практику методические указания для студентов, аспирантов и врачей «Применение зубиотиков в лечении воспалительных заболеваний слизистой оболочки полости рта» (Сургут, 2005).

Получено свидетельство Казпатента на предварительный патент на изобретение № 8601 от 24.08.98 «Способ лечения гингивитов и пародонтитов».

Положения, выносимые на защиту:

1. Структурная перестройка биоценоза полости рта свидетельствует о дисбактериозе. Нарушения микроэкологии кишечника способствуют прогрессированию патологических процессов в полости рта.
2. Декарбокксилирующая, протеолитическая и уреазная активность, антилизоцимный признак свидетельствуют о повышенном потенциале микроорганизмов к колонизации и персистенции бактерий слизистой оболочки полости рта
3. Показанием для использования зубиотиков в лечении хронического рецидивирующего афтозного стоматита является диагностически значимая степень нарушения биоценоза и биологическая характеристика ротовой жидкости.

Апробация работы. Материалы исследования доложены и обсуждены на конференциях молодых ученых, научных конференциях СурГУ, Городском обществе стоматологов (2001–2005). Основные положения диссертации опубликованы в 10 печатных работах и методических пособиях для студентов, аспирантов и врачей, которые используются в учебном процессе кафедр микробиологии и терапии.

Структура и объем работы. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, 4 глав собственных исследований, обсуждения результатов и указателя литературы, включающего 209 источников, в том числе 137 отечественных и 71 зарубежных. Работа изло-

жена на 124 страницах машинописного текста, иллюстрирована 34 таблицами и 4 рисунками.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для выполнения поставленных задач использовались результаты клинико-лабораторного исследования больных с воспалительными заболеваниями слизистой полости рта в группах с гастроэнтерологическими заболеваниями, аллергическими заболеваниями студентов Сургутского университета. Исследования проводились на базе Стоматологической поликлиники № 2 города Сургута (главный врач А И Бородин), лаборатории «Экология микроорганизмов» (зав. лабораторией профессор А.В. Куяров) и биохимической лаборатории Сургутского государственного университета (зав. лабораторией доцент Н.П. Баранов), бактериологической лаборатории Окружного кардиологического диспансера, центра диагностики и ССХ (зав. лабораторией И.В. Побиткова).

Комплекс клинических и инструментальных исследований включал унифицированные и стандартизированные методы: клинико-лабораторные, бактериологические, биохимические, статистические и методы общей экологии.

Объем и профиль этапов выполнения исследований представлен на рис. 1.

Этап № 1

Анализ 406 разработочных карт по выявлению воспалительных заболеваний слизистой полости рта



Этап № 2

Клинико-лабораторного исследования

Контроль n=32	Группа 1 (ХРАС) n=32	Группа 2 (НГИЗ) n = 64	Группа 3 (АлЗ) n = 34
------------------	-------------------------	---------------------------	--------------------------



Этап № 3

Исследование у 157 лиц микрофлоры полости рта и носа на дисбактериоз + 67 анализов декарбоксилирования 4-х аминокислот микроорганизмами + 275 анализов содержания свободного гистамина в слюне

Контроль, n=32	Группа 1 (ХРАС) n=32	Группа 2 (НГИЗ) n = 64	Группа 3 (АлЗ) n = 34
-------------------	-------------------------	---------------------------	--------------------------



Этап № 4

36 анализов идентификации лактобактерий + 36 анализов диаминооксидазной активности лактобактерий + 82 анализа активности свертывания и кислотообразования + 108 анализов антагонистической активности

4 вида представителей рода *Lactobacillus*



Этап № 5

Оценка эффективности коррекции микрофлоры: клинико-лабораторное исследование больных + 124 анализа идентификации микрофлоры слизистой носа и зева + 64 анализа содержания свободного гистамина в слюне

Группа НГИЗ, n = 56

Контроль, n = 32

Опыт, n = 32

Рис 1. Объем и этапы выполнения исследований

Проведено комплексное клинико-лабораторное исследование 162 человек в возрасте от 19 до 35 лет.

Клиническое исследование полости рта у больных проводилось по общепринятой методике. Вопросы анамнестических данных включали: анамнез жизни, наследственность, сопутствующие заболевания, аллергологический статус. Анамнез стоматологического заболевания включал вопросы сроков появления жалоб, связь с основным заболеванием, характер течения, проводимое лечение и его эффективность.

Объективное обследование больных состояло из осмотра кожных покровов лица, красной каймы губ, углов рта и слизистой оболочки рта, передних и задних небных дужек, состояния миндалин, задней стенки глотки.

Для объективной оценки стоматологического статуса использовались данные осмотра, индексы гигиены и КПУ. Гигиенический индекс использован в соответствии с рекомендациями Ю. А. Федорова – В. В. Володкиной (Е. В. Боровский, Г. М. Барер, 1986).

Контрольную группу составили 32 человека, не имеющих заболеваний слизистой и с санированной полостью рта, имеющих индекс КПУ не превышающий 4, не отмечающие в анамнезе хронические заболевания желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

Первую исследуемую группу (32 человека) составили студенты Сургутского университета, у которых во время медицинского осмотра был выявлен хронический рецидивирующий афтозный стоматит

(ХРАС), проявлявшийся высыпанием одиночных афт. В анамнезе отмечено появление афт с частотой до двух – трех раз в год. За медицинской помощью по поводу заболеваний полости рта студенты ранее не обращались.

Вторую исследуемую группу (64 человека) составили больные из числа обратившихся за стоматологической помощью в поликлинику с жалобами на заболевание зубов и имеющие афты на слизистой полости рта. В анамнезе больные отмечали нарушения функции желудочно-кишечного тракта. Эти больные направлялись на консультацию к гастроэнтерологу. Лицам этой группы было проведено углубленное бактериологическое исследование микрофлоры кишечника на дисбактериоз и диагностированы гастроинтестинальные заболевания.

В третью исследуемую группу вошли 34 больных с хроническим рецидивирующим афтозным стоматитом и аллергическим ринитом, направленные к стоматологу аллергологом (врач Н.И. Матвеева, Окружной кардиологический диспансер, центр диагностики и ССХ, г. Сургут) для бактериологического исследования микрофлоры слизистой полости рта и носа и лечения стоматита.

После консультаций гастроэнтеролога и аллерголога больные находились под наблюдением в течение 6 месяцев с повторным бактериологическим исследованием микрофлоры слизистой носа, полости рта и кишечника.

Забор материала со слизистых оболочек полости рта и зева проводили стерильным тампоном по методике В. С. Крамарь с соавт. (1994).

Исследования кишечной микрофлоры проводились методом серийных разведений с последующим высевом на питательные среды в соответствии с методическими рекомендациями диагностики дисбактериоза (Р.В. Федотов и Е.Р. Федорова, 1989).

Гистидиндекарбоксилазную активность исследовали количественным методом путем инкубации бактерий на среде с гистидином в течение 24 часов. Количественное определение свободного гистамина проводили по методу Н.В. Климкиной и С.И. Плитману с диазотированным п-нитроанилином (Е.А. Строев и В.Г. Макарова, 1986). Гистаминазную активность лактобактерий определяли по разности содержания гистамина в жидкой питательной среде до и после инкубации в течение 24 часов со стандартной навеской гистамина (44 мкг).

Определение гистамина в слюне проводили количественным методом Н.В. Климкиной и С.И. Плитмана (Е.А. Строев и В.Г. Макарова, 1986).

Для оценки сходства бактериологических сообществ по этапам формирования дисбактериоза использовались показатели коэффициента общности и процентного сходства, применяемые в общей экологии (Whittaker R.H., 1980).

Результаты исследований статистически обрабатывались на ПЭВМ с использованием программы «Armstat». Вычислялись средняя арифметическая, сигмальное отклонение, ошибка средней, коэффициенты вариации и корреляции.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для выполнения поставленной задачи по исследованию частоты встречаемости и клинической характеристики хронического рецидивирующего афтозного стоматита в условиях города Сургута проведен плановый медицинский осмотр 406 студентов в возрасте 18–25 лет с использованием разработанных карт по выявлению воспалительных заболеваний слизистой полости рта.

При изучении состояния слизистой оболочки полости рта у исследуемых лиц при плановом медицинском осмотре установлено, что в условиях Северного города частота патологических состояний слизистой полости рта составила 42,3 случаев на 100 исследуемых лиц. Из числа лиц с патологией слизистой оболочки наиболее часто диагностирован десквамативный глоссит (54,3 % случаев), ХРАС (18,7 % случаев). У лиц с выявленными патологическими изменениями СОПР заболевания желудочно-кишечного тракта наблюдалось в 86,6 % случаев, аллергические заболевания в 32,6 %, заболевания ЛОР – 18,6 %

Оценка стоматологического статуса у больных с ХРАС показала, что в опытных группах значительно ухудшаются показатели гигиенического индекса и КПУ. Наблюдалась выраженная связь ухудшения гигиенического состояния полости рта с повышением ДК в группах НГИЗ и АлЗ, когда диагностические коэффициенты составили 8 и 10 баллов, соответственно. В опытных группах установлено увеличение индекса КПУ, обусловленное преобладанием пломбированных зубов (от 73,5 % в группе НГИЗ до 85,7 % в группе ХРАС), которое имеет диагностическое значение, особенно выраженное в группах НГИЗ (ДК = 9 баллов) и АлЗ (ДК = 11 баллов).

Наиболее тяжело хронический рецидивирующий афтозный стоматит протекал в группе с аллергическими заболеваниями. В подавляющем большинстве выявлялись две и более афт (94,1 % случаев), больные предъявляли жалобы на болезненность афт при приеме пищи и разговоре (88,2 % случаев). Более половины больных при аллергиче-

ских ринитах отмечали появление афт в течение 5 лет. В 91,2 % случаев заживление афт продолжалось на протяжении 10 дней, при этом больные отмечали слабость и гиподинамию (32,4 % случаев), повышение температуры (20,6 % случаев), увеличение регионарных лимфатических узлов (29,4 % случаев).

Для биологической характеристики ротовой жидкости проведено определение в этом субстрате компонентов, активно участвующих в регуляции микрoэкологического равновесия данного биотопа. С одной стороны, проведено определение гистамина, который является одним из основных медиаторов воспаления и иммунных реакций, а с другой стороны, ферментативной активности лизоцима, как фактора экологической значимости в микробном биоценозе. Мочевина в полости рта расщепляется урологическими ферментами, которые выделяются бактериями в полости рта, а образующийся аммиак создает щелочную среду и увеличивает содержание аммонийных солей, инициирующих, в свою очередь, отложение камней.

Содержание гистамина в ротовой жидкости у лиц контрольной группы составило $18,8 \pm 0,6$ мкг/л. В опытных группах показатель содержания гистамина достоверно повышался и наибольшие величины отмечены у больных в группе АлЗ ($43,8 \pm 1,5$ мкг/л).

Обратил на себя внимание факт значительного снижения активности лизоцима в ротовой жидкости у лиц опытных групп. Если в контрольной группе показатель активности лизоцима составлял $38,6 \pm 1,3$ %, то в опытных группах этот показатель значительно снижался и наименьшее значение имел в группе АлЗ ($28,1 \pm 1,0$ %).

Представил интерес определения взаимосвязя изменений исследуемых биологических свойств в ротовой жидкости при ХРАС. Проведенный корреляционный анализ показателей содержания гистамина и ферментативной активности лизоцима показал на сильную обратную связь этих показателей при высокой достоверности ($r = 0,9$, $t = 9,2$).

В группах НГИЗ и АлЗ наблюдалось достоверное увеличение содержания мочевины ($1,05 \pm 0,4$ и $1,07 \pm 0,5$, соответственно; $P < 0,05$), повышенным количеством которой ряд авторов объясняют усиление интенсивности отложения зубного камня, о чем свидетельствовало ухудшение показателя ГИ в опытных группах.

При бактериологическом исследовании слизистой полости рта и носа установлено, что в контрольной и опытных группах со слизистой носа у всех исследуемых лиц выделялись представители рода *Staphylococcus*. В опытных группах отмечено увеличение числа случаев с повышенным содержанием микроорганизмов этого рода ($31,2 \pm 8,2$ в

группе ХРАС до $38,2 \pm 8,3$ в группе АлЗ) Важно отметить, что в группах НГИЗ и АлЗ это увеличение носило достоверный характер ($P < 0,05$).

Выделение *S. aureus* со слизистой носа в контрольной группе составило $9,4 \pm 5,1$ % В опытных группах носительство *S. aureus* было значительно выше и составляло от $31,2 \pm 8,2$ % в группе ХРАС до $38,2 \pm 8,3$ % в группе АлЗ ($P < 0,05$). Обратило на себя внимание значительное нарастание частоты выделения со слизистой носа *S. aureus* в количестве более $3 \lg$ При аллергических заболеваниях носительство *S. aureus* составляло $17,6 \pm 6,5$ % ($P < 0,05$)

Носительство на слизистой носа *S. epidermidis* в опытных группах было несколько ниже, чем в контрольной группе. Тенденция уменьшения частоты выделения этой флоры носила недостоверный характер Необходимо отметить увеличение частоты выделения в опытных группах *S. epidermidis* с гемолитическими свойствами. В группах с неспецифическими гастроинтестинальными и аллергическими заболеваниями это увеличение было достоверным ($P < 0,05$).

Исследование биоценоза полости рта позволило установить, что выделение представителей рода *Staphylococcus* в контрольной группе составляло $28,1 \pm 7,9$ % случаев. В опытных группах частота выделения стафилококков достоверно возрастала в $1,2-2,5$ раза ($P < 0,05$). Повышенное количество стафилококков КОЕ/мл более $3 \lg$ в контроле отмечено в $6,3 \pm 4,3$ % случаев и в опытных группах НГИЗ и АлЗ этот показатель достоверно увеличивался в $4,0-4,7$ раза.

Значительное изменение количества стафилококков на слизистой рта связано с повышением среди представителей рода *Staphylococcus* доли *S. aureus*. Так, если в контрольной группе индикация *S. aureus* носила единичный характер, то при аллергических заболеваниях *S. aureus* выделялся в $52,9$ % случаев (18 лиц) и составлял $75,0$ % из всех изолятов стафилококков. Важно отметить, что из этого числа носителей *S. aureus* в $61,1$ % случаев (11 человек из 18) количество золотистого стафилококка КОЕ/мл было более $3 \lg$.

Частота выделения *S. epidermidis* недостоверно отличалась в исследуемых группах. Нарушение биоценоза слизистой оболочки полости рта в опытных группах сопровождалось тенденцией снижения частоты индикации представителей *Streptococcus* с $37,5 \pm 8,6$ % в контрольной группе до $20,6 \pm 6,9$ % группе АлЗ ($P > 0,05$). Уменьшалась и частота выделения представителей *Lactobacillus*, но это снижение в группах НГИЗ и АлЗ носило достоверный характер (с $37,5$ % в контроле до $12,5 \pm 4,3$ % и $11,7 \pm 5,5$ %, соответственно, $P < 0,05$).

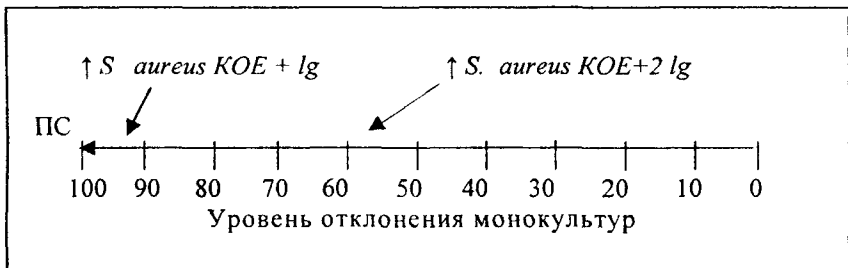
Отмечена тенденция увеличения индикации дрожжеподобных клеток рода *Candida* со слизистой полости рта в исследуемых группах 2,0–2,8 раза ($P > 0,05$).

Признаком нарушения зубиоза слизистой оболочки полости рта в опытных группах явилось выделение представителей энтеробактерий (в группе АлЗ до $11,8 \pm 5,5$ случаев, $P > 0,05$).

Установленные значительные изменения видового спектра микроорганизмов полости рта при воспалительном процессе определили особый интерес к способам оценки микробных ассоциаций на слизистой полости рта при рецидивирующем афтозном стоматите.

Характеристика сходства бактериальных сообществ, формирующих дисбактериоз полости рта, в исследуемых группах проведена по показателю процентного сходства, который позволяет определить количественное участие каждого идентифицируемого вида в сообществе и коэффициенту общности, учитывающему флористическое сходство по наличию или отсутствию видов в исследуемых сообществах (рис. 2)

Уровень отклонения монокультур



Уровень отклонения ассоциации двух культур

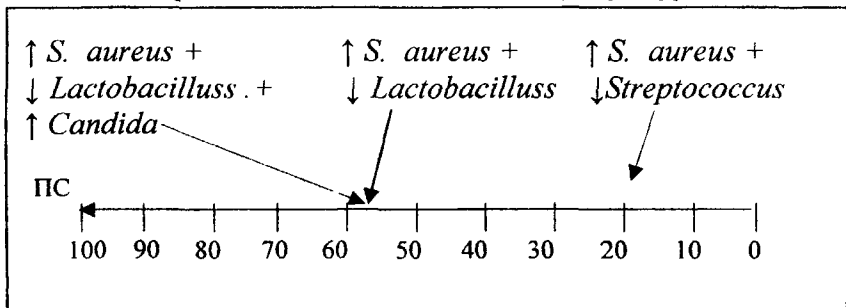


Рис. 2. Показатели процентного сходства (ПС) бактериальных сообществ различных вариантов нарушения зубиоза

Показатели процентного сходства и коэффициента общности свидетельствовали, что при зубиозе значительную долю в данном сообществе составляли представители *Streptococcus* (79,9 %), а также представители *Staphylococcus* (10,0 %) и *Lactobacillus* (8,5 %). При нарушении зубиоза с изменением содержания одного вида бактериальной культуры, показатель ПС изменялся в широком диапазоне в зависимости от разности содержания микроорганизмов в норме и при патологии. Так, при увеличении содержания *S. aureus* от КОЕ Ig 1,2 до КОЕ Ig 2,2 показатель ПС составил 93,3%. В случаях увеличения плотности КОЕ до Ig 3,2 показатель ПС значительно изменялся и составлял 57,4 % ($P < 0,05$).

Показатель ПС при нарушении зубиоза на уровне двух и более ассоциативных отклонений имел более широкий диапазон изменений, чем при изменении на уровне монокультур. При ассоциации повышения содержания *S. aureus* на два порядка и снижения содержания *Streptococcus spp.*, показатель ПС составлял всего 20,9 %. Важно отметить, что наибольшие изменения величины ПС наблюдались при изменении микроорганизмов, находящихся в количестве более Ig 3,0.

Появление в биоценозе полости рта представителей *Enterobacteriaceae spp.* в количестве КОЕ Ig 2,2 изменяло величину коэффициента общности ($K = 0,9$) при незначительном изменении величины процента сходства сообщества (ПС = $50,2 \pm 9,0$). Результаты экологической характеристики микрофлоры полости рта дают основание для их возможного использования в оценке состояния биоценоза слизистых оболочек данного биотопа.

Значение декарбоксилирующих и протеолитических ферментов, лизоцимной и уреазной активности микроорганизмов в формировании их колонизационной активности отражено в работах В.М. Бондаренко (1999), В.А. Румянцева (2005). Проведенное определение диагностической информативности вышеназванных ферментативной активности стафилококков, выделенных из носа и зева, позволило установить, что у представителей вида *S. aureus* характерными были относительно высокие диагностические коэффициенты для всех определяемых ферментных факторов колонизации (ДК составлял от 3 до 6 баллов). Наибольшая выраженность ДК отмечена при лизицимной активности в группе НГИЗ (5 баллов) и антилизоцимной активностями в группе АлЗ (5 баллов). Обратил на себя внимание факт высокой частоты встречаемости в опытных группах уреазной активности (до 88,0 % случаев).

У выделенных культур вида *S. epidermitis* в подавляющем большинстве отмечены признаки гемолиза (93,8 % в группе НГИЗ и 93,3 % случаев при АлЗ), что придало этому признаку наибольшие диагностические коэффициенты (ДК = 5). Реже у представителей этого рода на-

блюдались протеолитическая и уреазная активность (ДК составляли 3 и 2 балла, соответственно).

При сравнении лизоцимной и антилизоцимной активности отмечено, что нарушения колонизационной резистентности в опытных группах сопровождались в большей степени увеличением числа *S. epidermidis* с антилизоцимной активностью (до 63,3 % случаев) Диагностический коэффициент в указанных группах составлял 4 балла

Для изолятов *S. aureus* из носа и зева при НГИЗ и АлЗ характерна прямая корреляционная связь между протеолитической и другими ферментными факторами колонизации (r составлял от 0,93 до 0,98; $t = 2,6-4,4$) и достоверная корреляционная связь уреазной активности с антилизоцимной ($r = 0,99$; $t = 3,0$).

Определение корреляционной связи между частотой токсических и ферментных факторов колонизации *S. epidermidis* показало, что наиболее выраженной корреляционной зависимостью были связаны проявления гемолитической, протеолитической и уреазной активности (r составлял от 0,97 до 1,0; $t = 4,1-76,8$) и взаимоотношения уреазной и лизоцимной активности ($r = 0,9$; $t = 2,8$).

Значение декарбоксилирующих и протеолитических ферментов, лизоцимной и уреазной активности микроорганизмов в формировании воспаления слизистой полости рта представлено на разработанной нами схеме (рис. 3).

Полученная фактическая сумма ДК при достижении определенного уровня пороговой суммы позволяет анализируемые штаммы *S. aureus* и *S. epidermidis* расценивать как этиологический фактор возникающего воспалительного процесса при НГИЗ и АлЗ.

В случае идентификации стафилококков показатель суммы ДК дает возможность прогнозировать значение этого возбудителя в развитии указанных состояний организма

Бактериологическое исследование состояния микрофлоры кишечника было проведено у больных в группах НГИЗ и АлЗ, которые обращались за медицинской помощью к специалистам. Установлено, что доля нарушений микрофлоры на уровне моно и двух культур при неспецифических гастроинтестинальных заболеваниях (группа 2) составила больше половины (67,2 % случаев). При аллергических заболеваниях (группа 3) значительную долю нарушений микрофлоры кишечника (47,1 % случаев) составили нарушения на уровне 3-х, 4-х и более показателей. Обратил на себя факт увеличения в 2,2 раза частоты случаев дисбактериоза кишечника на уровне 4-х и более показателей в группе АлЗ, по сравнению с группой НГИЗ.

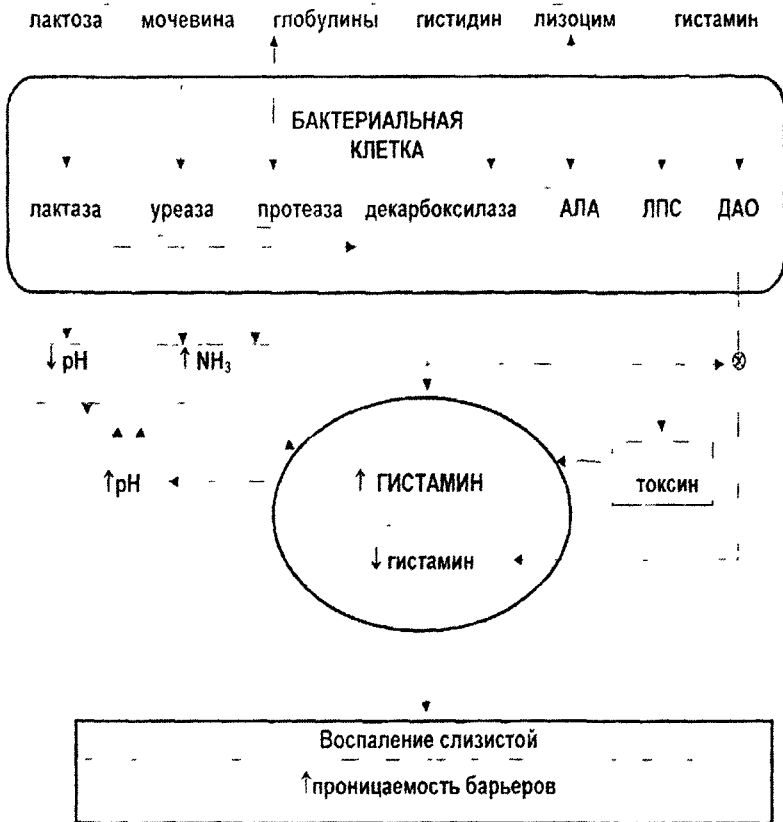


Рис 3 Значение декарбоксилирующих и протеолитических ферментов, лизоцимной и уреазной активности микроорганизмов в формировании воспаления слизистой полости рта

Средний уровень отклонения в этих группах составил $2,09 \pm 0,08$ и $2,44 \pm 0,11$, что указывает на более глубокие микрoэкологические нарушения в кишечнике у больных с аллергическими заболеваниями ($P < 0,05$).

Изменения микрофлоры кишечника на уровне монокультур сопровождались в первую очередь снижением содержания лактобактерий

(37,9 % \pm 9,0 5 случаев). Реже отмечалось выделение гемолитических кишечных палочек (в 20,7 \pm 7,5 % случаев).

В целом очередность нарушения микрофлоры кишечника на каждом уровне нарушения зубиоза можно поставить в следующей последовательности. Изменения микрофлоры кишечника в первую очередь связано со снижением содержания в кишечнике лактобактерий. Установленный факт первоочередного снижения количества лактобактерий при нарушении зубиоза кишечника диктует необходимость обоснования коррекции нарушений микробной экологии слизистой кишечника, а именно с включением лактобактерий, которые имели бы достаточный потенциалом колонизационной активности по сравнению с другими представителями биоценоза.

За снижением количества лактобактерий следует появление в микробном сообществе гемолитических кишечных палочек и изменение содержания общего их количества. При 3-х и 4-х компонентных нарушениях преобладали случаи снижения общего количества кишечных палочек и появления условно-патогенных энтеробактерий, а также снижение содержания бифидобактерий.

При зубиозе менее половины штаммов *E. coli* обладали декарбоксилазами, за исключением субстрата лизин. Сопоставление вероятности декарбоксилазной активности штаммов *E. coli* поддерживающих зубиоз и выделяемых при изменении их плотности показало отличие между ними на уровне тенденций ($P > 0,05$). В большей степени частота декарбоксилазной активности отмечена при снижении плотности *E. coli*, среди которых более половины штаммов были способны декарбоксиллировать гистидин и орнитин (56,3 \pm 8,8 % и 62,5 \pm 8,6 % изолятов), и в меньшей степени при повышении их плотности.

Лактозонегативные *E. coli* имели тенденцию к снижению метаболической активности аминокислот от ферментативно полноценных вариантов ($P > 0,05$). Гемолитические свойства у *E. coli* сопровождалось достоверным увеличением среди них с орнитин и гистидиндекарбоксилазной активностью (75,0 \pm 7,7 и 68,8 \pm 8,2 %, соответственно; $P < 0,05$) и тенденцией увеличения с аргининдекарбоксилазной активностью.

Проведенные исследования ряда показателей кислотообразования, протео- и сахаролитической активности живых и сухих культур бакпрепаратов, включающих представителей рода *Lactobacillus*, позволило установить, что скорость сквашивания молока, как показатель способности микроорганизмов к протеолизу белка, в исследуемых группах культур имели существенные (в 1,5–2,2 раза) отличия. Штаммы сухих препаратов по сравнению с живыми имели заниженную энергию кислотообразования на каждый час сквашивания. Результаты рас-

шепления дисахаров позволили по степени изменчивости фенотипа сахаролитической активности отнести исследуемые культуры к категории с сильно изменяемыми свойствами.

Исследуемые штаммы лактобактерий обладали диаминооксидазным эффектом с различной степенью выраженности. В антагонистической активности лактобактерий имели место как внутри-, так и межвидовые отличия. Антибактериальный эффект лактобактерий против лактозонегативной *E. coli* наблюдался у большинства исследуемых культур с преобладанием антагонизма средней и высокой степени. Наиболее эффективными антагонистами были представители вида *L. acidophilus*. По отношению к *S. aureus* антибактериальный эффект лактобактерий был значительно ниже.

Важной задачей, которую предстояло решить, явилось определение информативности признаков для коррекции дисбактериоза при хроническом рецидивирующем афтозном стоматите. Сведения о диагностической информативности показаний к коррекции дисбактериоза представлены в таблице.

Диагностическая информативность показаний к коррекции дисбактериоза при хроническом рецидивирующем афтозном стоматите

Наименование признака	Воспаление		Аллергия	
	ДК	I*	ДК	I
Показатели гигиенического индекса				
2,0–2,4	3	0,52	4	0,56
2,5–2,9	5	1,17	7	1,89
Индекс КПУ:				
4–7	5	1,27	7	1,89
8–11	7	1,89	9	1,97
Микрофлора слизистой носа:				
КОЕ <i>Staphylococcus</i> > 10 ³	6	1,87	6	1,87
<i>S. aureus</i>	5	1,17	5	0,94
Содержание свободного гистамина в слюне > 21 мкг/л	6	0,58	6	0,65
Дисбактериоз кишечника, уровнем:				
монокультур	6	1,0	6	1,0
2-х и более компонентов	8	2,3	8	2,3

Проведена оценка клинической и микробиологической эффективности зубиотиков при лечении хронического рецидивирующего афтозного стоматита

Для коррекции использовались кисломолочные смеси, ферментированные лактобактериями. Учитывая заниженную энергию кислотообразования и слабую ферментативную активность лиофилизированных бактерий по сравнению с живыми, использовались только лактобактерии в виде кисломолочной смеси, которая использовалась при назначении ротовых ванночек 3 раза в день и по 100 мл внутрь утром и вечером до получения лечебного эффекта. Длительность лечения зубиотиками в среднем составила от 3 до 5 дней. При этом клинические проявления хронического рецидивирующего афтозного стоматита купировались на 2–4 день использования кисломолочной смеси.

Для закрепления эффекта и профилактики рецидивов заболевания рекомендовалось продолжать прием кисломолочного продукта внутрь в течение 6 месяцев. Длительное использование зубиотиков приводило к увеличению сроков ремиссии и нормализации биоценоза полости рта и кишечника, что подтверждалось осмотрами исследуемых больных в динамике и результатами бактериологических анализов.

ВЫВОДЫ

1. В условиях Северного города частота хронического рецидивирующего афтозного стоматита при медицинском осмотре составила 18,7 %, которому сопутствовали заболевания желудочно-кишечного тракта (86,6 % случаев), аллергические заболевания (32,6 %), значительное ухудшение гигиенического состояния полости рта по показателям гигиенического индекса и индекса КПУ.

2. В ротовой жидкости у больных с хроническим рецидивирующим афтозным стоматитом достоверно повышено содержание гистамина и мочевины при существенном снижении активности лизоцима. Между содержанием гистамина и ферментативной активностью лизоцима установлена сильная обратная корреляционная связь.

3. При хроническом рецидивирующем афтозном стоматите установлена связь между нарушением биоценоза слизистой полости рта, носа и кишечника. Выделение *S. aureus* и *S. epidermidis* с гемолитическими свойствами со слизистой носа и зева свидетельствует о дисбактериозе слизистых оболочек полости рта и кишечника. Снижение содержания представителей *Streptococcus*, *Lactobacillus* при увеличении количества дрожжеподобных клеток рода *Candida* и появлением в биоценозе по-

лости рта *E. coli* указывает на усугубление дисбиотических состояний этих биотопов.

4. Для изолятов представителей рода *Staphylococcus* со слизистой носа и зева при хроническом рецидивирующем афтозном стоматите характерна высокая ферментативная активность, способствующая колонизации и персистенции бактерий. Установлена прямая корреляционная связь между гемолитической, протеолитической и уреазной активностью. Наибольшая лизоцимная активность отмечена в группе с НГИЗ, а антилизоцимная при АлЗ. Значительные изменения в бактериальном сообществе наблюдались при изменении содержания микроорганизмов с плотностью более 3 логарифмов.

5. Нарушения микрофлоры кишечника у больных с хроническим рецидивирующим афтозным стоматитом на фоне неспецифических гастроинтестинальных и аллергических заболеваний связаны со снижением содержания в кишечнике лактобактерий, количества кишечных палочек, повышением их гемолитических форм, появлением условно-патогенных энтеробактерий, снижением бифидобактерий. Дисбактериоз кишечника сопровождается высокой гистидиндекарбоксилазной активностью у *E. coli*, наиболее выраженной у гемолитических форм.

6. Исследуемые штаммы зубиотиков обладали различной степенью биологической активности. Штаммы лиофилизированных биопрепаратов по сравнению с живыми имели заниженную энергию кислотообразования и слабую диаминооксидазную активность. Живые лактобактерии обладали высокой антагонистической активностью по отношению к лактозонегативным и гемолитическим формам *E. coli* и условно-патогенным энтеробактериям. Наиболее эффективными антагонистами были представители вида *L. acidophilus*.

7. В лечении хронического рецидивирующего афтозного стоматита необходимо использовать коррекцию дисбактериоза с применением живых лактобактерий под контролем их биологических характеристик и с учетом степени антагонизма к выделенным от больных штаммам микроорганизмов. Использование разработанного способа обеспечило высокий лечебный эффект, подтвержденный клиническими и бактериологическими результатами.

Практические рекомендации

1. Для оценки состояния микрофлоры полости рта рекомендуется использовать методы общей экологии с определением процентного сходства и коэффициента общности биоценозов.
2. В критериях дисбактериоза при хроническом рецидивирующем афтозном стоматите рекомендуется учитывать выделение *S. aureus* и *S. epidermidis* с гемолитическими свойствами со слизистой носа и зева и биологические характеристики энтеробактерий и ротовой жидкости.
3. В лечении хронического рецидивирующего афтозного стоматита рекомендуется коррекция дисбактериоза с применением живых лактобактерий под контролем их биологических характеристик и с учетом степени антагонизма к выделенным от больных штаммам микроорганизмов.

Список печатных работ, опубликованных по теме диссертации

1. Клюева, Л. А. Микробиологический принцип в комплексном лечении больных с хроническим рецидивирующим афтозным стоматитом // Современные стоматологические технологии : сб. тез. II науч.-практ. конф. молодых стоматологов. – Барнаул, 1998. – С. 18.
2. Клюева, Л. А. Дисбиотические состояния и их роль в патогенезе хронических заболеваний полости рта / Л. А. Клюева, Е. А. Бердимбетов // Медицина и экология. – 1999. – № 4 (13). – С. 47–48.
3. Клюева, Л. А. Диагностическое значение содержания свободного гистамина в ротовой жидкости организма человека / Л. А. Клюева, Г. Н. Куярова, В. Шилкина // Наука и инновации Ханты-Мансийского автономного округа : сб. тез докл. Третьей конф. молодых ученых Ханты-Мансийск. авт. окр., 29–30 нояб. 2002 г. / Сургут, 2002. – С. 94–96.
4. Микробиологические методы в системе экологического мониторинга / Л. А. Клюева [и др.] // Экологические проблемы и здоровье населения города Сургута : мат-лы науч.-практ. секции Междунар. науч. конф. «Медико-биологические проблемы здоровья человека на Севере», 29 мая 2002. – Сургут, 2002. – С. 134–139.
5. Аллергический ринит и микрофлора верхних дыхательных путей у детей в условиях Севера / Л. А. Клюева [и др.] // Астма : тез. XVII Всемирного конгр. по астме, Санкт-Петербург, 5–8 июля 2003 г. – М., 2003. – Т. 4, № 1. – С. 87.
6. Состояние биоценоза у детей дошкольного возраста как показатель резистентности их организма / Л. А. Клюева [и др.] // Сб. науч. тр. / Сургут. гос. ун-т – Сургут, 2003. – Вып. 16 : Естественные науки – С. 191–197.

7. Иммунная и аллергическая реактивность у детей бактерионосителей *S aureus* в условиях урбанизированного Севера / Л. А. Клюева [и др.] // Аллергология и иммунология : мат-лы II Всемирного конгр. по иммунопатологии и аллергологии Москва, 14–17 мая 2004. – М., 2004. – Т. 5, № 1. – С. 155.
8. Куяров, А. В. Организация научно-исследовательской работы студентов медицинского факультета по микробиологии, иммунологии и вирусологии в рамках учебного времени / А. В. Куяров, Л. А. Клюева // Проблемы учебно-методической и воспитательной работы в вузе : мат-лы II межрегион. науч.-практ. конф. 27 февр. 2004 г. / Сургут. гос. ун-т. – Сургут, 2004. – Т. 1. – С. 110–116.
9. Аутомикрофлора как показатель состояния здоровья и резистентности организма детей Севера / Л. А. Клюева [и др.] // Экологические проблемы и здоровье населения на Севере : мат-лы науч.-практ. конф., Сургут, 4 июня 2004 г. – Сургут, 2004. – С. 112–113.
10. Применение эубиотиков в лечении воспалительных заболеваний слизистой оболочки полости рта : метод указания / Сост.: Л.А. Клюева, Л.М. Алпатова, А.В. Куяров; Сургут. гос. ун-т. – Сургут: Изд-во СурГУ, 2005. – 14 с.

Список сокращений

АлЗ – аллергические заболевания

БФБ – бифидобактерии

ГИ – гигиенический индекс

ГКП – гемолитические кишечные палочки

ДрК – дрожжевые клетки

КПУ индекс – сумма зубов, пораженных кариесом, пломбированных и удаленных

КФМ – кокковые формы микроорганизмов

ЛБ – лактобактерии

НГИЗ – неспецифические гастроинтестинальные заболевания

ОККП – общее количество кишечных палочек

УПМ – условно патогенные микроорганизмы

СОПР – слизистая оболочка полости рта

ХРАС – хронический рецидивирующий афтозный стоматит

КР – колонизационная резистентность

КОЕ – колонии образующие единицы

Клюева Лидия Александровна

**МИКРОЭКОЛОГИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ
И ИХ КОРРЕКЦИЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ
РЕЦИДИВИРУЮЩЕМ АФТОЗНОМ СТОМАТИТЕ
(на примере города Сургута)**

03.00.16 – экология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Оригинал-макет подготовлен
в редакционном отделе Издательского центра СурГУ
в авторской редакции

Подписано в печать 29.08.2005 г. Формат 60×84/16

Усл. печ. л. 1,3. Уч.-изд. л. 1,15.

Печать трафаретная. Тираж 100. Заказ № 89.

Отпечатано полиграфическим отделом Издательского центра СурГУ
г. Сургут, ул. Лермонтова, 5
тел. (3462) 32-33-06.

Сургутский государственный университет
628400, Россия, Ханты-Мансийский автономный округ,
г. Сургут, ул. Энергетиков, 14.
Тел. (3462) 24-37-81, факс (3462) 24-36-87.

№ 15718

РНБ Русский фонд

2006-4

12723