

---

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФАКТОРА ПАТОГЕННОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ В РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ У ДЕТЕЙ С ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫМ ГИНГИВИТОМ

Т.Ф. Косырева, Е.С. Запорожская-Абрамова

Кафедра стоматологии детского возраста с курсом ортодонтии  
Медицинский факультет  
Российский университет дружбы народов  
ул. Миклухо-Маклая, 8, Москва, Россия, 117198  
тел. +79114636467, эл. почта: somvoz@live.ru

Роль микроорганизмов полости рта далеко не однозначна. С одной стороны, они участвуют в переваривании пищи, синтезе витаминов, оказывают позитивное влияние на иммунную систему, с другой, они продуцируют кислоты, чем оказывают разрушающее действие на твердые ткани зуба и становятся одним из этиологических факторов развития стоматологических заболеваний (кариеса зубов и заболевания пародонта). С помощью микробиологического исследования ротовой жидкости были выявлены микроорганизмы, продуцирующие специфическую бактериальную IgA1-протеазу. После проведенного лечения 15 школьников в возрасте 9—15 лет с явлениями дисбактериоза и генерализованного гингивита средней (85%) и тяжелой (15%) степени тяжести лечебно-профилактическими препаратами растительного происхождения «Тонзилал» и «Пластини ЦМ2», микроорганизмы продуцирующие бактериальную IgA1-протеазу отсутствовали.

**Ключевые слова:** дети, дисбактериоз, гингивит, ротовая жидкость, специфическая IgA1-протеаза.

Высокая распространенность стоматологических заболеваний у детей школьного возраста до 78% требует разработки и внедрения эффективных методов профилактики и лечения [7].

Ротовая жидкость ребенка представляет собой важнейший биотоп полости рта, так как через нее осуществляется взаимодействие между другими частями микробиоценоза полости рта и реализуются различные регуляторные воздействия со стороны макроорганизма. Основой ротовой жидкости является слюна, секретлируемая из протоков слюнных желез, которая заселяется разнообразной микрофлорой [В.М. Бондаренко, 2007].

Из литературы известно, что из-за высокой бактерицидной активности ферментов, лизоцима, секреторных иммуноглобулинов и других факторов специфической и неспецифической защиты слюна в протоках здорового ребенка должна быть практически стерильной. Однако некоторые исследователи допускают наличие незначительного количества бактерий, преимущественно относящихся к облигатно-анаэробным видам. В литературе отсутствуют количественные и качественные показатели микрофлоры ротовой жидкости у детей, в частности состояние ротовой жидкости у детей с дисбактериозом и хроническим гингивитом. В специальной литературе мы не встретили работ об изучении состояния микрофлоры полости рта у детей с генерализованным катаральным гингивитом и кариозной болезнью, развившихся на фоне дисбактериоза.

В. J. Underdown, K. J. Dorrington (1974) при изучении протеолиза иммуноглобулинов показали высокую устойчивость к расщеплению ферментами секреторного иммуноглобулина и его главного составляющего — IgA1 [1]. Поиски протеиназ, способных гидролизовать этот белок, привели к открытию специфической IgA1-протеазы, способной расщеплять только IgA1 человека и некоторых приматов [2]. По данным A. G. Plaut (1983) известно, что ряд микроорганизмов — *Neisseria*, *Haemophilus*, *Streptococcus*, *Bordetella* — продуцируют такой фермент, который позволяет им сопротивляться бактерицидному действию секреторного иммуноглобулина слизистых макроорганизма [3]. Кроме того, исследования Т. Н. Казеевой, А. Б. Шевелева (2007) наряду с ферментативной активностью обнаружили и другие функции IgA1-протеазы, которые обеспечивают колонизацию бактериями слизистой оболочки и проникновение бактерий во внутреннюю среду организма [4]. Таким образом, наличие IgA1-протеазы может рассматриваться как фактор патогенности возбудителя.

Для оценки патогенности штаммов микроорганизмов Е. А. Воропаевой и Л. В. Козловым с соавторами (2008) были разработаны удобные иммуноферментные методы определения активности специфической IgA1-протеазы, а также активности неспецифических протеиназ в культуральной жидкости тестируемого штамма [5,6].

В предлагаемом методе ФГУН МНИИЭМ имени Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора [5] в лунках плоскодонного полистиролового планшета сорбировали IgA1 и IgG человека. Далее в лунки вносили культуральную жидкость или иные тестируемые образцы, содержащие протеазы, и проводили инкубацию при 37 °С. Остаточное количество IgA1 и IgG после протеолиза определяли по связыванию со специфическими пероксидазными конъюгатами против соответственно IgA и IgG человека. Далее вносили хромоген ТМБ, после развития окрашивания останавливали реакцию и измеряли светопоглощение при 450 нм. По разности оптических плотностей растворов в опыте и контроле (без фермента) определяли степень гидролиза субстратов, которая характеризует активность и специфичность фермента [5, 6].

Нами с помощью разработанного иммуноферментного метода было проведено определение неспецифической протеолитической и специфической IgA1-протеазной активности в культуральной жидкости микроорганизмов, выделенных из ротовой жидкости и зубного налета детей с заболеваниями пародонта до и после лечения полосканием «Тонзилал» и «Пластинами ЦМ 2» («Салута», Москва). Материал помещали в готовые коллекторы с транспортной средой «Amies» с активированным углем для доставки в лабораторию.

Для исследования микрофлоры тщательно суспендировали содержимое тампонов в пробирках с предварительно редуцированным бульоном Шедлера в соотношении 1 : 10 и проводили десятикратные серийные разведения до конечной концентрации 10 : 9. Исследуемый материал из соответствующих разведений в количестве 20 мкл высевали секторами на общие и дифференциально-диагностические питательные среды для выделения и идентификации аэробных и анаэробных

бактерий. Родовую и видовую идентификацию осуществляли на основании изучения морфологических, культуральных и биохимических свойств выделенных микроорганизмов.

Биомассу штаммов наращивали на БС — среде до конечной концентрации микроорганизмов  $10^6$  КОЕ/мл.

Перед определением протеазной активности культуральную жидкость центрифугировали при 3800 g в течение 20 мин. с последующей фильтрацией через фильтры «Миллипор» с диаметром пор 0,45 мкм.

Было обследовано 15 детей (9 женского пола, 6 — мужского пола) в возрасте 9—15 лет с гингивитом средней и тяжелой степени тяжести. Специфическую IgA1-протеазу обнаруживали в культуральной жидкости стрептококков, стафилококков, нейссерий, кандид, эшерихий. Штаммы, продуцирующие специфическую IgA1-протеазу, преимущественно выделялись у пациентов до лечения. Наблюдалась корреляция между степенью тяжести инфекционного процесса и наличием у возбудителя специфической IgA1-протеазы. Так, в случае клинического выздоровления после лечения наблюдали отсутствие IgA1-протеазной активности в культуральной жидкости стрептококков, нейссерий и кандид, высеянных как из слюны, так и из зубного налета, несмотря на сохранения этих микроорганизмов в полости рта.

Таким образом, метод определения специфической IgA1-протеазной активности в культуральной жидкости микроорганизмов позволяет выявлять у них наличие одного из факторов патогенности, что может быть использовано для молекулярного мониторинга возбудителей инфекционных заболеваний.

Основным компонентом дентального налета являются микроорганизмы. Его органическая часть образуется из слюны и десневой жидкости, а также продуктов жизнедеятельности микробов. Микрофлора, в частности ее пародонтопатогенные виды, оказывают не только прямое повреждающее действие на ткани, но и опосредованно инициирует эндогенные механизмы в развитии воспаления [А.С. Воложин и др., 2000]. Доказано, что эти микроорганизмы встречаются в больших количествах там, где происходит активная воспалительная реакция в тканях пародонта. Взаимодействуя с тканями пародонта, бактериальные токсины и протеолитические ферменты вызывают повышение проницаемости сосудов, гиперемии, нарушения энергетического обмена, антиоксидантной защиты, другие изменения метаболизма, характерные для воспалительной реакции, в том числе снижение иммунного ответа на микробные антигены.

Изучение стоматологического статуса показало, что среди детей школьного возраста (9—15 лет) на фоне дисбактериоза выявлен высокий индекс гигиены (2,15) и плохое гигиеническое состояние полости рта. Эти дети имеют сниженный иммунитет, часто болеют ОРЗ и страдают хроническими соматическими заболеваниями органов дыхания и пищеварения. Нами изучена микрофлора ротовой жидкости и содержимое зубодесневых карманов у этих детей. На основании микробиологического анализа с определением патогенности выделено преобладание условно патогенных стрептококков со специфической IgA1-протеазой в 98% слу-

чаев, стафилококков — 2%, нейсерий — 90%, кишечной палочки — 43%, грибов кандиды — 67%.

Поскольку в настоящее время невозможно исключить воздействие всех вредных факторов на развитие стоматологических заболеваний, основное значение при лечении приобретает удаление зубного налета, улучшение гигиены полости рта и противовоспалительная терапия. Основу большинства противовоспалительных средств составляют антибактериальные препараты и препараты химического происхождения чужеродные организму, синтетические антибиотики, прием которых усугубляет дисбактериоз.

**Заключение.** Нами было проведено лечение 15 школьников в возрасте 9—15 лет с явлениями дисбактериоза и генерализованного гингивита средней (85%) и тяжелой (15%) степени тяжести препаратами растительного происхождения «Тонзилал» (полоскание) и «Пластинами ЦМ 2», содержащими экстракты шести трав (зверобой, тысячелистник, шалфей, цветки календулы, плоды шиповника, корень солодки). Распространенность болезней пародонта составила 86,7% из 60 осмотренных. Индекс РМА 51,9%.

После профессионального удаления зубных отложений, обучения навыкам гигиены полости рта, двухнедельного курса лечения «Тонзилалом» и «Пластинами ЦМ 2» клиническое состояние значительно улучшилось. Клиническая эффективность при гингивите средней тяжести — 100%, при гингивите тяжелой степени у подростков — 94%.

Повторное исследование микрофлоры полости рта показало отсутствие штаммов микроорганизмов, продуцирующих специфическую IgA1-протеазу и повышение лизоцима, в среднем в 5 раз.

Таким образом, лечение больных полосканием «Тонзилал» и «Пластинами растительного происхождения ЦМ2» приводит к восстановлению основных показателей местного и общего иммунитета пациентов и неспецифической резистентности организма до физиологической возрастной нормы.

Микробиологические исследования ротовой жидкости и зубного налета пациентов выявили выраженную противомикробную активность препаратов к патогенным микроорганизмам полости рта.

## ЛИТЕРАТУРА

- [1] Underdown B.J., Dorrington K.J. // J. Immunol. — 1974. — V. 112. — P. 949—959.
- [2] Plaut A.G., Wistar R.Jr., Capra, J.D. // J. Clin. Invest. — 1974. — V. 54. — P. 1295—1300.
- [3] Plaut A.G. // Annu. Rev. Microbiol. — 1983. — V. 37. — P. 603—622.
- [4] Казеева Т.Н., Шевелев А.Б. // Биохимия. — 2007. — Т. 72. — № 5. — С. 485—494.
- [5] Воронаева Е.А., Байракова А.Л., Бичучер А.М. и др. // Биомедицинская химия. — 2008. — Т. 54. — В. 6. — С. 706—712.
- [6] Козлов Л.В., Бичучер А.М., Мишин А.А. и др. // Биомедицинская химия. — 2008. — Т. 54. — В. 3. — С. 314—321.
- [7] Максимовская Л.Н., Кузьмина Э.М., Вагнер В.Д. и др. Основные направления развития школьной стоматологии в России; МГМСУ, Стоматологическая ассоциация России // Российская стоматология. — 2009. — № 1. — С. 60—62.

## **DEFINITION OF THE FACTOR OF PATHOGENICITY OF MICROORGANISMS IN THE ORAL LIQUID AT CHILDREN WITH GINGIVITIS**

**T.F. Kosyreva, E.S. Zaporozhskaja-Abramova**

Department of children's dentistry with a course of orthodontics

Medical Faculty

Peoples' Friendship University of Russia

*Michuho-Maclaya str., 8, Moscow, Russia, 117198*

*tel. +79114636467, Email: somvoz@live.ru*

By means of microbiological research of an oral liquid microorganisms producing specific bacterial IgA1-proteazu have been revealed. After the spent treatment of 15 schoolboys at the age of 9—15 years with the phenomena of a dysbacteriosis and генерализованного гингивита average (85%) and heavy (15%) severity levels treatment-and-prophylactic preparations of a phytogenesis of «Tonzinal» and «Plate ЦМ2», microorganisms producing bacterial IgA1-proteazu were absent.

**Key words:** children, a dysbacteriosis, gingivitis, the oral liquid, specific IgA1-proteaza.