

# Мікробіоценоз порожнини рота піддослідних тварин при тривалому впливі опіоїдного анальгетика

## Microbiocenosis of the Oral Cavity of Experimental Animals after Prolonged Influence to Opioid Analgesics

Фік В.Б., к.мед.н., доц.

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького  
Fik V.B.

Danylo Halytskyi Lviv National Medical University

Адреса для кореспонденції:

Фік Володимир Богуславович  
e-mail: fivol@ukr.net

**Мета:** Дослідити мікрофлору порожнини рота піддослідних тварин на тлі тривалого впливу опіоїдного анальгетика, що дасть змогу зважати на такий етіопатогенетичний чинник як мікроорганізми. **Методи:** Експеримент проводили на 20 білих щурах-самцях віком 3,5–7,5 місяців масою 150–170 г. Матеріал для дослідження забирали бактеріологічною петлею з поверхні ясен, слизової оболонки, присінка порожнини рота, власне порожнини рота та з поверхні зубів верхньої і нижньої щелеп. Для бактеріоскопічного дослідження готували препарати-мазки, які забарвлювали за методом Грама. Бактеріологічне дослідження охоплювало посів на цукровий бульйон, жовтково-сольовий і кров'яний агарі, середовище Ендо та середовище Сабуро. Отримали патент на корисну модель №79565. **Результати:** Виявили зміни мікрофлори, що вказують на динамічний розвиток запального процесу після шести тижнів впливу опіоїдного анальгетика. При цьому, на тлі вираженого росту умовно-патогенних, а інколи й патогенних мікроорганізмів, концентрація сапрофітної мікрофлори суттєво зменшувалася. Зміни мікрофлори у піддослідних тварин при тривалому впливі опіоїдного анальгетика (8 тижнів) були виражені розвитком гнійно-запального процесу у тканинах пародонта та слизовій оболонці порожнини рота. **Висновки:** При тривалому впливі опіоїдного анальгетика у порожнині рота піддослідних щурів спостерігали порушення балансу мікроорганізмів, виникнення дисбіотичних змін мікроструктур, виражене збільшення кількості умовно-патогенної мікрофлори на тлі зменшення концентрації нормальної мікрофлори. Це підтверджує виникнення дисбактеріозу, при якому зміни мікрофлори супроводжуються розвитком запального процесу у тканинах пародонта і порожнині рота.

**Ключові слова:** мікрофлора, опіоїдний анальгетик, порожнина рота.

**Purpose:** To investigate the microflora of the oral cavity of experimental animals on the background of prolonged exposure to opioid analgesics, which will allow the process to take into account etiopathogenetical factor-microorganisms. **Methods:** Experiment conducted on 20 white male rats aged 3,5–7,5 months average weight of 150–170. The material for the study of bacteriological loop taken from the surface of the gums, the mucous membrane of the oral vestibule, oral cavity, also from the surface of the teeth of the upper and lower jaws. The material for bacterioscopic study was withdrawn from the surface of gingivae, from the mucosal oral vestibule and from the oral cavity proper mucosal and also from the surface of the teeth of the upper and lower jaws by an inoculation loop. From the material withdrawn smears were prepared and stained according to the Gram's method. Bakteriologichne study included planting sugar broth, egg-yolk salt agar, blood agar, Endo and Sabouraud agars. Received a patent for utility model №79565. **Results:** As a result of the pilot study, we have identified changes in the microflora, which pointed to

the dynamic development of inflammation (6 weeks). However, against the background of pronounced growth of opportunistic and sometimes pathogens saprophyte microflora concentration significantly decreased. Changes of microflora in experimental animals, prolonged exposure (8 weeks) opioid analgesics are identified against the background of clinically significant chronic inflammatory process in the periodontal tissues and oral mucosa as a whole. **Conclusions:** On the background of long influence opioid analgesics, oral experimental rats is an imbalance between microorganisms. There dysbiotic changes of microstructures, which manifested itself in the increasing number of pathogenic microorganisms to decrease the background concentration of the normal microflora. This indicates that there is overgrowth in which changes were accompanied by the development of the microflora of inflammation in periodontal tissues and oral cavity.

**Key words:** microflora, opioid analgesics, oral cavity.

## Вступ

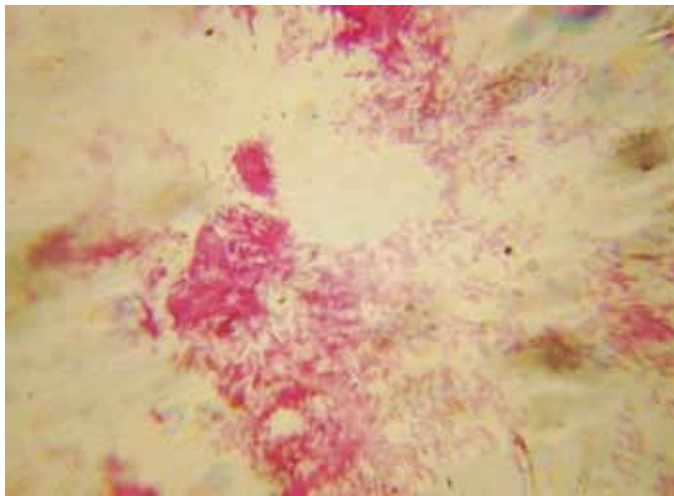
За останнє століття наркоманія із вузькопрофільної проблеми ділянки психіатрії стала загальносоціальною та стосується усіх галузей медицини. За офіційними даними ВООЗ, в Україні зареєстровано близько 300 тис. лише ін'єкційних наркоманів, щороку їхня кількість зростає на 10%. Встановлено, що у наркоманів, які вживають кокаїн, розвиваються некротичні процеси у ясенних сосочках, зростає захворюваність зубів карієсом, особливо пришийкової ділянки, а у тих, хто вживає метадон, інтенсивно розвивається ще й ксеростомія [1]. При обстеженні наркотично залежних дослідники часто спостерігають остеомієліт щелепи із вираженим, у деяких випадках, остеонекрозом верхньої та нижньої щелеп, флегмоною навколощелепних клітинних ділянок [4, 8, 11, 12]. За даними літератури, на розвиток патологічних процесів у порожнині рота значно впливає наявність грамнегативних паличкоподібних мікроорганізмів та грибової мікрофлори [10]. Згідно з дослідженнями, збільшення кількості мікроорганізмів пов'язане із запальними процесами пародонту та зумовлене, по-перше, надлишком зубного нальоту; по-друге: формуванням нової еконіші – пародонтальної (зубоясенної) кишені [2, 3, 9]. Саме в зубному нальоті, 70% якого становлять мікроби, на думку деяких

авторів, сконцентрована більшість мікроорганізмів порожнини рота [6]. При заселенні зубоясенних кишень анаеробними та умовно-патогенними анаеробними бактеріями, симбіонти втрачають здатність контролювати транзиторну мікрофлору [9]. Інфекція проникає у тканини пародонта з кореневого каналу. Якщо між порожниною рота і кореневим каналом існує з'єднання, там розвивається бактеріальна флора, що може зумовлювати деструктивні процеси у верхівковому пародонті [14]. Важливу роль у розвитку патологічних процесів порожнини рота відіграють пародонтальні кишені, де виникають сприятливі умови для розмноження мікрофлори порожнини рота [3, 5, 7]. Мікроорганізми секретують біологічно активні речовини, токсини та ферменти, які мають сильнотоксичні, алергенні та некротичні властивості, що призводить до запальних і деструктивних процесів. У зубоясенних кишнях локалізована значна кількість лейкоцитів, що зростає на різних стадіях парадонтопатії [5]. Вважають, що облігатні анаероби ясенної щілини та пародонтальних кишень безпосередньо впливають на тканини пародонта, із подальшим прогресуванням патологічного процесу [2, 9, 15–17]. Мета роботи – дослідити мікрофлору порожнини рота піддослідних тварин на тлі тривалого впливу опіоїдного анальгетика, що дасть змогу зважати

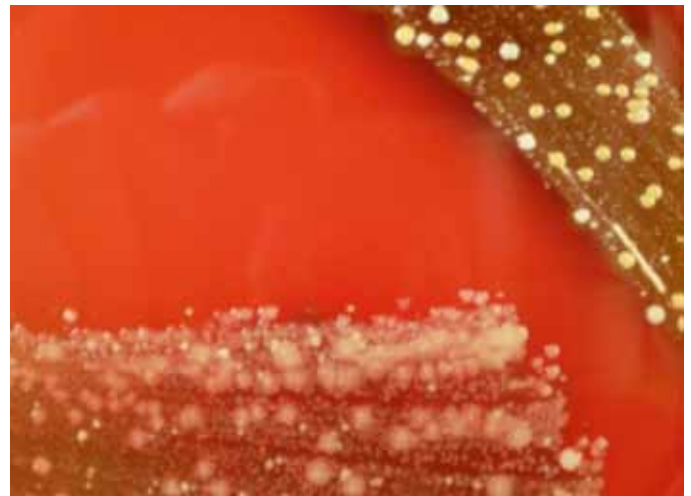
на такий етіопатогенетичний чинник як мікроорганізми.

## Матеріал і методи

Дослідження проводили на 20 білих щурах-самцях віком 3,5–7,5 місяців, масою 150–170 г. Усіх тварин помістили у віварій, роботу виконували відповідно до Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах. Забирали матеріал для вивчення мікрофлори порожнини рота експериментальних тварин через 6 та 8 тижнів, щоб з'ясувати вплив опіоїдного анальгетика. До прикладу взяли препарат Налбуфін, похідний морфіну. Для дослідження матеріал забирали бактеріологічною петлею із поверхні ясен, зі слизової оболонки присінка порожнини рота, власне порожнини рота, а також із поверхні зубів (медіальних і бічних різців) верхньої та нижньої щелеп. Для бактеріоскопічного дослідження брали препарати-мазки, забарвлені за методом Грама. Основне завдання експерименту – виявлення мікрофлори (паличкоподібних, кокоподібних, грампозитивних, грамнегативних клітин, клітин грибів), а також підрахунок у полі зору клітинних елементів (лейкоцитів, еритроцитів, епітелію). Бактеріологічне дослідження охоплювало посів на цукровий бульйон, жовтково-сольовий і кров'яний агарі, середовище Ендо та середовище Сабуро. При посівах виявили  $\alpha$ - і  $\beta$ -гемолітичні стрептококи, стафі-



**Мал. 1.** Бактеріоскопічне дослідження: 6-й тиждень; зубна бляшка, об. х90, ок. х8; переважання грамнегативної кокової мікрофлори; бактерій *Leptotrix* не виявили



**Мал. 2.** Через 6 тижнів: β-гемолітичні, α-гемолітичні та негемолітичні колонії

лококи, кишкові бактерії, гриби *Candida* та іншу мікрофлору [13].

### Результати та їх обговорення

Мікрофлору порожнини рота щурів досліджували до початку експерименту та у динаміці, через 6 і 8 тижнів під впливом опіоїдного анальгетика – препарату Налбуфін. Через 42 доби (6 тижнів) від початку введення опіоїдного анальгетика, при бактеріоскопічному та бактеріологічному дослідженні, спостерігали стійке порушення балансу мікроорганізмів. При мікроскопічному дослідженні препаратів-мазків виявили переважання грамнегативних бактерій, таких як грамнегативні палички, кокова флора

представлена скупченнями зубних бляшок (мал. 1). Лейкоцити, зокрема гранулоцити, були виражені на всій досліджуваній ділянці. Під час бактеріологічного дослідження спостерігали й кількісні зміни мікрофлори (мал. 2–3). За період спостереження зростає кількість умовно-патогенних бактерій, а саме: α-гемолітичних стрептококів, із  $40 \pm 2,5$  КУО/мл до  $72 \pm 3,5$  КУО/мл, тобто майже вдвічі; коагулазонегативних і гемолітичних стафілококів – в 1,4–1,7 рази; гемолітичних ешерихій (*E.coli*) – у 1,5 рази (табл. 1). Як наслідок, виявили зміни мікрофлори, що підтверджують динамічність розвитку запального процесу. До того ж, на тлі значного зростання кількості умовно-патогенних, а іноді патоген-

них мікроорганізмів, спостерігали суттєве зменшення концентрації сапрофітної мікрофлори.

Схожі особливості мікрофлори спостерігали через 56 днів (8 тижнів) від початку впливу опіоїдного анальгетика. При мікроскопічному дослідженні у мазках виявили стафілококи та грамнегативні палички, гриби *Candida* і лейкоцити локалізувалися на всій досліджуваній ділянці.

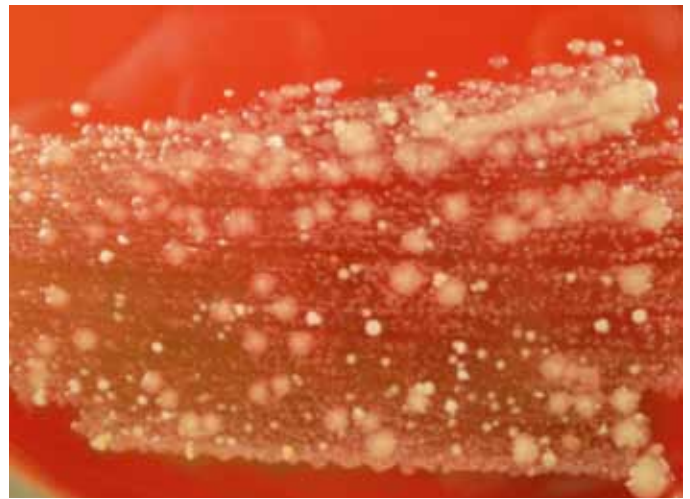
Під час бактеріологічного дослідження переважали мікроорганізми-збудники запальних процесів – гемолітичні стафілококи ( $70 \pm 6,9$  КУО/0,02 мл), гемолітичні ешерихії ( $30 \pm 3,8$  КУО/0,02 мл) (мал. 4), спостерігали ріст колоній ентеробактерій (мал. 5). У прикінцевих термінах, на

**Таблиця 1.** Динаміка мікрофлори порожнини рота щурів під впливом опіоїдного анальгетика

Період дослідження	Мікроскопічне дослідження	Бактерії	Кількісні показники, КУО/0,02 мл
Через 6 тижнів від початку впливу опіоїдного анальгетика	Значна кількість грамнегативних бактерій Кокова флора бляшками Грамнегативні палички Лейкоцити на всій досліджуваній ділянці	Стрептококи α-гемолітичні	$40 \pm 2,5$
		Стафілококи коагулазонегативні	$35 \pm 4$
		Стафілококи гемолітичні	$40 \pm 3,8$
		<i>E.coli</i> гемолітичні	$20 \pm 3,8$
		Гриби <i>Candida</i>	Поодинокі колонії
Через 8 тижнів від початку впливу опіоїдного анальгетика	Переважають стафілококи і грамнегативні палички Гриби <i>Candida</i> Лейкоцити на всій досліджуваній ділянці	Стрептококи α-гемолітичні	$42 \pm 3,5$
		Стафілококи коагулазонегативні	$56 \pm 2,4$
		Стафілококи гемолітичні	$70 \pm 6,9$
		<i>E.coli</i> гемолітичні	$35 \pm 1,7$
		<i>S.aureus</i>	Поодинокі колонії
	Гриби <i>Candida</i>	Поодинокі колонії	



**Мал. 3.** ... колонії гемолітичних стафілококів на кров'яному агарі



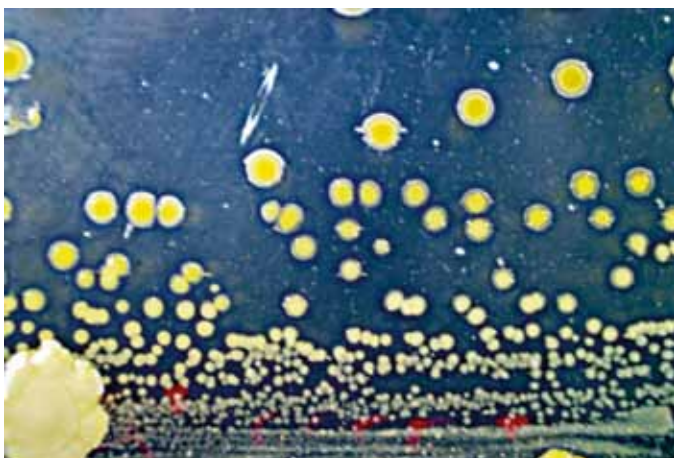
**Мал. 4.** Через 8 тижнів: ріст гемолітичних *E.coli* на кров'яному агарі



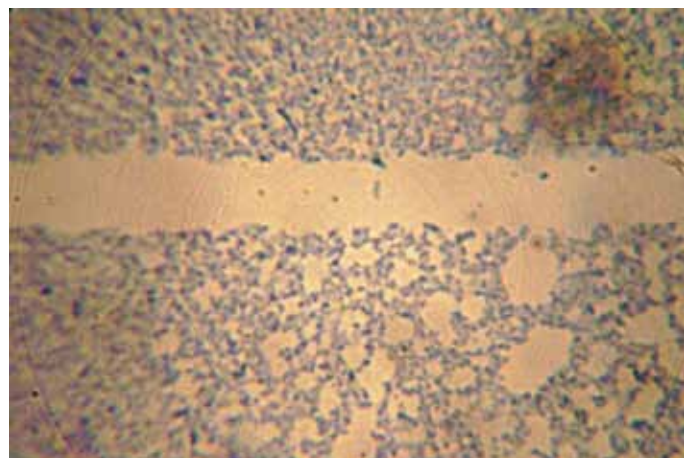
**Мал. 5.** ... ріст колоній на кров'яному агарі; колонії гемолітичних і негемолітичних стафілококів накладаються; ріст  $\alpha$ -гемолітичних стрептококів, колоній ентеробактерій



**Мал. 6.** ... ріст колоній *Staphylococcus aureus* на кров'яному агарі; візуалізація золотистого пігменту



**Мал. 7.** ... колонії *Staphylococcus aureus* на м'ясопептонному агарі (МПА); візуалізація золотистого пігменту



**Мал. 8.** ... мазок колоній *Staphylococcus aureus*

50–56 добу, виявили патогенні поодинокі колонії *Staphylococcus aureus* (мал. 6–8). Такі зміни мікрофлори у піддослідних тварин при тривалому впливі (56 діб) опіоїдного анальгетика простежували на тлі розвитку клінічно вираженого гнійно-запального процесу як у слизовій оболонці порожнини рота загалом, так і в тканинах пародонта зокрема.

## Висновки

Отож під тривалим впливом опіоїдного анальгетика у порожнині рота піддослідних щурів було порушено баланс мікроорганізмів, відбулися дисбіотичні зміни мікроструктур, виражені збільшенням кількості умовно-патогенної мікрофлори, зокрема гемолітичних ешерихій, поя-

вою патогенних стафілококів на тлі зменшення концентрації представників нормальної мікрофлори. Такі зміни мікробіоценозу підтверджують виникнення дисбактеріозу, при якому зміни мікрофлори супроводжувались розвитком запального процесу як у порожнині рота загалом, так і в тканинах пародонта зокрема.

## Список використаної літератури

1. Андреева Н.Б. Изменения в тканях пародонта при хронической морфинной интоксикации и применения антиоксиданта дибунула с целью коррекции (экспериментальное исследование): автореф. дис. канд. мед. наук: спец. ВАК РФ: 14.00.21 «Стоматология». — Москва, 2002. — 25 с.
2. Аркадьева Г.Е. Микробиоценоз ротовой полости в норме и некоторых патологических состояниях: учеб. пособие для врачей СПб ГМУ им. акад. И.И. Павлова. — СПб., 2000. — 23 с.
3. Близнюк Г.О. Обґрунтування принципів раціональної гігієни порожнини рота у хворих із загостреним перебігом генералізованого пародонтиту: автореф. дис. канд. мед. наук: спец. 14.01.22 «Стоматологія». — Одеса, 2006. — 20 с.
4. Гарюк Г.И. Распространенность и особенности течения воспалительных процессов ЛОР-органов при сопутствующей наркологической зависимости / Г.И. Гарюк, Д.В. Киричек // Международный медицинский журнал, 2010. — №4. — С. 64–67.
5. Годовалов А.П. Некоторые особенности лабораторной диагностики дисбиотических состояний полости рта / А.П. Годовалов, Л.П. Быкова, Е.Д. Шипилина // В мире научных открытий, 2010. — № 4 (10), часть 14. — С. 7–9.
6. Зорина О.А. Взаимосвязь качественного и количественного состава биоценозов ротовой полости и индивидуального генетического профиля на фоне воспалительных заболеваний пародонта: автореф. дис. канд. мед. наук: код спец. ВАК: 14.01.14. — 2011. — 21 с.
7. Лебедев Д.В. Микробиоценозы полости рта у больных генерализованным пародонтитом, способ диагностики и коррекции: автореф. дис. канд. мед. наук: спец. 03.02.03 «Микробиология». — Москва, 2011. — 21 с.
8. Маланчук В.О. Комплексное лечение больных остеомиелитом челюстей на фоне наркотической зависимости / В.О. Маланчук, И.С. Бродецкий // Современные достижения и перспективы развития хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии: матер. республикан. науч.-практич. конф. с междунар. уч. — Харьков, 2010. — С. 51–53.
9. Матисова Е.В. Колонизация условно-патогенными микроорганизмами слизистой оболочки полости рта при хроническом пародонтите: автореф. дис. канд. мед. наук: ВАК РФ: 03.02.03 «Микробиология». — Волгоград, 2010. — 22 с.
10. Кравченко Л.С. Зміни біохімічних та імунологічних показників факторів захисту ротової рідини при захворюваннях слизової оболонки порожнини рота / Л.С. Кравченко, Н.О. Бас // Український стоматологічний альманах, 2011. — №6. — С. 38–42.
11. Сникевич М.Г., Волошина Л.И., Рыбалов О.В. Лечение больных хроническим остеомиелитом на фоне хронической интоксикации // Современные достижения и перспективы развития хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии. матер. республикан. науч.-практ. конф. с междунар. уч. — Харьков. — 2010. — С. 87–88.
12. Тимофеев А.А. Клиническое течение гнійно-воспалительных заболеваний челюстей и мягких тканей челюстно-лицевой области у больных, употребляющих наркотики «Винт» / А.А. Тимофеев, А.В. Дакал // Современная стоматология, 2010. — №1. — С. 96–102.
13. Патент № 79565 Україна, МПК 2006.01. Спосіб контролю за розвитком гнійно-запальних процесів ротової порожнини на фоні впливу опіоїдного анальгетика в умовах моделювання / Фік В.Б., Федечко Й.М., Кривко Ю.Я., Пальтов Є.В., Онисько Р.М., Фітькало О.С.; Заявник і патентовласник Львівський нац. мед. ун-т ім. Данила Галицького. — Номер заявки u 2012 12479; заявл. 01.11.2012; опубл. 25.04.2013; бюл. №8.
14. Царев В.Н., Ушаков Р.В. Антимикробная терапия в стоматологии: Руководство. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — 144 с.
15. Cogo K. The effects of nicotine and cotinine on Porphyromonas gingivalis colonization of epithelial cells / K. Cogo, B.M. Calvi, F.S. Mariano, G.C. Franco, R.B. Conalves, F.C. Groppo // Arch Oral Biol., 2009. — Vol. 54 (11) — P. 1061–1067.
16. Borges M.A., de Figueiredo L.C., de Brito R.B. et al. Microbiological composition associated with vitamin D receptor gene polymorphism in chronic periodontitis // Braz. Oral Res. 2009. — Vol. 23, №2. — P. 203–208.
17. Wang L.F., Chien C.Y., Tai C.F. et al. Matrix metalloproteinase-9 gene polymorphisms in nasal polyposis // BMC Med. Genet: 2010. — Vol. 9. — №11. — P. 85.

Стаття надійшла в редакцію 8 липня 2014 року