

МІКРОБІОЦЕНОЗИ РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ ПРИ БІОЛОГІЧНОМУ МОДЕЛЮВАННІ ОПІОЇДНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ АНТИБІОТИКАМИ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

(м. Львів)

Дана робота є фрагментом НДР «Структурна організація, ангіоархітектоніка та антропометричні особливості органів у внутрішньо-та поза утробному періодах розвитку, за умов екзо- та ендопатогенних факторів», № держ. реєстрації 0115U000041.

Вступ. Вже більше ніж 50 років проблема зростання наркоманії набула ознак глобальної як така, що впливає на стратегії будь-яких сфер суспільного життя – від економіки до освіти. Серед всіх видів наркотичної залежності опійна наркоманія є найпоширенішою та складає від 87 до 90% [8,9]. Проте, стоматологічна патологія в наркозалежних осіб вивчені недостатньо, а в умовах біологічного експерименту практично не вивчалась. Зіштовхнувшись з проблемою зростання наркозалежності, клініцисти виявились невідповідними до розпізнавання орорфациальних симптомів наркоманії, через відсутність систематизованих даних щодо проявів інтоксикації наркотиками, зокрема опіатами, у ротовій порожнині [8].

За даними літератури, проникність судинної стінки тканини пародонту, як правило, найбільш виражена на 4-5 добу абстинентного синдрому, який супроводжується нагромадженням біомаси зубної бляшки [2]. Зубна бляшка містить основну масу одонтопатогенних мікроорганізмів ротової порожнини, які спричиняють розвиток найпоширеніших стоматологічних захворювань – карієсу та періодонтиту [1, 3, 10, 12], або є вторинними факторами патогенезу хвороб пародонту [8]. Згідно із сучасними поглядами, початкові стадії демінералізації емалі зуба розвиваються внаслідок дисбалансу мікрофлори зубної бляшки [1]. При біологічному моделюванні каріозного процесу виявлено, що в патогенезі цього найпоширенішого захворювання, провідна роль належить мікроорганізмам зубної бляшки, зокрема стрептококам.

Встановлено, що збільшення щільності колонізації стафілококами тканин ротової порожнини створює можливість деструктивно-запальних процесів. Це підтверджує необхідність включати в комплексну терапію стоматологічних захворювань заходи і

препарати спрямовані на корекцію складу вказаної екологічної ніші [4,11].

Мета дослідження – вивчити протекторну дію антибіотиків при біологічному моделюванні опіоїдної інтоксикації на основі дослідження мікрофлори ротової порожнини експериментальних щурів.

Об'єкт і методи дослідження. Експерименти проведені на 18 білих щурах-самцях, масою в середньому 200г, які знаходилися в стаціонарних умовах віварія на повноцінному стандартному харчовому раціоні згідно встановленим нормам. Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Перед початком експериментів проводили додаткове зважування і обстеження щурів з нормальним забарвленням видимих слизових оболонок, які з апетитом споживали корм.

Змодельовано біологічну модель хронічного опіоїдного впливу, де був сформований стан, що проявлявся змінами поведінкових реакцій експериментальних тварин на фоні впливу наркотичного анальгезуючого лікарського препарату «Налбуфін» [5]. Впродовж експерименту – на початку, після закінчення введення опіоїда (2 тижні) та наприкінці спостереження, проводився контроль за розвитком процесів ротової порожнини на фоні впливу опіоїда, що включало мікробіологічне (мікроскопічне та бактеріологічне) дослідження запальних вогнищ тканин пародонту та ротової порожнини в цілому [6]. Починаючи з середини 5-го і до кінця 6-го тижня вводили щоденно антибіотик (11 діб), зокрема, «Офрамекс» (діюча речовина – цефтріаксон, виробник «Ранб-аху»). Доза антибіотика, розчиненого в NaCl складала 0,3 мл. Тим самим, нами було поставлено завдання створити спосіб моделювання протекторної дії антибіотиків, що базується на дослідженні мікрофлори ротової порожнини протягом дії опіоїда, який спричиняє розвиток гнійно-запальних процесів

ротової порожнини, що дасть можливість коригувати мікробіоценоз і позитивно впливати на стан тканин пародонту [7]. Антибіотикограма виділених ізолятів бактерій визначалась дискOMETричним методом. При порівняльних дослідженнях антибіотикограма визначалась в ідентичних ізолятів, виділених цих самих особин щурів.

Результати досліджень та їх обговорення. У тварин, що одержували опіоїдний анальгетик, при поступовому збільшенні дози відмічались зміни поведінки – починаючи з 6-ї доби у щурів з'явилася "поза бійця", відчуття спраги, зниження апетиту, апатія, млявість, своєрідне «очікування» дози наркотика. У тварин зменшувалась маса тіла на 10-15%. В ротовій порожнині відмічався набряк та синюшність слизових, особливо вільного краю ясен. У деяких особин виявлено кровоточивість ясен та ерозії на слизовій присінку рота. Ці зміни відмічались і протягом наступних двох тижнів після відміни опіоїда. На фоні введення антибіотика в більшості тварин ознаки запального процесу затихали.

Мікроскопічне дослідження мазків із порожнини рота, показало розвиток запального процесу на слизових та зміни мікрофлори зубної бляшки. Наприкінці другого тижня експерименту в мазках із слизових збільшувалась кількість епітеліальних клітин з ознаками дегенерації та руйнування. Нейтрофільні лейкоцити виявлялись до 20 в полі зору. В мазках із зубної бляшки зменшувалась кількість грампозитивної мікрофлори, а грамнегативні палички та коки виявлялись у вигляді скупчень, які включали різні морфотинкторіальні типи мікроорганізмів.

Результати бактеріологічного дослідження мікрофлори ротової порожнини піддослідних щурів показані в **табл. 1**.

При мікробіологічному дослідженні на початку експерименту виділялась сапрофітна мікрофлора – коагулазонегативні стафілококи, α -гемолітичні та

негемолітичні стрептококи, ентерококи, ешерихії, грампозитивні спорові та неспорові бактерії. У найбільшій кількості виявлялись сапрофітні та коагулазонегативні стафілококи: $37 \pm 2,0 - 34 \pm 3,0$ КУО/0,02 мл. Кількість ешерихій становила $29 \pm 4,5$ КУО/0,02 мл., α -гемолітичних стрептококів $-24 \pm 2,6$ КУО/0,02 мл., негемолітичних стрептококів $-24 \pm 3,1$ КУО/0,02 мл. Наприкінці періоду введення анальгетика кількість вказаних бактерій зростала в 1,5 – 2 рази. Важливо, що на фоні розвитку запального процесу в порожнині рота у піддослідних тварин виділялись патогенні види бактерій *St. aureus*, β -гемолітичні стрептококи та гемолітичні ешерихії. При введенні антибіотика, на фоні згасання ознак запального процесу, склад мікрофлори ротової порожнини спрощувався як за видовими та і за кількісними параметрами. *St. aureus*, β -гемолітичні стрептококи та гемолітичні ешерихії не виділялись, а інші види виявлялись у два-п'ять разів менших кількостях, ніж на початку досліду та на фоні введення опіоїдного анальгетика. Одержані дані вказують на етіологічну роль патогенних видів (*St. aureus*, β -гемолітичних стрептококів) при запальних процесах, які розвинулись при опіоїдній інтоксикації.

З метою порівняння антимікробної дії антибіотиків цефазоліну (цфз), цефтріаксону (цфа), та цiproфлoксацину (цфл) на мікрофлору ротової порожнини щурів на фоні опіоїдної інтоксикації проведено дослідження антибіотикограм. Результати показані в **табл. 2**.

Як видно з **табл. 2**, *St. aureus*, що виділявся при запальних змінах, які розвинулись при дії опіоїдного анальгетика, був достатньо чутливий до антибіотиків. Діаметр зон затримки росту становив $21 \pm 1,1$ мм. для цефазоліну, $20 \pm 1,1$ мм. для цефтріаксону, $21 \pm 0,9$ для цiproфлoксацину. Проте, окремі ізоляти цих коків відрізнялись ступенем чутливості до цiproфлoксацину, окремі колонії виростили в зоні затримки росту бактерій (**рис. 1**). З

Таблиця 1

Видовий та кількісний склад мікрофлори ротової порожнини щурів при опіоїдному впливі і протекторній дії антибіотика (КУО/0,02 мл)

Види бактерій	Перший тиждень (опіоїд)	Другий тиждень (опіоїд)	Третій тиждень (відміна)	Четвертий тиждень (відміна)	П'ятий тиждень (антибіотик)	Шостий тиждень (антибіотик)
<i>St. aureus</i>	-	-	$7 \pm 0,1$	$8 \pm 0,3$	-	-
<i>St. epidermidis</i>	-	-	$12 \pm 1,0$	$16 \pm 1,0$	$23 \pm 2,0$	-
<i>St. saprophyticus</i>	$37 \pm 2,0$	$58 \pm 2,0$	$65 \pm 3,0$	$69 \pm 2,0$	$11 \pm 0,3$	-
Стафілококи коагулазо-негативні	$34 \pm 3,0$	$43 \pm 2,0$	$57 \pm 3,0$	$59 \pm 5,0$	$14 \pm 2,0$	-
β -гемолітичні стрептококи	-	-	$19 \pm 2,0$	$41 \pm 5,0$	-	-
α -гемолітичні стрептококи	$29 \pm 4,5$	$34 \pm 2,6$	$38 \pm 2,0$	$39 \pm 3,4$	$21 \pm 1,3$	$9 \pm 0,4$
Негемолітичні стрептококи	$24 \pm 2,6$	$53 \pm 4,5$	$56 \pm 4,7$	$51 \pm 3,5$	$8 \pm 0,2$	$4 \pm 0,1$
Ентерококи	$21 \pm 1,3$	$20 \pm 1,0$	$22 \pm 1,5$	$20 \pm 0,9$	$22 \pm 1,6$	$21 \pm 1,4$
Ешерихії	$24 \pm 3,1$	$53 \pm 4,5$	$56 \pm 4,7$	$51 \pm 3,5$	$11 \pm 1,3$	$9 \pm 0,5$
Ешерихії гемолітичні	-	$7 \pm 0,3$	$9 \pm 1,0$	$13 \pm 2,0$	-	-
Грампозитивні неспорові бактерії	$10 \pm 2,0$	$17 \pm 3,0$	$19 \pm 1,0$	$16 \pm 3,0$	-	-
Грампозитивні спорові бактерії	$8 \pm 2,0$	$7 \pm 0,4$	$10 \pm 2,0$	$13 \pm 3,0$	-	-

Антибіотикограми оральної мікрофлори щурів, яка виділена при опіювній інтоксикації

Види бактерій	Антибіотикограма (середній діаметр зон затримки росту)								
	На початку експерименту			Після відміни опіювнього анальгетика (3 тиж)			Наприкінці експерименту		
	Цфз	цфа	Цфл	Цфз	Цфа	цфл	Цфз	цфа	цфл
St. aureus	-	-	-	22±1,1	20±1,2	21±0,9	-	-	-
Коагулазонегативні стафілококи	23±1,2	21±1,1	24±1,5	21±0,9	20±0,9	23±1,3	18±0,8	12±0,5	19±0,9
α-гемолітичні стрептококи	21±1,2	23±1,1	28±1,3	20±1,1	22±1,2	25±1,7	21±1,3	23±1,6	27±1,5
Негемолітичні стрептококи	16±0,8	19±0,7	19±1,0	18±0,9	18±1,0	19±0,1	15±0,5	9±0,5	14±0,7
β-гемолітичні стрептококи	-	-	-	28±2,2	32±1,5	26±1,8	-	-	-
Ентерококи	R	R	18±0,3	R	R	17±0,7	R	R	15±0,4
Ешерихії	17±1,1	24±0,8	32±2,4	18±1,0	26±1,5	32±2,0	15±0,6	8±0,3	26±2,7
Ешерихії гемолітичні	-	-	-	13±0,2	15±0,5	32±2,0	-	-	-

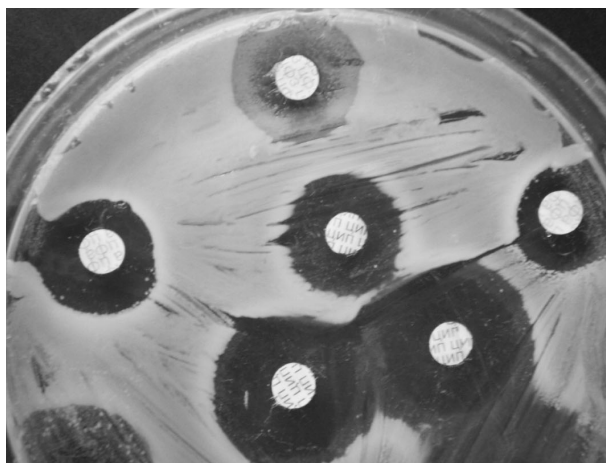


Рис. 1. Антибіотикограма. Колонії St. aureus антибіотикорезистентного варіанта. М'ясо-пептонний агар, зб. 1 x 2



Рис. 2. Антибіотикограма. St. aureus- ізолят стійкий до ципрофлоксацину. Кров'яний агар, зб. 1 x 1.

тих колоній виділено ізолят, стійкий до ципрофлоксацину (рис. 2). β-гемолітичні стрептококи були достатньо чутливими до досліджених антибіотиків і не виділялись на фоні введення цефтріаксону. Це ж стосується гемолітичних ешерихій. Ізоляти коагулазонегативних стафілококів, α-гемолітичних та негемолітичних стрептококів, виділених на початку та наприкінці експерименту, не відрізнялись за ступенем чутливості до досліджених антибіотиків. Проте, ізоляти ешерихій, виділених на фоні введення цефтріаксону виявились практично стійкими до цього препарату (діаметр зони затримки росту: 8±0,3 мм). Ймовірно, що під дією антибіотика формувалась селективна перевага для антибіотикорезистентних варіантів, присутніх у мікробіоценозі ротової порожнини щурів.

Висновки. Таким чином, на фоні введення опіювнього анальгетика протягом двох тижнів, у піддослідних тварин відмічено стійкі зміни мікробіоценозів ротової порожнини, що проявлялись у збільшенні кількості сапрофітних та умовно-патогенних і появи патогенних видів бактерій. Вказані зміни супроводжувались розвитком запальних процесів на слизових порожнини рота та ясен, що вказує на етіологічну значимість мікрофлори при цих процесах. На фоні введення препарату, де діюча речовина є цефтріаксон, виявлялись ізоляти бактерій малочутливі та стійкі до цього препарату.

Перспективи подальших досліджень. В подальшому планується провести дослідження лікувальної дії β-лактанних антибіотиків при гнійно-запальних процесах ротової порожнини на фоні впливу опіюда.

Література

1. Аркадьєва Г. Е. Микробиоценоз ротової порожнини в нормі і деяких патологічних станах / Г. Е. Аркадьєва // Учебное пособие для врачей СПбГМУ им. акад. И. И. Павлова. – СПб., 2000. – 23 с.

2. Горячев Д. Н. Морфофункциональная оценка состояния тканей пародонта и слюнных желез у наркологических пациентов : автореф. дис. на соискание научной степени канд. мед. наук : спец. 14.01.14 «Стоматология» / Д. Н. Горячев. – Казань, 2011. – 23 с.
3. Матисова Е. В. Колонизация условно-патогенными микроорганизмами слизистой оболочки полости рта при хроническом пародонтите : автореф. дис. на соискание научной степени канд. мед. наук : спец. 03.00.07 «Микробиология», 14.01.14 «Стоматология» / Е. В. Матисова. – Волгоград, 2010. – 27 с.
4. Панченко А. В. Распространенность и биологические свойства стафилококков, колонизирующих полость рта при кариесе и пародонтите : автореф. дис. на соискание научной степени канд. мед. наук : спец. 03.02.03 «Микробиология» / А. В. Панченко. – Волгоград, 2011. – 25 с.
5. Патент № 71438 Україна, МПК 2006. 01. Спосіб моделювання поведінкових реакцій в експериментальних тварин при хронічному впливі опіюїду / Пальтов Є. В., Фік В. Б., Вільхова І. В., Онисько Р. М., Фітькало О. С., Кривко Ю. Я.; Заявник і патентовласник Львівський нац. мед. ун-т імені Данила Галицького. – Номер заявки у 2012 00427; заявл. 16.01.2012; опубл. 10.07.2012, Бюл. № 13
6. Патент № 79565 Україна, МПК 2006.01. Спосіб контролю за розвитком гнійно-запальних процесів ротової порожнини на фоні впливу опіюїдного 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 імені Данила Галицького. – Номер заявки у 2012 12479; заявл. 01.11.2012; опубл. 25.04.2013; Бюл. № 8
7. Патент № 85762 Україна, МПК 2006. 01. Спосіб моделювання протекторної дії антибіотиків при гнійно-запальних процесах ротової порожнини експериментальних тварин на фоні впливу опіюїдного анальгетика / Фік В. Б., Федечко Й. М., Пальтов Є. В., Онисько Р. М., Кривко Ю. Я.; Заявник і патентовласник Львівський нац. мед. ун-т імені Данила Галицького. – Номер заявки у 2013 08080; заявл. 25.06.2013; опубл. 25. 11. 2013; Бюл. № 22
8. Струев И. В. Патогенетическое обоснование комплекса диагностических и лечебно-профилактических мероприятий при стоматологической реабилитации больных опиоидной наркоманией : дис. . . доктора мед. наук : 14.00.16 / Струев Иван Васильевич. – Омск, 2006. – 347 с.
9. Фурсова А. Д. Патогенетические особенности стоматологического статуса и лечения наркоманов в зависимости от стажа опиоидной зависимости и выраженности абстинентного синдрома : автореф. дис. на соискание научной степени канд. мед. наук : спец. 14.00.21 «Стоматология» / А. Д. Фурсова. – Москва, 2009. – 27 с.
10. Braga R. R. Quantification of five putative periodontal pathogens in female patients with and without chronic periodontitis by real-time polymerase chain reaction / R. R. Braga, M. A. Carvalho, O. Bruca-Romero [et al.] // Anaerobe. – 2010. – Vol. 16, № 3. – P. 234-239.
11. Haffajee A. D. Systemic antibiotics: to use or not to use in the treatment of periodontal infections. That is the question the treatment of periodontal infections / A. D. Haffajee // J. Clin. Periodontol. -2006. – Vol. 33, № 5. – P. 359-361.
12. Timmerman M. F. Risk factors for periodontitis / M. F. Timmerman // International J. Dental Hygiene. – 2006. – Vol. 4, № 1. – P. 2-7.

УДК 611.311-008.87-02:615.212.7]-092.-085.33

МИКРОБИОЦЕНОЗИ РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ ПРИ БІОЛОГІЧНОМУ МОДЕЛЮВАННІ ОПІЮЇДНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ АНТИБІОТИКАМИ

Фік В. Б.

Резюме. Впродовж експерименту проводився контроль за розвитком процесів ротової порожнини на фоні впливу опіюїда, що включало мікробіологічне дослідження запальних вогнищ ротової порожнини. При моделюванні опіюїдної інтоксикації, у тварин відмічено стійкі зміни мікробіоценозів ротової порожнини – збільшенні кількості сапрофітних, умовно-патогенних і появи патогенних видів бактерій. На фоні введення препарату, де діюча речовина є цефтріаксон, виявлялись ізоляти бактерій малочутливі та стійкі до цього препарату.

Ключові слова: ротова порожнина, щурі, опіюїд, антибіотик.

УДК 611.311-008.87-02:615.212.7]-092.-085.33

МИКРОБИОЦЕНОЗЫ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ ПРИ БИОЛОГИЧЕСКОМ МОДЕЛИРОВАНИИ ОПИОИДНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И ИХ КОРРЕКЦИЯ АНТИБИОТИКАМИ

Фик В. Б.

Резюме. В ходе эксперимента производилась оценка динамики развития процессов при влиянии опиоида, на основании микробиологического исследования воспалительных очагов ротовой полости. При моделировании опиоидной интоксикации, в животных отмечали изменения микробиоценозов ротовой полости – увеличение количества сапрофитных, условно-патогенных и появлении патогенных видов бактерий. На фоне введения препарата, где действующее вещество – цефтриаксон, выявлены изоляты бактерий малочувствительные и стойкие к этому препарату.

Ключевые слова: ротовая полость, крысы, опиоид, антибиотик.

UDC 611.311-008.87-02:615.212.7]-092.-085.33

Microbiocenosis of Oral Cavity in Biological Modeling of Opioid Intoxication and Antibiotics Correction
Fik V. B.

Abstract. Experiments were conducted on 18 white male rats, which weight were on average 200 g and were in a hospital vivarium. The biological model of chronic opioid exposure, which formed the condition in which changes of behavior in experimental animals under the influence of drug analgesic "Nalphubin were shown. During the experiment – at the beginning, after opioid administration (2 weeks) and on final stage there was conducted the observation of the development of oral cavity's processes on the background of opioids impact, which included microbiological (microscopic and bacteriological) study of inflammatory lesions of periodontal tissues and oral cavity as a whole. Since the mid-5th and the end of 6 weeks, the antibiotic was administering daily (11 days), including "Oframaks" (active ingredient – ceftriaxone, the manufacturer "Ranbaxy"). The dose of antibiotic was dissolved in NaCl 0.3 ml. We had a target to create the way of modeling protective action of antibiotics, based on the study of the microflora of the oral cavity during the term of opioids, which causes the development of inflammatory processes of the mouth, that will enable to adjust microbiocenosis and positively influence on the state of periodontal tissues. The antibioticotherapy of selected isolates of bacteria were determined by the discometric method. In comparative studies antibioticotherapy was determined in identical isolates that were selected in these rats.

The rats which were treated with opioid analgetics, the gradual increase in dose showed the change in behavior, appeared something like "the state of fighter", thirst, lack of appetite, lethargy, weakness and drug addiction. The body weight decreased 10-15% in animals. The edema and cyanosis of the mucous membrane were noticed. There was revealed bleeding gums and erosion in the mucous of mouth. These changes were recorded over the next two weeks after discontinuation of opioids. On the background of administration signs of inflammation were slower in the majority of animals.

The microscopic examination of smears from the oral cavity showed the development of inflammation and changes in mucosal microflora of dental plaque. At the end of the period of introduction analgesic number of bacteria increased 1.5 – 2 times. It is important that the background of the development of inflammation in the oral cavity of rats were allocated pathogenic bacteria. With the introduction of antibiotics, against fading signs of inflammation, the composition of the microflora of the oral cavity simplified both specific and quantitative parameters. The obtained data indicate the etiologic role of pathogenic species (*St. aureus*, β -hemolytic streptococci) in inflammatory processes that were developed in opioid intoxication.

With the aim to compare the antimicrobial action of antibiotics cefazolin, ceftriaxone and ciprofloxacin on the microflora of the oral cavity of rats on the background of opioid toxication, the studies of antibiogram were conducted.

So, on the background of opioid analgetics in rats was observed persistent changes of oral cavity's microbiocenosis, which revealed in increasement of the number of saprophytic and opportunistic and occurrence of pathogenic bacterial species. These changes were accompanied by the development of inflammation in the oral mucosa and gums, that indicates the etiological significance of microorganisms in these processes. On the background of administration, where the active substance is ceftriaxone, isolates of bacteria numbness and resistant to this drug

Keywords: oral cavity, rats, opioid, antibiotic.

Рецензент – проф. Дев'яткіна Т. О.

Стаття надійшла 24. 02. 2015 р.