

© Слаба О. М.

УДК 616.314.17-06:616.155.194.8]-08-02:612.015

Слаба О. М.

ДІЯ БЕНТОНІТУ НА ГІАЛУРОНІДАЗНУ ТА ГЕМОЛІТИЧНУ АКТИВНІСТЬ ПАРОДОНТОПАТОГЕННОЇ МІКРОФЛОРИ У ХВОРИХ НА ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНУ АНЕМІЮ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (м. Львів)

oksana.slaba@gmail.com

Дане дослідження є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри терапевтичної стоматології ФПДО Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького «Екологія та пародонт. Взаємозв'язок захворювань пародонта та загально соматичної патології. Дисфункції скронево-нижньощелепового суглобу», № державної реєстрації 0114U000112; ІН. 30.000.004.15.

Вступ. Згідно даних наукової літератури відомо, що ротова порожнина здебільшого заселена непатогенною мікрофлорою – мікроорганізмами (близько 500 штамів), більшість з яких відносять до групи некультивованих. Мікроорганізми порожнини рота знаходяться в симбіотичному зв'язку з макроорганізмом і є його невід'ємною і незамінною частиною. Але це мікробне поєднання може стати і паразитарним та призвести до розвитку хвороби. Разом з тим, слід зазначити, що сьогодні відмічається ріст кількості захворювань, що викликані непатогенною мікрофлорою. Допускається, що представники непатогенної мікрофлори можуть спричиняти захворювання, що характеризуються відсутністю нозологічної специфічності в умовах зниженого імунітету та резистентності організму. Зрозуміло, що зміна типових морфологічних властивостей, може бути наслідком не тільки антимікробної терапії, але і факторів гуморального і тканинного захисту макроорганізму. Автори доводять, що популяції мікроорганізмів розглядаються як екологічно адекватні, морфологічно і фізіологічно безперервно змінюючі саморегулюючі живі «системи». Аналізуючи результати досліджень наявності пародонтопатогенної мікрофлори, в основному, яка відноситься, до грамвід'ємних анаеробів та групи *Bacteroides*, автори доводять активне сприяння до виникнення швидкопрогресуючого пародонтиту [1,3,6,13]. Агресивність цієї групи пов'язують з наявністю в оболонці бактерій протеолітичних ферментів, ендотоксинів, які безпосередньо пошкоджують тканини пародонта і викликають негативні зміни в захисних реакціях організму. У людей зі здоровим пародонтом відносна частота зустрічі п'яти основних типів пародонтопатогенів не більше 6%.

Аналіз фахової літератури свідчить про поодинокі дослідження щодо характеру мікрофлори порожнини рота у хворих на залізодефіцитну анемію (ЗДА)

із ознаками патогенності. Мікробний ландшафт порожнини рота пацієнтів із ЗДА, якісно і кількісно відрізняється від такого у практично здорових та характеризується великою кількістю умовно патогенних мікроорганізмів, штамів з факторами патогенності. Етіопатогенез захворювань тканин пародонта пов'язують із порушенням балансу між агресивною бактеріальною інвазією та локальною тканинною реакцією [2,3,6,7,14]. Із збільшенням рівня кількості мікроорганізмів в ротовій рідині збільшується концентрація сечовини, що є наслідком метаболізму, котрий проявляється протеолітичними властивостями більшості мікроорганізмів, які інкорпують в слизову оболонку пацієнтів. Під впливом біологічно активних речовин руйнується міжклітинна речовина епітелію ясенної борізки, з'являються проміжки і вакуолі, через які проникають бактерії. Відбуваються розлади в мікроциркуляції – сповільнюється кровоплин, зростає в'язкість крові, утворюються тромби, виникає васкуліт. Підвищення судинно-тканинної проникності спричиняє вихід плазмових білків (альбумінів, фібрин-фібриногенів, імуноглобулінів тощо) за межі стінок судин в периваскулярні тканини. Зрив у захисних механізмах супроводжується порушенням процесів регенерації, утворюється патологічна тканина – грануляційна. Утворення щільних запальних інфільтратів із переважанням лімфоцитів та плазматичних клітин різко змінює « нормальну» структуру ясен [1, 9, 10]. Прогресування запалення тканин (в альвеолярну кістку) зумовлює перехід з однієї стадії ураження тканин пародонта в іншу більш ускладнену. Клінічні прояви залежать від переважання однієї із трьох фаз запалення (альтерації, проліферації, ексудації), реактивності організму хворого та активності перебігу запального процесу.

У стоматологічній практиці широко використовуються адсорбенти у різних лікарських формах. Серед адсорбентів природного походження особливу увагу привертає бентоніт $\text{Al}_2[\text{Si}_4\text{O}_{10}](\text{OH})_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ – особливий активний не пористий вид глинистого мінералу, що добре змішується з водою і має виражені адсорбційні властивості. Суспензія даного мінералу здатна адсорбувати бактерії, завдяки чому вона застосовується для створення мультипробіотиків. Відомо, що бентоніт зв'язує

Кількість пародонтопатогенних видів мікроорганізмів при різних рівнях заліза в ротовій рідині

Рівень заліза		Кількість виділених видів(у% від кількості всіх ізолятів)						
		Грампозитивна кокова мікрофлора			Грамнегативна мікрофлора			Гриби
		S. aureus	Str. α-гемол.	Str. β-гемол.	E. coli	Klebs. Spp.	Pseudom. Spp.	
Низький ≤50мкг/дм ³	N 41	37±3,4	31±2,8	24±2,7	14±1,2	8±0,8	7±0,3	6±0,7
Високий ≥80 мкг/дм ³	N 52	54±4,3	85±4,6	33±2,3	16±1,3	9±0,5	6±0,5	7±0,6

бактеріальні токсини [5, 11]. Бентоніти входять до складу косметичних препаратів та зубних паст.

Мета дослідження. Вивчити терапевтичний вплив бентоніту на гіалуронідазну та гемолітичну активність пародонтопатогенної мікрофлори в залежності від рівня заліза в ротовій рідині.

Об'єкт і методи дослідження. Рівень заліза в ротовій рідині було визначено в 48 обстежених жінок хворих на ЗДА. Для одержання достовірних результатів було виділено 2 групи обстежених. Перша група – 23 особи, з низьким вмістом заліза в ротовій рідині (менше 50 мкг/ дм³); друга група 25 осіб, – з високим вмістом заліза (більше 80 мкг/ дм³).

Мікробіологічне дослідження проводили у пацієнтів при лікувальних стоматологічних процедурах, профілактичних оглядах, проведенні професійних гігієнічних маніпуляцій у порожнині рота. Для цього здійснювали забір ротової рідини, а також матеріал з зубо-ясенної борозни. Мікробіологічне дослідження проводили за загальноприйнятими методами згідно з класифікаційною схемою Bergey (1997).

Результати досліджень та їх обговорення. В ряді досліджень останніх років вивчалось значення ролі заліза для формування мікробіоценозів порожнини рота та проявів пародонтопатогенної дії бактерій. Відомо, що рівень заліза в ротовій рідині корелює з його вмістом в плазмі крові, проте при анеміях вища кількість заліза виявляється в ротовій рідині [5].

Результати визначення заліза в ротовій рідині вказують на те, що середній рівень заліза в першій групі становив 36±1,6 мкг/ дм³, а в другій – 95±2,9 мкг/ дм³. В обстежених осіб виділялись пародонтопатогенні мікроорганізми та порівнювались їх видовий склад.

Результати дослідження вивчення кількості пародонтопатогенних видів мікроорганізмів при різних рівнях заліза в ротовій рідині (табл.) вказують на зміну видового складу біотопу в залежності від рівня заліза.

У пацієнтів з низьким рівнем заліза *S. aureus* виявлявся на рівні 37±3,4 КУО/0,02 мл, α- гемолітичні стрептококи – 31±2,8 КУО\0,02 мл, стрептококи β-гемолітичні – 24±2,7 КУО\0,02 мл, кишкові палички – 14±1,2 КУО\0,02 мл, клебсієли – 8±0,8 КУО\0,02 мл, псевдомонади – 7±0,3 КУО\0,02 мл, гриби роду

Таблиця *Candida* – 6±0,7 КУО\0,02 мл.

При високому рівні заліза значно зростала кількість грампозитивних кокових бактерій, особливо α- гемолітичних стрептококів – у 2,5 рази. У 1,5 рази зростає кількість *S. aureus* і в 1,4 рази β-гемолітичних стрептококів. Кількість колоній грамнегативних видів та в *Candida* – достовірно не зростала. Таким чином, виявлено, що при високому рівні заліза в слині селективну перевагу мають

гемолітичні грампозитивні коки, особливо α- гемолітичні стрептококи.

Вища гемолітична активність виявлена в бактерій, виділених у пацієнтів з низьким рівнем заліза в ротовій рідині. Титр гемолізинів становив 370±23 мкл для *S. aureus* і 210±15 мкл для β-гемолітичних стрептококів. В ізолятах, виділених від осіб з високим рівнем заліза в ротовій рідині рівень гемолізинів був нижчим, тобто повний гемоліз еритроцитів забезпечувався більшим об'ємом культуральної рідини. Для *S. aureus*, він становив 560±31 мкл, а для β-гемолітичних стрептококів – 540±29 мкл.

Гіалуронідазна активність ізолятів *S. aureus* виявлялась в об'ємі 580±23 мкл, а для β-гемолітичних стрептококів – 240±17 мкл, тобто була в 2,4 рази вищою.

Найвища гіалуронідазна активність визначена в культуральній рідині (середовище Кітта-Тароці) з амікацином, у якій відмічався ріст анаеробних мікроорганізмів. Розведення гіалуронової кислоти забезпечувалось в середньому в 150±12 мкл рідини. Проте, в осіб з різним рівнем заліза в ротовій рідині, як вказують результати наших досліджень, не виявлено достовірної різниці активності гіалуронідази ізолятів бактерій.

Нами досліджувався вплив бентоніту на гіалуронідазну та гемолітичну активність бактерій, виділених при запальних процесах у тканинах пародонта – *Staphylococcus aureus*, (22 ізоляти), β-гемолітичних стрептококів (20 ізолятів) та анаеробних неспорівих бактерій (23 культури).

Результати наших досліджень виявили, що найвища гемолітична активність виявлена в клінічних ізолятів β-гемолітичних стрептококів, повний гемоліз забезпечувався 360±36 мкл культуральної рідини. Після обробки бентонітом гемолітична активність значно зменшувалась: для повного гемолізу необхідно 700±43 мкл рідини.

Гемолізину *S. aureus* також адсорбувалися бентонітом: до обробки гемоліз забезпечувався 470±23 мкл рідини, а після обробки – 750±34 мкл.

Гемолітична активність змішаних культур неклостридіальних анаеробів виявилась невисокою (титр 700±38 мкл) і не визначалась після обробки бентонітом.

У β -гемолітичних стрептококів, мінімальна гіалуронідазна активність виявлялась в кількості 550 ± 19 мкл культуральної рідини, а після обробки бентонітом зменшувалась, виявляючись тільки в 810 ± 64 мкл.

Гіалуронідазна активність *S. aureus* до обробки бентонітом становила 550 ± 19 мкл, а після обробки – 800 ± 56 мкл.

Найвища гіалуронідазна активність виявлена у змішаних культурах неклостридіальних анаеробів (титр 150 ± 12 мкл) і зменшувалась після адсорбції бентонітом (титр – 800 ± 67 мкл).

Таким чином, виявлено, що бентоніт проявляє свою дію як інгібітор гемолізинів і гіалуронідази.

Під впливом бентоніту мікробна контамінація тканин пародонта значно зменшувалась. Кількість КУО *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* зменшувалась у 3,5 рази, стрептококів – у 4,5 – 5 разів, *E. coli* – у 5,5 разів.

В усіх досліджуваних клінічних ізолятів бактерій виявлено гіалуронідазну активність. У β -гемолітичних стрептококів, мінімальна гіалуронідазна активність виявлялась в кількості 550 ± 19 мкл культуральної рідини, а після обробки бентонітом зменшувалась, виявляючись тільки в 810 ± 64 мкл.

Висновки. Виявлено, що при високому рівні заліза в ротовій рідині селективну перевагу мають гемолітичні грампозитивні коки, особливо α -гемолітичні стрептококи. Висока гемолітична активність бактерій, сприяючи звільненню заліза з гемоглобіну еритроцитів, забезпечує інтенсивнішу колонізацію ротової порожнини такими пародонтопатогенними мікроорганізмами.

Встановлено, що бентоніт проявляє свою дію як інгібітор гемолізинів і гіалуронідази. У пародонтопатогенних ізолятів *S. aureus*, β -гемолітичних стрептококів і неклостридіальних анаеробів виявлено гіалуронідазну та гемолітичну активність, яка в кілька разів зменшується після обробки бульйонних культур бентонітом.

Одержані результати вказують про доцільність застосування препаратів на основі адсорбентів бентоніту при лікуванні хвороб тканин пародонта, котрий нормалізує мікроекологію ротової порожнини, знижуючи гемолітичну активність патогенних мікроорганізмів ротової порожнини у хворих на ЗДА.

Перспективи подальших досліджень. Перспективою подальших досліджень є клінічне застосування стоматологічних пов'язок на основі бентоніту в клінічній практиці в пацієнтів із генералізованим пародонтитом хворих на ЗДА.

Література

1. Данилейченко В. В. Мікрофлора ротової порожнини / В. В. Данилейченко // Мікробіологія, вірусологія, імунологія. За ред. В. П. Ширококова. – Вінниця : «Нова книга», 2011. – С. 850–855.
2. Кременчуцький Г. М. Стрептококи / Г. М. Кременчуцький // Медична мікробіологія, вірусологія, імунологія / За ред. В. П. Ширококова. – Вінниця, 2011. – С. 340–345.
3. Леус П. А. Микробный биофильм на зубах. Физиологическая роль и патогенное значение / П. А. Леус // Стоматологический журнал. – 2007. – № 2. – С. 100–111.
4. Скляр О. Я. Біохімія тканин і рідин порожнини рота: посібник / О. Я. Скляр, Т. І. Бондарчук. – Львів : Кварт, 2012. – 142 с.
5. Слаба О. М. Вплив адсорбентів на гіалуронідазну та гемолітичну активність пародонтопатогенної мікрофлори / О. М. Слаба // Інноваційні технології в стоматології : матеріали науково-практичної конференції (Тернопіль, 28 вересня 2012 р.). – Тернопіль : Укрмедкнига, 2012. – С. 48–49.
6. Тец В. В. Распространение возбудителей соматических заболеваний в нормальной микрофлоре ротовой полости / В. В. Тец, Л. Ю. Орехова, А. А. Доморад // Пародонтология. – 2007. – № 4. – С. 9–12.
7. Brook I. Microbiology and management of periodontal infections / I. Brook // Gen. dent. – 2003. – Vol. 51, № 5. – P. 424–428.
8. Lewandowski Z. Fundamentals of biofilm research / Z. Lewandowski, H. Beyenal // J. Microbiology. – 2007. – Vol. 71, № 2. – P. 347–349.
9. Morris G. The metabolism, growth and death of bacteria / G. Morris, W. Topley, G. S. Wilson [et al.] // Principles of Bacteriology, Virology and Immunity. General Microbiology and Immunity. – Philadelphia, 2005. – Vol. 1. – P. 50.
10. Ratledge C. Iron metabolism in pathogenic bacteria / C. Ratledge, L. G. Dover // Annal Review of Microbiology. – 2000. – Vol. 54. – P. 881–941.
11. Sarkisova S. Calcium-induced Virulence Factors Associated with Extraellular Matrix of Mucoid Pseudomonas aureogivosa Biofilms / S. Sarkisova, M. A. Patrsuchan, D. Berglund [et al.] // J. Bacteriology. – 2005. – Vol. 187, № 13. – P. 4327–4337.
12. Socransky S. S. The bacterial etiology of destructive periodontal disease : current concepts / S. S. Socransky, A. D. Haffajee // J. Clin. Periodontol. – 1992. – Vol. 63. – P. 322–331.
13. Stintzi A. Microbial iron transport via siderophore shuttle: a membrane ion transport paradigm / A. Stintzi, C. Barnes, J. Xu [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 10. 1073/pnas. 2003. 187-97.
14. Zijng V. Subgingivale biofilm structure / V. Zijng, T. Amman, T. Thurner [et al.] // Oral biology. – 2011. – № 11. – P. 1-16.

УДК 616.314.17–06:616.155.194.8]–08–02:612.015

ДІЯ БЕНТОНІТУ НА ГІАЛУРОНІДАЗНУ ТА ГЕМОЛІТИЧНУ АКТИВНІСТЬ ПАРОДОНТОПАТОГЕННОЇ МІКРОФЛОРИ У ХВОРИХ НА ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНУ АНЕМІЮ

Слаба О. М.

Резюме. У статті представлені результати дослідження дії бентоніту на гіалуронідазну та гемолітичну активність пародонтопатогенної мікрофлори у хворих на залізодефіцитну анемію (ЗДА). Виявлено, що при високому рівні заліза в ротовій рідині селективну перевагу мають гемолітичні грампозитивні коки, особливо

α -гемолітичні стрептококи. Встановлено, що бентоніт проявляє свою дію як інгібітор гемолізинів і гіалуронидази. У пародонтопатогенних ізолятів *S. aureus*, β -гемолітичних стрептококів і неклостридіальних анаеробів виявлено гіалуронидазну та гемолітичну активність, яка в кілька разів зменшується після обробки бульйонних культур бентонітом.

Ключові слова: залізодефіцитна анемія, пародонтопатогенна мікрофлора, гемолітична та гіалуронидазна активність, адсорбент.

УДК 616.314.17-06:616.155.194.8]-08-02:612.015

ДЕЙСТВИЕ БЕНТОНИТА НА ГИАЛУРОНИДАЗНОЮ И ГЕМОЛИТИЧЕСКОЮ АКТИВНОСТЬ ПАРОДОНТОПАТОГЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ В БОЛЬНЫХ ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИЕЙ

Слаба О. М.

Резюме. В статье представлены результаты исследования действия бентонита на гиалуронидазную и гемолитическую активность пародонтопатогенной микрофлоры у больных железодефицитной анемией (ЖДА). Выявлено, что при высоком уровне железа в ротовой жидкости селективное преимущество имеют гемолитические грамположительные кокки, особенно α -гемолитические стрептококки. Установлено, что бентонит проявляет свое действие как ингибитор гемолизина и гиалуронидазы. В пародонтопатогенных изолятах *S. aureus*, β -гемолитических стрептококков и неклостридиальных анаэробов обнаружено гиалуронидазную и гемолитическую активность, которая в несколько раз уменьшается после обработки бульонных культур бентонитом.

Ключевые слова: железодефицитная анемия, пародонтопатогенная микрофлора, гемолитическая и гиалуронидазная активность, адсорбент.

UDC 616.314.17-06:616.155.194.8]-08-02:612.015

The Effect of Bentonite on Hyaluronidase and Hemolytic Activity of Periodontal Patogenic Microflora in Patients with Iron Deficiency Anemia

Slaba O. M.

Abstract. The article presents the results of the effect of bentonite on hyaluronidase and hemolytic activity of periodontal pathogenic microflora in patients with iron deficiency anemia.

Introduction. The role of iron for the formation of microbiocenosis of the oral cavity and manifestation of periodontal pathogenic effect of bacteria has been studied in recent years. It is known that the level of iron in oral fluid correlates with its content in the blood plasma, but with anemia higher amount of iron is detected in oral fluid. Microbial area of the oral cavity of patients with IDA differs qualitatively and quantitatively from that one in healthy people, characterizing by a large number of conditionally pathogenic microorganisms, strains with pathogenicity factors.

In dental practice adsorbents are used for the treatment of generalized periodontitis. Bentonite as adsorbent of natural origin takes a special interest ($Al_2[Si_4O_{10}](OH)_2 \times nH_2O$). The suspension of this mineral is able to absorb bacteria and binds bacterial toxins.

The aim. To study the therapeutic effect of bentonite on hyaluronidase and hemolytic activity of periodontal pathogenic microflora depending on the level of iron in oral fluid.

Object and methods. The level of iron in oral fluid was determined in 48 examined women with IDA. To obtain reliable results two groups of patients were selected. The first group included 23 people with the low content of iron in the oral fluid (less than 50 mg / dm³); the second group – 25 people with the high content of iron (80 mg / dm³).

Results and discussion. The determining results of iron in the oral fluid indicates that the average level of iron in the first group was $36 \pm 1,6$ mg / dm³, while in the second one was $95 \pm 2,9$ mg / dm³. Pathogenic periodontal microorganisms were observed in examined patients and their species composition was compared.

The microbial contamination of the periodontal tissues under the influence of bentonite decreased significantly. Number of CFU *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* decreased in 3,5 times, streptococci – in 4.5 – 5 times, *E. coli* – in 5.5 times.

Hyaluronidase activity was detected in all clinical investigated isolates of bacteria. Minimum hyaluronidase activity in β -hemolytic streptococci was detected in the amount of 550 ± 19 microliter of culture fluid, and it decreased after bentonite treatment, appearing only in the amount of 810 ± 64 microliter.

Conclusions. It has been found that at the high level of iron in the oral fluid, hemolytic gram-positive cocci, especially α -hemolytic streptococci have selective advantage. The high hemolytic activity of bacteria, promoting the release of iron from the hemoglobin of red blood cells, provides intensive colonization of the oral cavity with periodontal pathogens.

It has been defined that bentonite reveals as an inhibitor of hemolysins and hyaluronidase. Hyaluronidase and hemolytic activity reduced in several times after processing broth cultures with bentonite has been detected in the periodontal pathogenic isolates *S. aureus*, β -hemolytic streptococci and nonspore anaerobes.

Keywords: iron deficiency anemia, periodontal pathogenic microflora, hyaluronidase and hemolytic activity, adsorbent.

Рецензент – проф. Ніколішин А. К.

Стаття надійшла 04. 03. 2015 р.