

УДК 579.61: 616.316-092

АДГЕЗИВНИЙ ПОТЕНЦІАЛ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* И *CANDIDA ALBICANS*, ВИДЕЛЕННИХ ИЗ ЭКССУДАТА ВОСПАЛЕННЫХ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ ПОД ВЛИЯНИЕМ ОЗОНИРОВАНИЯ

Бирюкова С.В., Большакова Г.М.

Харьковская медицинская академия последипломного обучения, Харьков, Украина

Введение

Проблема поиска и разработки современных методов и способов адекватного лечения хронических воспалительных заболеваний слюнных желез (ХВЗСЖ), склонных к затяжному течению и хронизации, не теряет актуальности в связи с учащением случаев рецидивирования. ХВЗСЖ плохо поддаются традиционной терапии, в основном из-за длительного персистирования полирезистентных штаммов микроорганизмов. В качестве альтернативы антибиотикам последнего поколения активно исследуется действие озона, озонированных растворов и масел [1,2,3]. Антимикробное действие озона обусловлено деструкцией клеточных мембран, нарушением их барьерной функции, окислением белков, угнетением функциональной активности бактерий, преобразованием плазмидной ДНК и т.д. В результате озонирования снижается пролиферация бактерий и при больших дозах происходит их полная гибель. Но, кроме очевидных преимуществ этого метода (не вырабатывается устойчивость к озону), имеются и недостатки – так называемые «хвостовые» эффекты, которые обеспечивают реактивацию поврежденных частей микробных клеток и приводят к вторичному росту микроорганизмов[2].

В настоящее время накоплен большой материал по изучению воздействия озона на микроорганизмы, однако малоизученным остается вопрос влияния озона на адгезивный потенциал разных видов бактерий. Между тем, адгезия патогенных и условно-патогенных микроорганизмов на эпителиоцитах слизистых поверхностей является начальным этапом в развитии воспалительного процесса. При этом колонизационная резистентность организма во многом будет зависеть от совокупности факторов, препятствующих прикреплению и размножению бактерий на слизистых оболочках ротовой полости. Существенная роль при этом отводится нормофлоре слизистых оболочек, ее конкурентным взаимоотношениям с патогенной микрофлорой и физиологическому состоянию клеток. Однако, не все так однозначно, т.к., в частности, кандиды используют механизмы коадгезии с бактериями нормальной микрофлоры для колонизации слизистых[4,5,6,7]. В литературе встречаются данные о непосредственном влиянии продуктов бактериального метаболизма на процесс прикрепления клеток к эпителиоцитам через модификацию адгезивных молекул [8].

Наши исследования показали, что хронические воспалительные заболевания слюнных желез имеют вирусно-бактериально-грибковую природу. В составе микробиоценозов чаще других выделялись патогенные кокки в ассоциации с грибами рода *Candida*.

Целью исследования было изучить влияние озона на адгезивный потенциал *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans*.

Материалы и методы

Для достижения поставленной цели обследовано 94 больных хроническим эктазийным (ХЭС) и склеротическим (ХСС) сиалоаденитом с обострением первичного синдрома Шегрена (ПСШ) и изучено 2079 штаммов микроорганизмов. Преобладающее количество составила кокковая группа микроорганизмов (преимущественно грамположительных) в ассоциации с представителями *Enterobacteriaceae* и грибами рода *Candida*. Определены адгезивные свойства 73 штаммов коагулазоположительных, 126 - коагулазоотрицательных *Staphylococcus spp.* и 76 штаммов грибов рода *Candida* до и после озонирования. Для контроля использовали по 70 штаммов этих культур, выделенных от практически здоровых людей.

Посев экссудата слюнных желез и идентификацию микроорганизмов проводили, используя соответствующие каждому виду бактерий жидкие, полужидкие и плотные дифференциально-диагностические среды (согласно приказу №535 МЗ СССР от 22.04.1985) производства „Государственный научный центр прикладной микробиологии, отделение „Питательные среды” МЗРФ (г.Оболенск Московской обл.,РФ)”; НВО „Питательные среды” (г.Махачкала,РФ); наборы и отдельные тесты PLIVA - Lachema a.s.,Чехия; НИЦФ, Санкт-Петербург, Россия и bio Merieux, Франция.

Адгезивные свойства стафилококков изучали по методике В.И.Брилиса[9]. Использовали формализованные эритроциты человека 0(I) группы крови Rh+, которые смешивали с однимиллиардной суспензией стафилококков и инкубировали при 37°C. В мазке, окрашенном по Романовскому-Гимзе подсчитывали количество адгезированных микроорганизмов. Стафилококк считали неадгезивным при среднем количестве клеток на одном эритроците (ИАМ) $\leq 1,75$; низкоадгезивным- от 1,76 до 2,5; среднеадгезивным от 2,51 до 4,0 и высокоадгезивным при ИАМ $\geq 4,0$.

Адгезивные свойства кандид исследовали согласно методике А.Н. Маянского [10]. Смыв суточной культуры инактивировали 0,4% раствором формалина, центрифугировали при 3500 об/мин и обрабатывали ультразвуком (22 кГц,20 МА). Равные объемы взвеси буккальных эпителиоцитов (с концентрацией 10^6 КОЕ/мл) и кандид (в концентрации 10^8 КОЕ/мл) смешивали и инкубировали при 37°C 1 час, встряхивая каждые 5 мин. Из осадка клеток готовили мазок и подсчитывали количество адгезированных кандид на 100 эпителиоцитах.

Озонирование культур проводили барботированием мясо-пептонного бульона (МПБ) с рН=5,5, в объеме 150 мл озono-кислородной смесью с помощью расщекателя в стеклянных флаконах по 250 мл на протяжении 15 минут. Концентрация стафилококков в МПБ составляла 10^5 КОЕ/мл, кандид- 10^3 КОЕ/мл. Микробная плотность и величина рН питательной среды определялись необходимостью создать условия, максимально приближенные к опыту *in vivo*. Исследовано воздействие трех концентраций озона в кислородной смеси –2,5 мг/л (мг O₃/ л O₂), 5 мг/л и 10 мг/л .

Результаты и их обсуждение.

Показано, что свежевыделенные культуры от больных с ХВЗСЖ проявляли высокую и среднюю способность реагировать с клетками человека. Наибольший ИАМ наблюдался у *S.aureus* (4,48±1,90) и *S.hyicus* (5,04±2,13). Отмечены незначительные различия между адгезивным потенциалом коагулазонегативных стафилококков: среднеадгезивными были представители видов - *S.xylosus*, *S.felis*, *S.scuiri*, низкоадгезивными - *S.cohnii*, *S.warneri* и *S.lugdunensis*. В целом, ИАМ у 47% стафилококков составил от 4,05 до 5,85, а у 41% - был в пределах 1,85-2,5(табл.1).

Табл.1. Адгезивные свойства стафилококков.

Микроорганизмы	Штаммы	СПА	К,%	ИАМ
<i>S.aureus</i>	ХВЗСЖ	4,12±1,12	92,12	4,48±1,90
<i>S.hyicus</i>	ХВЗСЖ	4,64±1,12	92,41	5,04±2,13
<i>S.intermedius</i>	ХВЗСЖ	1,9±0,4	76,24	2,5±0,32
<i>S.xylosus</i>	ХВЗСЖ	2,52±0,61	84,09	3,0±1,05
<i>S.cohnii</i>	ХВЗСЖ	2,18±0,50	90,23	2,42±0,37
<i>S.felis</i>	ХВЗСЖ	2,2±0,7	82,15	2,68±0,60
<i>S.warneri</i>	ХВЗСЖ	1,0±0,12	48,40	2,08±0,18
<i>S.lugdunensis</i>	ХВЗСЖ	0,62±0,12	38,11	1,63±0,22
<i>S.scuiri</i>	ХВЗСЖ	2,92±0,93	86,85	3,39±1,21

S.aureus	ATCC 6538	2,14±0,51	78,24	2,74±1,01
S. aureus	Контроль –от здорових (плазмокоагулир.шт.)	2,54±0,43	90,11	2,82±0,57
S. felis	Контроль - от здоровых (плазмонекоагулир.шт.)	1,15±0,12	68,36	1,69±0,31

Примечания: СПА - средний показатель адгезии, К-коэффициент участия эритроцитов, ИАМ - индекс адгезивности микроорганизмов, ХВЗСЖ - штаммы стафилококков, выделенные при хронических воспалениях слюнных желез.

Адгезивность грибов рода *Candida* (100% штаммов) более чем в 2 раза превышала аналогичные показатели в контрольной группе (12,1± 1,8 и 4,8±0,5 соответственно).

После обработки озонно-кислородной смесью отмечали изменение адгезивной активности в зависимости от концентрации озон. Показано, что озонно-кислородная смесь (ОКС) с концентрацией озона 2,5мг/л не влияла на адгезивные свойства микроорганизмов. Под действием ОКС с концентрацией 5,0 мг/л уже через 15 минут 30% штаммов стафилококков утрачивали способность к адгезии (ИАМ<1,75), но 77% кандид увеличивали этот показатель до 14,5±1,8. Результаты адгезивности кандид суммированы на рис.1.:

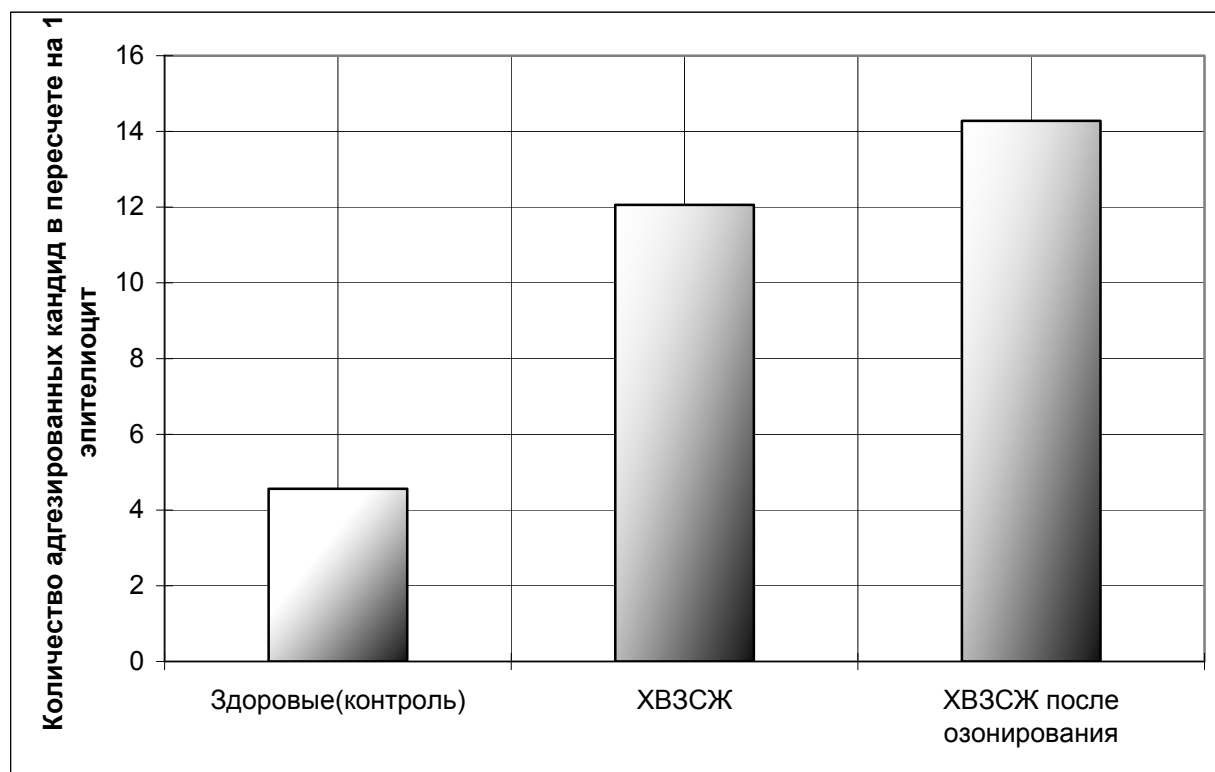


Рис.1. Показатели адгезии *Candida albicans* на буккальных эпителиоцитах до и после озонирования больных ХВЗСЖ.

При увеличении дозы ОКС (10,0 мг/л) до 90% выделенных штаммов микроорганизмов утрачивали адгезивный потенциал.

Выводы

Полученные данные свидетельствуют о различном воздействии озона на адгезивность разных групп микроорганизмов:

1. Использование озона в низких концентрациях (2,5 мг/л) практически не влияет на адгезивные способности микроорганизмов;

2. При впливі на мікроорганізми озонно-кислородної сумішшю з концентрацією озона 5,0 мг/л відбувалося значуще зменшення ІАМ стафілококів і його незначуще збільшення у кандид
3. Збільшення дози озона до 10,0 мг/л призвело до втрати адгезивного потенціалу мікроорганізмів.

Список літератури:

1. Агапов В.С., Смирнов С.Н., Шулаков В.В. і соавт. Комплексна озонотерапія обмеженого вьотекучого гнійного запалення м'яких тканин челюстно-лицьової області//Стоматологія.-2001.-Т.80.- №3.- С.23-27
2. Баріло О.С. Лікування гнійних ран озонним розчином з іонами срібла//Вісник національного медичного університету.-2004.-№8(2).-С.397-399
3. Маланчук В.А., Циделко В.Д., Копчак А.В., Кузьмичев А.И. Озонотерапія в стоматології і челюстно-лицьової хірургії//Український медичний часопис.-2000.-Т.ХІ-ХІІ.-№6/20.- С.61-67
4. O'Sullivan J.M., Jenkinson H.F., Cannon R.D. Adhesion of *Candida albicans* to oral streptococci is promoted by selective adsorption of salivary proteins to the streptococcal cell surface//Microbiology.-2000.- Vol. 146.-P.41-46
5. Маянский А.Н., Заславская М.М., Салина Е.В. і соавт. Феномен избирательного ослабления колонизационной (адгезивной) резистентности в системе «*Candida albicans*-буккальные эпителиоциты»
6. Cannon R.D., Chaffin W.L. Oral colonization by *Candida albicans*//Crit.Rev.Oral.Biol.Med.-1999.-Vol.10.-P.359-383
7. Holmes A.R., Bandara V.M.K., Cannon R.D. Saliva Promotes *Candida albicans* Adherence to Human Epithelial Cells//J.Dent.Res.-2002.-Vol.21.-№1.-P.28-32
8. Махрова Т.В., Заславская М.И., Маянский А.Н. Влияние метаболитов стафилококков на адгезивные реакции в системе «*Candida albicans*-буккальные эпителиоциты»//ЖМЭИ.-2004.-№5.-С.4-7
9. Бриллис В.И., Брилене Т.А., Ленцнер Х.П. і соавт. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов//Лаб.дело.-1986.-№4.-С.210-212
10. Маянский А.Н., Салина Е.В., Заславская М.И. Способ оценки прочности адгезии *Candida albicans* на эпителиоцитах//Клиническая лабораторная диагностика.-2003.-№2.-С.53-54

УДК 579.61: 616.316-092

АДГЕЗИВНИЙ ПОТЕНЦІАЛ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* І *CANDIDA ALBICANS*, ВИДЕЛЕНИХ ІЗ ЕКССУДАТА ВОСПАЛЕНИХ СЛЮННИХ ЖЕЛЕЗ ПІД ВПЛИВОМ ОЗОНУВАННЯ.

Бірюкова С.В., Большакова Г.М.

Харьковская медицинская академия последипломного обучения, Харьков, Украина

Изучены адгезивные свойства бактерий рода *Staphylococcus* и грибов рода *Candida*, выделенных из слюнных желез при хроническом воспалительном процессе. Показано, что свежевыделенные культуры проявляли высокую и среднюю способность реагировать с клетками человека. ИАМ у 47% стафилококков составил от 4,05 до 5,85, а у 41% - был в пределах 1,85-2,5. Адгезивность грибов рода *Candida* в 2 раза превышала аналогичные показатели контрольной группы. После озонирования *S.aureus* уменьшали, а *C.albicans* увеличивали адгезивный потенциал.

Ключевые слова: адгезивные свойства бактерий и грибов, озонирование, адгезивный потенциал

УДК 579.61: 616.316-092

АДГЕЗИВНИЙ ПОТЕНЦІАЛ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* І *CANDIDA ALBICANS*, ЯКІ ІЗОЛЬОВАНІ З ЕКССУДАТУ ВЕЛИКИХ СЛІННИХ ЗАЛОЗ ПРИ ХРОНІЧНОМУ ЗАПАЛЕННІ, ПІД ВПЛИВОМ ОЗОНУВАННЯ.

Бірюкова С.В., Большакова Г.М.

Харківська медична академія післядипломної освіти, Харків, Україна

Вивчені адгезивні властивості бактерій роду *Staphylococcus* і грибів роду *Candida*, які виділені з слинних залоз при хронічному запальному процесі. Показано, що свіжовиділені культури проявляли високу і середню здатність реагувати з клітками людини. ІАМ у 47% стафілококів склав від 4,05 до 5,85, а у 41% - був в межах 1,85-2,5. Адгезивність грибів роду *Candida* в 2 рази перевищувала аналогічні показники контрольної групи. Після озонування *S.aureus* зменшували, а *C.albicans* збільшували адгезивний потенціал.

Ключові слова: адгезивні властивості бактерій і грибів, озонування, адгезивний потенціал

ДК 579.61: 616.316-092

ADHESIVENESS OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AND *CANDIDA ALBICANS* WHICH ISOLATED FROM THE BIG SALIVARY GLANDS BY INFLAMMATORY PROCESS AFTER OZONIZATION

Birukova S.V., Bolshakova G.M.

The Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkiv, Ukraine

Adhesive properties of *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*, which isolated from the big salivary glands by chronic inflammatory process, were investigated. Microorganisms from patients showed high and middle power to react with the cells of man. IAM of 47% *Staphylococcus* was found in limits from 4,05 to 5,85, and it was from 1,85 to 2,5 at 41% . The adhesive properties of *Candida* were exceeded similar indexes of the control group in 2 times. After ozonization cells of *S.aureus* reduced, and cells of *C.albicans* increased potential

Key words: the adhesive properties of *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*, ozonization