

БИОФИЗИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ НАРУШЕНИИ МИКРОФЛОРЫ ПОЛОСТИ РТА

А. Ю. Пестов, В. О. Крамарь, С. А. Калашникова, М. П. Постолов

*Волгоградский государственный медицинский университет,
кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии, кафедра общей гигиены и экологии*

Клинико-лабораторное исследование микрофлоры ротовой полости было проведено 153 обследуемым, из которых у 57 человек зарегистрирована нормофлора, у 49 людей был выявлен одновидовой дисбактериоз, у 47 человек — ассоциированный. В результате проведения кристаллографии было установлено, что при нарушении микрофлоры полости рта происходят выраженные изменения структуры кристаллопостроения ротовой жидкости. Данный факт может быть использован для скрининговой экспресс-диагностики дисбактериоза полости рта.

Ключевые слова: ротовая жидкость, микрофлора полости рта, ассоциированный дисбактериоз, кристаллография.

BIOPHYSICAL PARAMETERS OF ORAL FLUID IN DISTURBED ORAL MICROFLORA

A. Y. Pestov, V. O. Kramar, S. A. Kalashnikova, M. P. Postolov

A clinical and laboratory study of oral microflora was performed on 153 individuals, of whom 57 showed normal flora, 49 — single-species dysbiosis, 47 — associated dysbacteriosis. As a result of crystallographic study we found that when oral microflora is disturbed, pronounced changes in the structure of the construction of oral liquid crystals take place. This fact can be used in screening for rapid diagnosis of oral dysbiosis.

Key words: oral fluid, oral microflora, associated dysbiosis, crystallographic method.

Многокомпонентная система микрофлоры полости рта находится в сложных метаболических и биохимических взаимоотношениях между микроорганизмами, регуляция которых основана на явлениях микробного синергизма и антагонизма. Нормальная микрофлора ротовой полости достаточно устойчива к действию неспецифических антибактериальных факторов ротовой жидкости, при этом резидентные симбионты обеспечивают колонизационную резистентность, препятствуя заселению данного биотопа условно-патогенными и патогенными микроорганизмами [1, 3].

При изменении микробиоценоза полости рта неизбежно происходит изменение состава ротовой жидкости на молекулярном и субмолекулярном уровнях. Одним из способов оценки самоорганизации ротовой жидкости является метод клиновидной дегидратации (кристаллографии), при котором визуализируют кристаллизованные и аморфные субстраты, содержащиеся в ней [2, 4, 6]. Отсутствие в доступной литературе данных об изменении кристаллической структуры ротовой жидкости при дисбактериозе полости рта обуславливает актуальность данного исследования.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Установить закономерности изменения биофизических параметров ротовой жидкости в зависимости от видового состава микробиоценоза полости рта.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Клинико-лабораторное исследование микрофлоры ротовой полости проведено у 153 человек, из которых 57 были практически здоровыми, у 96 диагностирован дисбактериоз различной степени компенсиро-

ванности. При этом у 49 обследованных людей был выявлен одновидовой дисбактериоз, у 47 человек — ассоциированный.

Для исследования ротовой жидкости за 30 мин до забора исключали прием пищи, питья, курение и физические упражнения. Перед каждой пробой обследуемый полоскал ротовую полость водой, удалял остатки воды чистой салфеткой, вносил ротовую жидкость в стерильную пластиковую пробирку. Для исследования организации отдельных кристаллических структур биожидкостей использовали следующую методику: предметное стекло обезжиривали 96° этиловым спиртом, тщательно промывали дистиллированной водой 2 раза (с целью удаления посторонних солей) и обрабатывали 0,01%-м раствором лецитина для создания стандартных условий слабой связи с подложкой. Сущность метода заключается в переводе капли биологической жидкости в твердую фазу путем высушивания в стандартных условиях. Каплю ротовой жидкости 20 мкл с помощью полуавтоматических дозаторов наносили на предметное стекло с последующей 24-часовой дегидратацией [5]. Цифровую съемку дегидратированной капли ротовой жидкости осуществляли под микроскопом. Количественный анализ объектов был проведен с помощью компьютерного комплекса «Видеотест-Морфо 3,0», включающего микроскоп класса Цейс, цифровую камеру, компьютер с пакетом встроженных лицензионных программ.

При проведении количественного анализа микрофотограмм были изучены следующие показатели: белково-кристаллический коэффициент (соотношение площадей краевой и центральной зон), радиальная величина краевой зоны (мкм), коэффициент интенсивности структуропостроения (число взаимопереходов на границе между зонами).

Математическая обработка проводилась непосредственно из общей матрицы данных EXCEL 7.0 (Microsoft, USA) с привлечением возможностей программ STATGRAPH 5.1 (Microsoft, USA), АРКАДА (Диалог-МГУ, Россия) и включала определение показателей средней, ее среднеквадратичного отклонения и ошибки репрезентативности.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении микрофлоры ротовой полости у лиц обследуемых групп было установлено, что у 37,26 % (57 человек) микрофлора полости рта соответствовала нормам данного биотопа по Волгоградской области, в то время как у 62,74 % (96 обследуемых) был диагностирован одновидовой 32,03 % (49 человек) и 30,71 % (47 обследуемых) ассоциированный дисбактериоз. При наличии одновидового дисбактериоза полости рта наиболее часто высевали следующие условно-патогенные микроорганизмы: *S. aureus* ($53,9 \pm 3,2$ %); грибы рода *Candida* ($21,3 \pm 4,1$ %); *E. coli* ($17,2 \pm 1,9$ %); *Klebsiella* ($7,6 \pm 3,2$ %). Доминирующей комбинацией условно-патогенных микроорганизмов при ассоциативном дисбактериозе полости рта являлось сочетание золотистого стафилококка и грибов рода *Candida* ($73,1 \pm 8,7$ %), значительно реже высевались ассоциации золотистого стафилококка и энтеробактерий ($13,7 \pm 2,9$ %), клебсиеллы и грибов рода *Candida* ($13,2 \pm 3,1$ %). Изменение состава микрофлоры ротовой полости приводит к нарушению гомеостаза данного биотопа, что и обуславливает изменение биофизических параметров ротовой жидкости. Для проведения кристаллографии были отобраны образцы ротовой жидкости у людей с нормофлорой ($n = 30$), у лиц с одновидовым (стафилококковым, как наиболее распространенным) дисбактериозом полости рта ($n = 20$), у лиц с ассоциированным (сочетание золотистого стафилококка и грибов рода *Candida*) дисбактериозом ($n = 20$).

При анализе фаций ротовой жидкости, полученной от людей с зубиотическим состоянием полости рта, установлено, что центр фации имел мозаичную структуру с чередованием небольших участков структур папоротникообразного, мечевидного и аморфного типа. Присутствовало множество мелких темных включений, эксцентрично выявлялись скопления аморфных темных плотных участков (рис. 1А).

Краевая зона фации ротовой жидкости была значительно выраженной, имела отчетливую слоистость, граница с центральной зоной сохраняла четкость и сложную структуру взаимопереходов (рис. 1Б).

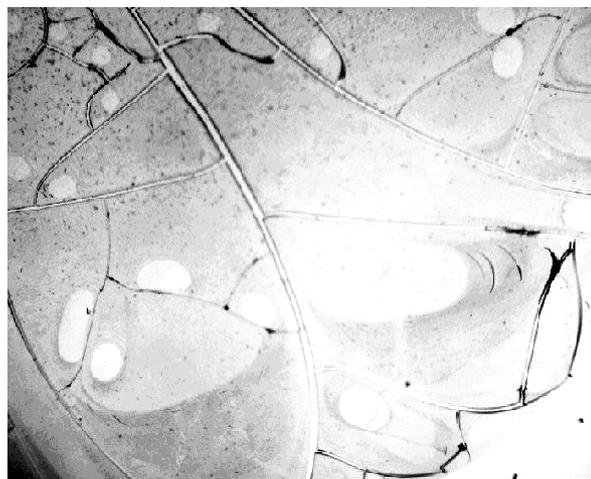
При изучении фаций ротовой жидкости, полученной от больных с одновидовым дисбактериозом, обращает на себя внимание менее выраженная кристаллическая решетка, отсутствие мечевидных структур и меньшее количество темных включений, по сравнению с образцами, полученными от людей с нормальной микрофлорой полости рта.

Фации ротовой жидкости, полученные от лиц с ассоциированным дисбактериозом, характеризовались размытостью границ между центральной и краевой областями. В центральной зоне визуализировались кристаллы, которые группировались в сферические структуры, расположенные в виде сот (рис. 2А). Краевая зона фации утратила слоистость, отмечались единичные аморфные кристаллы (рис. 2Б). Данный метод является описательным и для объективизации нуждается в математической обработке, что достигается с помощью компьютерного морфометрического исследования фаций ротовой жидкости (табл.).

Из представленной табл. следует, что величина радиальной зоны, соответствующая количеству белка в ротовой жидкости, была достоверно больше в фациях людей с нормоценозом, по сравнению с образцами, полученных от лиц с одновидовым дисбактериозом полости рта (в 1,58 раза), $p < 0,05$. Радиальная толщи-

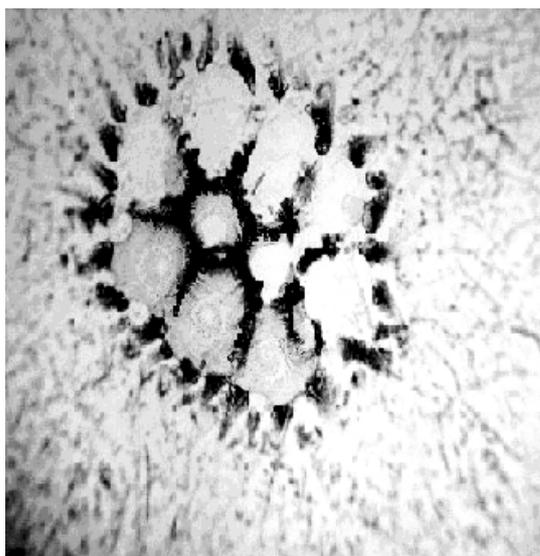


А

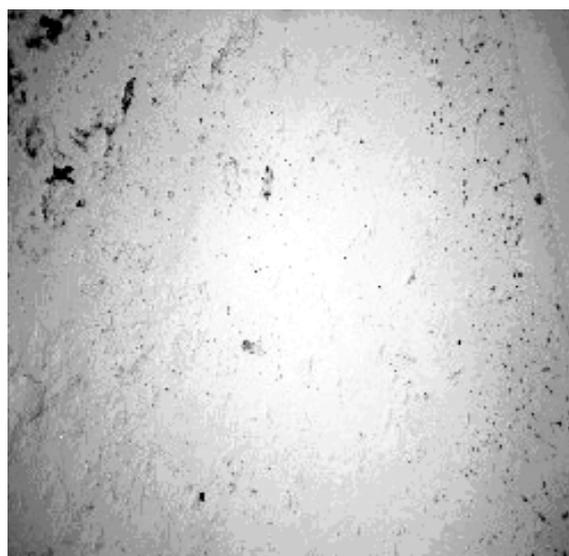


Б

Рис. 1. А — фации ротовой жидкости людей с нормоценозом полости рта, центральная зона; Б — фация ротовой жидкости людей с нормоценозом полости рта, краевая зона



А



Б

Рис. 2. А — фация ротовой жидкости пациентов с ассоциированным дисбактериозом полости рта, центральная зона; Б — фация ротовой жидкости пациентов с ассоциированным дисбактериозом полости рта, краевая зона. Окраска нативная, увеличение 100

на краевой зоны ротовой жидкости у людей с ассоциативным дисбактериозом была меньше, чем в фациях лиц с эубиозом (в 1,91 раза), $p < 0,01$.

Количественные показатели строения фации ротовой жидкости у лиц обследуемых групп, $M \pm m$

Показатели строения фации	Эубиоз ($n = 57$)	Одно-видовой дисбактериоз ($n = 49$)	Ассоциированный дисбактериоз ($n = 47$)
Радиальная толщина краевой зоны, мкм	$219,3 \pm 2,9$	$138,6 \pm 3,1^*$	$115,7 \pm 2,5^{*\#}$
Белково-кристаллический коэффициент, у. е.	$0,82 \pm 0,08$	$0,48 \pm 0,09^*$	$0,45 \pm 0,09^*$
Интенсивность структурообразования, у. е.	$8,14 \pm 0,31$	$7,23 \pm 0,33$	$1,71 \pm 0,09^\#$

*Достоверность различий показателей у лиц с дисбактериозом по сравнению с группой сравнения, $p < 0,05$;

^\#достоверность различий показателей у лиц с ассоциированным дисбактериозом, по сравнению с лицами с одновидовым дисбактериозом, $p < 0,05$.

Белково-кристаллический коэффициент, отражающий соотношение размеров краевой и центральной зон, был также достоверно выше в фациях ротовой жидкости, полученных от людей с нормальной микрофлорой полости рта, по сравнению с данным показателем у лиц с одновидовым дисбактериозом, $0,82 \pm 0,08$ и $0,48 \pm 0,09$ соответственно. Данный показатель в образцах ротовой жидкости людей с ассоциированным дисбактериозом не имел достоверных различий от такового

показателя у лиц с изолированным стафилококковым и кандидозным дисбактериозом, $0,48 \pm 0,09$ и $0,45 \pm 0,09$ соответственно. Величина белково-кристаллического коэффициента менее единицы во всех группах свидетельствует о преобладании центральной зоны, содержащей кристаллические структуры неорганической природы над белковым компонентом.

Исследование интенсивности структурообразования фации ротовой жидкости показало, что значения этого безразмерного показателя у лиц с нормальной микрофлорой полости рта составляют в среднем $8,14 \pm 0,31$. Интенсивность структурообразования фации ротовой жидкости у людей с одновидовым дисбактериозом не имела достоверных различий от данного показателя в группе сравнения, $7,23 \pm 0,33$, $p > 0,05$. Однако при ассоциированном дисбактериозе структурообразование было нарушено, а в отдельных фациях утрачено полностью. Данный показатель ротовой жидкости в данной группе был достоверно ниже, чем в группе сравнения, и у лиц с одновидовым дисбактериозом, и составил $1,71 \pm 0,09$ ($p < 0,01$).

Полученные данные свидетельствуют о том, что биологическая жидкость ротовой полости является самоорганизующейся системой, имеет внутреннюю программу фазового перехода, которая определяет закономерности процесса кристаллизации. Изменение видового состава микробиоценоза полости рта приводят к нарушениям структурообразования ротовой жидкости.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при нарушении микробиоценоза ротовой полости происходят изменения на молекулярном и субмолекулярном уровнях, что оказывает соответствующее влияние на ауторитм кристаллообразующих элементов и выражается в изменении формы кристаллов. Исследо-

вание ротовой жидкости методом клиновидной дегидратации не дает возможность определить видовой состав микроорганизмов, колонизирующих ротовую полость, но может быть использован в качестве скринингового метода экспресс-диагностики нарушения микробиоценоза полости рта.

ЛИТЕРАТУРА

1. Боровский Е. В. Биология полости рта / Е. В. Боровский, В. К. Леонтьев. — 2-е изд. — М.: Медицинская книга, 2001. — 304 с.
2. Максимов С. А. // Бюллетень сибирской медицины. — 2007. — № 4. — С. 80—85.
3. Матисова Е. В. и др. // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. — 2009. — № 4. — С. 80—83.

4. Шабалин В. Н., Шатохина С. Н. Морфология биологических жидкостей человека. — М.: Хризостом, 2001. — 304 с.

5. Шатохина С. Н. // Стоматология. — 2006. — № 4. — С. 14—17.

6. Carey P. R., et al. // Biochimica et Biophysica Acta (BBA). — 2010. — Vol. 31. — P. 1322—1325.

Контактная информация

Пестов Артур Юрьевич — аспирант кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии с курсом клинической микробиологии, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: kalashnikova-sa@yandex.ru

УДК 618.33

ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ ОЦЕНКИ ТОЛЩИНЫ ВОРОТНИКОВОГО ПРОСТРАНСТВА ПЛОДА С ПОМОЩЬЮ НОВОГО ПОЛУАВТОМАТИЧЕСКОГО ИЗМЕРЕНИЯ ПРИ СКРИНИНГОВОМ УЛЬТРАЗВУКОВОМ ИССЛЕДОВАНИИ В 11—14 НЕДЕЛЬ БЕРЕМЕННОСТИ

Е. Д. Лютая, Н. А. Алтынник, У. А. Струпенева

*Волгоградский государственный медицинский университет,
кафедра лучевой диагностики и лучевой терапии,*

Институт повышения квалификации Федерального медико-биологического агентства, Москва

Проведена оценка толщины воротникового пространства (ТВП) у 34 плодов в первом триместре. Ретроспективно-му анализу были подвергнуты сохраненные объемы головы нормальных плодов в 11—14 недель. Два опытных специалиста проводили измерение ТВП дважды ручным способом и дважды с помощью полуавтоматического метода. Внутриисследовательские различия при ручном способе у специалиста 1 составили 0,144 мм, у специалиста 2 — 0,162 мм, а при использовании полуавтоматического измерения — 0,034 и 0,051 мм соответственно. Применение полуавтоматического алгоритма способствует стандартизации оценки ТВП.

Ключевые слова: плод, скрининг в ранние сроки, толщина воротникового пространства, полуавтоматическое измерение.

REPEATABILITY OF NEW SEMI-AUTOMATED MEASUREMENT OF FETAL NUCHAL TRANSLUCENCY IN SCREENING ULTRASOUND EXAMINATION AT 11—14 WEEKS OF GESTATION

H. D. Lyutaya, N. A. Altynnik, U. A. Strupeneva

Fetal nuchal translucency (NT) thickness was evaluated in 34 fetuses in the first trimester. This was a retrospective study using stored values of the head volume from normal fetuses at 11—14 weeks. Two experienced operators each measured the NT thickness, twice manually and twice using the semi-automated software. The intraoperator SD for manual measurements was 0,144 mm for Operator 1 and 0,162 mm for Operator 2, and for semi-automated measurements it was 0,034 mm for Operator 1 and 0,051 mm for Operator 2. NT thickness can be assessed reliably using the semi-automated algorithm, which allows standardization of the NT assessment process.

Key words: fetus, first-trimester screening, nuchal translucency thickness, semi-automated measurement.

Среди многочисленных изученных в последние годы эхографических маркеров хромосомных аномалий (ХА) в ранние сроки беременности наиболее ценным маркером по праву считается толщина воротникового

пространства (ТВП) [1]. ТВП — это область между внутренней поверхностью кожи плода и наружной поверхностью мягких тканей, покрывающих шейный отдел позвоночника. Именно этот маркер ХА стал «золотым стан-