

УДК [616.311.2. – 002.2 – 053.5 – 085.242]

ЗАСТОСУВАННЯ ПРЕПАРАТІВ «ЛІСОБАКТ» ТА «ЛАЦИДОФІЛ®-WM» МОЖЕ ПІДВИЩУВАТИ ЕФЕКТИВНІСТЬ КОМПЛЕКСНОГО ЛІКУВАННЯ ХРОНІЧНОГО КАТАРАЛЬНОГО ГІНГІВІТУ І-ІІ СТУПЕНІВ ТЯЖКОСТІ В ДІТЕЙ ВІКОМ 12-15 РОКІВ

П. М. Скрипников, Т.В. Поліщук, О.А. Шликова, В.І. Шинкевич
ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія»

Резюме

Исследование микрофлоры зубного налета/бляшки для уточнения этиологических и патогенетических особенностей хронического катарального гингивита является актуальным вопросом стоматологии. В работе приведены результаты исследования микробного состава наддесневой зубной бляшки при хроническом катаральном гингивите в сравнении со здоровой десной. Исследование проведено при помощи методики мультиплексной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ); установлены признаки локального дисбиоза при гингивите.

Методика ПЦР-РВ является культурально-независимым, современным способом исследования микробиоты, результаты анализа можно использовать для обоснования и мониторинга назначения про-, пребиотиков в стоматологии.

Ключевые слова: гингивит, дисбиоз, пробиотики, пребиотики, мультиплексная полимеразная цепная реакция.

Summary

The study of dental plaque microflora to clarify etiologic and pathogenetic features of gingivitis is an actual issue in dentistry. The results of the study of the microbial composition of supragingival plaque at chronic simple marginal gingivitis are compared with healthy gums in this article. The study has been

conducted with the use of multiplex real-time polymerase chain reaction (RT-PCR), and established the local signs of dysbiosis at gingivitis.

The RT-PCR technique is a culture-independent, modern way to investigate the microbiota, and its results can be used to study and monitor the appointment of pro- and prebiotics in dentistry.

Key words: gingivitis, dysbiosis, probiotics, prebiotics, multiplexed polymerase chain reaction.

Література

1. Gillor O. The dual role of bacteriocins as anti- and probiotics / O. Gillor, A. Etzion, M.A. Riley // *Appl Microbiol Biotechnol.*-2008.- Vol.81, N 4.-P.591-606.
2. He X.S. Oral microbiology: past, present and future / X.S. He, W.Y. Shi // *J. Oral. Sci.* – 2009. – Vol. 1, N 2. – P. 47-58.
3. Kolenbrander P.E. Oral Bacterial Adherence / P.E. Kolenbrander, J. London // *J. Bacteriol.*-1993.- Vol. 175, N 11. – P. 3247-3252.
4. Specific Lactobacillus/Mutans Streptococcus co-aggregation / C. Lang, M. Buttner, C. Holz [et al.] // *J. Dent. Res.*-2010.- Vol.89, N 2.- P.175-179.
5. Lysozyme and Rnases as anti-HIV components in beta-core preparations of human chorionic gonadotropin. / S. Lee-Huang, P.L. Huang, Y. Sun [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* – 1999. – Vol. 96.- P. 2678-2681.
6. Cell walls of normal and lysozyme-damaged blastoconidia of *Candida albicans*: localization of surface factor 4 antigen and vicinal-glycol staining / G. Marquis, S. Garzon, H. Strykowski [et al.] // *Infect. Immun.* – 1991. – Vol. 59. – P. 1312-3118.
7. Marsh P.D. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? / P.D. Marsh // *Microbiology.* – 2003. – Vol.149(Pt 2). – P. 279-294.

8. Martin F.E. Carious pulpitis: microbiological and histopathological considerations / F.E. Martin // Aust. Endod. J.-2003.-Vol.29, N 3.- P.134-137.
9. Identifying Low pH Active and Lactate-Utilizing Taxa within / J.S. McLean, S.J. Fansler, P.D. Majors [et al.] // Oral Microbiome Communities from Healthy Children Using Stable Isotope Probing Techniques // PloS One.2012.-Vol.7,N3.-e32219. doi:10.1371/journal.pone.0032219.
10. Dental biofilms at healthy and inflamed gingival margins / S.G. Rødiger, A. Carlén, J.H. Meurman [et al.] //J. Clin. Periodontol. - 2002. - Vol. 29, N 6. - P. 524-530.
11. Lysozyme and cancer: role of exogenous lysozyme as anticancer agent (review) / G. Sava, A. Benetti, V. Ceschia [et al.] // Anticancer Res. – 1989. – Vol. 9. – P. 583-591.
12. Wade W.G. New aspects and new concepts of maintaining «microbiological» health / W.G. Wade // J. Dent. 2010. – Vol. 38 Suppl 1. - P. 21-25.
13. Wells J.M. Immunomodulatory mechanisms of lactobacilli / J.M. Wells // Microb. Cell. Fact. – 2011.- Vol.10, Suppl 1.-P.S.17. doi: 10.1186/1475-2859-10-S1-S17.
14. Wiesner J. Antimicrobial peptides: the ancient arm of the human immune system / J. Wiesner, A. Vilcinskas // Virulence. – 2010. – Vol. 1, N 5. – P. 440-464.
15. Determining the Genetic Diversity of Lactobacilli from the Oral Cavity / R. Yang, S. Argimon, Y. Li [et al.] // J. Microbiol. Methods.- 2010. –Vol. 82, N 2.-P.163–169.
16. Oral Biofilm Architecture on Natural Teeth / V. Zijngé, M.B. van Leeuwen, J.E. Degener [et al.] // PloS One. – 2010. – Vol. 5, N 2. – P. 56-59.

17. Взаємозв'язок карієсу зубів, захворювань тканин пародонту та зубощелепних аномалій у дітей шкільного віку Львівської області [Електронний ресурс] / Е.В. Безвужко, Н.Л. Чухрай, Т.Г. Гутор. – Режим доступу до журн.: http://www.nbu.gov.ua/portal/chem_biol/Prmed/2010_1/Bezvush.pdf
18. Грудянов А.И. Применение пробиотиков в комплексном лечении воспалительных заболеваний пародонта / Грудянов А.И., Дмитриева Н.А., Фоменко Е.В.. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2006.-112с.
19. Застосування пробіотиків у комплексній терапії захворювань тканин пародонту / К.С. Непорада, Т.В. Берегова, Д.С. Янковський [та ін.] // Метод. рекомендації.- К.: МОЗ України, Український центр науково-медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи, 2010.-24 с.
20. Пат. 65337 Україна, МПК (2011.01) G01N 33/00. Спосіб використання мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції для визначення пародонтопатогенної флори / Кайдашев І.П., Весніна Л.Е., Шликова О.А. та ін.; заявник та власник ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія».-№ u201100737; заявл. 24.01.11; опубл. 12.12.11, Бюл.№ 23.
21. Применение пробиотиков в комплексном лечении острого герпетического стоматита у детей / С.М. Бабанина, Л.Г. Павленко, Т.Н. Демина, М.Ю. Бабанина [Электронный ресурс].-Режим доступа: http://ponos.org/lechprof_probiotiki.
22. Пробиотики: клиническое применение и доказательства эффективности // Здоров'я України.-2008.-№24/1.-С.8-9.
23. Протоколи надання медичної допомоги. Стоматологія.-К.: МНІАЦ медичної статистики МВЦ «Медінформ», 2007.-236 с.

- 24.Современные подходы к лечению заболеваний слизистой оболочки полости рта у детей / [С.М. Бабанина, М.Ю. Бабанина, Л.И. Клименкова, А.Э. Гудимова] // Современная педиатрия. – 2011. – Т. 5, №39. – С.74-77.
- 25.Эубиотики в комплексном лечении воспалительных заболеваний _ародонта / А.И. Грудянов, Н.А. Дмитриева, Е.Б. Фоменко [Электронный ресурс] // Стоматология.- 2006.-Режим доступа: <http://www.medlinks.ru>.

Актуальність. Відомості про мікробіологічний склад окремих відділів порожнини рота за фізіологічних та патологічних умов у клінічній стоматології значно обмежені, незважаючи на численні праці, присвячені цьому питанню [24]. Останнім часом знання про мікробіоту розширені завдяки впровадженню нових молекулярно-генетичних методів дослідження, перевагою яких є незалежність від культуральних технік та проміжних метаболітів [15,16]. Ці методи надають можливість оцінювати кількість та співвідношення мікроорганізмів у їхніх природних середовищах, що сформувало концепцію «селекції мікробної біоплівки» [2,9]. В Україні дослідження мікробіоти ротової порожнини цими методами обмежені. Метод полімеразної ланцюгової реакції з детекцією результатів у режимі реального часу (РЧ-ПЛР) дозволяє проводити якісний і кількісний аналіз мікрофлори *in situ*, що є новим підходом до діагностики дисбіозу порожнини рота. Ми вперше застосували цю методику для визначення видового складу мікробіоти над'ясенного зубного нальоту, який має відношення до етіології хронічного катарального гінгівіту в дітей.

Хронічний катаральний гінгівіт (ХКГ) у дітей та підлітків є однією з найпоширеніших нозологій і пізно діагностується [17]. Факторами ризику ХКГ вважають як недосконалу гігієну порожнини рота, так і розвиток загальних розладів, але в будь-якому випадку зміни в складі мікрофлори

над'ясенної зубної бляшки в безпосередній близькості до ясенного краю мають етіологічну роль [10], що ставить завдання вдосконалити лікування ХКГ за допомогою корекції мікробного складу порожнини рота [12,19].

Наразі в Україні популяризовані використання про- та пребіотиків у різних галузях медицини [18,22]. Розробляються та видаються методичні рекомендації щодо застосування пробіотиків, частіше на основі лактобацил, у стоматології [18,20]. За даними [25], використання лактобактерину при пародонтиті легкого і середнього ступенів сприяє збереженню «нормального складу мікрофлори порожнини рота» до 6 місяців. Відомо про пошук безпечних бактерій серед лактобацил *in vitro*, які здатні специфічно співагрегувати з *S.mutans*, що могло б сприяти усуненню останнього з порожнини рота без порушення балансу мікрофлори порожнини рота [4]. Авторами виявлено 6 видів, серед яких *L.paracasei* та *L.rhamnosus*, які здатні до такої співагрегації. Ця взаємодія виявилася незалежною від генів *Lactobacillus*, була досить стабільною при нагріванні, під дією протеаз, лектинів, ротової рідини, не пригнічувалася цукрозамінниками, коливаннями рН та залежала від кальцію.

Наведені дані послужили обґрунтуванням вибору препарату «Лацидофіл» (містить 2×10^9 живих ліофілізованих лактобактерій *Lactobacillus rhamnosus* R0011 (95%) та *Lactobacillus acidophilus* R0052 (5%) у пігулці) для корекції мікробіоти над'ясенного зубного нальоту при хронічному катаральному гінгівіті в дітей. «Лацидофіл» сполучали з пребіотиком лізоцимом у вигляді препарату «Лісобакт». Лізоцим – це антимікробний білок, що природно міститься у всіх рідинах організму людини; основна його властивість - розщеплювати полісахариди мембран грампозитивних бактерій до мукопептидів, перетворюючи їх у імуногенну форму, однак він здатний і до не ензиматичного кілінгу бактерій [14]. Володіє фунгістатичною активністю, захищає від ВІЛ -1 і здатний лізувати пухлинні клітини [6,5,11]. Сприяє нормалізації порушеної

мікрофлори шляхом антибактеріальної дії проти грампозитивних патогенних і умовно патогенних бактерій і біфідогенної, імуномодельюючої й протизапальної дії; стимулює метаболічні та репаративні процеси, покращує травлення.

Метою дослідження було з'ясувати особливості мікробного складу над'ясенного зубного нальоту при ХКГ I-II ступенів тяжкості та оцінити ефект додаткового призначення про- та пребіотику («Лацидофіл» та «Лісобакт») до схеми лікування ХКГ за допомогою методики РЧ-ПЛР для оптимізації діагностики дисбіозу і лікування при ХКГ.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проводилося протягом 2009 - 2012 рр. на базі кафедри післядипломної освіти лікарів-стоматологів ВДНЗУ «УМСА», міської клінічної дитячої стоматологічної поліклініки м. Полтави та Науково-дослідного інституту генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава. Перед початком дослідження було отримано схвалення комісії з біоетики ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія».

Одним із завдань дослідження було вивчення ефективності комплексної терапії хворих на хронічний катаральний гінгівіт легкого та середнього ступенів тяжкості із застосуванням пробіотику «Лацидофіл[®]-WM» (Інститут Розель Інк., Канада) та пребіотику «Лісобакт» (Bosnalijek, Боснія і Герцеговина). Оцінка ефективності лікування проводилася під час візитів пацієнтів за такими критеріями: 1) огляд порожнини рота з визначенням індексів та проб (гігієнічні індекси: Федорова-Володкіної (1971) та Silness-Loe (1967), РМА (1960), індекс кровоточивості за Мюлеманом (1975); 2) нормалізація або зниження клінічних індексів; 3) характеристика кількісних співвідношень мікроорганізмів над'ясенного зубного нальоту, визначених за допомогою РЧ-ПЛР.

Критеріями включення в дослідження були підписання інформованої угоди і наявність у пацієнта ХКГ I-II ступенів тяжкості згідно з класифікацією, рекомендованою протоколами надання медичної допомоги [23].

Критерії виключення з дослідження: 1. Наявність тяжких, неконтрольованих церебро-кардіоваскулярних, респіраторних, печінкових, ниркових, гастроінтестинальних, ендокринних, гематологічних чи нейропсихіатричних розладів, які мали небажаний ризик для пацієнта за його участі в дослідженні; 2. Наявність будь-яких інших умов, що визначали нездатність пацієнта та/або його опікунів розуміти природу, сутність та можливі наслідки дослідження або заважали б пацієнтові дотримуватися й виконувати протокол лікування.

Після місцевих процедур пацієнти були **рандомізовані на дві групи клінічного спостереження.**

Перша група (14 осіб) – пацієнти, які отримували традиційну терапію ХКГ (професійна гігієна ротової порожнини, антисептичні іригації та інстиляції (хлоргексидину біглюконат 0,05%); курс із 5 процедур місцевого застосування аплікацій препаратом «Декасан®» (виробник «Юрія-Фарм», Україна); призначення для індивідуальної гігієни порожнини рота зубної пасти та ополіскувача порожнини рота «Лесной бальзам» (Росія) на 14 днів. Призначення інтердентальних флосів «Oral-B®», 1-2 рази за день; дотримання дієти без умісту рафінованих вуглеводів протягом 2 тижнів.

Друга група (12 осіб) – пацієнти, яким проводили таку ж саму терапію ХКГ, як і пацієнтам першої групи, але додатково відразу після курсу місцевої терапії призначали курс пребіотику лізоциму у вигляді препарату «Лісобакт» та пробіотику «Лацидофіл®-WM» за такою схемою: після гігієнічного чищення зубів ужити «Лісобакт» - таблетку для розсмоктування в порожнині рота. Утриматися від уживання їжі і напоїв –

1 годину; курс: 2 рази за день – 10 днів. Через 1 годину після «Лісобакт» ужити «Лацидофіл[®]-WM»: розкрити капсулу і висипати вміст на язик, розсмоктати. Утриматися від уживання їжі і напоїв – 1-2 години. Курс: 2 рази за день – 10 днів.

Групою порівняння (10 осіб) були особи з інтактними яснами, стан яких було підтверджено такими ж самими клінічними обстеженнями та індексними оцінками.

Матеріалом дослідження був над'ясенний зубний наліт, пробу якого відбирали з поверхні пришийкової ділянки вестибулярної поверхні 2-3 фронтальних зубів (різців та іклів), у безпосередній близькості до ясенного краю (не торкаючись його), на верхній та/або нижній щелепах. Зуби, з яких відбирали пробу, не були уражені карієсом та/або деструктивною формою флюорозу (що може впливати на адгезію та/або склад бактеріальної над'ясенної бляшки [8]). Пробу зубного нальоту відбирали за допомогою мікробрашу або стерильного екскаватора/гладилки й поміщали до стерильної пробірки з фізіологічним розчином та протягом години доставляли до лабораторії Науково-дослідного інституту генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», де проводилося бактеріологічне дослідження методом мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції в режимі реального часу (РЧ – ПЛР) за допомогою комплекту реагентів «Фемофлор 8» (ООО «НПО ДНК - Технология», Росія), який визначав: загальну бактеріальну масу, *Lactobacterium* spp., сумарних *Enterobacterium* spp., *Streptococcaceae* spp., *Gardnerella*, *Prevotella* та *Porphyromonas* spp., *Eubacteriaceae* spp., *Mycoplasma (hominis + genitalium)* та *Candida* spp. [20].

Пацієнтів першої та другої груп повторно оглядали через 1, 3 та 6 місяців, їм визначали клінічні індекси, заповнювали медичну картку

До лікування	2,41±0,2	1,78±0,18	100%	0	2,82±0,27	1,59±0,17	100%	0
14±3	1,43±0,17 p=0,001	1,14±0,11 p=0,009	86%	14%	1,53±0,2 p=0,0002	1,36±0,16	75%	25%
30±5	2,01±0,2	1,28±0,13 p=0,05	71%	29%	2,1±0,22	1,42±0,15	67%	33%
90±5	1,87±0,17 p=0,02	1,14±0,1 p=0,01	86%	14%	1,81±0,22 p=0,004	1,2±0,13 p=0,01	75%	25%
180±5	1,77±0,23 p=0,03	1,1±0,11 p=0,01	86%	14%	1,82±0,25 p=0,04	1,27±0,15 p=0,04	75%	25%

Примітки: 1. ГІ Ф.-В. – ГІ Федорова-Володкіної; ГІ S.-L. – ГІ Silness-Loe.

2. Наведені результати статистичної обробки за Вілкоксоном у вигляді $M \pm m$ – середнє \pm стандартна помилка середнього.

Таблиця 2

Порівняння середніх значень гігієнічних індексів при хронічному катаральному гінгівіті та при інтактних яснах

Контингент дослідження	ГІ Федорова-Володкіної, бали	ГІ Silness-Loe, бали
Пацієнти з ХКГ (1 і 2 групи)	2,82± 0,27	1,59±0,18
Особи з інтактними яснами	2,16±0,27	0,81± 0,18

Примітка. Наведені результати статистичної обробки за Ван-дер-Верденом у вигляді $M \pm m$ – середнє \pm стандартна помилка середнього.

Клінічно зазначили, що в ряді випадків ХКГ був резистентний до терапії. Це було відображено індексами РМА та ІК, що знизилися, порівняно зі станом до лікування, але не прийшли до норми, тобто до «0» (див. табл. 1). У цілому, для обох груп пацієнтів, у 5 пацієнтів із 26, або в 19% ми виявили перманентний перебіг ХКГ.

Рецидивуючий перебіг ХКГ ми зареєстрували у двох пацієнтів першої групи і в одного - другої, приблизно через 1 місяць після лікування. У цілому близько в 11,5% випадків. Дані були отримані на невеликому обсязі вибірки, тому ми не відносили це спостереження до ефекту лікування (див. табл. 1).

Отже, клінічно ми не спостерігали визначних ефектів терапії з включенням «Лісобакту» і «Лацидофілу».

У всіх учасників дослідження на етапі скринінгу ми відібрали проби над'ясенного зубного нальоту для проведення мікробіологічних досліджень методом РЧ-ПЛР, як описано в матеріалах і методах. Результати, які ми отримали, були кількісними показниками мікроорганізмів, виражені в десяткових логарифмах. Ці обчислення проводили на детектуючому ампліфікаторі, який підраховував ампліфіковані ген-копії виявлених мікроорганізмів. Показники були прямо пропорційні кількості мікроорганізмів у пробах нальоту. Клінічне значення РЧ-ПЛР полягало в оцінці співвідношення між групами мікроорганізмів. Специфічність використаного набору «Фемофлор-8» зумовлена переліком мікроорганізмів. Показник загальної бактеріальної маси слугував контролем відбору матеріалу. Під spp. маємо на увазі широку групу мікроорганізмів, яка належить до цього роду, але може не збігатися повністю з родом у його систематичному розумінні.

Результати РЧ-ПЛР, оброблені статистично, дозволили встановити «мінорну групу» мікроорганізмів над'ясенної бляшки при ХКГ, яку представили *Mycoplasma (hominis+genitalium)* і *Candida* spp., і ця група була у 2-3 рази менше за кількісними показниками порівняно з «домінуючими» видами: *Lactobacterium* spp., *Enterobacterium* spp., *Streptococcacea* spp., і *Gardnerella+Prevotella+Porphyromonas* spp. (табл. 3).

Обчислення, виконані при інтактних яснах, також установили подібну мінорну групу бактерій: *Eubacteridacea* spp., *Mycoplasma*

(*hominis+genitalium*) та *Candida* spp. і домінуючу: *Lactobacterium* spp., *Enterobacterium* spp., *Streptococcaceae* spp. та *Gardnerella+Prevotella+Porphyromonas* spp. Однак, при ХКГ кількості *Lactobacterium* spp., *Enterobacterium* spp., та *Gardnerella+Prevotella+Porphyromonas* spp. були достовірно вищі (див. табл. 3).

Таблиця 3

**Середньостатистичні кількісні показники мікробіоти
над'ясенного нальоту при хронічному катаральному гінгівіті
порівняно з інтактними яснами
(lg ген-копій)**

Групи	Загальна бактеріальна маса	<i>Lactobacterium</i> spp.	<i>Enterobacterium</i> spp.	<i>Streptococcaceae</i> spp.	<i>Gardnerella+Prevotella+Porphyromonas</i> spp.	<i>Eubacteridaceae</i> spp.	<i>Micoplasma (hominis+genitalium)</i>	<i>Candida</i> spp.
1 і 2	7,56±0,3*	5,87±0,19*	6,22±0,2*	6,64±0,3 6	6,4±1,15*	4,4±0,36	2,31±0,3 1	3,01±0,3 2
Порівняння	6,38±0,45	4,53±0,51	5,1±0,44	5,34±0,54	5,01±0,68	3,86±0,32	3,06±0,41	3,4±0,19

Примітки:

1. Наведені результати статистичної обробки за Ван-дер-Верденом вигляді $M \pm m$ – середнє \pm стандартна помилка середнього.
2. * – достовірність відмінностей між групами.

Результати РЧ-ПЛР при інтактних яснах показали, що в половині випадків (50%, або 5 із 10 осіб) була відсутня (або становила нижче детектованого рівня) група бактерій *Micoplasma (hominis+genitalium)*, і у 20% (або у двох осіб) РЧ-ПЛР не виявив *Eubacteridaceae* spp. При ХКГ (1 і 2 групи) у чотирьох пацієнтів не виявлено *Lactobacterium* spp. (15%

випадків); у однієї – *Enterobacteriaceae* (6%); у шістьох – *Mycoplasma (hominis+genitalium)* (38%); у однієї – *Candida* spp. (індивідуальні дані не наводили).

Отже, при ХКГ 15% пацієнтів характеризувалися відсутністю *Lactobacterium* spp., а середньостатистичні дані для тих, у кого ця група була детектована, перевищували показники осіб групи порівняння (див. табл. 3).

Досліджені раніше специфічні форми взаємодії між бактеріями у мікробній біоплівці, окремим випадком якої є зубна бляшка [3], слугували біологічним обґрунтуванням проведення кореляційної статистичної обробки між кількісними показниками досліджених груп бактерій. Крім того, основне значення методу РЧ-ПЛР полягало у встановленні саме співвідношень між кількісними показниками мікроорганізмів, тому ми аналізували результати кореляційної статистичної обробки (табл. 4).

Таблиця 4

Статистично достовірні кореляційні пари, встановлені між кількісними показниками мікроорганізмів і клінічними індексами

Група порівняння	1 і 2 група до лікування	Через 30±5	Через 90±5	Через 180±5 днів
<i>Ent. i Strep.</i> <i>Ent. i Gard.</i> <i>Ent. i Lac.</i> <i>Eub. i Gard.</i> <i>Cand. та Gard.</i> (R=-0,64) <i>Cand. i Strep.</i> (R=-0,66)	<i>Ent. i Strep.</i> <i>Ent. i Gard.</i> <i>Ent. i Lac.</i> <i>Eub. i Gard.</i> <i>Gard. i Strep.</i> <i>Cand. i Mic.</i> <i>ГІ Ф.-В. i Lac.</i> (R=-0,85) <i>ГІ Ф.-В. i Can.</i> (R=-0,66) <i>ГІ S.-L. i Eub.</i>	1 група: <i>Ent. i Eub.</i> <i>Ent. i Cand.</i> <i>ГІ Ф.-В. i Eub.</i>	1 група: <i>Strep. i Gard.</i> <i>Lac. i Eub.</i> (R=-0,68) <i>ГІ S.-L. i Lac.</i>	1 група: <i>Ent. i Gard.</i> <i>Ent. i Eub.</i> <i>Eub. i Gard.</i>
		2 група: <i>Ent. i Gard.</i> <i>ГІ S.-L. i Eub.</i>	2 група: <i>Lac. i Ent.</i> <i>Lac. i Eub.</i> <i>Ent. i Eub.</i> <i>Strep. i Gard.</i> <i>Gard. i Cand.</i>	2 група: <i>Ent. i Strep.</i> <i>Ent. i Gard.</i> <i>Strep. i Eub.</i> <i>Strep. i Mic.</i> <i>Eub. i Gard.</i> <i>Eub. i Mic.</i>

	ІК і <i>Lac.</i> (R=-0,85)			Гі Ф.-В. і <i>Strep.</i>
--	----------------------------	--	--	--------------------------

Найбільшою кількістю достовірних кореляційних зв'язків характеризувалися стани: ХКГ до лікування; інтактні ясна в осіб групи порівняння; особи 2-ї групи через 90±5 днів після лікування та стани в обох групах через 180±5 днів після лікування. При цьому ідентичні корелюючі пари мікроорганізмів ми виявили і в осіб групи порівняння – з інтактними яснами, і в пацієнтів із ХКГ у нашому дослідженні (див. табл. 4). Очевидно, таке явище може бути ознакою сформованих стабільних взаємозалежних спільнот мікроорганізмів як за фізіологічних, так і за патологічних умов [7].

Загальною тенденцією було збільшення числа достовірних кореляцій по мірі проходження часу після лікування в 1-й та 2-й досліджуваних групах.

Аналіз кореляцій з участю *Lactobacterium* spp. (див. табл. 4) показав, що такі ми виявили і при ХКГ до лікування, причому негативну, з Гі Федорова-Володкіної. Це трактується як залежність між погіршенням стану гігієни при ХКГ і зменшенням кількості *Lactobacterium* spp.

Через 30±5 днів після запропонованого лікування радикальних кількісних змін із боку *Lactobacterium* spp., за даними РЧ-ПЛР, ми не виявили. Важливо, що втрата кореляційних зв'язків свідчить, що лікування руйнує встановлені міжмікробні взаємовідношення в етіологічній над'ясенній бляшці.

При РЧ-ПЛР-дослідженні ми не виявили *Lactobacterium* spp. у шістьох осіб, що потребувало поглибленого аналізу ситуації з огляду на те, що пацієнтам щойно закінчили курс лікування «Лацидофілом». На подальшому етапі дослідження, через 90±5 днів після запропонованого лікування, *Lactobacterium* spp. «відновлювалися» в цих осіб, але через 180±5 днів «зникали» в п'яти тих самих осіб знову (індивідуальні дані не

наводили). На відміну від другої групи в 5-6 осіб (36-43%) першої групи *Lactobacterium* spp. не виявляли на всіх етапах дослідження. Пояснення полягає в тому, що лактобактерії препарату «Лацидофіл» не мають заселяти біологічні ніші, однак створюють умови для розвитку власних штамів чи корисних підвидів [13,15].

Через 90 ± 5 днів у першій групі клініко-мікробіологічні взаємозв'язки відображала кореляція ГІ Silness-Loe і *Lactobacterium* spp. ($R=0,69$; $p<0,05$). Це можна трактувати так, що покращення гігієнічного стану за відсутності запалення ясен може бути пов'язане зі зменшенням кількості *Lactobacterium* spp.

Порівняно з першою групою через 90 ± 5 днів у другій ми помітили закономірності, які можна трактувати як позитивний ефект застосування про- та пребіотиків. Так, дві позитивні кореляції з участю *Lactobacterium* spp. (див. табл. 4) можуть відображати вплив останніх на міжмікробні взаємовідносини. Кореляції з *Lactobacterium* spp. у 2-й групі разом зі стабільно позитивною клінікою через 90 ± 5 днів після лікування ХКГ можуть свідчити про значення *Lactobacterium* spp. у відновленні та підтриманні здорового стану ясен.

Віддалені результати дослідження через 180 ± 5 днів установили численні кореляційні зв'язки в другій групі, однак жодного – з *Lactobacterium* spp. Очевидно, ефект запропонованого нами лікування не проявляється радикальним збільшенням кількості цього виду бактерій безпосередньо *in situ* через близько 6 місяців після лікування. Тим не менше, клінічні результати підтверджували відсутність запалення ясен у 75% випадків (див. табл. 2). Отже, нові кореляційні зв'язки, що побудувалися, відрізнялися від таких, виявлених при ХКГ. Це може означати руйнування патогенної мікробної асоціації і побудову нової, що відповідає здоровому стану ясен. Тим більше, що три з корелюючих пар були такі ж самі, як при інтактних яснах (див. табл. 4). Аналогічно групі

порівняння велика кількість кореляційних зв'язків між кількісними показниками бактеріальних видів може свідчити про взаємодію в процесі відновлення і самопідтримання оптимального видового складу мікробного зубного над'ясенного нальоту [7].

Результати клінічного дослідження пацієнтів 1-ї групи також показали стабільний позитивний клінічний стан у 86% пацієнтів; ці відсотки статистично не відрізнялися між 1-ю і 2-ю групами (дані не наведені). Корелюючих пар виявилось менше, ніж у 2-й групі, що свідчить про менш стійкі міжмікробні взаємозв'язки в 1-й (див. табл. 4). Очевидно, препарати «Лісобакт» і «Лацидофіл» сприяли утворенню більш стійких міжмікробних взаємодій.

Попри відсутність очевидних клінічних відмінностей між групами пацієнтів, які відрізнялися додатковим застосуванням препаратів «Лісобакт» і «Лацидофіл» у комплексі лікування ЖКГ, ми виявили мікробіологічне підтвердження позитивного впливу цих препаратів на відновлення і підтримання оптимального видового складу мікробного зубного над'ясенного нальоту.

З іншого боку, кількісний склад видів та родів мікроорганізмів – це ще не ідеальний показник, оскільки рід, наприклад, лактобактерій та стрептококів складається як із корисних, так і шкідливих представників [1,13].

Отже, застосована нами методика є чутливим інструментом визначення співвідношень мікроорганізмів за фізіологічних умов та при патології, яку важливо застосовувати для діагностики дисбіотичних станів, що можуть мати відношення до захворювання, та для обґрунтування застосування про- і пребіотиків, які натепер широко використовують у стоматології та інших галузях.

