**УДК: 616.314-002:616.36-002:57.083.1**

**НАРУШЕНИЯ МИКРОЭКОЛОГИИ И МЕСТНЫХ ФАКТОРОВ**

**ЗАЩИТЫ ПОЛОСТИ РТА У БОЛЬНЫХ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ В.**

**Мухамедов Б.И.**

**Ташкентский государственный стоматологический институт**

**Резюме:**

Нормальная микрофлора полости рта является биологическим барьером, препятствующим размножению случайной и патогенной флоры. Кроме того, она служит постоянным стимулятором локального иммунитета. Известно, что на развитие патологии в слизистой полости рта могут оказывать влияние заболевания внутренних органов, в том числе печени и гепатобилиарной системы. Важным открытием явилось установление возможности внепеченочной репликации вирусов парентеральных гепатитов «В» и «С», в частности, в клетках костного мозга, крови, лимфатических узлов и селезенки. Вирусные поражения печени с внепеченочной репликации вирусов вызывают в организме иммунодефицитные состояния, которые как правило отражаются и в местных факторах защиты полости рта.

**Цель исследования:** изучить количественный и качественный состав микрофлоры полости рта и показатели местных факторов защиты у больных, страдающих вирусным гепатитом В.

**Материал и методы: были** проведены микробиологические и иммунологические исследования у 142 больных хроническим вирусным гепатитом В.

**Результаты:** Развитие в целом иммунодефицитного состояния в полости рта больных хроническим вирусным гепатитом В способствует снижению как клеточного, так и гуморального иммунитета, и приводит к синдрому избыточного роста микробов, то есть дисбиотическому состоянию в полости рта у этих больных.

 **Ключевые слова:** микрофлора, ротовая полость, вирусный гепатит В.

MIKROEKOLOGIYA VA MAHALLIY OMILLARNING BUZILISHI VIRUSLI GEPATIT B BILAN KASALLANGAN BEMORLARDA OG'IZ BO'SHLIG'INI HIMOYA QILISH

Muxamedov B. I.

Toshkent davlat stomatologiya instituti

**Xulosa:** Oddiy og'iz mikroflorasi tasodifiy va patogen floraning ko'payishiga to'sqinlik qiluvchi biologik to'siqdir. Bundan tashqari, u mahalliy immunitetning doimiy stimulyatori bo'lib xizmat qiladi. Ma'lumki, og'iz shilliq qavatida patologiyaning rivojlanishiga ichki organlarning kasalliklari, shu jumladan jigar va gepatobiliar tizim ta'sir qilishi mumkin. Parenteral gepatit "B" va "C" viruslarining, xususan, suyak iligi, qon, limfa tugunlari va taloq hujayralarida jigardan tashqari ko'payish imkoniyatini aniqlash muhim kashfiyot bo'ldi. Jigarning jigardan tashqari virus replikatsiyasidan virusli lezyonlari tanadagi immunitet tanqisligini keltirib chiqaradi, bu odatda og'iz bo'shlig'ini himoya qilishning mahalliy omillarida aks etadi.

**Tadqiqot maqsadi:** virusli gepatit b bilan og'rigan bemorlarda og'iz mikroflorasining miqdoriy va sifat tarkibini va mahalliy himoya omillarining ko'rsatkichlarini o'rganish. Materiallar va usullar: surunkali virusli gepatit b bilan kasallangan 142 bemorda mikrobiologik va immunologik tadqiqotlar o'tkazildi.

**Natijalar:** surunkali virusli gepatit b bilan og'rigan bemorlarning og'iz bo'shlig'ida umuman immunitet tanqisligi holatining rivojlanishi uyali va gumoral immunitetning pasayishiga yordam beradi va mikroblarning ortiqcha o'sish sindromiga, ya'ni bu bemorlarda og'iz bo'shlig'ida disbiyotik holatga olib keladi.

**Kalit so'zlar:** mikrofloralar, og'iz bo'shlig'i, virusli gepatit B.

**VIOLATIONS OF MICROECOLOGY AND LOCAL FACTORS OF PROTECTION OF THE ORAL CAVITY IN PATIENTS WITH VIRAL HEPATITIS B.**

**Mukhamedov B.I.**

**Tashkent State Dental Institute**

**Summary:**

The normal microflora of the oral cavity is a biological barrier that prevents the reproduction of random and pathogenic flora. In addition, it serves as a constant stimulator of local immunity. It is known that the development of pathology in the oral mucosa can be influenced by diseases of the internal organs, including the liver and hepatobiliary system. An important discovery was the establishment of the possibility of extrahepatic replication of viruses of parenteral hepatitis "B" and "C", in particular, in the cells of the bone marrow, blood, lymph nodes and spleen. Viral lesions of the liver with extrahepatic replication of viruses cause immunodeficiency states in the body, which, as a rule, are also reflected in local oral cavity protection factors.

**Aims:** to study the quantitative and qualitative composition of the microflora of the oral cavity and the indicators of local protective factors in patients with viral hepatitis B.

**Material and methods:** microbiological and immunological studies were carried out in 142 patients with chronic viral hepatitis B.

**Results:** The development of a generally immunodeficient state in the oral cavity of patients with chronic viral hepatitis B contributes to a decrease in both cellular and humoral immunity, and leads to a microbial overgrowth syndrome, that is, a dysbiotic state in the oral cavity in these patients.

 **Key words:** microflora, oral cavity, viral hepatitis B.

Одно из наиболее частых заболеваний печени – вирусные гепатиты. На сегодняшний день изучены пять вирусов гепатитов: А, В, С, Д и Е. По течению патогистологического процесса гепатиты делят на острые и хронические. Так, гепатит А является острым и заканчивается как правило выздоровлением. До недавнего времени облигатно острым считался гепатит Е. Недавно проведенные исследования выявили случаи хронического течения вирусного гепатита Е [1]. Вирусы гепатитов В и Д приводят к развитию как острого, так и хронического воспалительного процесса в печени. Хронический гепатит В (ХВГВ) – одна из наиболее распространенных вирусных инфекций и в частности распространенное поражение печени. Количество носителей вируса гепатита В в мире составляет около 2 млрд, а 350-400 млн имеют верифицированный ХВГВ [2].

Вирусом гепатита С поражено около 3% населения (170 – 200 млн лиц) [3]. Вирус гепатита С приводит к формированию хронического вирусного гепатита с последующим неуточненным прогрессированием заболевания. До последнего времени дискутабельным оставался вопрос о возможности внепеченочной репликации вируса гепатита С. Результаты большого количества исследований в которых обнаружен генетический материал вируса гепатита С не только в клетках печени, но и в крови и костном мозге, но и в других органах и тканях доказывает существование активной внепеченочной репликации вируса гепатита С [4]. Это позволяет рассматривать ХВГС не как хроническое заблевание печени, а как системный генерализованный патологический процесс [5].

Концепция о системности поражения вследствие инфицирования вирусом гепатита В была сформирована еще в начале 1980-х [6], а внепеченочная репликация вируса гепатита В обнаружена уже в нынешнем веке. Таким образом, на сегодняшний день наиболее значимыми в медицинском и социальном аспекте заболеваниями из группы хронических вирусных гепатитов являются гепатиты В и С, поражение печени с доказанными системными внепеченочными проявлениями.

У многих пациентов с ХВГВ и ХВГС характер течения заболевания латентный, с отсутствием или клинически невыраженностью специфических «печеночных» симптомов. Наряду с этим, в клинической картине часто присутствует, а иногда доминирует симптоматика экстрагепатической локализации вируса. Экстрагепатическими (внепеченочными) проявлениями называют специфические патологические изменения в органах и тканях за пределами печени [7]. Это обусловливает необходимость использовать междисциплинарный подход к решению проблем диагностики хронических вирусных гепатитов.

Среди экстрагепатических проявлений хронических вирусных гепатитов В и С относятся к наиболее частым и диагностически значимым внепеченочными симптомами [8] являются: желтушный синдром, кожный зуд, пальмарная эритема, а также развитие поражения со стороны пищеварительной системы в форме дисбиозов и иммунодефицита.

Бактерии, грибы и вирусы нарушают нормальные процессы в организме хозяина приводя к заболеваниям двумя основными путями – «прямым» и «опосредованным». При прямом пути повреждения возникают вследствии непосредственного действия микроба или его токсинов на мишень в организме хозяина. При этом изменяются свойства мишени, что представляет собой основной результат. Например, вирусы, размножаясь в клетках вызывают их гибель, что нарушает работу тканей. Токсины бактерии блокируют передачу сигналов в синапсах или синтез белка в клетках и их действие приводит к той клинической картине, которая имеет соответствующее название.

Опосредованное действие микробов на организм открыто сравнительно недавно, но как оказалось, в той или иной мере, присуще всем инфекциям и при многих является ведущим в формировании клинической картины. Опосредованное действие подразумевает, что микробные продукты заставляют особым образом («неадекватно») работать собственные клетки или органы.

В ответ на воздействие микробных факторов наши клетки выделяют биологически активные вещества, которые атакуют собственные системы и органы и по сути становятся основными повреждающими агентами [9].

Вполне очевидно, что вирусы гепатитов В и С кроме прямого воздействия на печеночные гепатоциты, также оказывают опосредованное влияние на организм человека и в том числе на состояние полости рта.

Исходя из вышеизложенного мы поставили перед собой цель изучить количественный и качественный состав микрофлоры полости рта и показатели местных факторов защиты у больных, страдающих вирусным гепатитом В. Для решения поставленной цели нами проведены микробиологические и иммунологические исследования у 142 больных хроническим вирусным гепатитом В, находящихся на стационарном лечении в РСНПМЦ эпидемиологии, микробиологии инфекционных и паразитарных заболеваний (директор проф Таджиев Б.М.). У всех этих больных, как правило, забирали ротовую жидкость методом смыва со слизистой оболочки полости рта (путем полоскания), для этого были подготовлены пробирки с 4.5 мл стерильного физиологического раствора [10]. Полученный материал этим способом считали как первое разведение. Из этого материала в лаборатории готовили ряд серийных разведений, в последующем из них определенный объем засевали на поверхность высокоселективных питательных сред. Для этого нами использованы питательные среды производства Индийской фирмы «Hei Media», такие как среда Эндо, желточно-солевой агар, Сабуро-агар, МРС-4, среда Мюллер Хинтона и др.

Посевы на кровяном агаре, Эндо, молочно-солевом агаре и среде Сабуро культивировали в обычных условиях 18-24 часа при температуре 370С , а культивирование посевов для выделения анаэробов осуществляли в анаэростате путем использования газогенераторных патронов.

По истечении указанных сроков, все засеянные чашки вынимали из термостата, производили подсчет выросших колоний микробов, определяли групповую и видовую принадлежность изолированных колоний на основе данных микроскопии мазков, окрашенных по Граму, характера роста на селективных питательных средах и биохимических своств.

При работе по модифицированной методике результат учитывали по последнему разведению в котором получен рост бактерии, количество микроорганизмов подсчитывали по следующей формуле: К=200 х Р (КОЕ/мл), количество микробов каждого вида выражали в КОЕ/мл.

Параллельно с микробиологическими исследованиями у одних и тех же больных изучали местные факторы защиты полости рта, такие как фагоцитарную активность лейкоцитов, уровень лизоцима [11], титр иммуноглобулина класса А секреторные фракции (s Ig A) Манчини.

Известно, что неотъемлемой частью микроэкосистемы полости рта является нормофлора, обеспечивающая также как в кишечнике колонизационную резистентность [9, 12]. Микрофлора полости рта рассматривается как первичная мишень для любого фактора, который прямо или опосредованно влияет на адгезию и колонизационную резистентность резидентной, транзиторной и добавочной микрофлоры [13]. При этом важнейшими экологическими детерминантами вызывающими обитание в этом отделе пищеварительного тракта микробов, являются состояние зубочелюстной системы, пища, окислительно-восстановительный потенциал, степень резистентности слизистых оболочек полости рта.

Учитывая вышеизложенное, нами также проведено изучение состояния колонизационной резистентности различных биотопов полости рта: десна, поверхность языка, щеки и неба как у здоровых, так и у больных людей, страдающих хроническим вирусным гепатитом В. Для этого нами использованы гильзы из нержавеющей стали с определенной глубиной и поверхностью, которые после тщательной стерилизации заливались дифференциально-диагностическими средами, помещались в стерильные чашки Петри и хранились в холодильнике. При приеме пациентов производили посев отпечатками, для этого эти гильзы прикладывались к поверхности слизистых оболочек десны, языка, щеки и неба на 2-3 сек, затем эти гильзы опять помещали в чашки Петри и заносили в термостат при температуре 370С на 24-48 часов. По истечении этих сроков чашки вынимали, забирали гильзы и делали подсчет выросших колоний (КОЕ/см2) после чего у этих колоний изучали морфологию, культуральные, тинкториальные и биохимические свойства, тем самым устанавливали вид выросшего микроба. Полученные данные при этих исследованиях представлены в табл №1.

Таблица №1.

Характеристика колонизационной резистентности микробов в различных биотопах у здоровых людей.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| № | Группы микробов | Количество микробов в 1 мл слюны |
| Биотопы полости рта |
| десна | язык | щека | небо | Р |
| 1 | Лактобактерии | 2.15±0.1 | 1.60±0.1 | 1.15±0.1 | 1.10±0.1 |  |
| 2 | Стрепт. саливариус | 4.10±0.3 | 2.60±0.2 | 1.45±0.1 | 1.15±0.1 |  |
| 3 | Стрепт.мутанс | 1.45±0.1 | 2.10±0.1 | 1.30±0.1 | 1.0±0.1 |  |
| 4 | Стрепт.митис | 2.60±0.2 | 2.15±0.1 | 1.25±0.1 | 1.30±0.1 |  |
| 5 | Стафилококк | 3.85±0.1 | 2.15±0.1 | 2.15±0.1 | 1.30±0.1 |  |
| 6 | Эшерихии | 0 | 1.0±0.1 | 0 | 0 |  |
| 7 | Клебсиелы | 0 | 0 | 0 | 0 |  |
| 8 | Грибы  | 1.30±0.1 | 2.10±0.1 | 0 | 0 |  |

Из материалов табл.№1 видно, что плотность микробной популяции в полости рта у здоровых людей является основополагающей характеристикой сообществ и во многом зависит от топографии экологической ниши. Наибольшее ее значение отмечено в десне (4.0±0.3 КОЕ/см2), минимальное на слизистой оболочке неба (1.30±0.1 КОЕ/см2). При этом преобладающей по численности и видовому составу в биоценозе была грамположительная флора, которая колонизировала у 100% обследуемых. Интересно отметить, что основную часть флоры полости рта у контрольной группы составили представители рода Streptococcus, при этом доминирующим видом был Str.salivarius.

Среди грамположительной флоры значительное место к колонизации занимали стафилококки, при этом их количество преобладало на поверхности языка и десны (2.30±0.1 и 3.60±0.2 КОЕ/см2). Среди других изучаемых групп микроорганизмов в вопросах колонизации полости рта этим свойством очень слабо обладали грамотрицательные палочки (эшерихии и клебсиелы), а грибы рода Кандида обладали способностью колонизировать только слизистые оболочки языка и десны.

Наряду с этими исследованиями, нами также проведено изучение количественных параметров микробов, обитающих в полости рта, как в контрольной группе, так и у больных страдающих хроническим вирусным гепатитом В. Материалы этих исследований приведены в таблице №2.

Таблица №2.

Характеристика нормофлоры полости рта в норме и у больных ХВГВ (М+m/КОЕ/мл).

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| № | Группы микробов | Количество микробов в 1 мл слюны |
| норма | Больные ВГВ | Р |
| 1 | Общее количество анаэробов | 7.60±0.4 | 2.60±0.1 |  |
| 2 | Пептострептококки | 6.0±0.4 | 4.0±0.2 |  |
| 3 | Лактобактерии | 5.60±0.1 | 1.60±0.1 |  |
| 4 | Общее колич.аэробов | 4.10±0.3 | 7.10±0.4 |  |
| 5 | Стафилококк золотистый | 0 | 2.30±0.1 |  |
| 6 | Стафилококк эпидермальный | 3.30±0.2 | 4.30±0.2 |  |
| 7 | Стафилококк сапрофит | 1.45±0.1 | 1.30±0.1 |  |
| 8 | Стрептекокк группы А | 0 | 0 |  |
| 9 | Энтерококки | 3.10±0.2 | 4.10±0.2 |  |
| 10 | Эшерихии ЛП | 3.60±0.2 | 3.0±0.1 |  |
| 11 | Эшерихии ЛН | 2.10±0.1 | 2.30±0.1 |  |
| 12 | Грибы рода Кандида | 1.30±0.1 | 3.60±0.2 |  |

Из таблицы видно, что у контрольной группы людей микрофлора полости рта довольно разнообразна. При этом в анаэробной группе микробов преобладают лактобактерии, их количество составило 5.60±0.2 КОЕ/мл.

В то же время у больных хроническим вирусным гепатитом В в полости рта отмечается достоверное развитие дисбиоза. Так, количество лактобактерий снизилось почти в три раза. Однако на этом фоне достоверно выросла высеваемость факультативной группы, их количество сосавило 7.10±0.4 КОЕ/мл, это почти в 2 раза больше, чем в норме. Особенно настораживает появление штаммов патогенных стафилококков, а также рост количества грибов рода Кандида. Следует заметить, ведь именно эти микробы обладают выраженными агрессивными свойствами и по всей видимости они и будут определять мониторинг течения заболевания.

Для выполнения поставленных задач представляло интерес рассмотреть состояние колонизационной резистентности микробов полости рта у больных ХВГВ. По результатам этих исследований (табл.№3) обращает на себя внимание увелические частоты встречаемости и плотности колонизации слизистых оболочек полости рта дрожжеподобными грибами. При этом характерно, что данный процесс затронул вс изучаемые биотопы полости рта, причем частота встречаемости на слизистой оболочке выросла в 3-5 раз, а плотность колонизации в 2-3 раза в зависимости от биотопа.

Среди грамположительных микроорганизмов полости рта у больных хроническим вирусным гепатитом В отмечается выраженная тенденция колонизации слизистых оболочек, при этом в этих вопросах доминирующее положение занимают стафилококки, в то же время различные штаммы стрептококков переходят на второй план и их способность к колонизации достоверно снижается.

Таблица №3.

Состояние колонизационной резистентности микробов полости рта у больных вирусным гепатитом В.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| № | Группы микробов | Биотопы полости рта |
| десна | язык | щека | небо | Р |
| 1 | Лактобактерии | 2.0±0.1 | 1.30±0.1 | 0 | 0 |  |
| 2 | Стрепт.саливарариус | 4.60±0.2 | 3.85±0.1 | 2.30±0.1 | 2.0±0.1 |  |
| 3 | Стрепт.мутанс | 3.10±0.2 | 3.0±0.1 | 1.60±0.1 | 1.0±0.1 |  |
| 4 | Стрепт.митис | 2.85±0.1 | 2.0±0.1 | 2.10±0.1 | 1.0±0.1 |  |
| 5 | Стафилококк | 4.15±0.3 | 4.10±0.2 | 3.0±0.2 | 2.40±0.1 |  |
| 6 | Эшерихии | 2.0±0.1 | 1.80±0.1 | 1.6±0.1 | 1.15±0.1 |  |
| 7 | Клебсиелы | 2.80±0.2 | 1.15±0.1 | 0 | 0 |  |
| 8 | Грибы | 2.15±0.1 | 3.0±0.2 | 4.10±0.3 | 4.0±0.2 |  |

Наряду с количественным и качественным анализами микроэкологии полости рта у больных хроническим вирусным гепатитом В, у одних и тех же групп больных ВГВ проведено изучение состояния местных факторов защиты ротовой полости. Полученные данные при этих исследованиях представлены в табл.№4. Из таблицы видно, что у больных ХВГВ в полости рта отмечается выраженный вторичный иммунодефицит по всем изучаемым параметрам. При этом титр лизоцима составил 13.70±0.1 мг/%, показатель фагоцитоза 42.9±1.2%, уровень секреторного иммуноглобулина был равен 1.20±0.11 г/л.

Таблица №4

Показатели местных факторов защиты полости рта у больных хроническим вирусным гепатитом В.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| № | показатели | норма | У больных ВГВ | Р |
| 1 | Титр лизоцима | 19.8±0.2 | 13.7±0.1 |  |
| 2 | Показат. фагоцитоза | 59.1±2.2 | 42.9±1.2 |  |
| 3 | Уровень иммуноглобулина s Ig A | 2.0±0.1 | 1.2±0.1 |  |

Основываясь на этих цифрах можно предположить, что среди всех изучаемых параметров наибольший дефицит составляет показатель фагоцитоза. По всей видимости вирус гепатита В, также как и другие вирусы человека, оказывает иммунодепрессивное воздействие и вызывает иммунодефицит не только в общей системе иммунитета, но и отражается на местных факторах защиты полости рта. Вполне очевидно, что снижение в целом всех показателей иммунитета, как клеточного так и гуморального, и приводит к синдрому избыточного роста микробов в полости рта у этих больных.

Таким образом, на основании проведенных микробиологических и иммунологических исследований состояния полости рта у больных, страдающих хроническим вирусным гепатитом В, можно сделать выводы:

1. Вирус гепатита В, как и другие патогенные вирусы, вызывает в организме иммунодефицитные состояния в системе иммунитета, которые как правило отражаются и в местных факторах защиты полости рта;
2. Развитие иммунодефицитного состояния в полости рта больных хроническим вирусным гепатитом В, в свою очередь способствует появлению синдрома избыточного роста микробов, то есть дисбиотическому состоянию;
3. Изучение у больных хроническим вирусным гепатитом В состояния в полости рта колонизационной резистентности микробов в различных биотопах позволяет вскрыть те интимные процессы, которые происходят в данном организме.

Литература

1. Fuivara S et al. Chronic hepatitis E a rewil of the literature disclosures J.Viral Hepar. 2014, vol 21, р 78-89.
2. Easl. Clinical practice quidines hepatitis B virus infection. Europa J.Hepatol. 2012, vol 5, p 167-185
3. Marinho R.T. Hepatitis C stigma and core World. Gastroenterol, 2013, vol 19, p 6703-6709.
4. Van F. Studi of expression of hepatitis C virus antigens viral replication in extrahepatic. Chung Hua kan tsang Ping tsa Chin. 2000, vol 8, p 40-42
5. Гайфуллина Э.Г. Внепеченочные проявления хронической HCV-инфекции. Практ.медиц., 2012, №1, с 26-28
6. Al-Ali J. Hepatitis C virus and the sklin. Hepatogastroenterology. 2011, vol 58. P 880-886
7. Свечникова Е.В. Дерматологические аспекты хронического вирусного гепатита. Современные аспекты проблемы. 2006. Т 2, с 43-47
8. Sarapathi S.K. Dermatologic diseases and the liver. Chlin Liver Dis. 2011, vol 15, №1 p 165-182
9. Мухамедов И.М. Монография “Клиник микробиология”. Ташкент, 610 стр.
10. Ефимович О.И. Способ забора материала из полости рта у стоматологических больных. Лаб.дело, 2001, №5, с 11-15
11. Алиев Ш.Р. Способ определения титра лизоцима в биологических жидкостях. Авторское свидетельство. 2005, Т., 15 с
12. Даминова Ш.Б. Автореферат 2018. Клиника, лечение, прогноз гепатита В у детей.
13. Воробьев А.А. Иммунологические аспекты вирусных гекпатитов. ЖМЭИ, 2003, №2, с 59-64.