

**Міністерство освіти і науки України  
Державний вищий навчальний заклад  
«Ужгородський національний університет»**

**Кривцова М.В, Костенко Є.Я.**

**Сучасні аспекти використання речовин з антимікробною та  
антибіоплівкотвірною активністю при запальних  
захворюваннях пародонта**

*Методичні рекомендації*

**Ужгород-2020**

## **Відомості про авторів:**

**Кривцова Марина Валеріївна** – кандидат біологічних наук, доцент кафедри генетики, фізіології рослин і мікробіології та кафедри фундаментальних медичних дисциплін ДВНЗ «Ужгородський національний університет»

**Костенко Євген Якович** – доктор медичних наук, професор, декан стоматологічного факультету ДВНЗ «Ужгородський національний університет»

Рекомендовано Вченою радою стоматологічного факультету ДВНЗ «Ужгородський національний університет» протокол № 4 від 27 серпня 2020.

## Рецензенти:

**Мочалов Ю.О.** - доктор медичних наук, доцент кафедри хірургічної стоматології, щелепно-лицевої хірургії та онкостоматології стоматологічного факультету ДВНЗ «Ужгородський національний університет»

**Саламон І.** - професор кафедри екології, факультету природничих наук Пряшівського університету, Словаччина

**Бабенко Л. П.** - кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного

Методичні рекомендації розроблені на стоматологічному факультеті ДВНЗ «Ужгородський національний університет» і призначені для лікарів-стоматологів, інтернів, аспірантів, студентів стоматологічних факультетів.

## ЗМІСТ

Вступ.....	2
1. Визначення складу мікробних асоціацій із осередку запального процесу при парадонтиті.....	4
2. Визначення антибіотикочутливості у складі мікробних асоціацій при парадонтиті.....	9
3. Дослідження антимікробної активності анти- та фітосептиків.....	12
4. Корекція мікробіоти ротової порожнини з використанням комбінації фіто-, антсептиків та пробіотиків.....	17
5. Антимікробна та антибіоплівкотрвірна активність лікарських рослин і перспективи їх використання при запальних захворюваннях пародоту.....	24
6. Антимікробна активність розроблених засобів догляду за ротовою порожниною на основі рослинної сировини.....	27
7. Список використаних джерел.....	31

## ВСТУП

Стрімкий розвиток стійкості мікроорганізмів до антибіотиків є складною проблемою сучасної медицини (Nazzaro та ін., 2013; Rello та ін., 2019; Patel та ін., 2012; Nikoladis та ін., 2014). Проблема антибіотикорезистентності виникла, практично, одночасно з застосуванням перших антибіотиків, однак лише за останні декілька десятиліть набула загрозливих соціально-економічних масштабів (Иванов та ін. 2008; Баранов та ін., 2017; Боднар та ін., 2016). Формування та розповсюдження антибіотикорезистентності, перш за все, пов'язане з широким неконтрольованим застосуванням антибіотиків у медичній та ветеринарній практиці, сільському господарстві, їх безрецептурним продажем; поширенням серед пацієнтів набутих імунodefіцитних станів різноманітної етіології та недостатнім рівнем мікробіологічної діагностики. Посилення міграції людей також сприяє розповсюдженню антибіотикорезистентних ізолятів.

Особливе занепокоєння викликають мікроорганізми, що є резистентними до дії кількох антибактеріальних лікарських препаратів. Мультирезистентні мікроорганізми (МРМ) – головним чином – бактерії, стійкі до дії одного або кількох класів антибіотиків (Романова та ін., 2011; Hart, та ін. 1998; Lowy та ін., 2003). Незважаючи на те, що певні МРМ відомі резистентністю до дії лише одного агента (Метицилінрезистентні стафілококи (MRSA) та/або ванкоміцин резистентні ентерококи (VRE), вони часто демонструють нечутливість до дії більшості інших антибіотиків, що є на ринку, тому потребують особливої уваги в закладах охорони здоров'я. Крім MRSA та VRE, особливу увагу слід приділити певним грамнегативним бактеріям, включаючи ті, що синтезують беталактамази розширеного спектру (Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) та є резистентними до дії антибіотиків різних класів. Ця група мікроорганізмів включає *E.coli* та *K. pneumoniae*, а також штами *A. baumannii*, резистентні до дії всіх антибіотиків, або всіх, за винятком іміпенему (Салманов, 2015; Rello та ін., 2019).

Загрозливі тенденції зростання рівня антибіотикорезистентності у сучасному світі обґрунтовують надзвичайну важливість раціонального вибору антимікробних препаратів з урахуванням чутливості збудника, фармакодинамічних й фармакокінетичних характеристик препарату (Баранов та ін., 2017; Бондар та ін., 2016; Kryvtsova, 2020].

В Україні відмічаються надзвичайно стрімкі темпи формування та поширення стійких до антимікробних препаратів мікроорганізмів. Зростанню антибіотикостійкості збудників сприяє вільний продаж антибіотиків в аптечній мережі, відсутність на державному рівні мікробіологічного моніторингу за збудниками інфекційних захворювань (в тому числі внутрішньолікарняних), та їх антибіотикостійкістю з відповідним аналізом даних та прогнозуванням ситуації, використанням отриманих даних в протоколах та стандартах лікування (Салманов, 2015).

Розвиток антибіотикорезистентності є однією з причин формування хронічних персистуючих запальних процесів. Останні супроводжуються тривалим перебігом, періодами загострення та ремісії. Призначення антимікробних препаратів викликає порушення мікробіоти та провокує її перебудову з домінуванням умовно-патогенних мікроорганізмів (Stubbings та ін., 2009).

Данна проблема особливо актуальна для запальних захворювань ротової порожнини, що пов'язано з надзвичайною поширеністю запальних процесів пародонту, які носять хронічний характер та характеризуються тривалою персистенцією збудників запальних процесів. Антимікробна терапія в умовах запальних захворювань пародонту є необхідною та важливою складовою.

У методичних рекомендаціях запропоновано комплексний підхід до вибору антимікробних препаратів та корекції мікробіоти ротової порожнини при запальних захворюваннях пародонту з врахуванням чутливості мікробних препаратів до антибіотиків, анти- та фітосептиків, а також засобів догляду за ротовою порожниною.

Ефективність використання комплексного підходу до підбору антимікробних речовин забезпечується проведенням наступних етапів:

- виділення домінуючих асоціацій у складі мікробіоти ротової порожнини;
- визначення чутливості до антибіотиків,
- вивчення чутливості до фіто- та антисептиків;
- корекція мікробіоти ротової порожнини з використанням комбінації фітосептик+пробіотик;
- підбір засобів догляду за ротовою порожниною з урахуванням складу мікробіоти ротової порожнини для забезпечення стабільної ремісії.

Запропонована схема корекції мікробіоти ротової порожнини спрямована на зниження популяційного рівня асоціацій домінуючих представників умовно-патогенної мікробіоти та відновлення їх нормального співвідношення. Елімінація умовно-патогенних мікроорганізмів має проводитись і у випадку застосування базового лікування із використанням антибактеріальних препаратів з метою відновлення співвідношення мікробних угруповань та забезпечення стабільної ремісії. Корекція порушення співвідношення мікробних асоціацій та їх стабілізація може бути реалізована шляхом визначення чутливості окремих мікроорганізмів, що входять до складу асоціацій, до антисептичних, в основному фітосептичних препаратів та використання доповнюючої антимікробної активності пробіотиків, що ґрунтується на їх антагоністичній активності, створює передумови для відновлення мікробіоти ротової порожнини, факторів місцевого імунітету. Проведені нами дослідження доводять ефективність комплексного підходу до корекції мікробіоти ротової порожнини при хронічному пародонтиті з урахуванням її складу, антимікробних та антибіоплівкотвірних властивостей препаратів, в тому числі, засобів на основі речовин рослинного походження.

## 1. Визначення складу мікробних асоціацій із осередку запального процесу при парадонтиті

Проблема запальних захворювань та пестистенції збудників опортуністичних інфекцій, що характеризується підвищеним рівнем резистентності, особливо актуальна для ротової порожнини, хвороб пародонту, ротоглотки (Risucci та ін., 2010). Особливістю біотопа порожнини рота є його надзвичайно високий рівень заселеності представниками індигенних мікроорганізмів, з одого боку, та ризик постійної патогенної контамінації, висока імовірність наявності хронічних осередків інфекції, з іншого (Савичук та ін., 2002). Дослідженнями в рамках проекту «Мікробіом людини» (Proctor та ін., 2019), показано, що у ротовій порожнині існує більше 619 різних видів мікроорганізмів. Мікробіота парадонтальних тканин представлена як резидентними, так і транзиторними мікроорганізмами. Більшість наукових робіт вказує на те, що в нормі за чисельністю домінуючими резидентними представниками є бактерії родини *Streptococcaceae* spp., *Neisseria* spp., *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Peptococcus* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp. та ін. До 6 головних філогенетичних таксонів відносяться 96 % видів: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Spirochaetes* та *Fusobacteria*, з них тільки 65,6 % видів культивуються на поживних середовищах (Dewhirst, 2010). Сюди входять і представники факультативної та транзиторної мікробіоти, що відносяться до аеробних та факультативно анаеробних мікрорганізмів і складають в нормі  $10^2$ - $10^3$  КУО/мл (Мирсаева, 2018).

При парадонтиті патологічні зміни матрикса сполучної тканини ясен, перехідний епітелій і епіталій кишень сильно слабшають, зв'язок тканин ясен і зуба розривається, а епітеліальний бар'єр втрачається, що ще більше підсилює запалення (Мельник та ін., 2011 Мюллер та ін., 2004). Починаючи з цього моменту, посилюється ріст і розвиток під'ясневих бактеріальних бляшок. Перехідний епітелій зсувається в апікальном напрямку, що, відповідно, поглиблює кишню та провокує активну контамінацію бактеріями тканин пародонту (Грудянов та ін., 2001). При парадонтиті запальний процес охоплює тканини пародонту, характеризується прогресуючою деструкцією періодонта, косних структур, міжзубних перегородок, парадонтальні кишні різної глибини, різна ступінь рухливості зубів, ближче до ясенного краю на тлі набряку і гіпереміровано слизової утворюються абсцеси та свищі (Белоклицкая, 2007).

Причини розвитку запальних захворюваннях пародонту носять комплексний поліфункціональний характер (Гірчак, 1999; Данилеський та ін., 2000; Зализняк та ін., 2015; Курякина та ін. 2000). У структурі початкових етапів формування парадонтиту важливу роль відіграють порушення рівноваги між інфекційними факторами (парадонтопатогенами) (Socransky

S.S., Haffajee A.D., 2000), імунною реактивністю та станом вільнорадикальних процесів у тканинах пародонту (Bascones Martínez et al., 2005). До найбільш клінічного значущих пародонтопатогенів відносять *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythensis*, *Treponema denticola*, *Candida albicans*, які беруть участь у формуванні пародонтальної кишені, руйнуванні сполучної тканини тощо. В наукових роботах останніх років звертається увага на роль співвідношення мікроорганізмів у прогресуванні захворювання (Feres, 2004). Водночас, в умовах хронічного запального процесу у тканинах пародонту, відбувається перебудова мікробного ценозу, з переважанням представників факультативної мікробіоти. Встановлено, що у осередку запального процесу при пародонтиті зростає популяційний рівень умовно-патогенних мікроорганізмів, які виділяються в асоціаціях і характеризуються високою стійкістю до антимікробних перпаратів (Kryvtsova, Kostenko, 2020). Встановлено, також, що бактерії, які викликають запальні процеси пародонту, можуть бути окремим чинником ризику серцево-судинних, цереброваскулярних захворювань та передчасних пологів. Антибактеріальні препарати широко використовуються при лікуванні тканин пародоту (Мазур, 2016). Саме з цієї причини вкрай необхідною є оцінка стану мікробіоти ротової порожнини при запальних захворюваннях пародонту та корекція за умов високого рівня факультативної компоненти.

У наших дослідженнях встановлено, що пародонтит супроводжується порушенням співвідношення як аеробної і факультативно анаеробної, так і анаеробної (пародонтопатогенної) мікробіоти. Зниження кількості резидентної мікробіоти на фоні підвищення рівня пародонтопатогенів та умовно-патогенних мікроорганізмів, що належать до факультативної та транзитornoї мікробіоти, свідчить про формування дисбактеріозу. У осередку патологічного процесу, як правило, домінують асоціації із декількох представників факультативної або транзитornoї мікробіоти. Дисбіозна мікробіота, в свою чергу, викликає ускладнення та поглиблення деструктивних змін у тканині, запускає нові імунопатогенетичні процеси. Розвиток інфекційно-запального процесу у тканинах пародонту та високий рівень персистенції аеробних та анаеробних асоціацій мікроорганізмів, обумовлює ризик при проведенні оперативних втручань, встановленні імплантів та збільшує імовірність ускладнень. Отримані результати показують, що для призначення адекватної антибіотикотерапії необхідно враховувати склад та чутливість до антибіотиків всіх умовно-патогенних асоціантів мікробіоти пародонтальних тканин.

В умовах пародонтиту частота виявлення пародонтопатогенів була наступною: *A.actinomycetemcomitans* – 22,0 %, *P. gingivalis* – 68,0 %, *P. intermedia* – 55 %, *T. forsythensis* – 75,5 %, *T. denticola* – 63, 5%, *C. albicans* – 35 %. Одночасно, на фоні продонтиту, у пародонтальних кишнях виявлені процеси зниження кількості бактерій родів *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium*

spp., індигенних стрептококів, нейсерій. Нами показано, що розвиток інфекційно-запального процесу, викликаний пародонтальною інфекцією супроводжувався істотними змінами у мікробіоті парадонтальних тканин, за рахунок збільшення частоти виявлення та кількості транзиторних представників у титрах  $10^{10}$ - $10^{12}$  КУО/мл.

В умовах хронічного пародонтиту II-III ступеня із осередку запального процесу ізолювано умовно-патогенні мікроорганізми, які у 81,0 % випадків представлені асоціаціями умовно патогенних бактерій у титрах  $10^{10}$ - $10^{12}$  КУО/мл. Найчастіше ізолювали *S.aureus*+*E.coli*; *S.aureus*+*E.faecalis*, *S.haemolyticus*+*E.cloacea*, *S.aureus*+*E.faecalis*+*C.albicans*, *S.epidermidis*+*E.cloacea* та ін. Водночас як у складі асоціацій, так і при виділенні 1 домінуючого мікроорганізму із осередку запального процесу, у більшості випадків (73,0 %) виділяли бактерій роду *Staphylococcus*. Видовий склад бактерій роду *Staphylococcus* був представлений наступними видами: *S.aureus*, *S.haemolyticus*, *S.saprophyticus*, *S.epidermidis*, *S.xelosus*, *S.hominis*. У 58 пацієнтів ізолювано *S.aureus*, 16 з яких метицилінрезистентні, в асоціаціях з іншими умовно-патогенними мікроорганізмами виділено 45 штамів *S.aureus*. При виділенні асоціацій, що були представлені бактеріями роду *Staphylococcus*, родини *Enterobacteriaceae* та мікроскопічними грибами роду *Candida* клінічні ознаки захворювання були більш вираженими та корелювали із клінічними проявами запального процесу та дистрофічними змінами слизової оболонки. У складі асоціації бактерії проявляли вищий ступінь антибіотикорезистентності. Зокрема, встановлено, що бактерії, які виділяли у складі асоціацій були резистентними до 3-4 класів антибіотиків: макролідів,  $\beta$ -лактамів, тетрациклінів, лінкозамінів. Така тенденція, свідчить про розвиток дисбактеріозу ротової порожнини III-IV ступеня на фоні запального процесу у парадонтальному комплексі, що викликаний пародонтопатогенами.

Отримані результати вказують, що у тканині пародонту розвиваються асоціації із декількох видів бактерій з домінуванням 2-3 видів. На фоні зниження кількості бактерій родів *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., стрептококів видів *S.salivarius*, *S.sangiis*. Переважання у складі мікробіоти умовно-патогенних мікроорганізмів характерний для дисбактеріозу III-IV ступеня за класифікацією Хазанової (Хазанова та ін., 1996). Такий стан призводить до ускладнення та хронізації запального процесу, формування асоціацій мікроорганізмів, що характеризується високим рівнем резистентності до антимікробних перпаратів, в першу чергу до антибіотиків.

Встановлено, що при пародонтиті III-IV ступеня у 38,9 % випадків у асоціаціях мікроорганізмів присутні бактерії родини *Enterobacteriaceae* у титрах  $10^{10}$  - $10^{12}$  КУО/мл. Видовий спектр бактрій родини *Enterobacteriaceae* був представлений: *E. coli* 32,8 %, *E. cloacae* 31,25 %, *C. freundii* 17,2 %, *K. rhinoskleromatis* 11 %, *H. alvei* 7,8 %.

Зниження кількості резидентної мікробіоти на фоні підвищення рівня умовно-патогенних мікроорганізмів, що належать до факультативної та



транзиторної мікробіоти, свідчить про формування дисбактеріозу, що проявляється у домінуванні асоціацій із декількох представників факультативної або транзиторної мікробіоти. Значні зміни якісних та кількісних показників у складі аеробної та анаеробної складової мікробіоти, призводить до створення агресивного середовища за рахунок мікробних ферментів, змін метаболізму у пародонтальній тканині, зниження факторів місцевого імунітету та ускладнення основного захворювання. Дисбіозна мікробіота викликає ускладнення та поглиблення деструктивних змін у тканині. Згідно класифікації дисбактеріозів ротової порожнини, порушення у складі мікробіоти при пародонтиті нами були віднесені до дисбактеріозу III-IV ступеня: розвиток асоціацій із 2-3 видів з домінуванням 1 з них, в тому числі асоціації умовно патогенних бактерій з мікроскопічними грибами (IV ступінь), на фоні зниження індигенних представників (Хазанова та ін., 1996).

Визначення стану мікробіоти ротової порожнини необхідно проводити з урахуванням мікроорганізмів, що відносяться до парадонтопатогенів, що є етіологічним чинником запального процесу, та представників умовно-патогенних мікроорганізмів, що є представниками факультативної мікробіоти.

#### ***Визначення парадонтопатогенів та представників факультативної мікробіоти.***

Забір біологічного матеріалу з ротової порожнини людей з хронічним пародонтитом здійснюється із парадонтальної кишені та парадонтальної тканин на глибині 2 мм стерильним аплікатором у транспортній пробірці (AMIES). Ознаки запального процесу: слизова оболонка гіперемована, відмічається кровоточивість, виділення серозного та гнійного ексудату. Стадію пародонтиту визначають згідно з новою класифікацією захворювань пародонта і періімплантних станів (Caton та ін., 2018).

Матеріал висівали на поживні середовища методом секторного посіву за Голдом, використовуючи поживні середовища (HiMedia): Sabouraud Dextrose Agar, для культивування мікроскопічних грибів; кров'яний агар (МПА + 5% крові) - бактерій роду *Streptococcus* та *Neisseria*; стрептококів – *Streptococcus Selective Agar* (HiMedia), *Mitis salivarius agar* (HiMedia); середовища Ендо та Левіна (Farmaktiv, Ukraine) - бактерій родини *Enterobacteriaceae*, жовтково-сольовий агар з манітом - бактерій роду *Staphylococcus*, виділення ентерококів проводили на середовищі *Bile Esculin Azide Agar*, *Pseudomonas aeruginosa - Pseudomonas Isolation Agar* (HiMedia). Бактерії і мікроскопічні гриби ідентифікували за морфологічними, тинкторіальними та біохімічними ознаками з використанням систем для ідентифікації ENTERO-test, STREPTO-test, STAPHYLO-test виробництва Erba Lachema (Чехія). Матеріал із осередку патологічного процесу аналізують на вміст парадонтопатогенів (парадонтоскрін) методом ПЛР (табл. 1).

Отже, пародонтит супроводжується порушенням співвідношення як аеробної і факультативно анаеробної, так і анаеробної (парадонтопатогенної) мікробіоти. Зниження кількості резидентної мікробіоти на фоні підвищення

рівня пародонтопатогенів та умовно-патогенних мікроорганізмів, що належать до факультативної та транзиторної мікробіоти, свідчить про формування дисбактеріозу. У осередку патологічного процесу, як правило, домінують асоціації із декількох представників факультативної або транзиторної мікробіоти. Дисбіозна мікробіота, в свою чергу, викликає ускладнення та поглиблення деструктивних змін у тканині, запускає нові імунопатогенетичні процеси. Розвиток інфекційно-запального процесу у тканинах пародонту та високий рівень персистенції аеробних та анаеробних асоціацій мікроорганізмів, обумовлює ризик при проведенні оперативних втручання, встановлення імплантів та збільшує імовірність ускладнень.

Таблиця 1

**Інтерпретація результатів ступеня парадонтиту за рівнем пародонтопатогенів згідно результатів ПЛР аналізу**

<b>Пародонтопатогени</b>	<b>Початковий/Помірний, Lg GE/зразок, &gt;</b>	<b>Тяжкий, Lg GE/зразок, &gt;</b>
<i>Actinobacillus</i>	4,0	5,0
<i>actinomycetemcomitans</i>	4,0	5,0
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	5,0	6,0
<i>Prevotella intermedia</i>	4,5	6,0
<i>Tannerella forsythensis</i>	5,0	5,5
<i>Treponema denticola</i>	3,5	5,0
<i>Candida albicans</i>	4,5	6,0

Отримані результати вказують, що для призначення адекватної антибіотикотерапії необхідно враховувати склад та чутливість до антибіотиків всіх умовно-патогенних асоціантів мікробіоти пародонтальних тканин.

## 2. Визначення антибіотикочутливості у складі мікробних асоціацій при пародонтиті

На сьогоднішній день все більшого значення у розвитку запальних процесів відіграють умовно-патогенні мікроорганізми. Хронізацію запального процесу та його персистуючий характер пов'язують з тим, що представники факультативної мікробіоти стрімко набувають стійкості до антибіотиків, здатні до утворення біоплівки, і, як наслідок, є збудниками нозокоміальних та опортуністичних інфекцій. Антибіотикостійкість є еволюційно сформованою системою адаптаційного потенціалу бактерій та їх угруповань. В той же час інтенсифікація застосування антибіотиків у різних галузях народного господарства обумовлює прискорення темпів формування, розповсюдження генів резистентності та поширення антибіотикорезистентних ізолятів і асоціацій мікроорганізмів, що складаються із представників патогенної та умовно-патогенної мікробіоти (Rello та ін., 2019). Постійна еволюція механізмів антибіотикорезистентності призводить як до появи нових стійких штамів бактерій, так і до розширення арсеналу існуючих механізмів їх формування. В результаті, розповсюдженості набули запальні процеси, що викликаються полірезистентними умовно-патогенними мікроорганізмами. Це пов'язано з їх повсюдним поширенням, співжиттям (автохтонна, факультативна та транзитрна мікрофлора) з організмом людини і тварин, значною різноманітністю їх популяцій. Тому у вивченні інфекційної патології все більше уваги приділяється їх ролі та моніторингу стійкості до антимікробних препаратів.

Антибіотикочутливість бактерій та мікроскопічних грибів визначали диско-дифузійним методом згідно (Наказ МОЗ України № 167 05.04.2007 «Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів»; EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). При дослідженні чутливості мікроорганізмів застосовували стандартні диски з антибіотиками виробництва «Фармактив» (Україна), відповідно до переліку, рекомендованого МОЗ України. Досліджують чутливість бактеріальних ізолятів до наступних антибіотиків: ампіцилін (10 мкг), амоксицилін (20 мкг), амоксицилін/клавулонат (20/10 мкг), цефазолін (30 мкг), цефтріаксон (30 мкг), цефуроксим (50 мкг), цефоперазон/сульбактам (75 мкг), цефтазідім (30 мкг), цефалексин (30 мкг), цефотаксим (30 мкг), меропенем (10 мкг), іміпенем (10 мкг), ципрофлоксацин (5 мкг), левофлоксацин (5, мкг), гатіфлоксацин (5 мкг), норфлоксацин (10 мкг), офлоксацин (1 мкг), ломефлоксацин (10 мкг), гентаміцин (10 мкг), тетрациклін (30 мкг), еритроміцин (15 мкг), азітроміцин (15 мкг), кларитроміцин (15 мкг), лінкоміцин (15 мкг), канаміцин (30 мкг), гентаміцин (10 мкг), доксициклін (30 мкг), лінкоміцин (15 мкг), цефіксим (5мкг), амікацин (30мкг), ванкоміцин (30мкг). Досліджували чутливість мікроскопічних грибів до ністатину (50 мкг), флуконазолу (25 мкг),

кетоназолу (10 мкг), воріконазолу (1 мкг), котримазолу (10 мкг), міконазолу (50 мкг).

Вибір антибактеріального препарату має ґрунтуватись на комплексній оцінці складу мікробіоти ротової порожнини, чутливості асоціантів до антимікробних препаратів. Отримані результати свідчать також про важливість визначення стану мікробіоти як важливого прогностичного критерія обраного засобу антимікробної дії. Нами встановлено високий рівень варіабельності чутливості мікроорганізмів до антибіотиків в межах мікробної асоціації. Забезпечення антимікробної корекції щодо всіх домінуючих асоціантів умовно-патогенних мікроорганізмів необхідно здійснювати шляхом співставлення антибіотикограм кожного ізолята.

Згідно отриманих даних запальні процеси у ротовій порожнині супроводжуються зміною співвідношення як аллохтонних, так і автохтонних представників мікробіоти. Застосування базового лікування, з використанням антибіотиків, призводить до ще більш глибоких змін у складі індигенних представників. Асоціативні угруповання мікробного ценозу ротової порожнини в умовах пародонтиту II-III ступеня характеризуються наявністю представників різних таксономічних груп, в основному бактерій роду *Staphylococcus* та представників родини *Enterobacteriaceae*, а у ряді випадків (35 %) мікроскопічних грибів роду *Candida*.

В умовах персистенції декількох мікроорганізмів застосування антимікробних засобів має бути реалізовано з врахуванням чутливості ізолятів, що входять до складу асоціацій, до речовин з антибактеріальною та антимікозною активністю. Такий підхід забезпечить чутливість всієї асоціації умовно-патогенної мікробіоти до обраного антимікробного препарату. Вибір антимікробних засобів має враховувати також здатність мікроорганізмів до утворення біоплівки, оскільки біоплівкотвірні мікроорганізми характеризуються вищим рівнем резистентності до антибіотиків.

### **Клінічний випадок**

Хворий, 51 рік. Діагноз: хронічний генералізований пародонтит.

Скарги: кровоточивість ясен під час чищення зубів і відкушуванні твердої їжі, неприємний запах із ротової порожнини. Клінічний стан: наявність пародонтальних кишень, гіперемовані, набряклі, кровоточать. Рентгенологічно: резорбція міжальвеолярних перегородок на 1/3 довжини кореня, виражений остеопороз.

Дані мікробіологічного дослідження вмісту зубоясенних кишень:

### **Результати лабораторних досліджень ПЛР на наявність пародонтопатогенів**

Аналіз лабораторних досліджень на наявність та кількість пародонтопатогенів показав, що у матеріалі виявлено 4 пародонтопатогени із 6 досліджуваних: *P. gingivalis* – 6,1 Lg (ГЕ/зразок), *P. intermedia* – 5,7 Lg

(ГЕ/зразок), *T. forsythia* – 5,9 Lg (ГЕ/зразок), *T. denticola* – 6,4 Lg (ГЕ/зразок). Показник загальної бактеріальної маси склав 7,5 Lg (ГЕ/зразок). *A. actinomycetemcomitans* та *C. albicans* не виявлено.

**Результати бактеріологічного аналізу:** *Streptococcus viridans*  $5 \times 10^6$  КУО/мл, *Escherichia coli*  $3,55 \times 10^4$  КУО/мл, *Staphylococcus epidermidis*  $1,3 \times 10^2$  КУО/мл, *Lactobacillus* spp.  $1,2 \times 10^1$  КУО/мл, індигенних стрептококів не виявлено.

Результати антибіотикограми показують, що ізолят *E. coli* був резистентним до амоксициліну/клавулонату, помірно чутливим до кабопенемів, чутливим до фторхінолонів та більшого спектру цефалоспоринів, ніж *S. viridans*. *S. viridans* був чутливим до амоксицилін/клавулонату, лише до 2 антибіотиків із групи фторхінолонів, проявляв резистентність або помірну чутливість до цефалоспоринів, крім цефтріаксону та цефуроксиму.

Отже, чутливість до ряду антибіотиків мікроорганізмів, що виділені із осередку патологічного процесу відрізнялись (табл. 2).

Таким чином, пародонтит супроводжується порушенням співвідношення як аеробної і факультативно анаеробної, так і анаеробної (пародонтопатогенної) мікробіоти. Розвиток інфекційно-запального процесу у тканинах пародонту та високий рівень персистенції аеробних та анаеробних асоціацій мікроорганізмів, обумовлює ризик при проведенні оперативних втручання, встановлення імплантів та збільшує імовірність ускладнень.

Таблиця 2

**Антибіотикограма клінічних ізолятів  
із осередку патологічного процесу при пародонтиті**

Ізолят	Амоксицилін/ клавулонат	Іміпенем	Меропенем	Девеофлоксацин	Офлоксацин	Ципрофлоксацин	Моксифлоксацин	Гатіфлоксацин	Ломефлоксацин	Норфлоксацин	Цефалексін	Цефазолін	Цефуроксим	Цефтріаксон	Цефіксим	Цефоперазон/ сульбактам	Цефотаксим	Цефтризидим	Цефепім	Цефуроксим	Лінезолід	Ванкоміцин
<i>S. viridans</i>	22	20	19	12	22	10	0	26	-	0	0	0	30	25	0	22	14	0	15	20	20	18
	Ч	Ч	Ч	ПЧ	Ч	Р	Р	Ч	-	Р	Р	Р	Ч	Ч	Р	Ч	ПЧ	Р	ПЧ	Ч	Ч	Ч
<i>E. coli</i>	0	16	17	23	22	24	19	21	-	25	0	0	21	27	22	23	18	0	16	25	13	14
	Р	ПЧ	ПЧ	Ч	Ч	Ч	Ч	Ч	-	Ч	Р	Р	Ч	Ч	Ч	Ч	Ч	Р	ПЧ	Ч	Р	Р

Примітка: Р- резистентний; ПЧ- помірно чутливий; Ч - чутливий

Отримані результати показують, що для призначення адекватної антибіотикотерапії необхідно враховувати склад та чутливість до антибіотиків всіх умовно-патогенних асоціантів мікробіоти пародонтальних тканин.

### 3. Дослідження антимікробної активності анти- та фітосептиків

Персистенція представників аллохтонної мікробіоти у ротовій порожнині в умовах запального процесу створює передумови для ускладнення основного захворювання та вимагає застосування антибактеріальних препаратів. Анти-та фітосептики можуть бути альтернативою антибіотикам або призначатись у комплексі з системною антибактеріальною терапією. Зростаюча тенденція до формування антибіотикорезистентності та неефективності використання антимікробних засобів обґрунтовує актуальність їх застосування із врахуванням індивідуальної чутливості мікроорганізмів до антимікробних препаратів і нових підходів до розробки засобів антимікробної дії.

Важливим фактором успішного застосування препаратів з антимікробною активністю є визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків і антисептиків. Особливої уваги привертають місцеві антисептики, які застосовуються у вигляді аплікацій, пародонтальних пов'язок, іригацій тощо. Перспективним є застосування антисептиків та фітосептиків з врахуванням чутливості збудника до препарату, що забезпечить цілеспрямовану індивідуальну корекцію мікробіоти в умовах запального процесу.

Визначення чутливості мікроорганізмів до фію- та антисептиків проводиться методом дифузії в агар (Valouigi та ін., 2016).

Дослідження активності 5 місцевих антисептиків показало, що за ступенем антимікробної активності, препарати відрізняються. Так, Декасан проявляв широкий спектр антимікробної активності (табл. 3).

Зокрема, встановлено чутливість до Декасану всіх взятих в експеримент бактерій, як клінічних ізолятів, так і референтних культур. Найвищий рівень антимікробної активності реєстрували щодо бактерій роду *Staphylococcus*, в тому числі метицилінрезистентних штамів. Водночас, антимікотичної дії Декасану у обраній нами дозі препарату не виявлено.

Нижчу антимікробну активність виявлено у препарата Стоматидин, спостерігали його активність на грампозитивні, грамнегативні мікроорганізми та *C. albicans*. Мірамістін не проявляв антимікробної дії на бактерії роду *Staphylococcus*, *E.coli* та *C. albicans*; виявлена низька чутливість до препарату *E. faecalis* та *S. pyogenes*. Показана помірна чутливість бактерій роду *Staphylococcus* до хлогексидину, проте значно нижча, ніж Декасану. Хлогексидин не впливав на метицилінрезистентний *S. aureus*, не виявлено антибактеріальної дії хлогексидину щодо бактерій роду *Streptococcus*. Чутливими до хлогексидину були культури *E. faecalis* та *E. coli*, проте *K. rhinoscleromatis* виявилась не чутливою до антисептика. Показано антимікотичний ефект хлогексидину. Антибактеріальну активність метронідазолу спостерігали тільки щодо *S. pyogenes* ATCC 19615.

Таблиця 3

Результати вивчення антимікробної активності антисептиків, мм,  $\bar{x} \pm SD$ 

Тест культури	Декасан	Метро-нідазол	Стомати-дин	Мірамістін	Хлор-гексидин
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	18,67±0,33 <sup>a</sup>	-	12,00±0,29 <sup>d</sup>	-	11,33±0,33 <sup>d</sup>
<i>S. aureus</i> CNN 4223	19,00±0,58 <sup>a</sup>	-	11,33±0,50 <sup>d</sup>	-	12,33±0,33 <sup>c</sup>
<i>S. aureus</i> біоплівкотвірний клінічний	19,00±0,58 <sup>a</sup>	-	12,00±0,30 <sup>d</sup>	-	12,00±0,58 <sup>a</sup>
<i>S. aureus</i> клінічний MRSA	19,00±0,58 <sup>a</sup>	-	12,50±0,33 <sup>d</sup>	-	10,00±0,58 <sup>d</sup>
<i>S. aureus</i> MRSA	18,33±0,33 <sup>a</sup>	-	11,00±0,33 <sup>e</sup>	-	-
<i>S. haemolyticus</i>	19,00±1,00 <sup>a</sup>	-	13,50±0,50 <sup>c</sup>	-	11,50±0,50 <sup>d</sup>
<i>S. saprophyticus</i>	17,83±0,29 <sup>c</sup>	-	13,00±0,29 <sup>c</sup>	-	10,33±0,58 <sup>d</sup>
<i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	18,00±0,58 <sup>ab</sup>	11,67±0,33 <sup>a</sup>	10,30±0,50 <sup>f</sup>	-	-
<i>S. pyogenes</i>	19,67±0,33 <sup>a</sup>	-	11,50±0,33 <sup>e</sup>	12,33±0,33 <sup>ab</sup>	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	17,83±0,29 <sup>c</sup>	-	17,50±0,58 <sup>a</sup>	13,67±0,58 <sup>a</sup>	16,67±0,58 <sup>a</sup>
<i>E. faecalis</i>	17,67±0,58 <sup>c</sup>	-	16,50±0,50 <sup>a</sup>	13,00±1,00 <sup>a</sup>	16,83±0,58 <sup>a</sup>
<i>E. coli</i> ATCC 25922	14,5±0,5 <sup>d</sup>	-	14,50±0,50 <sup>b</sup>	-	13,17±0,76 <sup>b</sup>
<i>E. coli</i>	13,83±0,29 <sup>d</sup>	-	13,50±0,33 <sup>c</sup>	-	14,17±0,29 <sup>b</sup>
<i>K. rhinoscleromatis</i>	17,00±0,58 <sup>c</sup>	-	-	-	0
<i>C. albicans</i> ATCC 885-653	-	-	12,00±0,30 <sup>d</sup>	-	10,50±0,50 <sup>e</sup>
<i>C. albicans</i> клінічний	-	-	13,20±0,50 <sup>c</sup>	-	11,67±0,33 <sup>d</sup>

Примітка: різними літерами у колонках позначені дані, що статистично достовірно відрізняються  $P < 0,05$  відповідно до Тьюки тесту

Аналіз чутливості тест культур до фітосептиків показав широкий рівень антимікробної активності препарату Сангвіритрин, який мав високий антибактеріальний ефект на грампозитивні мікроорганізми, помірну дію на грамнегативні бактерії, в тому числі антибіотикорезистентні клінічні ізоляти, та помірну антимікозну активність (табл. 4).

Фітопрепарат Хлорофіліпт показав високу *in vitro* ефективність на бактерії роду *Staphylococcus*, у більшій мірі типові штами, ніж клінічні, *E. faecalis*; показано слабку та помірну активність щодо *E. coli*. На бактерії родини *Streptococcaceae* дії препарату не виявлено.

Ротокан, який містить у своєму складі екстракти з ромашки, календули та деревію, мав низьку антимікробну дію на ізоляти, взяті в експеримент, не впливав на грамнегативні мікроорганізми, клінічні ізоляти бактерії роду *Staphylococcus*.

Фітопрепарат Стоматофіт, який містить екстракти 7 лікарських рослин, проявляв помірну та слабку активність щодо досліджуваних мікроорганізмів. Слід відмітити його вплив як на грампозитивні, так і грамнегативні бактерії. Найвищу активність препарату встановлено щодо *E. faecalis*. Антимікотичної активності препарату не спостерігали. Із аналізованих препаратів, антимікотичний ефект мав лише Сангвіритрин.

Таблиця 4

Антимікробна активність комерційних фітопрепаратів, мм,  $\bar{x} \pm SD$ 

Тест культури	Стоматофіт	Сангвіритрин	Хлорофіліпт	Ротокан
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	12,33±0,58 <sup>d</sup>	26,33±0,58 <sup>b</sup>	25,00±1,00 <sup>b</sup>	10,33±0,57 <sup>b</sup>
<i>S. aureus</i> клінічний	13,00±0,25 <sup>c</sup>	25,50±0,50 <sup>b</sup>	22,00±0,50 <sup>d</sup>	-
<i>S. aureus</i> біоплівкотвірний референтний	12,00±0,33 <sup>d</sup>	24,80±0,29 <sup>c</sup>	21,0±0,50 <sup>de</sup>	-
<i>S. aureus</i> біоплівкотвірний клінічний	12,0±0,25 <sup>d</sup>	24,60±0,50 <sup>c</sup>	21,33±0,58 <sup>d</sup>	-
<i>S. aureus</i> (MRSA)	10,33±0,58 <sup>e</sup>	21,33±0,58 <sup>d</sup>	15,33±0,58 <sup>f</sup>	-
<i>S. haemolyticus</i>	10,67±0,58 <sup>c</sup>	24,66±0,57 <sup>c</sup>	16,33±0,58 <sup>e</sup>	9,33±0,58 <sup>c</sup>
<i>S. saprophyticus</i>	14,00±0,50 <sup>b</sup>	24,50±0,29 <sup>c</sup>	16,50±0,50 <sup>e</sup>	
<i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	14,33±0,58 <sup>b</sup>	31,30±0,58 <sup>a</sup>	-	12,33±0,58 <sup>a</sup>
<i>S. viridans</i>	12,00±0,20 <sup>d</sup>	15,33±0,58 <sup>f</sup>	-	13,33±0,58 <sup>a</sup>
<i>S. pneumonia</i>	11,67±0,58 <sup>d</sup>	20,00±1,00 <sup>e</sup>	-	12,33±0,58 <sup>a</sup>
<i>E. coli</i> ATCC 25922	14,50±0,50 <sup>b</sup>	24,66±0,57 <sup>c</sup>	15,33±0,57 <sup>f</sup>	8,33±0,57 <sup>c</sup>
<i>E. coli</i>	13,83±0,29 <sup>b</sup>	19,66±0,58	14,33±0,57 <sup>g</sup>	-
<i>K. rhinoscleromatis</i>	13,00±0,58 <sup>c</sup>	12,50±0,75 <sup>g</sup>	-	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	17,83±0,29 <sup>a</sup>	26,17±0,58 <sup>b</sup>	28,66±0,57 <sup>a</sup>	13,66±0,57 <sup>a</sup>
<i>E. faecalis</i>	17,67±0,58 <sup>a</sup>	20,17±0,17 <sup>e</sup>	23,33±0,57 <sup>c</sup>	12,50±0,50 <sup>a</sup>
<i>C. albicans</i> ATCC 885-653	-	13,33±1,15 <sup>g</sup>	-	8,33±0,57 <sup>c</sup>
<i>C. albicans</i> (клінічний)	-	12,33±1,15 <sup>f</sup>	-	7,50±0,50 <sup>d</sup>

Примітка: різними літерами у колонках позначені дані, що статистично достовірно відрізняються  $P < 0,05$  відповідно до Тьюки тесту



Рис. 1 Антимікробні властивості фіто- та антисептиків щодо *S. haemolyticus*: 1- контроль (спирт); 2- настоянка м'яти; 3- настоянка шавлії; 4-Сангвіритрин; 5- настоянка евкаліпту

Досліджено чутливість культур до комерційних настоянок лікарських рослин. Настоянка Евкаліпт проявляла помірну та низьку активність на ізоляти. Показано низький та помірний рівень антимікробної активності настоянки Шавлія щодо бактерій родів *Staphylococcus*, *Streptococcus*. До настоянки полину помірно чутливими були *C. albicans*, *E. faecalis*; всі інші мікроорганізми були слабкочутливими (табл. 5, рис. 1). Настій календули



прояв помірну антимікробну дію щодо *E. coli*, стафілококів та *C. albicans*, проте не впливала на *S. pyogenes*.

Отже найбільш виразну антимікробну активність проявляв препарат Сангвіритрин, який характеризувався широким спектром антимікробної дії. Слід відзначити його високу активність щодо бактерій роду *Staphylococcus*, в тому числі метицилінрезистентний та клінічні біоплівкоутворюючі ізоляти. Щодо бактерій роду *Staphylococcus* показана висока атимікробна дія Сангвіритрину, Хлорофіліпту (проте MRSA був помірно чутливим до препарату). Помірний ефект щодо *E.coli* та *E. faecalis* реєстрували при використанні Сангвіритрину, Хлорофіліпту та Евкалипту. Антимікотичний ефект спостерігали при використанні настоянок Полину та Календули.

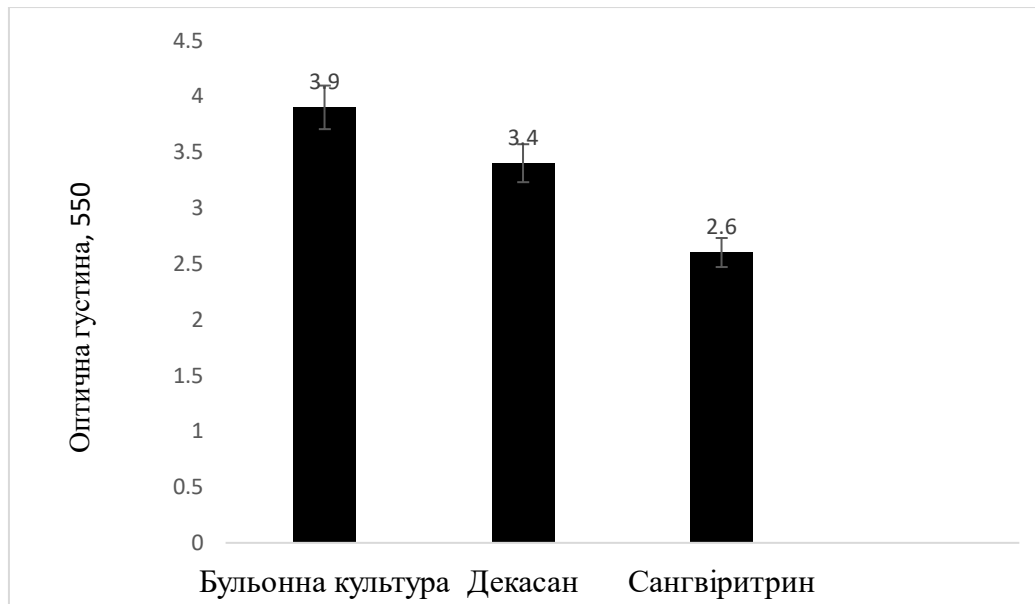
Таблиця 5

**Результати вивчення антимікробної активності  
комерційних настоянок, мм,  $\bar{x} \pm SD$**

Тест культури	Настоянка Шавлії	Настоянка Евкалипту	Настоянка полину	Настоянка календули
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	7,83±0,28 <sup>b</sup>	16,33±0,57 <sup>b</sup>	12,8±2,9	16,5±0,5
<i>S.aureus</i> клінічний	-	12,50±0,29 <sup>d</sup>	10,50 ±0,50	14,00±0,29
<i>S.aureus</i> клінічний	-	11,90±0,58 <sup>d</sup>	10,00 ±0,33	12,90±0,50
<i>S.aureus</i> біоплівкотвірний клінічний	-	12,10±0,15 <sup>d</sup>	10,00 ±0,58	11,00±0,33
<i>S.aureus</i> (MRSA)	-	13,66±0,76 <sup>d</sup>	9,10±0,58	11,10±0,29
<i>S.haemolyticus</i>	8,66±0,57 <sup>a</sup>	15,50±0,50 <sup>b</sup>	9,50 ±0,29	11,50±0,33
<i>S.saprophyticus</i>	9,00±0,50		10,00 ±0,50	12,30±0,58
<i>S.pyogenes</i> ATCC 19615	9,00±0,10 <sup>a</sup>	15,83±0,58 <sup>b</sup>	8,50 ±0,29	-
<i>S. pyogenes</i>	8,83±0,58 <sup>a</sup>	20,33±0,57 <sup>ab</sup>	8,00 ±0,50	-
<i>S.pneumonia</i>	8,66±0,57 <sup>a</sup>	12,66±1,52 <sup>d</sup>	-	-
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	14,33±0,58 <sup>cd</sup>	10,3±0,3	14,7±2,7
<i>E. coli</i>	-	15,17±1,26 <sup>c</sup>	9,5±0,3	
<i>K.rhinoscleromatis</i>	-	12,33±0,58 <sup>d</sup>		12,5±0,5
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	-	21,83±0,58 <sup>a</sup>	16,5±0,6	24,5±0,6
<i>E. faecalis</i>	-	20,66±0,57 <sup>a</sup>	13,5±0,5	24,20 ±0,50
<i>C. albicans</i> ATCC 885-653	-	14,16±0,29 <sup>cd</sup>	18,0±1,6	19,5±1,8
<i>C. albicans</i> (clinic)	-	13,50±0,86 <sup>d</sup>	17,6±0,4	15,9±3,3

Примітка: різними літерами у колонках позначені дані, що статистично достовірно відрізняються  $P < 0,05$  відповідно до Тьюки тесту

Антисептики Декасан та Сангвіритрин, які проявляли високі антимікробні властивості досліджували на здатність до деструкції біоплівки. Дослідження антибіоплівкотвірної Декасану та Сангвіритрину показало їх антибіоплівкотвірну активність. Водночас, слід відмітити більш виразну антибіоплівкотвірну активність дію Сангвіритрину, який забезпечував зниження утворення біоплівки на 33 % (рис. 2).



**Рис. 2 Антибіоплівкотвірна активність Декасану та Сангвіритрину на біоплівкотвірні ізоляти *S.aureus***

Результати антимікробної дії фіто- та антисептиків можуть бути використані для корекції мікробіоти ротової порожнини при запальних захворюваннях, за умов визначення чутливості асоціантів до компонентів препарату. Антимікробний та антибіоплівкотвірний ефект фітосептиків у поєднання з антиоксидантними властивості є перспективними з точки зору комплексного впливу при запальних процесах. Слід відмітити, що отримані дані, вказують на вибіркочу антимікробну активність як фіто-, так і антисептиків, що обґрунтовує необхідність визначення чутливості мікроорганізмів як до антибіотиків, так і антисептиків при хронічних персистуючих запальних процесах, що викликані біоплівкотвірними мікроорганзмами.

#### 4. Корекція мікробіоти ротової порожнини з використанням комбінації фіто-, антисептиків та пробіотиків

Порушення співвідношення мікроорганізмів у складі мікробіоти в умовах запального процесу, як правило, вимагає використання антибактеріального препарату. Дослідженнями вчених та клінічними дослідженнями, показана ефективність використання пробіотиків для корекції мікробіоти ротової порожнини. Зокрема, встановлено, ефективність використання таких пробіотиків як Симбітер, Наріне та ін. (Манько та ін., 2010; Климова та ін., 2015).

Наші дослідження показали антимікробну активність фітосептиків та екстрактів лікарських рослин, які, у ряді випадків, можуть стати альтернативою хімічним антисептикам. Водночас, застосування пробіотиків за таких умов, забезпечить доповнюючий антимікробний ефект за рахунок антагоністичної активності, створить умови для відновлення порушеного мікробіоценозу, підвищення активності специфічних та неспецифічних факторів імунного захисту. Комбінована взаємодоповнююча активність використання фітопрепаратів та пробіотиків може бути використана для корекції мікробіоти при запальних процесах, особливо тих, що викликані умовно-патогенними бактеріями.

Вивчення антагоністичної активності деяких комерційних пробіотиків показали, що найвищою антагоністичною активністю щодо типових та клінічних ізолятів ротової порожнини, володів пробіотик Біоспорин. Найвищі зони затримки росту виявлені щодо *S.aureus* та *E.coli* (табл. 6). Активна основа пробіотику Субалін за рівнем антагоністичної активності практично не відрізнялась від Біоспорину. Водночас пробіотичні препарати Нормофлора та Ентерожерміна проявляли низьку антагоністичну активність або взагалі не затримували ріст тест мікробів. Найбільші зони затримки росту були характерні щодо бактерій роду *Staphylococcus* та мікроскопічних грибів роду *Candida*. Слід відмітити, що антагоністичну активність відносно *E.coli* проявляли лише пробіотичні культури Біоспорину.

Отже, в експериментах *in vitro* показано високу антагоністичну активність спорових пробіотиків щодо ізолятів ротової порожнини.

На підставі виявленої антимікробної активності фіто- та антисептиків та антагоністичної активності пробіотиків, запропоновано спосіб корекції мікробіоти ротової порожнини в умовах персистенції антибіотикорезистентних умовно-патогенних мікроорганізмів, що включає проведення загальноприйнятих місцевих та загальних заходів лікування, який відрізняється тим, що використовують комбінацію антисептиків та пробіотику.

Після оцінки стану мікробіоти ротової порожнини хворого визначають домінуючі асоціації мікроорганізмів. Корекцією здійснюють за однією з запропонованих схем, враховуючи склад та рівень персистенції умовно-патогенної мікробіоти.

Таблиця 6

**Антагоністична активність пробіотиків на основі бактерій роду  
*Bacillus* на клінічні ізоляти, мм,  $\bar{x} \pm SD$**

Тест культури	Біоспорин	Субалін	Нормо-флора	Ентерожерміна
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	13,33±1,53 <sup>a</sup>	13,33±1,54 <sup>a</sup>	1,33±1,15 <sup>b</sup>	1,33±0,58 <sup>c</sup>
<i>S.aureus</i> CCM 4223	13,20±1,50 <sup>a</sup>	12,4±0,5 <sup>b</sup>	0,70±0,2 <sup>c</sup>	2,5±0,50 <sup>b</sup>
<i>S.aureus</i> клінічний MRSA	8,66±0,58 <sup>d</sup>	7,33±0,58 <sup>f</sup>	1,33±0,58 <sup>b</sup>	2,33±0,58 <sup>b</sup>
<i>S.aureus</i> клінічний	10,5±0,50 <sup>b</sup>	10,0±0,25 <sup>d</sup>	2,0±0,20 <sup>a</sup>	3,0±0,50 <sup>a</sup>
<i>S.pyogenes</i> ATCC 19615	6,00±1,00 <sup>e</sup>	4,00±1,00 <sup>g</sup>	-	-
<i>S.viridans</i> клінічний	2,67±0,58 <sup>g</sup>	2,36±0,50 <sup>h</sup>	-	-
<i>E.coli</i> ATCC 25922	11,00±1,00 <sup>b</sup>	9,33±1,15 <sup>d</sup>	-	-
<i>E.coli</i> клінічний	10,00±1,00 <sup>c</sup>	5,67±0,58 <sup>f</sup>	2,67±0,58 <sup>a</sup>	2,33±0,58 <sup>b</sup>
<i>H.alvei</i> клінічний	1,67±0,58 <sup>i</sup>	4,33±0,58 <sup>g</sup>	-	-
<i>K.rhinoscleromatis</i>	4,33±0,58 <sup>f</sup>	4,20±0,50 <sup>g</sup>	-	-
<i>C.albicans</i> ATCC 885-653	9,67±0,58 <sup>c</sup>	8,33±0,58 <sup>e</sup>	2,33±0,58 <sup>a</sup>	3,33±0,58 <sup>a</sup>
<i>C. albicans</i>	8,33±0,58 <sup>d</sup>	11,00±1,00 <sup>c</sup>	-	1,00±0,50 <sup>c</sup>

Примітка: різними літерами у колонках позначені дані, що статистично достовірно відрізняються  $P < 0.05$  відповідно до Тьюки тесту

**Перша схема** включає полоскання ротової порожнини водним розчином Сангвіритрину із розрахунку 5 мл препарату на 50 мл кип'яченої води 3 рази на день з наступним використанням через годину після кожного полоскання пробіотику Біоспорин 2 рази на день, шляхом утримування у ротовій порожнині вмісту двох флаконів із наступним його проковтуванням. Використовується при високій персистенції бактеріальної умовно-патогенної мікроїоти та мікроскопічних грибів роду *Candida* spp.

**Друга схема** схема включає порлюскання розчином Декасану по 100 мл 4 рази на добу протягом 10 днів, з наступним використанням через годину після кожного полоскання пробіотику Біоспорин 2 рази на день, шляхом утримування у ротовій порожнині вмісту двох флаконів із наступним його проковтуванням. Використовується при персистуванні умовно-патогенних бактерій, водночас незначному рівні мікроскопічних грибів роду *Candida* spp.  $10^6$ - $10^7$  КУО/мл.

**Третя схема** передбачає полоскання Стоматидином по 15 мл 2 рази на добу протягом 10 днів. Корекцію мікробіоти ротової порожнини проводять з застосуванням пробіотику Субалін (через годину після полоскання Стоматидином; 2 рази на день по 2 флакони, затримуючі у ротовій порожнині). Застосовується при помірному зростанні рівня бактеріальної мікробіоти та підвищенні рівня мікроскопічних грибів роду *Candida* spp.  $10^8$ - $10^{10}$  КУО/мл.

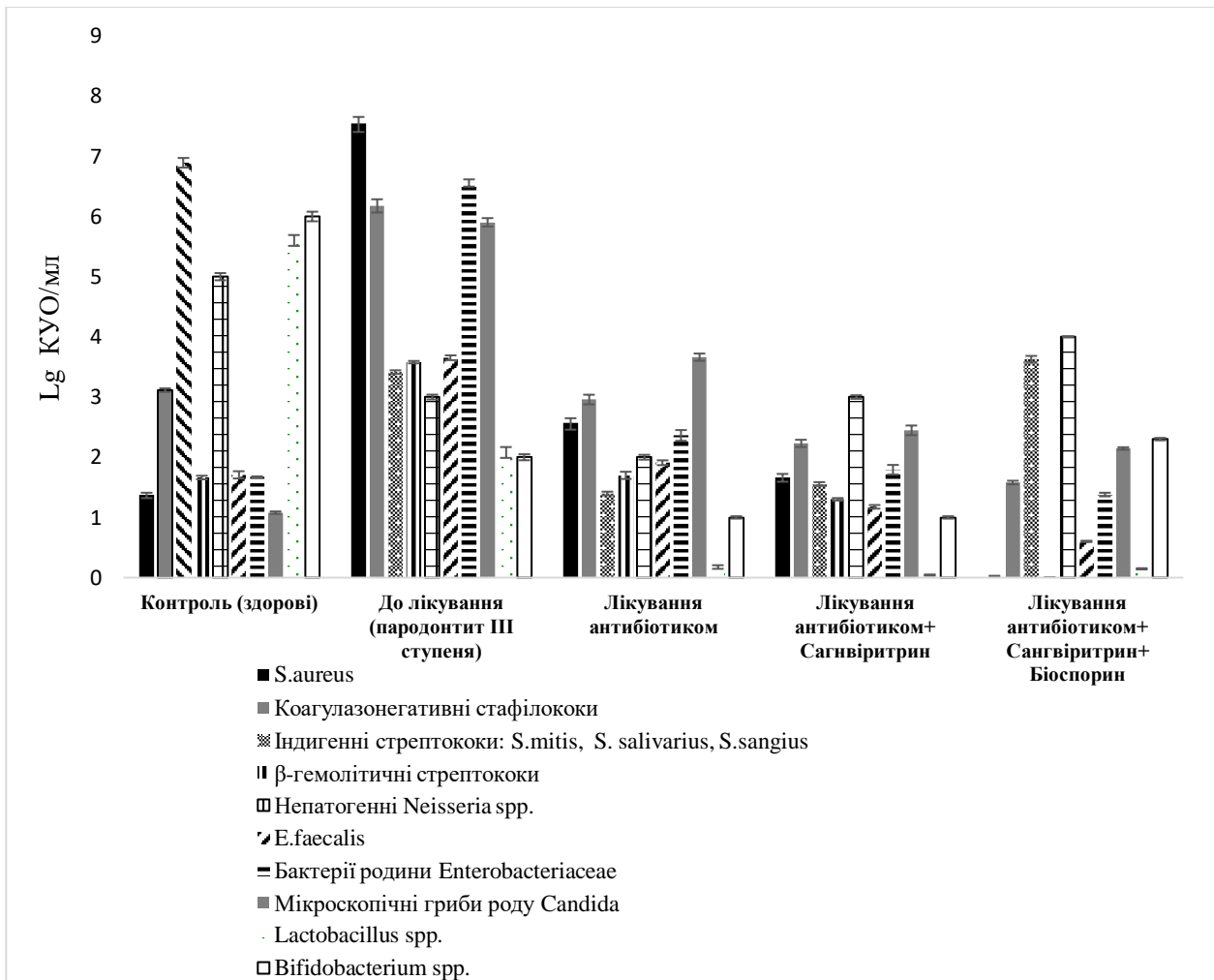
**Показана ефективність використання комплексної антимікробної дії атисептиків (в тому числі фітосептиків) та пробіотиків при хронічному**

пародонтиті в умовах високого рівня персистенції умовно-патогенних мікроорганізмів на фоні зниження рівня індигенних представників мікробіоти.

На підставі отриманих *in vitro* результатів високої антимікробної активності та антибіоплівкотвірної здатності фітосептиків, а також антагоністичної активності пробіотиків, показана ефективність корекції мікробіоценозу ротової порожнини з використанням фітосептику Сангвіритрин та пробіотику Біоспорин. Корекцію мікробіоценозу ротової порожнини проводили у пацієнтів віком 30-60 років з ознаками пародонтиту III ступеня, які протягом року не приймали антибіотики чи пробіотики. Клінічний стан пацієнтів характеризувався наявністю пародонтальних кишень, ясна гіперемовані, набрякли, кровоточили. В умовах пародонтиту виявляли ознаки дисбактеріозу III-IV ступеня за показниками збільшення популяційного рівня умовно-патогенних мікроорганізмів, в тому числі мікроскопічних грибів роду *Candida* на фоні зниження індигенних представників мікробіоти ротової порожнини. Зокрема, збільшення популяційного рівня коагулазопозитивних та коагулазонегативних бактерій роду *Staphylococcus*,  $\beta$ -гемолітичних стрептококів, *E.faecalis*, бактерій родини *Enterobacteriaceae*, мікроскопічних грибів роду *Candida*, зниження рівня індигенних бактерій роду *Streptococcus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp. Антибактеріальний препарат (антибіотик) призначала на підставі антибіотикограми. Для корекції мікробіоти ротової порожнини призначали фітосептик Сангвіритрин у комбінації з пробіотиком.

До призначення, визначали чутливість ізолятів до антибіотиків, фітосептику Сангвіритрин; проводили дослідження антагоністичної активності основи пробіотиків до ізолятів. Корекція мікробіоти включала: полоскання розчином Сангвіритрину 3 рази на добу протягом 7 днів та одночасно через годину після полоскання прийом препарату Біоспорин, по 2 дози 2 рази на день, затримуючи суспензію у роті якомога довше. Прийом пробіотику продовжували до 10 днів.

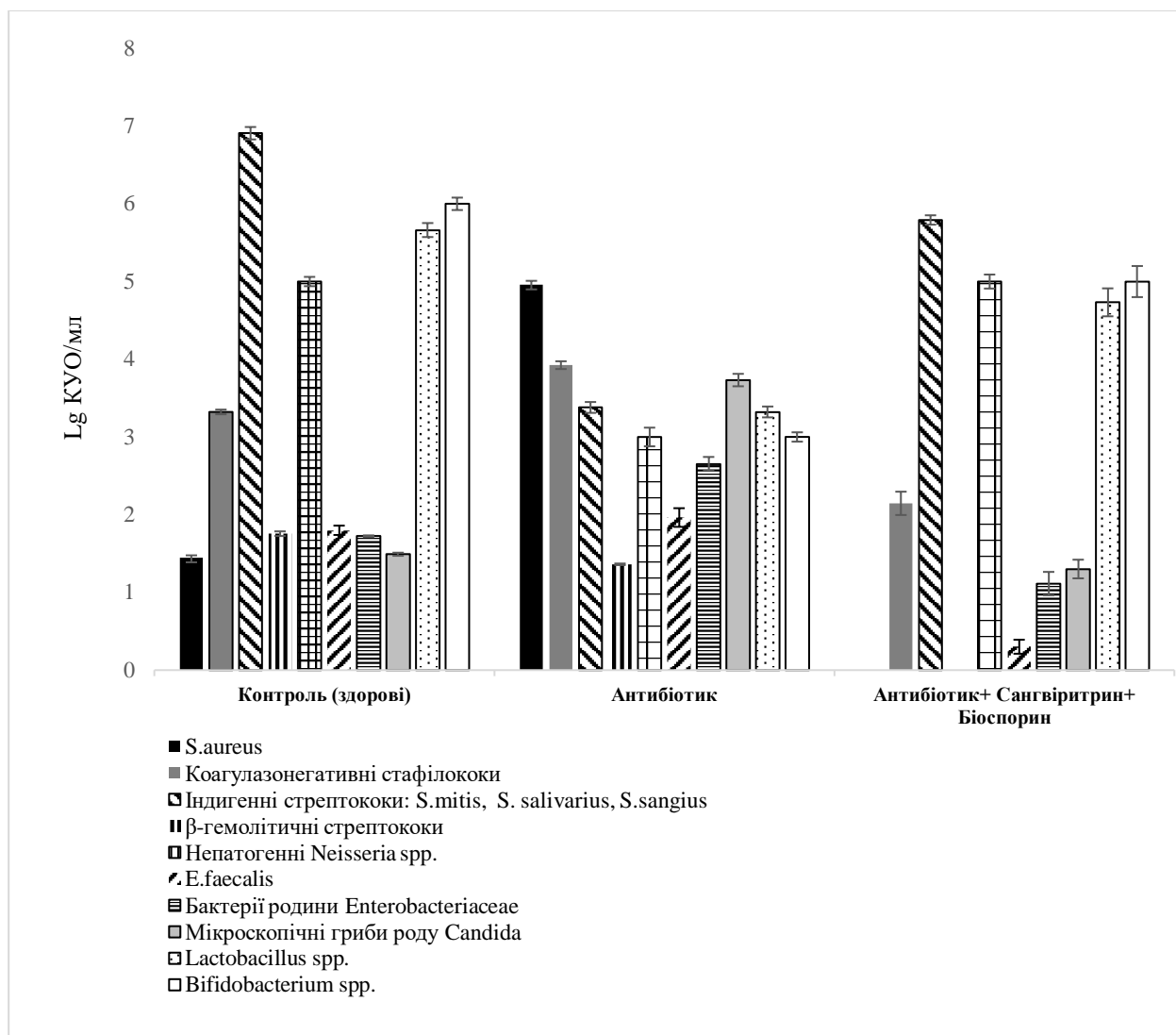
Після застосування антимікробної терапії антибіотиком, що був визначений на підставі антибіотикограми, показано зниження рівня умовно-патогенної мікробіоти (Рис. 3). Водночас встановлено, що у 36 % випадків використання антибіотика призвело тільки до зниження популяційного рівня домінуючих представників умовно-патогенних асоціацій та різкого зниження симбіотичних мікроорганізмів.



**Рис. 3 Ефективність використання комплексної корекції мікробіоти ротової порожнини при пародонтиті з використанням комбінації фітосептику з пробіотиком**

Використання фітосептику Сангвіритрин сприяло більш ефективному зниженню кількості аеробних та факультативно анаеробних мікроорганізмів, зокрема *S.aureus*, *S.haemolyticus*, *E.faecalis*, *C.albicans*, бактерій родини *Enterobacteriaceae*. Найвища ефективність корекції мікробіоти ротової порожнини виявлена при комплексному використанні антибіотика (призначеного у відповідності до чутливості ізоляту), фітосептику Сангвіритрина та пробіотику Біоспорин. Тільки у пацієнтів даної групи реєстрували відсутність *S.aureus*, *S.pyogenes*, а також тенденцію до відновлення індигенних представників мікробіоти ротової порожнини.

Дослідження складу мікробіоти через 2 місяці показало, що у групі застосування антибіотика виявляли статистично достовірне зростання рівня *S.haemolyticus*, *S. epidermidis* з гемолітичними властивостями, представників родини *Enterobacteriaceae*. Відмічали також нижчий рівень представників резидентної мікробіоти, ніж у контрольній групі та серед пацієнтів на фоні комплексного лікування із застосуванням фітосептику та антибіотику (Рис. 4).



**Рис. 4 Показники мікробіоти ротової порожнини через 2 місяці після корекції комбінацією фітосептику та пробіотику**

Бактеріологічне дослідження через 2 місяці показало, що відновлення показників індигенної мікробіоти виявляли за комплексного впливу Санвіритрину у поєднанні з Біоспорином. Зокрема, у дані групі не відмічали персистенції *S.aureus*, *S.pyogenes*; кількість коагулазонегативних стафілококів, бакіерій родини *Enterobacteriaceae*, мікроскопічних грибів роду *Candida* також була достовірно нижча, ніж у групі використання тільки антибіотика. Тобто рівень персистенції умовно-патогенних мікроорганізмів був найнижчим. Водночас рівень бактерій роду *Lactobacillus* spp., індигенних стрептококів був вищим. Отже, отримані нами результати *in vitro* високої антимікробної активності фітосептику Санвіритрин у поєднанні з антибіоплівкотвірними властивостями, а також анатагоністичної активності пробіотику Біосприн щодо ізолятів ротової порожнини, були підтверджені в умовах використання запропонованої схеми на фоні пародонтиту.

Встановлені закономірності обумовлюють також доцільність використання отриманих *in vitro* результатів щодо використанні Декасану та

Стоматидину у поєднанні з пробіотиками у схемах корекції мікробіоти ротової порожнини з урахування чутливості ізолятів до антисептиків, а також комбінації фітосептиків і пробіотиків відповідно до особливостей якісного та кількісного складу мікробіоти ротової порожнини. Результати мікробіологічного аналізу вмісту зубо-ясенних кишень показали зменшення представників аллохтонної мікробіоти на фоні підвищення рівня індигенних стрептококів, лактобактерій. Кровоточивість ясен зменшувалась, відмічали зменшення глибини пародонтальних кишень.

Отримані результати обґрунтовують перспективність застосування комплексного, диференційного підходу до корекції мікробіоти ротової порожнини в умовах запальних захворювань пародонту з врахуванням домінуючих асоціацій та їх чутливості до антибактеріальних препаратів, в тому числі фітосептиків, які крім антимікробної активності, не порушують склад індигенної мікробіоти. Застосування пробіотику забезпечує антагоністичну активність та створює передумови для відновлення індигенної мікробіоти.

Показано вибірково антимікробну активність антисептиків, в тому числі на основі рослинної сировини, на умовно-патогенні антибіотикорезистентні штами мікроорганізмів, ізольовані із ротової порожнини людей з запальними захворюваннями пародонту. Встановлена ефективність використання схеми використання фітосептика з пробіотиком для корекції умовно-патогенної мікробіоти. Визначення чутливості мікроорганізмів та їх асоціацій, як планктонних форм, так і у складі біоплівки до фіто- та антисептиків, а також інших антимікробних речовин є основою комплексного підходу до розробки стратегії антимікробної терапії, корекції мікробного ценозу ротової порожнини та догляду в період ремісії.



**Приклад протоколу бактеріологічних досліджень клінічного матеріалу,  
визначення чутливості ізолятів до  
антибіотиків, антисептиків, пробіотиків**

Дата П.І.П., рік народження, діагноз Ізольовані мікроорганізми КУО  
*Klebsiella pneumoniae* 10<sup>9</sup>  
*Staphylococcus epidermidis* 10<sup>7</sup>

Ізолят	Амоксицилін/ клавулонат	Цефалоспорины																Лінезолід	Ванкоміцин		
				Левовфлоксацин	Офлоксацин	Ципрофлоксацин	Моксифлоксацин	Гатифлоксацин	Ломевфлоксацин	Норфлоксацин	Цефалексін	Цефазолін	Цефуроксим	Цефтріаксон	Цефіксим	Цефоперазон/ сульбактам	Цефотаксим			Цефтазидим	Цефепім
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Р	Ч	Ч	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0	0	0	0	0	0	15	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	15
	Р	Р	Р	Ч	Р	Р	ПЧ	ПЧ	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Ч	ПЧ

**Чутливість до антибіотиків мікроскопічних грибів роду *Candida***

Ізолят	ітраконазол	флуконазол	кетоконазол	клотримазол	ністатин
<i>Candida albicans</i>	Р	Р	Р	Р	ПЧ

**Чутливість до антисептиків**

Ізолят	Хлорофіліпт	Декасан	Метранідозол	Мірамістін
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Р	Р	Р	Р
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Р	Ч	Р	ПЧ

**Чутливість до пробіотиків *Klebsiella pneumoniae*, зона затримки росту,  
мм**

Біоспорин	Субалін	Нормофлора	Ентерожерміна
4,5	2	0	0

Примітка: Р- резистентний; ПЧ- помірно чутливий; Ч - чутливий

## **5. Антимікробна та антибіоплівкотрвірна активність лікарських рослин і перспективи їх використання при запальних захворюваннях пародоту**

В умовах зростаючих темпів формування стійкості мікроорганізмів до антимікробних препаратів значення набувають дослідження з пошуку нових речовин з антимікробною та антибіоплівкотвірною активністю. Особливо перспективними в даному аспекті є речовини рослинного походження, що пов'язано з різноманітністю біологічно активних сполук, широким спектром фармакологічної дії, антиоксидантними, протизапальними властивостями. Рослинні препарати, володіючи певним спектром антимікробної активності, рідше викликають ускладнення та порушення у складі мікробоценозу.

Поєднання антимікробної, антибіоплівкотвірної та антиоксидантної активності речовин рослинного походження є підґрунтям для комплексного підходу до корекції співвідношення мікробних асоціацій у складі мікробіоти ротової порожнини. Дезінтеграція біоплівки забезпечує підвищення доступності речовин з антимікробною дією. За таких умов, екстракти лікарських рослин, що проявили антимікробні властивості у поєднанні з здатністю до деструкції біоплівки можуть використовуватись як самостійні засоби, а ті, що мають здатність лише до деструкції біоплівки, можуть бути використані у комплексі з антимікробною класичною терапією.

Експериментальні дослідження антибіоплівкоутворюючої здатності речовин рослинного походження в основному охоплюють країни Азії, Індію, Китай. Показано, що речовини рослинного походження можуть мати здатність до пригнічення її утворення або викликати деструкцію вже сформованої біоплівки. Інгібуюча дія на біоплівку може бути реалізована через бактерицидну або бактреїостатичну дію, блокування адгезії бактерій, системи QS. Бактеріостатичні та бактеріальні сполуки можуть діяти як інгібітори чисельності бактерій, що утворюють біоплівку.

Оскільки мікробні біоплівки грають провідну роль в розвитку хронічних форм інфекційних захворювань, застосування речовин і препаратів на основі рослинної сировини, є перспективним з точки зору комплексного антимікробного та антибіоплівкотвірного ефекту. Місцева дія антисептиків, в тому числі на основі рослинної сировини, забезпечує безпосередній контакт активної речовини з слизовою оболонкою, забезпечує зниження рівня контамінації представниками умовно-патогенної мікробіоти. Речовини з антибіоплівкотвірними властивостями забезпечують покращення біодоступності антимікробних речовин. Високий рівень антиоксидантних властивостей, протизапального ефекту за рахунок в'язучих речовин сприяє відновленню структури слизової оболонки, впливає на її регенеративні та опірні властивості. Рослинні речовини, що мають здатність до деструкції бактеріальної біоплівки, але не володіють прямим антимікробним ефектом, можуть бути використані у поєднанні з антимікробними речовинами.

Особливої уваги в цьому аспекті привертають ефірні олії, що володіють високим рівнем антимікробної активності, мають антиоксидантні, протизапальні властивості та широко використовуються у медицині, косметології, харчовій промисловості.

Нами проведено скринінгові дослідження 15 ефірних олій, отриманих методом парової дистиляції на підприємстві Calendula, Nova Lubovna, Slovakia.

Чутливість мікроорганізмів до рослинних екстрактів визначається стандартним методом дифузії в агар (діаметр лунки 6 мм) (Ríos et.al 2005). Інокулят бактерій або мікроскопічних грибів у кількості 0,1 мл у фізіологічному стерильному розчині відповідно 0.5Mc Farland стандарту висівають на Мюллер-Хінтон агар для бактерій та Сабуро агар для грибів роду *Candida*. Олію вносять у лунку у кількості від 10 до 100  $\mu$ L. Облік результатів проводять через 24 год. після інкубації у термостаті при температурі 37 °C для бактерій, та 48 годин для мікроскопічних грибів. Діаметр зон затримки росту вимірюють у мм, включаючи діаметр лунки.

Ефірні олії, використані у дослідженні, були виготовлені на підприємстві *Calendula, Nova Lubovna* (Словаччина) на замовлення ДВНЗ «Ужгородський національний університет» із наступних рослин: *Thymus vulgaris* L. (Арома, листя, суцвіття), *Hyssopus officinalis* L. (Blankyt, листя, суцвіття), *Mentha  $\times$  piperita* L. (Kristinka, листя, суцвіття), *Rossmarinus officinalis* L. (Blue Winter, листя, суцвіття), *Coriandrum sativum* L. (Confetti, листя, суцвіття), *Abies alba* L. (хвоя), *Salvia officinalis* L. (Krajová, листя, суцвіття), *Pimpinella anisum* L. (Anýz, листя, суцвіття), *Juniperus communis* L. (хвоя), *Pinus silvestris* L. (хвоя), *Matricaria recutita* L. (Lianka, квіти), *Melisa officinalis* L. (Citra, Citronela, листя, суцвіття), *Origanum vulgare* L. (Aureum, листя, суцвіття), *Lavandula angustifolia* Mill. (Vulharsko, листя, суцвіття), *Eucalyptus globulus* Labill. (листя).

Екстракцію ефірної олії здійснювали шляхом гідродистиляції в апараті типу Клевенджера. Визначення якісного складу ефірних олій проводили методом газової хроматографії з використанням газового хроматографа Carlo Erba Vega на капілярній колонці DB-WAX, 30 м. Стандарти для порівняння ефірних олій використані Extrasynthese Ltd. і Sigma-Aldrich. Відсоток одиноких хроматографічних піків вимірювали за відношенням площі поодиноких піків до їхньої загальної площі.

Порівняльний аналіз антимікробної активності ефірних олій на референтні та клінічні тест культури показав, що найвищою антимікробною активністю із досліджуваних, характеризувались ефірні олії *Thymus vulgaris* та *Origanum vulgare* L., проявляючи високий антимікробний ефект на грампозитивні, грамнегативні мікроорганізми та мікроскопічні гриби роду *Candida*. Найнижчі показники МІК стосовно референтних і клінічних штамів мали ефірні олії *Thymus vulgaris* L. та *Origanum vulgare* L. Встановлено високу антимікотичну активність ефірних олій. Мінімальна інгібуюча концетрація стосовно мікроскопічних грибів роду *Candida* була найнижчою у ефірної олії

*Thymus vulgaris* L. Удвічі вищою МІК виявлена у ефірних олій *Origanum vulgare* L., *Lavandula angustifolia* Mill., *Eucalyptus globulus* Labill. Результати досліджень вказують, що найвищу антимікробну, антибіоплівкотвірну та антиоксидантну активність проявляла ефірна олія *Thymus vulgaris* L. та *Origanum vulgare* L. Встановлено високий антимікробний ефект *Thymus vulgaris* ЕО на клінічні ізоляти бактерій роду *Staphylococcus*, що здатні формувати біоплівку. Показано здатність ефірних олій *Thymus vulgaris* L. та *Origanum vulgare* L. до деструкції сформованої біоплівки.

Проведення скринінгових досліджень показало, що із 15 досліджених ефірних олій найвищий рівень антиоксидантної активності проявляли ефірні олії *Thymus vulgaris* L., *Origanum vulgare* L. Найжчі антиоксидантні властивості мали ефірні олії *Pimpinella anisum* L., *Abies alba* L. Біологічна активність ефірних олій, їх дезодоруючі, протизапальні, ароматичні та антиоксидантні властивості обумовлюють їх широке застосування у різноманітних комбінаціях. Антимікробна активність композицій часто не є сумою антимікробних властивостей окремих олій. Більше того, часто спостерігається зниження їх антибактеріальної та антимікозної активності.

Із ефірних олій, на основі результатів попередніх досліджень, вивчення антимікробної активності були виготовлені композиції у співвідношенні 1:1:

1. *Hyssopus officinalis* + *Rossmarinus officinalis* L.
2. *Menta piperita* L. + *Hyssopus officinalis* L.
3. *Rossmarinus officinalis* L. + *Coriandri sativum* L.
4. *Rossmarinus officinalis* L. + *Menta piperita* L. + *Hyssopus officinalis* L.

Експериментально показано, що композиція ефірних олій *Menta piperita* L. + *Hyssopus officinalis* L. показала вищий рівень антимікробної та антимікозної активності на клінічні ізоляти ротової порожнини людей з запальними захворюваннями пародонту та типові культури мікроорганізмів, ніж окремі їх компоненти. Композиція *Menta piperita* L. + *Hyssopus officinalis* L. показала вищі антибіоплівкотвірні властивості, ніж окремі її компоненти. Отримані результати обумовлюють перспективу застосування даних композицій у складі засобів для профілактики запальних процесів ротової порожнини. Перевагою дії комбінації ефірних олій, ніж окремих її компонентів, є розширення спектру дії на мікроорганізми та підвищення антибіоплівкотвірної активності, у порівнянні з компонентами, що входять до її складу. Встановлення антимікробних властивостей композицій ефірних олій дозволяє поєднувати їх у засобах для профілактики запальних процесів пародонту. Застосування ефірних олій у засобах для догляду та профілактики інфекцій ротової порожнини є перспективним у зв'язку з їх здатністю пригнічувати розвиток запального процесу за рахунок антимікробних та антиоксидантних властивостей. Композиції рекомендовано використовувати в якості активної основи для зубних паст, ополіскувачів, гелів, мазей із антимікробними властивостями для профілактики запальних захворювань ротової порожнини та пригнічення рівня умовно патогенних мікроорганізмів.

## 6. Антимікробна активність розроблених засобів догляду за ротовою порожниною на основі рослинної сировини

На основі проведених досліджень та скринінгового відбору рослинних екстрактів та ефірних олій, з врахуванням їх антимікробної та антибіоплівкотвірної активності розроблено ополіскувачі для догляду за ротовою порожниною. Склад ополіскувачів включає екстракти рослин та ефірні олії і ґрунтується на результатах вивчення спектру їх антимікробної активності. Засоби догляду за ротовою порожниною рекомендовані до застосування з врахуванням рівня персистенції умовно-патогенних мікроорганізмів, що відносяться до факультативної мікробіоти організму людини. Рецептатура засобів враховує персистенцію у складі мікробного ценозу двох типів асоціацій: 1) бактерій роду *Staphylococcus*+бактерії родини *Enterobacteriaceae*+мікроскопічні гриби роду *Candida*; 2) бактерій *Streptococcus pyogenes*+мікроскопічні гриби роду *Candida*.

1. Рецептатура включає: 900 мл води; 100 г мл гліцерол; 10 г емульгатор (Tagat); 0,5 г згущеного екстракта листа *Vaccinium vitis-idea* L., 0,2 мл ефірної олії *Thymus vulgaris* L.; 0,3 мл ефірної олії *Eucaliptus laevigata* L.; 5 г Е 202 (Сорбат калія); 0,5 г лимонної кислоти, рН 7-7,5.

2. Рецептатура включає: 900 мл води; 100 г мл гліцерол; 10 г емульгатор (Tagat); 0,5 г згущеного екстракта листа *Vaccinium vitis-idea* L., 0,2 мл ефірної олії *Origanum vulgare* L.; 0,3 мл ефірної олії *Mentha piperita* L.; 5 г Е 202 (Сорбат калія); 0,5 г лимонної кислоти. 30 хв., рН 7-7,5.

Ополіскувач № 1 у розведенні 1:10 має антимікробну активність на *S.aureus* та *C.albicans*. Встановлено інгібуючу дію на *E. faecalis*, *E.coli* та *K.pneumonia* (табл. 7, рис. 5-7).

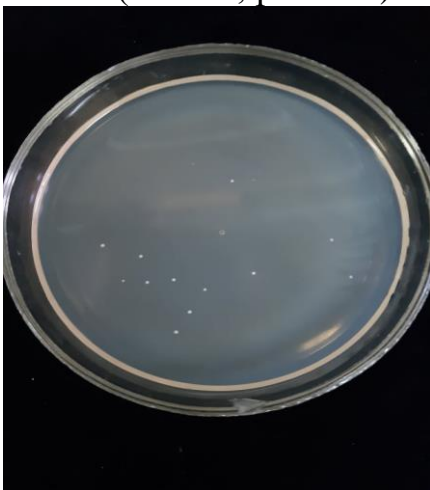


Рис. 5 Ріст *E. faecalis* в умовах культивування з ополіскувачем № 1 (розведення 1:100)



Рис. 6 Ріст тест культур в умовах культивування з ополіскувачем № 2 (розведення 1:10): 1 - *S.aureus*; 2 - *S.haemolyticus*; 3 - *E. coli* ATCC 25922; 4 - *S.pyogenes*; 5 - *E. faecalis*; 6 – *S.epidermidis*; 7 - *E.coli* клінічний; 8- *S.aureus* ATCC 25923

Таблиця 7

**Антимікробна активність ополіскувача №1 (*Thymus vulgaris* L. + *Vaccinium vitis-idea* L.) щодо умовно патогенних мікроорганізмів,**

**МІК, мг/мл,  $\bar{x} \pm SD$**

Тест культури	1:10	1:100	1:1000	Контроль
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	-	1,25 ± 0,1 × 10 <sup>3*</sup>	1,5 ± 0,4 × 10 <sup>5*</sup>	2,53 ± 0,2 × 10 <sup>10</sup>
<i>S.aureus</i> ССМ 4223	-	1,85 ± 1,2 × 10 <sup>3*</sup>	2,5 ± 0,6 × 10 <sup>5*</sup>	2,8 ± 0,3 × 10 <sup>10</sup>
<i>S.aureus</i> клінічний	-	1,66 ± 1,3 × 10 <sup>3*</sup>	1,34 ± 0,5 × 10 <sup>5*</sup>	3,60 ± 0,5 × 10 <sup>10</sup>
<i>S.haemolyticus</i> клінічний		1,20 ± 1,2 × 10 <sup>3*</sup>	1,55 ± 0,7 × 10 <sup>5*</sup>	5,50 ± 0,4 × 10 <sup>10</sup>
<i>S.pyogenes</i> ATCC 19615	-	1,24 ± 1,2 × 10 <sup>4*</sup>	1,35 ± 0,5 × 10 <sup>6*</sup>	5,45 ± 0,4 × 10 <sup>10</sup>
<i>S.pyogenes</i> клінічний	-	1,34 ± 1,1 × 10 <sup>4*</sup>	1,25 ± 0,7 × 10 <sup>6*</sup>	6,25 ± 0,3 × 10 <sup>10</sup>
<i>E.faecalis</i> ATCC 29212	3,0 ± 0,3	0,5 ± 0,4 × 10 <sup>2*</sup>	0,36 ± 0,5 × 10 <sup>5*</sup>	4,32 ± 0,3 × 10 <sup>10</sup>
<i>E. faecalis</i> клінічний	12,0 ± 0,1	0,25 ± 0,6 × 10 <sup>2*</sup>	0,28 ± 0,3 × 10 <sup>5*</sup>	2,3 ± 0,2 × 10 <sup>10</sup>
<i>E.coli</i> ATCC 25922	1,8 ± 0,5 × 10 <sup>2</sup>	1,2 ± 0,5 × 10 <sup>4*</sup>	2,8 ± 0,4 × 10 <sup>5*</sup>	2,6 ± 0,3 × 10 <sup>10</sup>
<i>E.coli</i> клінічний	1,5 ± 0,4 × 10 <sup>2</sup>	2,5 ± 0,5 × 10 <sup>4*</sup>	2,5 ± 0,2 × 10 <sup>6*</sup>	3,2 ± 1,1 × 10 <sup>10</sup>
<i>K.pneumonia</i>	1,8 ± 0,3 × 10 <sup>2</sup>	3,2 ± 0,2 × 10 <sup>4*</sup>	2,9 ± 0,4 × 10 <sup>6*</sup>	3,7 ± 0,9 × 10 <sup>10</sup>
<i>C.albicans</i> ATCC 885-653	-	0,2 ± 0,1 × 10 <sup>2*</sup>	3,5 ± 0,5 × 10 <sup>6*</sup>	3,8 ± 0,8 × 10 <sup>10</sup>
<i>C.albicans</i> клінічний	-	0,4 ± 0,2 × 10 <sup>2*</sup>	4,5 ± 0,3 × 10 <sup>6*</sup>	3,5 ± 0,5 × 10 <sup>10</sup>

Розчин у розведенні 1:10 пригнічує розмноження мікроорганізмів порівняно з контролем (табл. 8). Порівняльний аналіз антиімкробної активності ополіскувача, що містить *Origanum vulgare* L. + *Vaccinium vitis-idea* L., показав, що у розведенні 1:10 розчин мав бактеріостатичний ефект *S.aureus*, *E. faecalis*, *E.coli*, *K.pneumonia*. Ополіскувач має виразну антимікробну дію на *S.pyogenes* та *C.albicans*. Всі досліджувані розведення показали здатність інгібування росту мікроорганізмів у порівнянні з контролем.

Ополіскувачі володіють антимікробною активністю, що обумовлює перспективу їх використання з метою попередження зростання рівня контамінації ротової порожнини умовно-патогенними мікроорганізмами, в тому числі тими, що мають біоплівкотвірні властивості. Встановлена антибіоплівкотвірна активність ополіскувачів щодо *S.aureus*. Показано, що ополіскувач №1 знижував утворення біоплівки на 46 %, а № 2 – на 35,8 % (рис. 7).

Таблиця 8

**Антимікробна активність ополіскувача №2  
(*Origanum vulgare* L. + *Vaccinium vitis-idea* L.)**

**щодо умовно патогенних мікроорганізмів, МІК, мг/мл**

Тест культури	1:10	1:100	1:1000	Контроль
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	1,4±1,5×10 <sup>3*</sup>	2,35±1,0×10 <sup>5*</sup>	1,57±1,2×10 <sup>7*</sup>	2,53 ± 2,0×10 <sup>10</sup>
<i>S.aureus</i> CCM 4223	1,7±1,5×10 <sup>3*</sup>	1,75 ± 0,5×10 <sup>5*</sup>	1,65 ± 1,0×10 <sup>7*</sup>	2,8 ± 0,5×10 <sup>10</sup>
<i>S.aureus</i> клінічний	8,9 ± 0,7×10 <sup>2*</sup>	2,64 ± 0,8×10 <sup>5*</sup>	1,80 ± 1,0×10 <sup>7*</sup>	3,60 ± 2,0×10 <sup>10</sup>
<i>S.haemolyticus</i> клінічний	-	2,25 ± 0,7×10 <sup>3*</sup>	3,50 ± 2,5×10 <sup>6*</sup>	5,50 ± 1,5×10 <sup>10</sup>
<i>S.pyogenes</i> ATCC 19615	-	3,20 ± 1,0×10 <sup>2*</sup>	4,55 ± 0,5×10 <sup>7*</sup>	5,45 ± 1,7×10 <sup>10</sup>
<i>S.pyogenes</i> клінічний	-	3,34 ± 0,6×10 <sup>3*</sup>	3,25 ± 1,4×10 <sup>5*</sup>	6,25 ± 1,2×10 <sup>10</sup>
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	15,0 ± 0,5*	1,5 ± 0,7 ×10 <sup>3*</sup>	2,34 ± 1,0×10 <sup>5*</sup>	4,32 ± 1,1×10 <sup>10</sup>
<i>E. faecalis</i> клінічний	18,0 ± 0,7*	1,35 ± 1,2×10 <sup>3*</sup>	1,8 ± 1,1×10 <sup>7*</sup>	2,3 ± 1,3×10 <sup>10</sup>
<i>E.coli</i> ATCC 25922	2,2 ± 0,5×10 <sup>2*</sup>	1,6 ± 0,3×10 <sup>4*</sup>	2,1 ± 0,5×10 <sup>7*</sup>	2,6 ± 0,2×10 <sup>10</sup>
<i>E.coli</i> клінічний	1,8 ± 0,3×10 <sup>2*</sup>	1,5 ± 0,1×10 <sup>4*</sup>	2,5 ± 0,2×10 <sup>7*</sup>	3,2 ± 0,1×10 <sup>10</sup>
<i>K.pneumonia</i>	1,9 ± 0,5×10 <sup>2*</sup>	2,2 ± 1,3×10 <sup>4*</sup>	2,9 ± 0,5×10 <sup>7*</sup>	3,7 ± 0,5×10 <sup>10</sup>
<i>C.albicans</i> ATCC 885-653	-	1,2 ± 0,2×10 <sup>2*</sup>	4,5 ± 1,1×10 <sup>7*</sup>	3,8 ± 1,0×10 <sup>10</sup>
<i>C.albicans</i> клінічний	-	1,8 ± 0,5 ×10 <sup>2*</sup>	3,7 ± 0,2×10 <sup>7*</sup>	3,5 ± 0,1×10 <sup>10</sup>

Таблиця 9

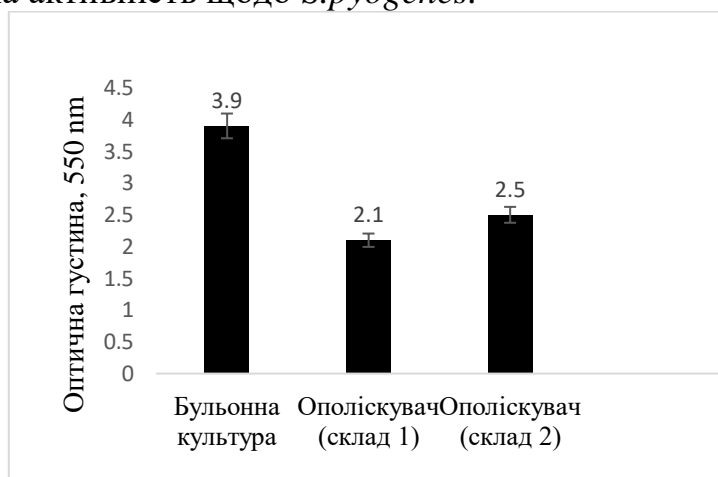
**Антимікробна активність ополіскувача щодо умовно-патогенних  
мікроорганізмів, мм, ( $\bar{x} \pm s$ )**

Тест культури	Склад № 1	Склад №2
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	13,5 ± 0,1 <sup>a</sup>	10,5 ± 0,15 <sup>b</sup>
<i>S.aureus</i> CCM 4223	13,0 ± 0,2 <sup>ab</sup>	10,2 ± 0,2 <sup>b</sup>
<i>S.aureus</i> клінічний	12,6 ± 0,1 <sup>b</sup>	10,4 ± 0,1 <sup>b</sup>
<i>S.aureus</i> клінічний MRSA	12,5 ± 0,2 <sup>b</sup>	10,5 ± 0,15 <sup>b</sup>
<i>S.pyogenes</i> ATCC 19615	10,0 ± 0,3 <sup>d</sup>	11,0 ± 0,3 <sup>a</sup>
<i>S.pyogenes</i> клінічний	10,8 ± 0,1 <sup>d</sup>	11,5 ± 0,1 <sup>a</sup>
<i>E.faecalis</i> ATCC 29212	10,5 ± 0,2 <sup>d</sup>	9,5 ± 0,2 <sup>c</sup>
<i>E. faecalis</i>	10,3 ± 0,3 <sup>d</sup>	9,3 ± 0,3 <sup>c</sup>
<i>E.coli</i> ATCC 25922	11,4 ± 0,2 <sup>c</sup>	9,2 ± 0,2 <sup>c</sup>
<i>E.coli</i> клінічний	11,0 ± 0,1 <sup>c</sup>	9,0 ± 0,2 <sup>c</sup>
<i>C.albicans</i> ATCC 885-653	14,2 ± 0,15 <sup>a</sup>	10,5 ± 0,2 <sup>b</sup>
<i>C.albicans</i> клінічний	13,5 ± 0,10 <sup>a</sup>	10,0 ± 0,3 <sup>b</sup>

Примітка: різними літерами у колонках позначені дані, що статистично достовірно відрізняються  $P < 0.05$  відповідно до Тьюки тесту

Ополіскувач № 1, що містить екстракт листа *Vaccinium vitis-idea* L. та ефірну олію *Thymus vulgaris* L. проявляв більш високу антимікробну активність щодо всіх тест культур, в тому числі, мікроскопічних грибів роду *Candida*. Відповідно ополіскувач з даним складом рекомендований при високому ступені персистенції даних видів мікроорганізмів у ротовій порожнині.

Ополіскувач № 2, містить екстракт листа *Vaccinium vitis-idea* L., ефірні олії *Origanum vulgare* L. та *Mentha piperita* L., володів нижчою антимікробною активністю щодо *S.aureus* та *C.albicans*. Водночас виявлена вища антимікробна активність щодо *S.pyogenes*.



**Рис. 7 Антибіоплівкотвірна активність ополіскувачів**

Отже ополіскувач № 1 може бути застосований в умовах вищої персистенції умовно-патогенних мікроорганізмів, в тому числі асоціацій бактерій роду *Staphylococcus*, мікроскопічних грибів роду *Candida* та бактерій родини *Enterobacteriaceae*.

Ополіскувач № 2 має нижчий рівень антимікробної активності, водночас володіє виразною здатністю пригнічувати ріст умовно-патогенних мікроорганізмів та володіє антимікробною дією на *S.pyogenes* та мікроскопічні гриби роду *Candida*.

Отримані результати дозволяють проводити індивідуальний підбір засобів догляду за ротовою порожниною з урахуванням популяційного рівня умовно-патогенних мікроорганізмів. Даний підхід має переваги, що обумовлено вибірковою дією розчинів на окремі групи мікроорганізмів. Емпіричне застосування антимікробних препаратів не враховує чутливість окремих асоціантів мікробних спільнот до антимікробних речовин та концентрації, необхідні до деструкції біоплівки. Саме тому, в умовах хронічних запальних процесів перспективним є використання засобів на основі рослинної сировини для місцевого застосування з урахуванням співвідношення мікробних угруповань та включення у їх склад компонентів з антибіоплівкотвірними властивостями; моніторинг співвідношення мікроорганізмів в умовах підбору засобів догляду за станом ротової порожнини з метою своєчасної корекції та пролонгації ремісії.



## СПИСОК ВИКОРИСАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Баранов АА. Антибиотикорезистентность в современном мире Педиатрическая фармакология. 2017; 5 (14): 341-354.
1. Белоклицкая ГФ. Современный взгляд на классификации болезней пародонта. Современная стоматология. 2007; 3:59–64.
2. Бондар МВ, Пилипенко ММ, Свінтуковський МЮ, Харченко ЛА, Превисла ОМ, Цвик ІМ. Антибиотикорезистентність мікроорганізмів: механізми розвитку й шляхи запобігання. Медицина неотложных состояний. 2016; 3: 11-17.
3. Гірчак ГВ. Особливості ураження тканин пародонта у дітей та підлітків, які проживають у регіоні сірчаного виробництва. Новини стоматології. 1999;3:13-15.
4. Грудянов АИ, Фролова ОА. Заболевания пародонта и меры их профилактики. Лечащий врач. 2001;4:56- 60.
5. Данилевский НФ, Борисенко АВ. Заболевания пародонта. К.: Здоров'я, 2000;464.
6. Залізняк МС, Погорецька ХВ, Левків МО. Терапевтична стоматологія. Динаміка мікрофлори пародонтальних кишень у хворих на остеоартроз при прогресуванні генералізованого пародонтиту. 2015;2:38-42.
7. Иванов ПВ, Маланьин ИВ, Стоматов АВ, Грибовская ЮВ. Антиоксидантная терапия в комплексном лечении пародонтита. Фундаментальные исследования. 2008;11:23–27.
8. Климова ТН, Крамарь ВС, Крамарь ВО, Добренков ДС, Степанов ВА. Биокоррекция в комплексном лечении стоматологических заболеваний. Современные проблемы науки и образования. 2015; 4:
9. Коцюмбас ІЯ. Сучасний стан і перспективи застосування препаратів із рослин родини хвойних у ветеринарній практиці. Науково-технічний бюлетень : зб. Праць. Ін-т біології тварин, ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. - Львів, 2012;13(3-4):428-436.
10. Кривцова М. В. Мікроскопічні гриби роду *Candida* у структурі мікробних асоціацій в умовах генералізованого пародонтиту та їх чутливість до антибіотиків та ефірних олій. Вісник проблем біології і медицини. 2019; Вип. 1, Т. 2 (149): 263-26628.
11. Кривцова М. В., Костенко Є. Я. Композиція ефірних олій з широким спектром антимікробної активності щодо антибіотикорезистентних ізолятів мікроорганізмів. Патент України на корисну модель, № 131088, опубліковано 10.01.2019, Бюл. № 1.
12. Кривцова М. В., Костенко Є. Я. Спосіб корекції мікробіоти ротової порожнини в умовах персистенції антибіотикорезистентних умовно патогенних мікроорганізмів, № 137005, опубліковано 25.09.2019, Бюл. № 18.
13. Кривцова М. В., Костенко Є.Я. Спосіб лікування генералізованого пародонтиту шляхом корекції умовно патогенної мікробіоти ротової порожнини, № 141401, опубліковано 10.04.2020, Бюл. №7.
14. Кривцова М.В., Костенко О.Є., Костенко Є.Я. Спосіб лікування кандидо-асоційованого пародонтиту шляхом корекції мікробіоти ротової порожнини, № 142635, опубліковано 25.06.2020, Бюл. № 2.
15. Кривцова М.В., Тимошок Н.О., Співак М.Я., Калинеченко С.В. Композиція фітоекстракту та пробіотичного штаму як основа фітобіотику «Vitis-lact». Патент України на корисну модель, №135936, опубліковано 25.07.2019, Бюл. № 14.
16. Кривцова МВ, Костенко ЄЯ. Перспективи використання фіто- та антисептичних препаратів для корекції мікробіоти ротової порожнини з урахуванням індивідуальних особливостей асоціацій умовно патогенних мікроорганізмів. Вісник проблем біології і медицини. 2019, 4 (2): 283-285.
17. Курякина НВ, Кутепова ТФ. Заболевания пародонта. Новгород: НГМА, 2000;162.
18. Мазур ИП, Слободяник МВ. Системные антибактериальные препараты в пародонтологии. Современная стоматология. 2016; 1: 38-42.
19. Манько АМ, Непорада КС, Сухомлин АА, Берегова ТІ, Янковський ДС. Експериментальна корекція мультипробіотиком «Симбітер® ацидофільний» патологічних змін у органах ротової порожнини. Український стоматологічний альманах. 2010; 6: 3-7.
20. Мельник АЛ, Довга ІМ, Христян ГС, Радченко ОО, Поволокіна ІВ, Казмірчук ВВ. Інтегральна характеристика інфекційно-запальних захворювань порожнини рота Клінічна та експериментальна патологія. 201;1(51):215-220.

21. Мирсаева ФЗ, Ханов ТВ, Кузнецова ТН, Буйлова ОВ Видовой состав микрофлоры в содержимом пародонтальных карманов при обострении хронического генерализованного пародонтита. Проблемы стоматологии, 3 (14), 2018, 29-36.
22. Мюллер ХП. Пародонтология. – М.: Гал-Дент, 2004;256.
23. Романова ЮМ, Диденко ЛВ., Толордава ЭР, Гинцбург АЛ. Биопленки патогенных бактерий и их роль в хронизации инфекционного. Поиск средств борьбы с биопленками Вестник Российской Академии медицинских наук, 2011;10:31-39.
24. Савичук НО, Савичук ОВ. Микроэкология полости рта, дисбактериоз и пути его коррекции Журнал. Современная стоматология. 2002;4: 9-12.
25. Салманов АГ. Збірник наукових праць з інфекційного контролю (2010-2012). Том 3, К.: Аграр Медіа Груп; 2015, 404.
26. Скрипник М. І., Непорада К. С., Петрушанко Т. О., Ананьєва М. М., Лобань Г. А., Тимошок Н. О., Бабенко Л. П., Кривцова М. В., Щербаков О. Б., Співак М. Я. Спосіб підсилення протимікробної дії антисептиків. Патент України на корисну модель, № 134206, опубліковано 10.05.2019, Бюл. № 9.
27. Bascones Martínez A., Figuero Ruiz E. Periodontal diseases as bacterial infection. Av Periodon Implantol. 2005; 17(3): 111–118.
28. Caton, J. G., Armitage, G., Berglundh, T., Chapple, I. L. C., Jepsen, S., Kornman, K. S., Tonetti, M. S. (2018). A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. Journal of Clinical Periodontology, 45, S1–S8.
29. Conlon K.M., Humphreys H., O’Gara J.P. Regulation of icaR gene expression in Staphylococcus epidermidis. FEMS Microbiology Letters, 2002; 216(2): 171–177.
30. Dewhirst FE, Chen T, Izard J. The human oral microbiome. J Bacteriol. 2010;192(19):5002-5017.
31. Feres, M., Cortelli, S. C., Figueiredo, L. C., Haffajee, A. D., & Socransky, S. S. (2004). Microbiological basis for periodontal therapy. Journal of Applied Oral Science, 12(4), 256–266.
32. Haffajee AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. Periodontol 2000. 1994;5:78-111.
33. Hart CA, Kariuki S. Antimicrobial resistance in developing countries. BMJ. 1998;317(7159):647-650.
34. Kryvtsova M.V., Koščová, J. Eftimova J., Spivak M.J. Antimicrobial, antibiofilm-forming and some biochemical properties of *Potentilla erecta* rhizome extract Biotechnologia Acta. 2019; 5(12): 82-88.
35. Kryvtsova MV, Fedkiv OK, Hrytsyna MR, Salamon I. Anti-microbial, anti-biofilm-forming properties of *Organum vulgare* L. essential oil on *Staphylococcus aureus* and its antioxidant action. Biol. Stud. 2020; 14(2): 27–38.
36. Kryvtsova MV, Király J, Koščová J, Kostenko YeYa., Bubnov RV, Spivak MYa. Determination of biofilm formation and associated gene detection in *Staphylococcus* genus isolated from the oral cavity under inflammatory periodontal disease. Biol. Stud. 2020; 14(3): 49–64.
37. Kryvtsova MV, Kostenko Ye. Ya. Dominant microbial associations of the oral cavity in the conditions of generalized periodontitis and features of there sensitivity to antibacterial drugs. Biol. Stud. 2020; 14(1); 51–62.
38. Kryvtsova MV, Kostenko YY, Salamon I. Compositions of essential oils with antimicrobial properties against isolates from oral cavities of patients with inflammatory diseases of parodontium. Regulatory Mechanisms in Biosystems. 2018; 9(4): 491-494.
39. Proctor LM, Creasy HH, Fettweis JM. The Integrative Human Microbiome Project. Nature. 2019: 641–648.
40. Rello J, Kalwaje Eshwara V, Lagunes L, et al. A global priority list of the TOp TEn resistant Microorganisms (TOTEM) study at intensive care: a prioritization exercise based on multi-criteria decision analysis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019; 38(2):319-323.
41. Ricucci D. and Siqueira Jr JF. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. Journal of Endodontics, 2010;36(8):1277–1288.
42. Socransky S.S., Haffajee A.D. (2003) In: Clinical Periodontology and Implant Dentistry, 4th Ed. (J. Lindhe, T. Karring, N. Lang, Eds.), 106-149
43. Stubbings W, Labischinski H. New antibiotics for antibiotic-resistant bacteria. F1000 Biology Reports. 2009; 29:1.