

УДК 57.083.332

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРОЭКОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА И ДИАГНОСТИКА  
ИНФЕКЦИЙ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА  
ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ**

**Струкова Е.Г., Гонтова А.А.**

**Научный руководитель – д.х.н., профессор А.А.Ефремов**

***Сибирский федеральный университет***

Антимикробная активность многих эфирных масел дикорастущих растений известна с давних пор, причем отмечено, что фитонциды (летучие выделения растений) низших растений, которые вырабатывались в сопряженной эволюции микроорганизмов, в их конкурентной борьбе, действуют преимущественно на патогенную микрофлору. Фитонциды же высших растений (включая эфираносы) непосредственно влияют не только на микроорганизмы, но и на иммунологические аппараты человеческого организма (фагоцитоз, воспаление, антигенную реактивность).

Установлено, что эфирные масла действуют губительно на бактериальные клетки условно-патогенных микроорганизмов. Такие данные получены при исследовании действия эфирных масел на чистые культуры. Представляет интерес оценить и установить воздействие эфирного масла на реальной модели, в качестве которой в данной работе использовали мазок зева ротовой полости человека. В реальной модели микроорганизмы находятся в биопленке слизистой, многие виды существуют в симбиозе, микроорганизмы, живущие в человеке, не принадлежат к чистым культурам так как постоянно подвергаются воздействиям (лечению антибиотиками, каплями, и т.д.), и микроорганизмы вырабатывают резистентность, которая может изменять их устойчивость к эфирным маслам. Традиционными бактериологическими методами полное воздействие эфирного масла на общую обсемененность оценить сложно, из-за сложности культивирования и длительности, больших затрат и дороговизны комплекса исследований. В последние годы появился очень информативный экспресс-метод определения микробных сообществ с использованием масс-спектрометрии микробных маркеров – высокоточное определение специфических маркерных молекул, входящих в состав клеточных липидов микроорганизмов. Он представляет собой идентификацию микробных сообществ по специфическим жирным кислотам методом хромато-масс-спектрометрии по селективным ионам.

Для определения количественных характеристик отдельных типов микробных сообществ, обитающих в ротовой полости человека, нами изучено содержание жирных кислот в мазках 20 здоровых лиц мужского пола возраста 18 – 20 лет. По результатам проведенной серии анализов установлено, что нормальная микрофлора ротовой полости здоровых молодых людей, проживающих в Красноярске, возраста 18-20 лет выглядит следующим образом: преобладают такие группы микроорганизмов как *Streptococcus*, *Mycobacterium/Candida*, *Actinomyces viscosus*, микроскопические грибы, ситостерол. Типичная хроматограмма для мазка зева представлена на рисунке 1.

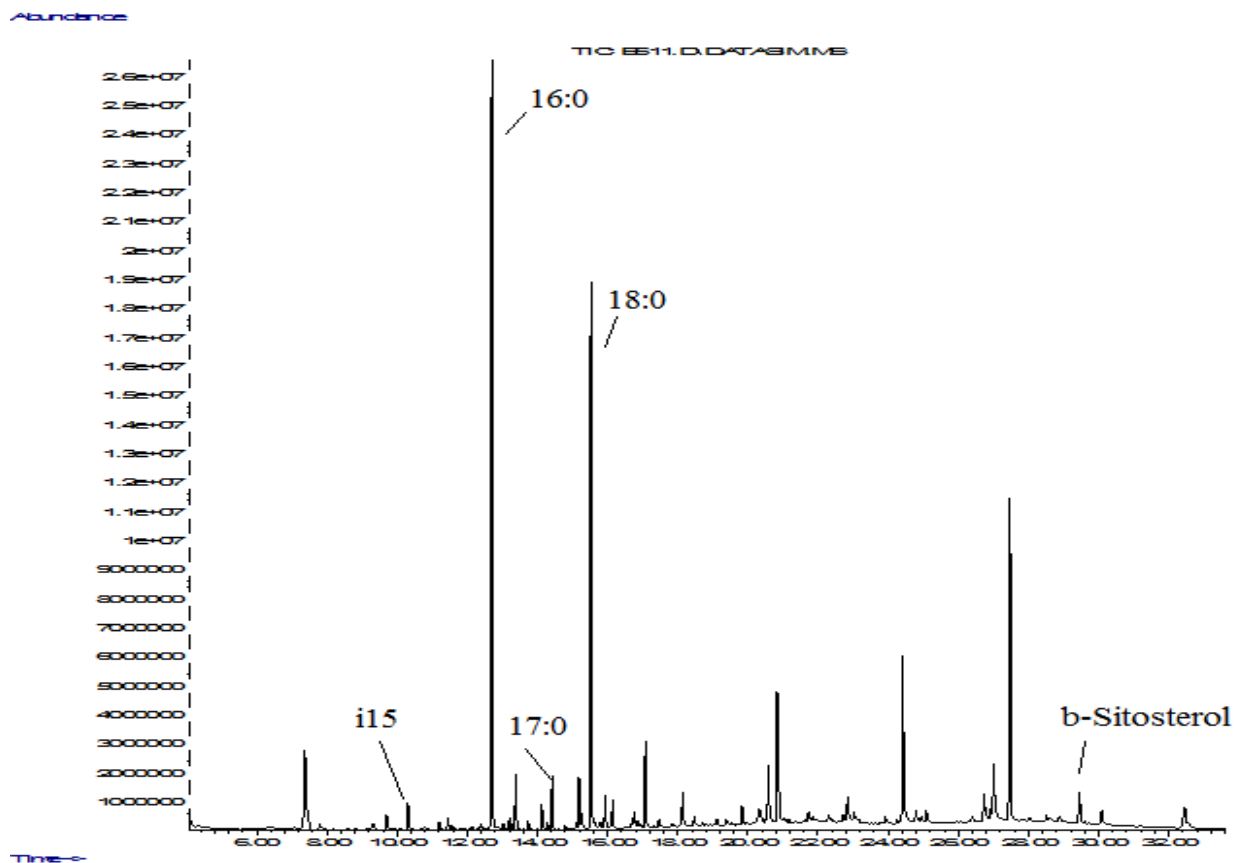


Рис. 1. Типичная хроматограмма жирных кислот мазка ротовой полости здорового человека по выделенным ионам.

Следует отметить, что по некоторым группам микроорганизмов наблюдается большое превышение нормы. Например, содержание *Streptococcus* и *Corineform CDC-group XX* превышает значение нормы в 8 раз, *Eubacterium moniliforme*, *E.nodatum*, *E.sabureum* в 9,5 раз, а *Actinomyces viscosus* – в 12 раз, микроскопические грибы, ситостерол – в 19 раз. Так, если по литературным данным общая обсемененность микробных сообществ в норме должна составлять  $6168 \text{ кл/г} \cdot 10^5$ . А по результатам эксперимента наблюдается превышение количества клеток по определенным микробным сообществам. Общая обсемененность проб варьируется от  $6807 \text{ кл/г} \cdot 10^5$  до  $19569 \text{ кл/г} \cdot 10^5$ .

Из результатов исследования ясно, что для приведения общей обсемененности к норме воздействовать нужно на определенные классы микробных сообществ: *Streptococcus*, *Clostridium propionicum*, *Актиномицеты*, *Lactobacillus*, *Corineform CDC-group XX*, *Mycobacterium/Candida*, *Eubacterium moniliforme*, *E.nodatum*, *E.sabureum*, *Staphylococcus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus mutans*, *Микр. грибы*, *ситостерол*, *Actinomyces viscosus*. Самый опасный обитатель ротовой полости *Streptococcus mutans*, вызывающий кариес.

Учитывая тот факт, что мягкой бактерицидностью обладают природные фитонциды, в качестве которых могут выступать эфирные масла дикорастущих растений, представляло интерес исследовать воздействие отдельных эфирных масел непосредственно на микробные сообщества ротовой полости человека. В качестве бактерицидного препарата мы использовали эфирное масло пихты сибирской в стерильном персиковом масле в концентрациях 1,0-2,5% (раствор наносился методом мазка). Были проана-

лизированы образцы мазков ротовой полости больных с хроническими заболеваниями верхних дыхательных путей: у трех человек обработанных 1% раствором пихтового масла; четыре человека 1,5% пихтовое масло; два человека 2% масло и два человека, ротовая полость которых была обработана 2,5% пихтовым маслом, в различные промежутки времени. На рисунке 2 представлены хроматограммы жирных кислот, имеющихся в мазках ротовой полости до и после воздействия эфирного масла пихты сибирской.

Abundance

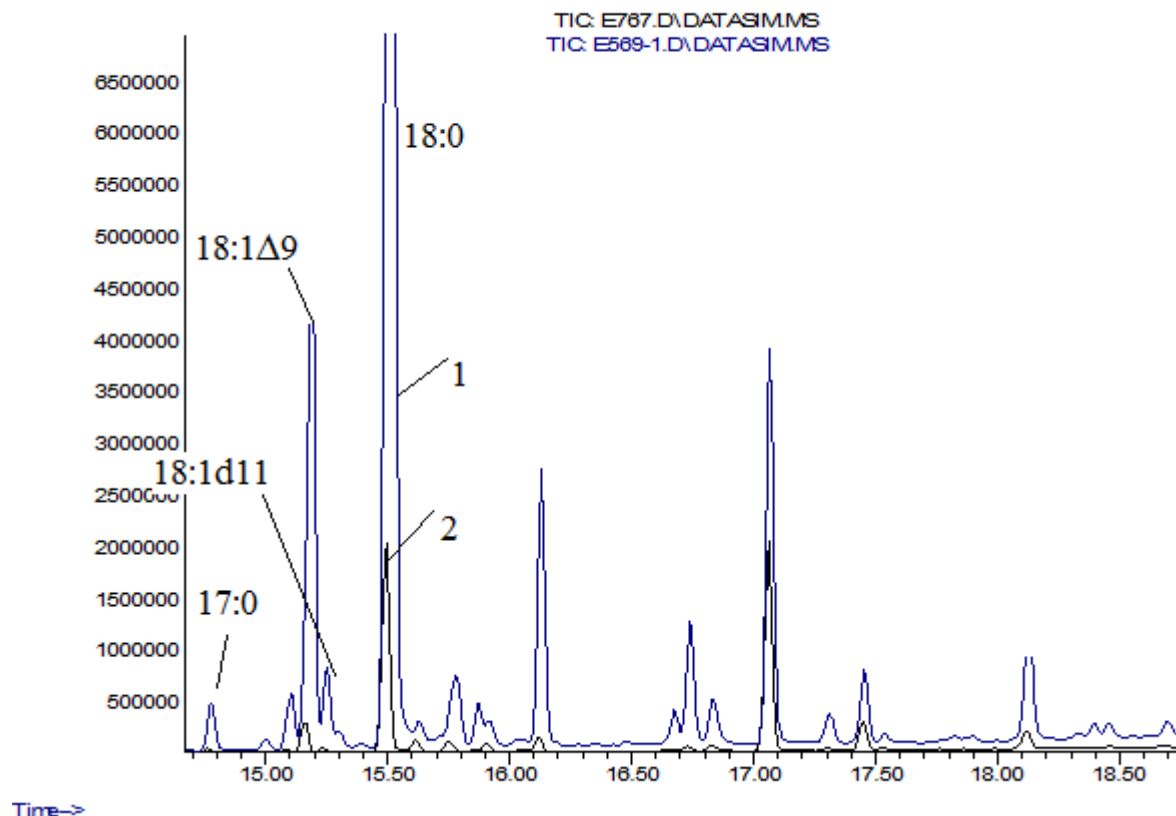


Рис. 2. Фрагмент хроматограммы до – кривая 1, и после воздействия раствора эфирного масла пихты сибирской – кривая 2.

Заметно, что эфирное масло пихты сибирской приводит к снижению концентрации практически всех кислот и, соответственно, к уменьшению содержания практически всех микробных сообществ. Наибольшее влияние эфирного масла пихты сибирской обнаружено нами непосредственно на ситостерол (рис. 3).

Таким образом, масс-спектрометрия микробных маркеров позволяет достаточно быстро и надежно идентифицировать и количественно определять 57 типов микробных сообществ в практически любом биологическом материале и следить за их динамикой в процессе лечения.

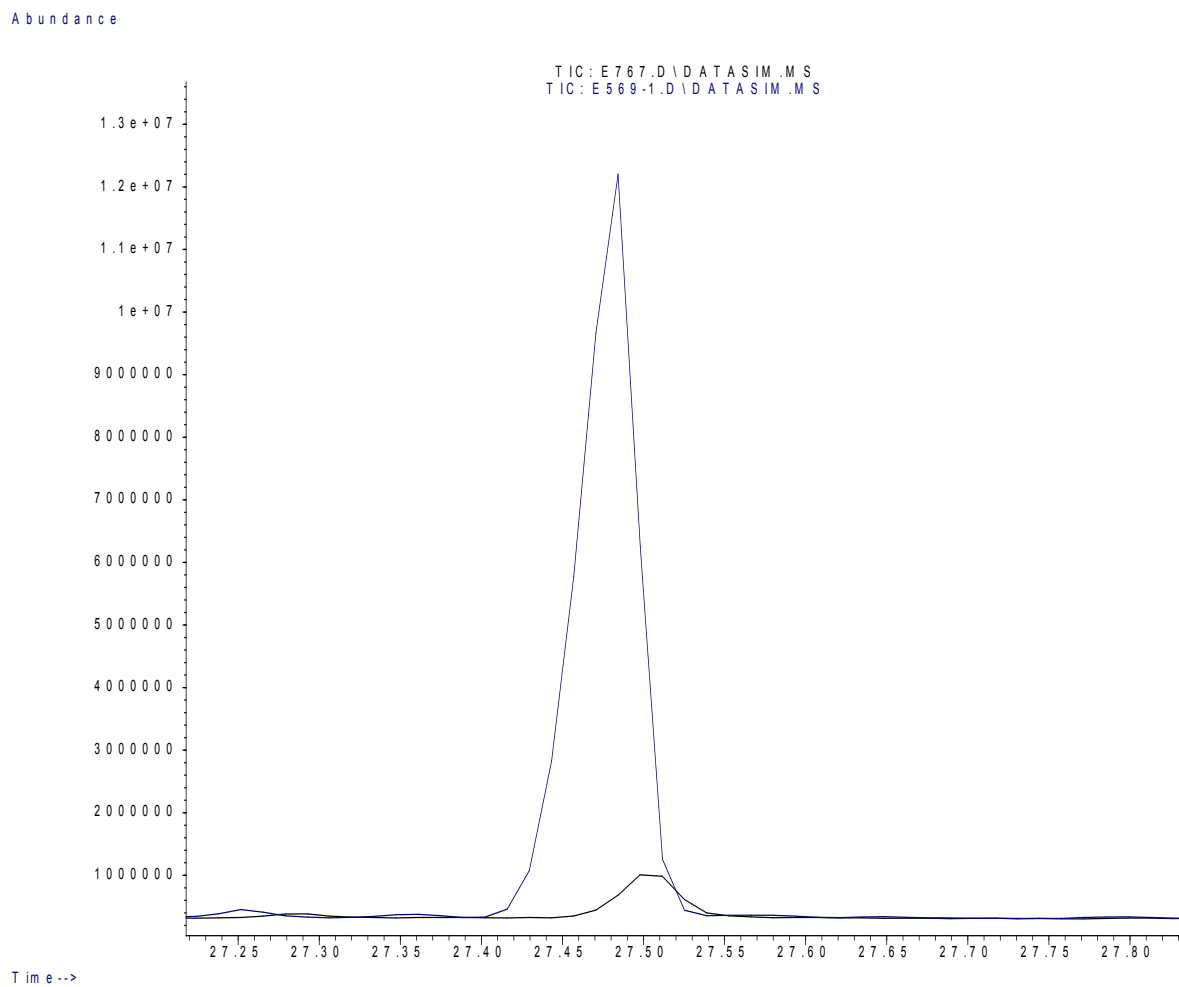


Рис. 3. Влияние обработки эфирным маслом пихты сибирской на содержание ситостерола в ротовой полости.