

DOI: 10.37988/1811-153X_2023_1_60

[С.И. Токмакова](#)¹,д.м.н., профессор, зав. кафедрой
терапевтической стоматологии[К.В. Зяблицкая](#)¹,ассистент кафедры терапевтической
стоматологии[О.В. Бондаренко](#)¹,к.м.н., доцент кафедры терапевтической
стоматологии[В.В. Прокопьев](#)¹,к.б.н., доцент кафедры эпидемиологии,
микробиологии и вирусологии[Ю.В. Луницына](#)¹,к.м.н., доцент кафедры терапевтической
стоматологии[Е.В. Мокренко](#)²,д.м.н., профессор кафедры ортопедической
стоматологии[Ю.Ю. Гуревич](#)¹,к.м.н., доцент кафедры ортопедической
стоматологии[Е.С. Жукова](#)¹,к.м.н., доцент кафедры терапевтической
стоматологии[Д.С. Бондаренко](#)¹,студент III курса института клинической
медицины¹ АГМУ, 656038, Барнаул, Россия² ИГМУ, 664003, Иркутск, Россия

Антибактерицидная активность слюны при криолечении и озонотерапии веррукозной лейкоплакии слизистой оболочки рта

Реферат. Лейкоплакия слизистой оболочки рта имеет высокий риск малигнизации. Одним из вариантов радикального лечения является криохирургия. Заживление криораны зависит от метода послеоперационного ведения и свойств ротовой жидкости. Использование в этом периоде озонированного оливкового масла с высоким окислительно-восстановительным потенциалом обеспечивает противовоспалительное, обезболивающее и противомикробное действие. **Цель** — оценить эффективность применения озонированного масла у пациентов с веррукозной лейкоплакией после криохирургического удаления очагов. **Материалы и методы.** Пролечено 62 больных с лейкоплакией методом криодеструкции жидким азотом. В послеоперационном периоде пациентам основной группы на рану наносили озонированное масло, пациентам группы сравнения назначали полоскание хлоргексидином (0,06%). Использовали сравнительный анализ антибактерицидной активности слюны с 1-го по 7-й дни после криодеструкции по изменению оптической плотности фильтратов (ОПФ) ротовой жидкости. **Результаты.** Исследуемые показатели ОПФ условно-патогенных микроорганизмов в группе с озонотерапией были достоверно ниже по сравнению с традиционным лечением на протяжении 3 ч инкубации на всех сроках. Во всех точках измерения ОПФ *Streptococcus pneumoniae* варьировали в пределах от 0,081 до 0,096; *Escherichia coli* — от 0,079 до 0,198; *Staphylococcus aureus* — от 0,082 до 0,143, *Pseudomonas aeruginosa* — от 0,091 до 0,104. Это было значимо ниже контроля в среднем на 20% и меньше, чем в группе сравнения. В фильтратах *Candida albicans* прослеживали сходную тенденцию различий ОПФ. **Заключение.** Выявленная более низкая ОПФ ротовой жидкости в группе с озонотерапией на протяжении всего периода инкубации свидетельствует о сохранении более выраженного антибактериального эффекта слюны под действием озонированного масла в течение 3 ч после аппликации по сравнению с раствором хлоргексидина. Это позволяет обосновать пролонгированный антисептический эффект озонотерапии в комплексном ведении криораны после криодеструкции веррукозной лейкоплакии слизистой оболочки рта.

Ключевые слова: веррукозная лейкоплакия, озонотерапия, микробиоценоз полости рта, ротовая жидкость, бактерицидная активность

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:

Токмакова С.И., Зяблицкая К.В., Бондаренко О.В., Прокопьев В.В., Луницына Ю.В., Мокренко Е.В., Гуревич Ю.Ю., Жукова Е.С., Бондаренко Д.С. Антибактерицидная активность слюны при криолечении и озонотерапии веррукозной лейкоплакии слизистой оболочки рта. — *Клиническая стоматология*. — 2023; 26 (1): 60—67. DOI: 10.37988/1811-153X_2023_1_60

[S.I. Tokmakova](#)¹,PhD in Medical Sciences, full professor
of the Therapeutic dentistry Department[K.V. Ziablitskaia](#)¹,assistant at the Therapeutic dentistry
Department[O.V. Bondarenko](#)¹,PhD in Medical Sciences, associate professor
of the Therapeutic dentistry Department[V.V. Prokopyev](#)¹,PhD in Biological Sciences, assistant professor
of the Epidemiology, Microbiology and
Virology Department

Bactericidal activity of saliva during cryotherapy and ozone therapy of verrucous leukoplakia of the oral mucosa

Abstract. Leukoplakia of the oral mucosa has a high risk of malignancy. One of the options for radical treatment is cryosurgery. The healing of the wound depends on the method of postoperative management and the properties of the oral fluid. The use of ozonated olive oil with a high redox potential in this period provides anti-inflammatory, analgesic and antimicrobial effects. **The aim** is to evaluate the effectiveness of the use of ozonated oil in patients with verrucous leukoplakia after cryosurgical removal of foci. **Materials and methods.** 62 patients with leukoplakia were treated by cryodestruction with liquid nitrogen. In the postoperative period, ozonated oil was applied to the wound in patients of the main group, rinsing with chlorhexidine (0.06%) was applied

Yu.V. Lunitsyna¹,

PhD in Medical Sciences, associate professor
of the Therapeutic dentistry Department

E.V. Mokrenko²,

PhD in Medical Sciences, full professor
of the Prosthodontics Department

Yu.Yu. Gurevich¹,

PhD in Medical Sciences, associate professor
of the Prosthodontics Department

E.S. Zhukova¹,

PhD in Medical Sciences, associate professor
of the Therapeutic dentistry Department

D.S. Bondarenko¹,

3rd year student at the Institute of Clinical
Medicine

¹ Altai State Medical University,
656038, Barnaul, Russia

² Irkutsk State Medical University,
664003, Irkutsk, Russia

to the comparison group. We used a comparative analysis of the antibacterial activity of saliva from 1 to 7 days after cryodestruction by changing the optical density of filtrates (ODF) of oral fluid. **Results.** The studied indicators of OPF of opportunistic microorganisms in the group with ozone therapy were significantly lower compared to traditional treatment during 3 hours of incubation all study periods. At all points of measurement, the ODF of *Streptococcus pneumoniae* varied from 0.081 to 0.096; *Escherichia coli* — from 0.079 to 0.198; *Staphylococcus aureus* — from 0.082 to 0.143, *Pseudomonas aeruginosa* — from 0.091 to 0.104. It was significantly lower than the control by an average of 20% and less than in the comparison group. In *Candida albicans* filtrates, a similar trend of ODF differences was traced. **Conclusion.** The revealed lower optical density of oral fluid filtrates in the group with ozone therapy throughout the incubation period indicates the preservation of a more pronounced antibacterial effect of saliva under the action of ozonated oil for 3 hours after application compared with chlorhexidine solution. It allows to justify the prolonged antiseptic effect of ozone therapy in the complex treatment after cryodestruction of oral verrucous leukoplakia.

Keywords: verrucous leukoplakia, ozone therapy, oral microbiocenosis, oral fluid, bactericidal activity

FOR CITATION:

Tokmakova S.I., Ziablitskaia K.V., Bondarenko O.V., Prokopev V.V., Lunitsyna Yu.V., Mokrenko E.V., Gurevich Yu.Yu., Zhukova E.S., Bondarenko D.S. Bactericidal activity of saliva during cryotherapy and ozone therapy of verrucous leukoplakia of the oral mucosa. *Clinical Dentistry (Russia)*. 2023; 26 (1): 60—67 (In Russ.). DOI: 10.37988/1811-153X_2023_1_60

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что лейкоплакия слизистой оболочки полости рта относится к факультативным предраковым заболеваниям, высокий риск малигнизации которой заставляет задуматься о действенных методах ее лечения. Подход к выбору лечения лейкоплакии должен быть комплексным, однако в случае веррукозной формы показана только радикальная терапия. Помимо традиционного хирургического вмешательства, на сегодняшний день особую популярность получают альтернативные методы, в том числе криохирургия [1—5].

После хирургического лечения возникает вопрос о послеоперационном ведении криораны, заживление которой во многом зависит от микробного пейзажа и иммунологических характеристик окружающих тканей, а также слюны и ротовой жидкости. Прямой предпосылкой для использования озонотерапии в послеоперационном периоде после криодеструкции веррукозной лейкоплакии является ее высокий окислительно-восстановительный потенциал, определяющийся противовоспалительными, обезболивающими свойствами, а также противомикробным эффектом [6—10].

Анализ основных микробиологических характеристик слюны позволяет заключить, что в норме слюна, секретруемая слюнными железами, является стерильной биологической жидкостью. Только попадая в ротовую полость, она смешивается с другими биологическими жидкостями и контактирует со слизистой оболочкой, которые имеют свой относительно стабильный микробиоценоз. В полости рта происходит непрерывное заселение микробами и самоочищение под влиянием лизоцима, ингибина и других факторов, вследствие чего формируется более или менее постоянная микрофлора,

наиболее частыми представителями которой являются стафилококки, стрептококки, лактобактерии, спирохеты, грибы рода *Candida*, простейшие и многие другие. Это позволяет говорить о микробиоценозе ротовой полости, нарушения которого приводят к развитию заболеваний, осложняют их течение и удлиняют период репарации тканей [11, 12].

Известно, что слюна обладает противомикробными, противовирусными и антимикотическими свойствами и представляет основной барьер для проникновения патогенных микроорганизмов в пищеварительный тракт. Антимикробные компоненты слюны, особенно лизоцим, секреторный IgA, подавляют адгезию посторонних микробов к эпителиоцитам. В то же время колонизации постоянной частью микрофлоры способствует фибронектин, покрывающий эпителиоциты слизистой оболочки [13, 14].

В течение длительного времени существовала устойчивая парадигма о микробном пейзаже условно-патогенных бактерий как о простой сумме этиологических агентов, вызвавших заболевание. В настоящее время весьма активно проводятся исследования различных типов взаимодействия бактерий друг с другом [15—18]. В некоторых исследованиях антагонистическую форму взаимодействия как борьбу за место адгезии и питания определяют бактериоцины. К мутуалистическим факторам относят включение микроорганизмов в общие питательные цепочки или взаимовыгодные отношения аэробных и анаэробных бактерий, когда первые, поглощая кислород, дают размножаться вторым [19—23]. Разработанные методы определения лизоцимной активности бактерий, резистентности условно-патогенных микроорганизмов к бактерицидной активности слюны (БАС) и модифицированная [24, 25] методика антиБАС

позволяют косвенно оценить интегральную способность микроорганизмов противостоять факторам защиты макроорганизма, а соответственно, и патогенность микроорганизмов.

На основе обширного клинического материала стало возможно проведение оценки взаимных влияний бесклеточных фильтратов суточной культуры условно-патогенных бактерий на антиБАС и скорость роста других условно-патогенных бактерий — участников смешанной инфекции слизистой оболочки полости рта при криолечении веррукозной лейкоплакии.

Цель исследования — оценить эффективность применения озонированного масла у пациентов с веррукозной лейкоплакией слизистой оболочки рта после криохирургического удаления очагов в сравнении с традиционным послеоперационным лечением.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено клиническое обследование 62 больных (33 женщины и 29 мужчин) от 30 до 75 лет с веррукозной формой лейкоплакии. После заключения онколога проводили криодеструкцию очага поражения жидким азотом автономными криоаппликаторами из пористого никелида титана. Пораженную часть слизистой оболочки полости рта замораживали при полном контакте рабочей части инструмента с ее поверхностью в течение 90 секунд.

В зависимости от послеоперационного ведения раны больных поделили на 2 равные группы:

- I — основная, пациентам которой после криодеструкции на рану наносили стандартизированное озонирован-**

ное оливковое масло с известным пероксидным числом ОТРИ 6000 на 15 мин, далее аппликации проводили 5 раз в сутки в течение 7 дней;

- II — сравнения, пациентам которой проводилось полоскание 0,06%-ным раствором хлоргексидина.**

Для оценки эффективности метода послеоперационного ведения раны выбрали показатель антиБАС.

Забор образцов ротовой жидкости производили в стерильные пробирки через 24 ч после оперативного вмешательства, на 3-и, 5-е и 7-е сутки. Для исследования антиБАС использовали суточные культуры микроорганизмов, выращенные на мясопептонном бульоне (МПБ): штаммы *Streptococcus pneumoniae* ATCC49619, *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Candida albicans* ATCC10231.

Оценку антиБАС проводили по модифицированной методике Керашевой и Рахтановой в планшетах на 96 лунок [24, 25]. В контрольный набор лунок вносили 180 мкл МПБ и 20 мкл суточной культуры исследуемого организма. В экспериментальные наборы лунок вносили 170 мкл МПБ, 10 мкл фильтрата слюны и 20 мкл суточной культуры микроорганизмов. Оптическую плотность измеряли на приборе Multiskan Ascent с интервалом 1 ч в течение 5 ч при длине волны 540 нм.

При статистической обработке данных для оценки типа распределения признаков использовали критерий Шапиро—Уилка. В случаях нормального распределения, а также равенства дисперсий для сравнения средних использовали *T*-критерий Стьюдента. Равенство дисперсий оценивали по *F*-критерию Фишера. В случае распределений, не соответствующих нормальному закону, а также

при неравенстве дисперсий, использовали непараметрический *U*-критерий Манна—Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$, где p — вероятность ошибки первого рода при проверке нулевой гипотезы. Во всех случаях использовали двусторонние варианты критериев. При сравнении нескольких групп между собой использовали поправку Бонферрони на множественность сравнений.

Таблица 1. Оптическая плотность фильтрата *Streptococcus pneumoniae* ATCC49619

Table 1. Optical density of *Streptococcus pneumoniae* filtrate ATCC49619

Срок, сутки	Время, ч	I группа (n=31)	II группа (n=31)	Контроль роста (n=31)	<i>p</i>	<i>p</i> ₁	<i>p</i> ₂
1	0	0,084±0,003	0,084±0,002	0,088±0,003	1,000	0,870	0,734
	1	0,084±0,002	0,088±0,004	0,094±0,004	0,598	0,053	0,763
	2	0,084±0,002	0,087±0,003	0,093±0,002	0,781	0,047	0,432
	3	0,086±0,002	0,093±0,003	0,105±0,006	0,132	0,002	0,257
3	0	0,081±0,002	0,087±0,003	0,092±0,003	0,214	0,060	0,717
	1	0,081±0,003	0,093±0,002	0,093±0,003	0,069	0,012	1,000
	2	0,082±0,003	0,090±0,003	0,100±0,005	0,161	0,020	0,223
	3	0,082±0,002	0,106±0,005	0,110±0,014	0,002	<0,001	0,991
5	0	0,084±0,001	0,082±0,001	0,093±0,005	0,371	0,654	0,020
	1	0,087±0,003	0,090±0,002	0,096±0,005	0,884	0,438	0,476
	2	0,089±0,002	0,089±0,006	0,093±0,002	1,000	0,903	0,617
	3	0,090±0,006	0,096±0,003	0,104±0,007	0,786	0,552	0,636
7	0	0,081±0,004	0,075±0,005	0,083±0,002	0,271	0,170	0,311
	1	0,082±0,002	0,087±0,003	0,091±0,003	0,200	0,077	0,786
	2	0,091±0,004	0,091±0,010	0,095±0,003	1,000	0,967	0,902
	3	0,092±0,002	0,095±0,003	0,099±0,003	0,802	0,767	0,812

Примечание. Статистическая значимость различий: *p* — между I и II группой; *p*₁ — между I группой и контролем, *p*₂ — между II группой и контролем.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В 1-е сутки заживления криораны оптическая плотность фильтратов (ОПФ) сразу после посева находилась на одном уровне в обеих исследуемых группах и составляла 0,084, т.е. практически не отличалась от контроля (табл. 1, рис. 1). Через 1 ч инкубации в I группе оптическая плотность не изменилась, в то время как во II группе и в контроле она увеличилась по сравнению с исходным уровнем и была выше, чем в I группе.

Через 2 ч эта тенденция сохранялась, а через 3 ч инкубации среднее значение ОПФ в основной группе было равно 0,086, что значимо ниже (на 21%), чем в контроле, и меньше по сравнению с группой сравнения. Аналогичная тенденция различий в ОПФ ротовой жидкости в группах с применением озонированного масла и без него отмечена на 3-и сутки заживления криораны. В течение всего периода инкубации фильтратов средние значения ОПФ в основной группе с озонотерапией изменялись незначительно — от 0,081 в исходной точке до 0,082 через 3 ч инкубации (рис. 2). Через 1, 2 и 3 ч инкубации показатель основной группы был достоверно ниже, чем в контроле. Во все периоды измерения ОПФ ее средние значения в группе без озона были выше, чем в основной группе пациентов с озонотерапией, но не достигали контрольных цифр.

Через 5 и 7 дней после инкубации была выявлена схожая динамика ОПФ ротовой жидкости исследуемых групп. Несмотря на то что в эти сроки не обнаружено достоверных различий, прослеживается аналогичный характер изменений. ОПФ в группе пациентов, которым проводили озонотерапию в послеоперационном периоде, во все точки измерения была ниже по сравнению и с группой сравнения (пациенты без озона), и с контрольными значениями.

В результате анализа изменений ОПФ *Escherichia coli* ATCC25922 выявлено их различное влияние

Таблица 2. Оптическая плотность фильтрата *Escherichia coli* ATCC25922

Table 2. Optical density of *Escherichia coli* filtrate ATCC25922

Срок, сутки	Время, ч	I группа (n=31)	II группа (n=31)	Контроль роста (n=31)	p	p ₁	p ₂
1	0	0,079±0,001	0,080±0,002	0,091±0,003	0,948	0,025	0,211
	1	0,081±0,001	0,082±0,002	0,097±0,003	0,981	0,001	0,021
	2	0,100±0,002	0,102±0,003	0,139±0,003	0,935	<0,001	<0,001
	3	0,169±0,005	0,173±0,014	0,226±0,008	0,986	<0,001	0,009
3	0	0,079±0,001	0,083±0,002	0,084±0,001	0,477	0,025	0,843
	1	0,081±0,002	0,087±0,004	0,091±0,002	0,434	0,001	0,428
	2	0,104±0,004	0,115±0,011	0,135±0,003	0,567	<0,001	0,096
	3	0,185±0,012	0,206±0,032	0,218±0,008	0,818	0,137	0,984
5	0	0,079±0,001	0,080±0,002	0,082±0,002	0,972	0,385	0,870
	1	0,082±0,001	0,083±0,002	0,088±0,002	0,999	0,016	0,177
	2	0,106±0,003	0,105±0,005	0,131±0,004	1,000	<0,001	0,009
	3	0,196±0,012	0,195±0,032	0,209±0,011	1,000	0,849	0,938
7	0	0,082±0,001	0,083±0,001	0,086±0,003	0,999	0,793	0,928
	1	0,083±0,002	0,085±0,001	0,093±0,003	0,865	0,005	0,180
	2	0,107±0,003	0,109±0,005	0,128±0,004	0,992	0,002	0,055
	3	0,198±0,010	0,203±0,018	0,205±0,007	0,997	0,955	0,998

Примечание. Статистическая значимость различий: p — между I и II группой; p₁ — между I группой и контролем, p₂ — между II группой и контролем.

на антиБАС пациентов в зависимости от метода послеоперационного лечения (табл. 2).

Через 24 ч после криодеструкции во всех временных точках измерения наблюдали значимые отличия показателей ОПФ слюны пациентов обеих групп по сравнению с контролем. При этом средние значения исследуемого параметра в I группе были лишь незначительно ниже, чем в группе сравнения. На 3-и сутки выявленная тенденция изменения ОПФ сохранялась (рис. 3).

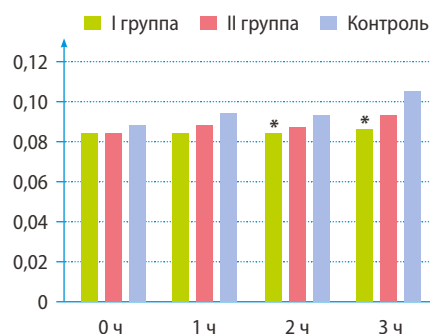


Рис. 1. Оптическая плотность фильтрата *Streptococcus pneumoniae* ATCC49619 на 1-е сутки после криодеструкции: * — статистически достоверно значимое отличие от контроля роста ($p < 0,05$)

Fig. 1. Optical density of filtrate *Streptococcus pneumoniae* ATCC49619 on the 1st day after cryodestruction: * — statistically significant difference from growth control ($p < 0,05$)

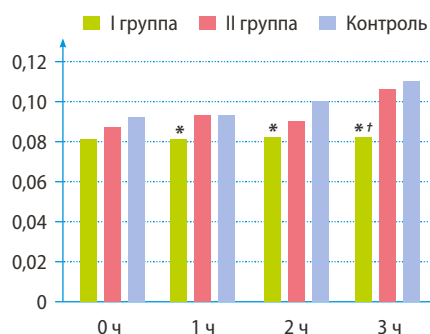


Рис. 2. Оптическая плотность фильтрата *Streptococcus pneumoniae* ATCC49619 на 3-и сутки после криодеструкции: * — достоверно значимое отличие от контроля роста ($p < 0,05$), † — достоверно значимое отличие от II группы ($p < 0,05$)

Fig. 2. Optical density of filtrate *Streptococcus pneumoniae* ATCC49619 on the 3rd day after cryodestruction: * — statistically significant difference from growth control ($p < 0,05$), † — statistically significant difference from group II ($p < 0,05$)

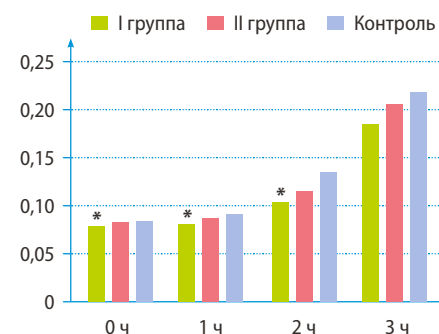


Рис. 3. Оптическая плотность фильтрата *Escherichia coli* ATCC25922 на 3-и сутки после криодеструкции: * — статистически достоверно значимое отличие от контроля роста ($p < 0,05$)

Fig. 3. Optical density of filtrate *Escherichia coli* ATCC25922 on the 3rd day after cryodestruction: * — statistically significant difference from growth control ($p < 0,05$)

Через 1 ч после инкубации фильтратов *Escherichia coli* ATCC25922 среднее значение показателя в I группе составляло 0,081 и было значимо ниже, чем соответствующий показатель в контроле. Кроме того, этот показатель был ниже и по сравнению со II группой, где ОПФ в среднем была равна 0,087, что сопоставимо с контрольными цифрами. Через 2 ч инкубации разница в ОПФ

в I и во II группе значимо увеличивалась, в то же время во II группе средний уровень ОПФ был выше, чем в I группе, но не достигал контрольных значений. Аналогичные изменения ОПФ прослеживались в следующей точке измерения через 3 ч инкубации фильтратов *Escherichia coli* ATCC25922.

Анализ ОПФ ротовой жидкости на 5-е и 7-е дни после криодеструкции очагов веррукозной лейкоплаки показал сходную тенденцию. Во всех временных точках измерения ОПФ на протяжении всего периода инкубации отмечали более низкие значения изучаемого параметра в I группе в послеоперационном периоде по сравнению с контролем. В то же время во II группе средние значения ОПФ были сопоставимы с аналогичными значениями основной группы и также были ниже, чем в контроле.

Анализ динамики ОПФ *Staphylococcus aureus* ATCC29213 в зависимости от способа послеоперационного ведения криораны отражен в табл. 3. Выявлены сходные изменения изучаемого параметра на 1-е, 3-и, 5-е и 7-е сутки после проведения криодеструкции. Средние значения ОПФ *Staphylococcus aureus* ATCC29213 в I и во II группах через 1 и 2 ч инкубации находились на одном уровне и были незначительно ниже контрольных цифр. Через 3 ч инкубации показатель ОПФ в I группе был значимо ниже по сравнению и с контрольной группой, и со II группой, где озон для обработки криораны не использовали (табл. 3).

Исследование изменений ОПФ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 показало значимые отличия I группы в течение всего периода наблюдения (табл. 4). Среднее значение ОПФ пациентов I группы на 3-и сутки применения озонированного масла было достоверно ниже, чем в контроле, и немного превышало соответствующий показатель II группы (рис. 4).

На 5-й и 7-й дни наблюдения в динамике ОПФ отмечена сходная тенденция: ее достоверно более высокие средние значения в I группе на протяжении всего периода инкубации фильтратов во все точки измерения. Кроме того, после 7-дневного курса применения озонированного масла на криорану значения ОПФ пациентов этой группы через 3 ч инкубации были достоверно ниже по сравнению как с контролем, так и со II группой

Таблица 3. Оптическая плотность фильтрата *Staphylococcus aureus* ATCC29213

Table 3. Optical density of *Staphylococcus aureus* filtrate ATCC29213

Срок, сутки	Время, ч	I группа (n=31)	II группа (n=31)	Контроль роста (n=31)	p	p ₁	p ₂
1	0	0,082±0,001	0,084±0,003	0,084±0,002	0,919	0,719	0,998
	1	0,085±0,001	0,088±0,002	0,093±0,009	0,487	0,815	0,927
	2	0,101±0,001	0,101±0,003	0,110±0,014	1,000	0,928	0,931
	3	0,143±0,004	0,167±0,006	0,170±0,005	0,020	0,001	0,983
3	0	0,085±0,002	0,082±0,001	0,085±0,001	0,578	0,996	0,129
	1	0,089±0,003	0,086±0,001	0,089±0,002	0,859	0,997	0,594
	2	0,102±0,004	0,103±0,002	0,106±0,004	0,998	0,805	0,935
	3	0,140±0,004	0,171±0,007	0,172±0,003	0,005	<0,001	0,994
5	0	0,082±0,001	0,082±0,001	0,083±0,001	1,000	0,851	0,929
	1	0,086±0,001	0,087±0,001	0,090±0,003	0,917	0,647	0,547
	2	0,099±0,002	0,102±0,001	0,105±0,003	0,560	0,338	0,607
	3	0,138±0,003	0,173±0,006	0,176±0,003	<0,001	<0,001	0,869
7	0	0,084±0,002	0,083±0,001	0,085±0,001	0,991	0,982	0,711
	1	0,086±0,001	0,089±0,002	0,088±0,001	0,402	0,789	0,823
	2	0,102±0,002	0,100±0,002	0,107±0,004	0,887	0,519	0,369
	3	0,136±0,003	0,169±0,004	0,173±0,003	<0,001	<0,001	0,898

Примечание. Статистическая значимость различий: p — между I и II группой; p₁ — между I группой и контролем, p₂ — между II группой и контролем.

Таблица 4. Оптическая плотность фильтрата *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853

Table 4. Optical density of *Pseudomonas aeruginosa* filtrate ATCC27853

Срок, сутки	Время, ч	I группа (n=31)	II группа (n=31)	Контроль роста (n=31)	p	p ₁	p ₂
1	0	0,091±0,002	0,094±0,004	0,101±0,004	0,855	0,052	0,629
	1	0,089±0,003	0,094±0,007	0,098±0,003	0,893	0,128	0,838
	2	0,093±0,002	0,095±0,004	0,100±0,002	0,986	0,125	0,501
	3	0,102±0,003	0,106±0,005	0,110±0,003	0,854	0,158	0,861
3	0	0,088±0,002	0,093±0,004	0,104±0,003	0,894	0,001	0,110
	1	0,088±0,002	0,090±0,004	0,104±0,003	0,984	0,001	0,034
	2	0,092±0,002	0,094±0,004	0,105±0,003	0,926	0,002	0,093
	3	0,099±0,002	0,103±0,003	0,115±0,004	0,786	0,002	0,181
5	0	0,090±0,002	0,088±0,002	0,105±0,003	0,503	0,009	0,003
	1	0,091±0,003	0,088±0,003	0,105±0,003	0,937	0,009	0,009
	2	0,092±0,003	0,095±0,003	0,102±0,002	0,919	0,067	0,160
	3	0,104±0,004	0,100±0,003	0,115±0,002	0,924	0,040	0,002
7	0	0,088±0,001	0,090±0,002	0,105±0,012	0,122	0,021	0,573
	1	0,088±0,001	0,095±0,011	0,102±0,003	0,678	0,023	0,992
	2	0,095±0,003	0,095±0,002	0,103±0,002	0,995	0,077	0,058
	3	0,100±0,001	0,110±0,003	0,119±0,002	0,035	0,001	0,160

Примечание. Статистическая значимость различий: p — между I и II группой; p₁ — между I группой и контролем, p₂ — между II группой и контролем.

(рис. 5). В результате анализа ОПФ *Candida albicans* ATCC10231 выявлены небольшие отличия во влиянии фильтратов штаммов исследуемого микроорганизма на антиБАС в разных группах пациентов на различных этапах заживления криораны (табл. 5).

Во все временные отрезки средние значения ОПФ находились в пределах от 0,063 до 0,065 и были сопоставимы в I и во II группе, практически не отличаясь от контроля. В течение 3 ч инкубации отмечены схожие изменения изучаемого параметра, однако на всех этапах забор слюны у пациентов I группы ОПФ была ниже, чем в контроле.

ОБСУЖДЕНИЕ

Криодеструкция очагов веррукозной лейкоплакии, являясь одним из вариантов хирургического лечения, позволяет снизить риск малигнизации и стимулировать регенерацию слизистой оболочки рта [1, 3]. Известно применение местной озонотерапии в комплексном лечении заболеваний слизистой полости рта, что определяется противовоспалительным, обезболивающим и противомикробным эффектами озона [6, 7]. Это позволяет обосновать назначение аппликаций озонированного оливкового масла в послеоперационном периоде для предупреждения инфицирования и стимуляции процессов заживления.

Проведенное исследование подтверждает, что за счет своего высокого окислительно-восстановительного потенциала озон обладает мощным антисептическим эффектом. В частности, отмечено его антибактериальное действие на различные штаммы условно-патогенной микрофлоры полости рта, в том числе на такие устойчивые, как *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Candida albicans*. Кроме того, местное применение озонированного оливкового масла обосновано в связи с его пролонгированным эффектом за счет постепенного высвобождения озона [9], что и доказывает проведенное исследование.

Во то же время озон не разрушает ткани человека, поскольку они, в отличие от микроорганизмов, обладают механизмами антиоксидантной защиты [9, 11], а также способствует активации репаративных процессов

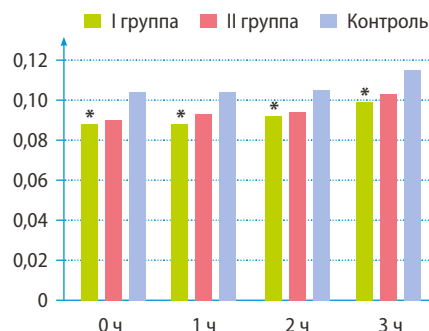


Рис. 4. Оптическая плотность фильтрата *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 на 3-и сутки после криодеструкции: * — статистически достоверно значимое отличие от контроля роста ($p < 0,05$)

Fig. 4. Optical density of filtrate *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 on the 3rd day after cryodestruction: * — statistically significant difference from growth control ($p < 0.05$)

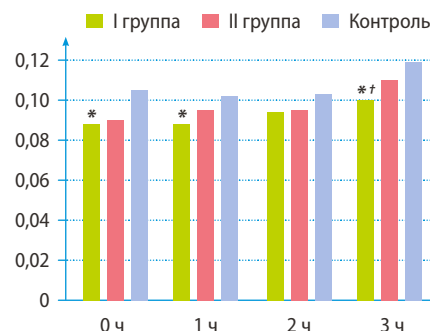


Рис. 5. Оптическая плотность фильтрата *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 на 7-е сутки после криодеструкции: * — статистически достоверно значимое отличие от контроля роста ($p < 0,05$), † — статистически достоверно значимое отличие от II группы ($p < 0,05$)

Fig. 5. Optical density of filtrate *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 on the 7th day after cryodestruction: * — statistically significant difference from growth control ($p < 0.05$), † — statistically significant difference from group II ($p < 0.05$)

Таблица 5. Оптическая плотность фильтрата *Candida albicans* ATCC10231

Table 5. Optical density of *Candida albicans* filtrate ATCC10231

Срок, сутки	Время, ч	I группа (n=31)	II группа (n=31)	Контроль роста (n=31)	p	p ₁	p ₂
1	0	0,064±0,001	0,064±0,001	0,065±0,001	0,757	0,757	1,000
	1	0,064±0,001	0,064±0,001	0,065±0,001	0,986	0,986	1,000
	2	0,065±0,001	0,065±0,001	0,065±0,001	1,000	1,000	1,000
	3	0,065±0,001	0,067±0,001	0,067±0,001	0,508	0,673	1,000
3	0	0,063±0,001	0,064±0,001	0,064±0,001	0,825	0,825	1,000
	1	0,063±0,001	0,064±0,001	0,064±0,001	0,831	0,831	1,000
	2	0,064±0,001	0,064±0,001	0,065±0,001	1,000	0,936	0,936
	3	0,065±0,001	0,065±0,001	0,066±0,001	1,000	0,988	0,847
5	0	0,064±0,001	0,064±0,001	0,065±0,001	1,000	0,893	0,945
	1	0,064±0,002	0,064±0,001	0,065±0,001	1,000	0,945	0,945
	2	0,066±0,001	0,066±0,002	0,066±0,001	1,000	1,000	1,000
	3	0,066±0,002	0,067±0,001	0,067±0,001	1,000	0,990	0,990
7	0	0,064±0,001	0,065±0,001	0,065±0,001	0,833	0,987	1,000
	1	0,064±0,003	0,065±0,001	0,065±0,001	0,723	0,590	1,000
	2	0,064±0,002	0,065±0,001	0,066±0,001	0,773	0,586	0,876
	3	0,065±0,001	0,066±0,001	0,068±0,001	0,876	0,135	0,430

Примечание. Статистическая значимость различий: p — между I и II группой; p₁ — между I группой и контролем, p₂ — между II группой и контролем.

и ликвидации воспалительных явлений [8, 10]. Это позволяет рекомендовать аппликации озонированного оливкового масла после криодеструкции веррукозной лейкоплакии слизистой оболочки полости рта.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, анализ динамики оптической плотности бесклеточных фильтратов суточных культур условно-патогенных штаммов *Streptococcus pneumoniae* ATCC49619, *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus*

aureus ATCC29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Candida albicans* ATCC10231 показал различное влияние бактерицидной активности слюны на исследуемые микроорганизмы в группах пациентов на этапах заживления криораны в зависимости от метода послеоперационного лечения. Выявленные колебания оптической плотности в динамике свидетельствуют об изменении антибактерицидной активности слюны с течением времени. Так, более низкие цифры оптической плотности в группе с озонотерапией в различные временные точки изменения на протяжении 1, 3, 5 и 7 дней заживления криораны свидетельствуют о более высокой БАС. Тенденция к меньшей оптической плотности по сравнению с контролем и с группой сравнения на протяжении всего периода инкубации подтверждают сохранение более

выраженного антибактериального эффекта слюны под действием озонированного масла в течение 3 ч после аппликации по сравнению с раствором хлоргексидина. Полученные результаты позволяют обосновать пролонгированный антисептический эффект озонированного оливкового масла в комплексном ведении криораны после криодеструкции веррукозной лейкоплакии слизистой оболочки рта.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 28.12.2023 **Принята в печать:** 27.01.2023

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.
Received: 28.12.2023 **Accepted:** 27.01.2023

ЛИТЕРАТУРА:

1. Рабинович О.Ф., Рабинович И.М., Семкин В.А., Абрамова Е.С., Умарова К.В., Агапитова Л.П., Безруков А.А. Оценка эффективности комплексного лечения пациентов с веррукозной формой лейкоплакии слизистой оболочки рта. — *Клиническая стоматология*. — 2016; 1 (77): 32—35 [eLibrary ID: 25718063](#)
2. Базикян Э.А., Клиновская А.С., Ильина М.А., Чунихин А.А. Систематический обзор применения методов хирургического лечения лейкоплакии слизистой оболочки полости рта. — *Российская стоматология*. — 2022; 1: 38—40 [eLibrary ID: 48470538](#)
3. Токмакова С.И., Бондаренко О.В., Улько Т.Н. Структура, диагностика, клинические особенности заболеваний слизистой оболочки полости рта и современные технологии комплексного лечения. — *Бюллетень медицинской науки*. — 2017; 1 (5): 90—92. [eLibrary ID: 30450454](#)
4. Ивина А.А., Родионов В.Э., Бабиченко И.И. Клинико-морфологические особенности лейкоплакии слизистой оболочки рта. — *Архив патологии*. — 2020; 4: 79—83 [eLibrary ID: 43175507](#)
5. Ивина А.А., Семкин В.А., Рабинович О.Ф., Бабиченко И.И. К вопросу о злокачественном потенциале пролиферирующей веррукозной лейкоплакии. — *Архив патологии*. — 2020; 3: 13—17 [eLibrary ID: 43028968](#)
6. Makeeva M.K. Применение озона в комплексном лечении стоматологических заболеваний. — *Cathedra — Кафедра. Стоматологическое образование*. — 2014; 47: 52—54 [eLibrary ID: 22991459](#)
7. Токмакова С.И., Бондаренко О.В., Шилова Ю.Н. Оценка эффективности применения местной озонотерапии после криодеструкции очагов веррукозной лейкоплакии слизистой оболочки полости рта. — *Российский онкологический журнал*. — 2017; 4: 184—187 [eLibrary ID: 30032305](#)
8. Галиева Н.В., Фазылов В.Х., Чижова М.А. Физико-химические свойства озона и его применение в медицине (клинико-экспериментальное обоснование). — *Вестник Технологического университета*. — 2016; 17: 172—175 [eLibrary ID: 27193242](#)
9. Григорьян А.С., Григорьянц Д.А., Гучетль М.Н. Экспериментально-морфологическое исследование противовоспалительного действия аппликаций комплекса озон—перфторан. — *Стоматология*. — 2008; 2: 4—9 [eLibrary ID: 11517378](#)
10. Грудянов А.И., Makeeva M.K. Применение озона при лечении кариеса. — *Стоматология*. — 2011; 5: 73—75 [eLibrary ID: 18124404](#)

REFERENCES:

1. Rabinovich O.F., Rabinovich I.M., Semkin V.A., Abramova E.S., Umarova K.V., Agapitova L.P., Bezrukov A.A. Evaluating the effectiveness of complex treatment of patients with verrucous leukoplakia of the oral mucosa. *Clinical Dentistry (Russia)*. 2016; 1 (77): 32—35 (In Russ.). [eLibrary ID: 25718063](#)
2. Bazikyan E.A., Kalinovskaya A.S., Ilyina M.A., Chunikhin A.A. A systematic review of the use of surgical methods for the treatment of leukoplakia of the oral mucosa. *Russian Stomatology*. 2022; 1: 38—40 (In Russ.). [eLibrary ID: 48470538](#)
3. Tokmakova S.I., Bondarenko O.V., Ulko T.N. The structure, diagnosis, clinical features of oral mucosa diseases and modern technologies of combination therapy. *Bulletin of Medical Science*. 2017; 1 (5): 90—92 (In Russ.).
4. Ivina A.A., Rodionov V.E., Babichenko I.I. Clinical and morphological features of oral leukoplakia. *Archive of Pathology*. 2020; 4: 79—83 (In Russ.). [eLibrary ID: 43175507](#)
5. Ivina A.A., Semkin V.A., Rabinovich O.F., Babichenko I.I. To the question of proliferative verrucous leukoplakia malignant potential. *Archive of Pathology*. 2020; 3: 13—17 (In Russ.). [eLibrary ID: 43028968](#)
6. Makeeva M. The use of ozone in the complex treatment of dental diseases. *Cathedra. Dental education*. 2014; 47: 52—54 (In Russ.). [eLibrary ID: 22991459](#)
7. Tokmakova S.I., Bondarenko O.V., Shilova J.N. The evaluation of the effectiveness of local application of ozone therapy following cryotherapy of lesions of verrucous leukoplakia of the oral mucous membrane. *Russian Journal of Oncology*. 2017; 4: 184—187 (In Russ.). [eLibrary ID: 30032305](#)
8. Galeeva N.V., Fazylov V.H., Chizhova M.A. Physico-chemical properties of ozone and its application in medicine (clinical and experimental substantiation). *Bulletin of the Technological University*. 2016; 17: 172—175 (In Russ.). [eLibrary ID: 27193242](#)
9. Grigoryan A.S., Grigoryants D.A., Guchetl N.M. Experimental-morphological study of the anti-inflammatory action of ozone-perfluorane complex application. *Stomatology*. 2008; 2: 4—9 (In Russ.). [eLibrary ID: 11517378](#)
10. Grudyanov A.I., Makeeva M.K. Using ozone for dental caries treatment. *Stomatology*. 2011; 5: 73—75 (In Russ.). [eLibrary ID: 18124404](#)

11. Грохотов И.О., Орешака О.В., Звездкина Г.С. Изучение влияния локальной озонотерапии на ткани пародонта у пациентов, пользующихся съемными протезами. — *Пародонтология*. — 2013; 4 (69): 64—67 [eLibrary ID: 21458997](#)
12. Кочергин В.Н. Сравнительный анализ состава слюны и основных характеристик ротовой полости пациентов с кариесом и природной санацией. — *Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки*. — 2020; 3—2: 97—102 [eLibrary ID: 43043518](#)
13. Жаркова М.С., Макарова Т.О., Орлов Д.С., Копейкин П.М., Орлов С.Б., Шамова О.В. Совместное антибактериальное действие in vitro пролин-богатого пептида слюны человека P-F (43—61) и катионных антимикробных пептидов. — *Современные проблемы науки и образования*. — 2018; 6: 64 [eLibrary ID: 36870945](#)
14. Хиштова Н.С. Сравнение антибактерицидной активности E. coli M-17 из препарата колибактерин и культур бактерий, выделенных при дисбактериозе. — *Кубанский научный медицинский вестник*. — 2006; 11: 52—53 [eLibrary ID: 9320179](#)
15. Сухина М.А., Чистякова Д.А. Применение бактериоцинов лактобактерий для борьбы с полирезистентными штаммами микроорганизмов. — *Russian Journal of Environmental and Rehabilitation Medicine*. — 2022; 3: 37—47 [eLibrary ID: 50032997](#)
16. Chow J., Lee S.M., Shen Y., Khosravi A., Mazmanian S.K. Host-bacterial symbiosis in health and disease. — *Adv Immunol*. — 2010; 107: 243—74. [PMID: 21034976](#)
17. Avila M., Ojcius D.M., Yilmaz O. The oral microbiota: living with a permanent guest. — *DNA Cell Biol*. — 2009; 28 (8): 405—11. [PMID: 19485767](#)
18. Miller M.B., Bassler B.L. Quorum sensing in bacteria. — *Annu Rev Microbiol*. — 2001; 55: 165—99. [PMID: 11544353](#)
19. Yang S.C., Lin C.H., Sung C.T., Fang J.Y. Antibacterial activities of bacteriocins: application in foods and pharmaceuticals. — *Front Microbiol*. — 2014; 5: 241. [PMID: 24904554](#)
20. Grandclément C., Tannières M., Moréra S., Dessaux Y., Faure D. Quorum quenching: role in nature and applied developments. — *FEMS Microbiol Rev*. — 2016; 40 (1): 86—116. [PMID: 26432822](#)
21. Reina J.C., Pérez-Victoria I., Martín J., Llamas I. A Quorum-sensing inhibitor strain of vibrio alginolyticus blocks Qs-controlled phenotypes in Chromobacterium violaceum and Pseudomonas aeruginosa. — *Mar Drugs*. — 2019; 17 (9): 494. [PMID: 31450549](#)
22. Vadakkan K., Choudhury A.A., Gunasekaran R., Hemapriya J., Vijayanand S. Quorum sensing intervened bacterial signaling: Pursuit of its cognizance and repression. — *J Genet Eng Biotechnol*. — 2018; 16 (2): 239—252. [PMID: 30733731](#)
23. Berlanga M., Guerrero R. Living together in biofilms: the microbial cell factory and its biotechnological implications. — *Microb Cell Fact*. — 2016; 15 (1): 165. [PMID: 27716327](#)
24. Прокулевич В.А., Зайцева А.В., Дремач Г.Э., Зайцева В.В. Влияние препарата «Энрофлоксаветферон-Б» на бактерицидную и лизоцимную активность сыворотки крови и фагоцитарную активность нейтрофилов. — *Ученые записки Витебской академии ветеринарной медицины*. — 2018; 3: 30—36 [eLibrary ID: 36290603](#)
25. Карабасова Е.Б. Влияние плазмафереза и лазерного воздействия на состояние микрофлоры мочи при хроническом пиелонефрите: автореф. дис. ... к.б.н. — Барнаул, 1997. — 19 с. [eLibrary ID: 30111584](#)
11. Grokhotov I.O., Oreshaka O.V. Modification of periodontal tissue's condition by local ozone therapy in patients using removable dentures. *Parodontologiya*. 2013; 4 (69): 64—67 (In Russ.). [eLibrary ID: 21458997](#)
12. Kochergin V.N. Comparative analysis of the composition of salivary and main characteristics of the oral cavity of patients with caries and natural sanitation. *Modern Science: Actual Problems of Theory and Practice. Series: Natural and Technical Sciences*. 2020; 3—2: 97—102 (In Russ.). [eLibrary ID: 43043518](#)
13. Zharkova M.S., Makarova T.O., Orlov D.S., Kopeykin P.M., Orlov S.B., Shamova O.V. Combined antibacterial effect in vitro of human salivary proline-rich peptide P-F (43—61) and cationic antimicrobial peptides. *Modern Problems of Science and Education*. 2018; 6: 64 (In Russ.). [eLibrary ID: 36870945](#)
14. Hishtova N.S. Comparative of antibactericidae activity of e. Coli m-17 strain of colibacterin preparations and cultures of bacteria allocated at dysbacteriosis. *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2006; 11: 52—53 (In Russ.). [eLibrary ID: 9320179](#)
15. Sukhina M.A., Chistyakova D.A. The use of lactobacillus bacteriocins to control multiresistant strains of microorganisms. *Russian Journal of Environmental and Rehabilitation Medicine*. 2022; 3: 37—47 (In Russ.). [eLibrary ID: 50032997](#)
16. Chow J., Lee S.M., Shen Y., Khosravi A., Mazmanian S.K. Host-bacterial symbiosis in health and disease. *Adv Immunol*. 2010; 107: 243—74. [PMID: 21034976](#)
17. Avila M., Ojcius D.M., Yilmaz O. The oral microbiota: living with a permanent guest. *DNA Cell Biol*. 2009; 28 (8): 405—11. [PMID: 19485767](#)
18. Miller M.B., Bassler B.L. Quorum sensing in bacteria. *Annu Rev Microbiol*. 2001; 55: 165—99. [PMID: 11544353](#)
19. Yang S.C., Lin C.H., Sung C.T., Fang J.Y. Antibacterial activities of bacteriocins: application in foods and pharmaceuticals. *Front Microbiol*. 2014; 5: 241. [PMID: 24904554](#)
20. Grandclément C., Tannières M., Moréra S., Dessaux Y., Faure D. Quorum quenching: role in nature and applied developments. *FEMS Microbiol Rev*. 2016; 40 (1): 86—116. [PMID: 26432822](#)
21. Reina J.C., Pérez-Victoria I., Martín J., Llamas I. A Quorum-sensing inhibitor strain of vibrio alginolyticus blocks Qs-controlled phenotypes in Chromobacterium violaceum and Pseudomonas aeruginosa. *Mar Drugs*. 2019; 17 (9): 494. [PMID: 31450549](#)
22. Vadakkan K., Choudhury A.A., Gunasekaran R., Hemapriya J., Vijayanand S. Quorum sensing intervened bacterial signaling: Pursuit of its cognizance and repression. *J Genet Eng Biotechnol*. 2018; 16 (2): 239—252. [PMID: 30733731](#)
23. Berlanga M., Guerrero R. Living together in biofilms: the microbial cell factory and its biotechnological implications. *Microb Cell Fact*. 2016; 15 (1): 165. [PMID: 27716327](#)
24. Prakulevich U.A., Zaitsava A.U., Dremach H.E., Zaitsava V.U. The effect of the medicine “Enrofloxavetferon-B” on the bactericidal and lysozyme activity of blood serum and the phagocytic activity of neutrophils. *Transactions of the Vitebsk State Veterinary Academy*. 2018; 3: 30—36 (In Russ.). [eLibrary ID: 36290603](#)
25. Karabasova E.B. The effect of plasmapheresis and laser exposure on the state of urine microflora in chronic pyelonephritis: master's thesis abstract. Barnaul, 1997. 19 p. (In Russ.). [eLibrary ID: 30111584](#)