

4. Доменюк Д. А. Оптимизация диагностики кариеса зубов у пациентов с зубочелюстными аномалиями на основе выявления прогностических факторов (часть II) / Д. А. Доменюк, Б. Н. Давыдов, А. Г. Карслиева // Институт стоматологии. – 2014. – № 4 (65). – С. 36–38.
5. Доменюк Д. А. Оценка корреляционных связей между электролитным составом и показателями местного иммунитета смешанной слюны у пациентов с аномалиями зубочелюстной системы (часть I) / Д. А. Доменюк, А. Г. Карслиева // Институт стоматологии. – 2014. – № 2 (63). – С. 66–68.
6. Доменюк Д. А. Оценка корреляционных связей между электролитным составом и показателями местного иммунитета смешанной слюны у пациентов с аномалиями зубочелюстной системы (часть II) / Д. А. Доменюк, А. Г. Карслиева // Институт стоматологии. – 2014. – № 3 (64). – С. 63–66.
7. Доменюк Д. А. Применение молекулярно-генетического метода для определения интенсивности морфофункциональных изменений у пациентов с зубочелюстной патологией (часть I) / Д. А. Доменюк, Б. Н. Давыдов, А. Г. Карслиева // Институт стоматологии. – 2014. – № 3 (64). – С. 78–80.
8. Доменюк Д. А. Применение молекулярно-генетического метода для определения интенсивности морфофункциональных изменений у пациентов с зубочелюстной патологией (часть II) / Д. А. Доменюк, Б. Н. Давыдов, А. Г. Карслиева // Институт стоматологии. – 2014. – № 4 (65). – С. 33–35.
9. Персин Л. С. Стоматология детского возраста / Л. С. Персин, В. М. Елизарова, С. В. Дьякова // Учебная литература для медицинских вузов. Изд. 5-е, перераб. и доп. – М.: «Медицина», 2006. – 640 с.
10. Хорошилкина Ф. Я. Руководство по ортодонтии. – М.: Медицина, 2011. – 221 с.
11. Angle E. H. Treatment of malocclusion of the teeth. – Philadelphia: S. S. White Dental Mfg. Co, 1907.
12. Black G. V. Descriptive anatomy of the human teeth. – Philadelphia: S. S. White Dental Mfg. Co, 1902. – P. 130–152.
13. Bonwill W. G. A. Geometrical and mechanical laws of articulation // Tr. odont. soc. pen. – 1884–1885. – P. 119–133.
14. Boone G. N. Archwires designed for individual patients // Angle orthod. – 1963. – V. 33. – P. 178–185.
15. Broomell I. N. Anatomy and histology of the mouth and teeth. – P. Blakiston's Son & Co, 1902. – P. 99.
16. Chuck G. C. Ideal arch form // Angle orthod. – 1934. – V. 4. – P. 312–327.
17. Hawley C. A. Determination of the normal arch and its application to orthodontia // Dental cosmos. – 1935. – V. 47. – P. 541–552.
18. MacConaill M. A., Scher E. A. The ideal form of the human dental arcade, with some prosthetic application / 7 D. record. – 1949. – V. 69. – P. 285–302.
19. Musich D. R., Ackerman J. L. The cantenometer, a reliable device for estimating dental arch perimeter // Amer. j. orthod. – 1973. – V. 63. – P. 366–375.
20. Remsen W. M. Coordinated arches: an investigation into the form and interrelationship of orthodontic arch wires. – Master's Thesis, Temple university school of dentistry. – 1964. – P. 27–29.
21. Scott J. H. The shape of dental arches // Journal of dental reseach. – 1957. – № 36. – P. 996–1003.
22. Stanton F. L. Arch predetermination and a method of relating the predetermined arch to the malocclusion to show the minimum tooth movement. // Int. j. orthodontia. – 1922. – V 8. – P. 757–778.
23. Wheeler R. C. A textbook of dental anatomy and physiology. – Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1950. – P. 196–215, 352–406.

Поступила 17.01.2015

**В. А. ЗАБОРОВА¹, В. Г. АРЗУМАНЯН², Т. А. АРТЕМЬЕВА²,
Л. М. БУТОВЧЕНКО², К. Г. ГУРЕВИЧ³, М. В. ИВКИНА³**

МЕТОД ОЦЕНКИ МИКРОБИОЦЕНОЗА КОЖИ У СПОРТСМЕНОВ

¹Кафедра лечебной физкультуры и спортивной медицины

Первого МГМУ имени И. М. Сеченова,

Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8, строение 2. E-mail: vaz111v@gmail.com;

²лаборатория физиологии грибов и бактерий ФГБУ НИИ вакцин и сывороток

имени И. И. Мечникова РАН,

Россия, 105064, г. Москва, Малый Казённый переулок, 5а. E-mail: veraar@mail.ru;

³кафедра ЮНЕСКО «Здоровый образ жизни — залог успешного развития»

ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет

им. А. И. Евдокимова» МЗ РФ,

Россия, 127473, г. Москва, ул. Делегатская, 20/1. E-mail: kgurevich@mail.ru

Профессиональные спортсмены представляют собой уникальную группу дерматологических пациентов, поскольку на протяжении спортивной карьеры практически все из них сталкиваются с кожными проблемами. Известно, что при развитии кожных болезней, в первую очередь бактериальной и грибковой природы, отмечается снижение уровня спортивных результатов у профессиональных спортсменов. В связи с этим возникает необходимость

своевременной диагностики состояния микробиоценоза кожи спортсменов. Нами был усовершенствован метод, который позволяет определять количественный и качественный состав наиболее представленных групп микробного сообщества, населяющих кожу.

Ключевые слова: микробиоценоз кожи, спортсмены, стафилококки, *Malassezia*.

**V. A. ZABOROVA¹, V. G. ARZUMANYAN², T. A. ARTEMYEVA²,
L. M. BUTOVCHENKO², K. G. GUREVICH³, M. V. IVKINA³**

METHOD FOR EVALUATING SKIN MICROBIOCENOSIS IN ATHLETES

¹*Chair of physical therapy and sports medicine, sechenov first Moscow state medical university, Russia, 119991, Moscow, Trubetskaya str., 8, building 2. E-mail: vaz111v@gmail.com;*

²*laboratory of fungal and bacterial physiology, Mechnikov research institute of vaccines and serums, Russian academy of medical sciences,*

Russia, 105064, Moscow, Small Breech lane, 5a. E-mail: veraar@mail.ru;

³*UNESCO chair healthy lifestyle is the key to successful development,*

Moscow state university of medicine and stomatology,

Russia, 127473, Moscow, street Delegatskaja, 20/1. E-mail: kgurevich@mail.ru

Professional athletes represent a unique group of dermatological patients, since practically all of them, over the whole length of their sport career, encounter dermatological problems. It is known that in the case of origination of dermatological diseases, mainly of bacterial and fungal nature, the sport results level of professional athletes is known to decrease. In this connection, the need arises in a well-timed diagnosis of the athletes' skin microbiocenosis condition. We have improved a method that enables to determine the quantitative and qualitative composition of the mostly represented groups of the microbial population inhabiting the skin.

Key words: skin microbiocenosis, athletes, staphylococci, *Malassezia*.

Введение

Занятия спортом способны оказывать как положительное, так и негативное действие на организм человека. Это касается состояния сердечно-сосудистой системы, опорно-двигательного аппарата и кожных покровов. Профессиональные спортсмены представляют собой уникальную группу дерматологических пациентов, поскольку на протяжении спортивной карьеры практически все из них сталкиваются с кожными проблемами [5].

В то же время состояние защитной функции кожи может указывать на общую реактивность человека. При чрезмерных тренировочных нагрузках отмечается появление на коже штаммов микроорганизмов с признаками патогенности [3].

В литературе описано снижение уровня спортивных результатов у профессиональных спортсменов при развитии кожных болезней, в первую очередь бактериальной и грибковой природы. В связи с этим возникает необходимость своевременной диагностики состояния микробиоценоза кожи спортсменов и проведения различного рода профилактических мероприятий [4].

Основными группами микроорганизмов, живущих на коже человека, в норме являются бактерии родов *Propionibacterium* и *Staphylococcus*, а также дрожжи рода *Malassezia*. Исследования

последних лет были сосредоточены на выяснении роли этих групп микроорганизмов при наиболее распространенных и ассоциированных с ними дерматозах. Параллельно изучали группы клинически здоровых людей, однако на спортсменах подобных исследований не проводилось [2].

Дрожжи *Malassezia* встречаются у большинства здоровых взрослых людей и выполняют защитную функцию в отношении организма хозяина путем выделения антагонистических токсинов, препятствующих росту других грибов. Однако при воздействии неблагоприятных факторов извне или при снижении местного иммунитета носителя их численность значительно увеличивается. При ряде дерматозов численность дрожжей рода *Malassezia* увеличивается по сравнению с нормой, в то время как видовой состав этих микроорганизмов практически не связан с патологией. В нашей стране наиболее распространенным видом является *M. sympodialis*.

Стафилококки видов *S. epidermidis* наиболее часто встречаются на коже здоровых людей, тогда как наличие *S. aureus* и *S. haemolyticus* отмечено у большинства носителей с различными дерматозами. Обсемененность стафилококками также имеет значение: чем выше данный показатель, тем ближе к патологическому состоянию находится носитель.

Пропионовые бактерии являются наиболее многочисленными обитателями кожи. Считают, что на коже человека обитают в основном виды *P. asne*, *P. granulosum* и *P. avidum*. Количественный учет пропионовых бактерий весьма затруднен из-за их способности к росту в виде агломератов: группа в несколько сот бактерий в результате посева на плотную питательную среду дает одну колониобразующую единицу. В то же время учет обсемененности очень важен для оценки взаимосвязи между наличием патологического процесса и данным видом пропионовых бактерий.

Методы посева микроорганизмов с поверхности кожи сводятся к следующим: методы отпечатков, методы биопсии и методы смывов [1].

Материалы и методы исследования

Нами был усовершенствован метод, который позволяет определять количественный и качественный составы наиболее представленных групп микробного сообщества, населяющих кожу. Метод реализуется путем использования ранее не применявшихся с данной целью бакпечаток – пластиковых стерильных контейнеров, содержащих селективные среды и имеющих определенную площадь. Прикладывая агаровый слой бакпечатки к поверхности кожи на 20 секунд, мы засеваем его стафилококками, после чего помещаем в термостат и через несколько часов учитываем выросшие колонии. Нами были разработаны нормы высева для данного способа посева.

Мы установили, что данный способ хорошо подходит для посевов стафилококков и нелипофильных дрожжей, но недостаточен для учета *Malassezia* и пропионовых бактерий, поскольку эти микроорганизмы сильно связаны с поверхностью кожи и могут быть собраны лишь с использованием щелочного буферного раствора. Аналогичный способ посева был предложен в отношении дрожжей рода *Malassezia*. Однако он предполагал использование в качестве детергента тритона X-100, который вызывает частичный лизис пропионовых бактерий [6].

Нами было проведено усовершенствование способа количественного и качественного учета стафилококков, пропионовых бактерий и дрожжей *Malassezia*, при котором получаемое количество микроорганизмов было бы близко к реальному, что очень важно, поскольку оно является показателем благополучия данной экосистемы.

Указанная задача решается способом, заключающимся в том, что производятся забор кожной микрофлоры методом смыва буферным раствором, содержащим детергент твин 80, и обработка полученного образца дитиотрейтолом с целью

диссипации агломератов клеток пропионовых бактерий.

Методика состоит из 3 этапов.

1-й этап – получение кожного смыва. Смыв проводили по методу Korting в собственной модификации. Модификация метода заключалась в применении метода Korting к другим микроорганизмам, кроме *Malassezia*, а также в использовании дитиотрейтола для диссипации скоплений клеток пропионовых бактерий и детергента твин 80 вместо тритона X-100.

Стеклянное кольцо диаметром 24 мм прижималось к горизонтально расположенной поверхности кожи, и в него вносилось 1 мл буферного раствора, содержащего 0,1 М фосфата калия и 1% твина 80, pH 7,9. Кожа растиралась стерильным ватным тампоном в течение 1 минуты, с охватом всей поверхности внутри кольца. Затем полученная суспензия вносилась самплером в пробирку, и к ней добавлялся порошок дитиотрейтола (примерно 20–30 мг) для отделения пропионовых бактерий друг от друга и от кератиноцитов. Смесь оставлялась на 30 минут при 27 градусах.

2-й этап – посев на селективные среды.

А. Посев на стафилококки

При большой обсемененности (мутный образец) на малую чашку Петри с желточно-солевым агаром (среда ЖСА) засевалось 20 мкл образца, разведенного в 10 раз. При небольшой обсемененности (почти прозрачный образец) засевалось 20 мкл неразведенного образца. Чашку инкубировали 24 часа при 37 градусах до появления колоний, которые микроскопировались. Число выросших колоний умножалось на 50 (если образец не разведен) и делилось на 4,5 (площадь кольца), в итоге получалось количество колониобразующих единиц на 1 см².

Б. Посев на пропионовые бактерии

При большой обсемененности на малую чашку Петри засевалось 20 мкл на среду, содержащую в 100 мл воды 1 г казеиновых кислот, 0,5 г дрожжевого экстракта, 2,5 мл 40%-ного лактата натрия, 2 г агара и 20 мкл раствора фуразолидона в димексиде (10 мг/мл). При более прозрачном образце на ту же среду засевалось 100 мкл. Чашка помещалась в анаэроостат в атмосферу 80% CO₂ в воздухе и инкубировалась 3–5 суток при 32 градусах до появления белых полупрозрачных колоний. Типичные колонии микроскопировались, обнаруживая полиморфные мелкие палочки. Подсчет КОЕ аналогичный. Если колоний мало, то их рассеивали штрихом на той же чашке для увеличения объема материала.

В. Посев на дрожжи *Malassezia*

100 мкл образца засеивали на малую чашку Петри, содержащую среду Диксона. Чашку инкубировали при 32 градусах в течение 2–5 суток до

Посев микроорганизмов методом смывов с кожи у спортсменов

Показатель	Футболисты, n=23	Пловцы, n=12	Ватерполисты, n=9	Синхронисты, n=9
Встречаемость стафилококков (%)	100	83,3	100	100
Обсемененность стафилококками (КОЕ/кв. см)	2725±2017	1053±1638	1996±2254	17±14
Встречаемость золотистого стафилококка (%)	21,7	50,0	44,4	44,4
Встречаемость грибов Malassezia (%)	73,9	33,3	33,3	0
Обсемененность грибами Malassezia (КОЕ/кв. см)	82±112	110±177	56±85	0

появления плотных пастообразных кремовых колоний. Культуру микроскопировали для установления наличия типичных клеток дрожжей рода *Malassezia*.

3-й этап – проведение идентификации.

А. Идентификацию стафилококков проводили по традиционной схеме, включающей плазмокоагуляцию, тест на сбраживание маннита и тест на наличие гемолизина.

Б. Идентификацию пропионовых бактерий проводили по трем тестам: образование индола, гидролиз эскулина и сбраживание сахарозы. Все три теста по традиционным методикам, принятым для прочих микроорганизмов. Известно, что *P. asnes* дает положительную реакцию на индол, а два других теста – отрицательные. *P. avidum* – тест на индол отрицательный, два других, положительные. *P. granulosum* – ферментация сахарозы положительная, два других теста – отрицательные.

В. При необходимости идентификацию дрожжей *Malassezia* проводили по схеме, предложенной Т. Kaneko.

Результаты и обсуждение

Самая высокая обсемененность стафилококками и грибами *Malassezia* отмечается в группе футболистов. Отличительной особенностью спортсменов водных видов спорта является высокий процент золотистого стафилококка. Вероятно, это обусловлено чувствительностью прочих видов стафилококков к действию химических соединений, содержащихся в воде бассейна.

Таким образом, представленный метод количественной и качественной оценки микробиоценоза кожи позволяет оценить риск развития болезней кожи и провести профилактические мероприятия. В свою очередь, равновесие состава микробного сообщества кожи можно использовать в качестве дополнительного критерия оценки функционального состояния спортсменов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арзуманян В. Г., Зайцева Е. В., Темпер Р. М., Баснакьян И. А., Столярова Л. Г. Определение кокковой и дрожжевой микрофлоры у больных с кожной патологией: Пособие для врачей. – Москва, 2004.
2. Терехова М. В., Гуревич К. Г., Заборова В. А., Красавина Т. В., Веселова Л. В., Скотникова Ю. В., Федорченко А. Б., Белякова А. М. Особенности микробиоценоза кожи спортсменов детского возраста при занятиях водными видами спорта // Спортивная медицина: наука и практика. – 2013. – № 2 (11). – С. 32–35.
3. Бетремеев О. И. Микрофлора кожи спортсменов при физических нагрузках // Вестник дерматологии и венерологии. – 1996. – № 6. – С. 32–33.
4. Derya A., Ilgen E., Metin E. Characteristics of sports-related dermatoses for different types of sports: a cross-sectional study // Journal of dermatology. – 2005. Aug. – № 32 (8). – P. 620–625.
5. Gotz H. Reichenberger M. Skin lesions caused by sports // Medizinische Monatsschrift. – 1972. Aug. – № 26 (8). – P. 368–371.
6. Korting H. C., Lofrer S., Hamm N. The detergent scrub method for quantitative determination of *Malassezia furfur* on chest and back skin: comparative evaluation of three different media // Mycoses. – 1991. – V. 34. – P. 267–271.

Поступила 05.01.2015