ISSN 2304-9081

Учредители:
Уральское отделение РАН
Оренбургский научный центр УрО РАН

Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН

(электронный журнал)

2014 * № 3

On-line версия журнала на сайте
http://www.elmag.uran.ru

© Коллектив авторов, 2014

УДК 616.314.17-008.1-036

Э.Р. Тамарова А.Р. Зулькарнаева, А.Р. Мавзютов

МИКРОФЛОРА ПОЛОСТИ РТА ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПАРОДОНТА

Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия

Цель. Изучить распространенность ассоциированных с пародонтитом патогенных и условно-патогенных микроорганизмов у пациентов с хроническими формами пародонтита.

Материалы и методы. У 60 пациентов с пародонтитом средней степени тяжести исследовано содержимое пародонтального кармана зубов и слюны. Изучен видовой состав основных пародонтопатогенных бактерий (*P. gingivalis, T. denticola, S. oralis, S. sanguis, S. mutans, S. salivarius, S. sobrinus, S. macacae*) с использованием метода полимеразной цепной реакции.

Результаты. В содержимом пародонтального кармана зубов и слюны обнаружено сочетание несколько видов бактерий. Наиболее часто встречаются сообщества: *S.mutans, S. sanguis, S. oralis* (16,7%), *P. gingivalis, T. denticola, S. mutans, S. sanguis, S. oralis* (15,0%) и *P. gingivalis, S. mutans, S. sanguis, S. oralis, S. sobrinus* (15,0%).

Заключение. Проведение молекулярно-генетических исследований у больных пародонтитом позволяет обосновать этиологический диагноз заболевания, назначить адекватную антибактериальную терапию.

*Ключевые слова***:** пародонтит, микрофлора, полимеразная цепная реакция.

E.R. Tamarova, A.R. Zulkarnaeva, A.R. Mavzyutov

MOLECULAR-GENETIC CHARACTERISTICS OF THE ORAL MICROFLORA IN CASES OF PERIODONTITIS

Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

Objective. Estimation of the prevalence associated with periodontitis pathogenic and conditionally pathogenic microorganisms in patients with chronic forms of periodontitis.

Materials and methods. The contents of the periodontal pockets and teeth of saliva in 60 patients with periodontitis of moderate severity were examined. The species-specific composition of the major periodontopathogenic bacteria (*P. gingivalis, T. denticola, S. oralis, S. sanguis, S. mutans, S. salivarius, S. sobrinus, S. macacae*) using the method of polymerase chain reaction were estimated.

Results. It was found a combination of several types of bacteria in the contents of the periodontal pockets and teeth of saliva. The most frequent community are: *S. mutans, S. sanguis, S. oralis* (16,7%), *P. gingivalis, T. denticola, S. mutans, S. sanguis, S. oralis* (15,0%) *and P. gingivalis, S. mutans, S. sanguis, S. oralis, S. sobrinus* (15,0%).

Conclusion. Molecular-genetic examination of patients with parodontitis allows to substantiate the etiological diagnosis of disease, to assign adequate antibacterial therapy.

Key words: periodontitis, microflora, polymerase chain reaction.

Введение

В настоящее время воспалительные заболевания пародонта являются одной из важнейших проблем стоматологии вследствие широкой распространенности заболевания среди взрослого населения и высокой частотой возникновения рецидивов [1, 2]. Современный уровень научных знаний об этиопатогенезе пародонтита, определяет пародонтальную микрофлору в качестве доминирующего этиологического фактора. Среди причинных микроорганизмов наиболее часто встречаются *Treponema denticola, Porphyromonas gingivalis, Streptococcus mutans, S. sanguis, S. sobrinus, S. oralis, S. salivarius* и *S. macacae*, которых считают «маркерными» микроорганизмами пародонтита. Особенности их метаболизма и патогенность могут оказывать влияние на течение воспалительного процесса [1, 3]. В последние годы в клиническую диагностику микрофлоры полости рта внедрен ряд высокоспецифичных и высокочувствительных методов, среди которых наиболее широкое распространение получила полимеразная цепная реакция (ПЦР). Однако в отечественной научной литературе исследования, в которых применялся этот метод для диагностики микрофлоры при пародонтите, немногочисленны [4-6].

В связи с этим целью настоящего исследования явилось изучение распространенности ассоциированных с пародонтитом патогенных и условно-патогенных микроорганизмов у пациентов с хроническими формами пародонтита.

Материалы и методы

Проведено микробиологическое обследование 60 пациентов (26 мужчин и 34 женщины) в возрасте от 18 до 72 лет с пародонтитом средней степени тяжести, не имевших тяжелой «фоновой» патологии внутренних органов и систем, которая могла бы оказать заметное влияние на течение патологического процесса в пародонте. Из них 41 (68,3%) больной обратился за помощью впервые, а остальные 19 (31,7%) человек ранее лечились и обращались за помощью 1 раз в год.

Материалом для исследования служили содержимое пародонтального кармана зубов и слюна. Содержимое пародонтального кармана отбирали из наиболее глубоких участков с помощью стерильных бумажных эндодонтических штифтов (размер № 25), которые затем помещали в пробирку с физиологическим раствором. Одновременно в другую пробирку собирали слюну.

Поученные образцы транспортировали в лабораторию в охлажденном состоянии.

Поиск нуклеотидных последовательностей пародонтопатогенных микробов (*P. gingivalis, T. denticola, S. oralis, S. sanguis, S. mutans, S. salivarius, S. sobrinus, S. macacae*) для подбора праймеров осуществляли в международном банке Genbank (www.ncbi.nlm.nih.gov). Выравнивание сиквенированных последовательностей, подбор праймеров и оптимальных условий для ПЦР проводили с использованием компьютерных программ Megalain и PrimerSelect пакета программ DNAStar (Lasergene, США), любезно предоставленных Институтом биохимии и генетики УНЦ РАН. ДНК указанных представителей пародонтопатогенной микрофлоры выявляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). ДНК выделяли с использованием реагента «Челикс». Амплификацию ДНК проводили на термоциклере Терцик МС-2 (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) с использованием стандартных наборов для амплификации («Интерлабсервис», Россия) согласно инструкции производителя. Амплифицированные фрагменты ДНК разделяли электрофоретически в горизонтальном 2,0% агарозном геле, окрашивали бромидом этидия и визуализировали при освещении ультрафиолетом в фотодокументационной системе.

Результаты и обсуждение

У больных хроническим пародонтитом в содержимом пародонтального кармана при пародонтите обнаружены все исследованные микроорганизмы. Наиболее распространены были бактерии *Streptococcus mutans*, которые выявлялись у 48 (80,0%) из 60 обследованных больных. Следует отметить широкую представленность *S. sanguis* и *S. oralis*, частота обнаружения которых превысила 50-53,3% и 51,7% соответственно. Остальные микроорганизмы встречались заметно реже. В то же время *Porphyromonas gingivalis* наблюдалась в 21 (35,0%) случае, а *Treponema denticola* – в 15 (25,0%) случаях, *S. sobrinus* – в 13 (21,7%) случаях, а частота *Streptococcus salivarius* и *S. macacae* составила 15,0% (9 больных).

Подобная тенденция по содержанию микроорганизмов наблюдалась и в образцах слюны больных пародонтитом. Максимальная представленность обнаружена для *S. mutans* (51 человек – 85,0%). Доля больных с *S. sanguis* и *S. oralis* составила 39 (65,0%) человек и 37 (61,7%) человек соответственно. Об-

ращает на себя внимание несколько более высокая частота встречаемости в слюне бактерий *S. salivarius* и *S. sobrinus* по сравнению с материалом пародонтального кармана зубов – соответственно 28 (46,7%) и 25 (41,7%) случаев, однако эти различия оказались статистически незначимыми.

У пациентов с пародонтитом средней степени тяжести в исследованных биотопах полости рта наблюдались сочетания несколько видов бактерий. Наиболее часто встречающийся состав сообщества включал *S. mutans, S. sanguis, S. oralis* – у 10 (16,7%) человек. Второе место (9 человек, 15,0%) разделили два сообщества, в состав которых входили: 1) *P. gingivalis, T. denticola, S. mutans, S. sanguis, S. oralis* и 2) *P. gingivalis, S. mutans, S. sanguis, S. oralis, S. sobrinus*. Сочетание бактерий *T. denticola, S. mutans, S. sanguis, S. oralis, S. sobrinus* установлено у 7 (11,7%) пациентов, тогда как частота других сообществ микроорганизмов не превышала 5%.

Заключение

У больных пародонтитом в содержимом пародонтального кармана зубов и слюны достаточно часто имеет место сочетание несколько видов бактерий. Проведение молекулярно-генетических исследований у больных пародонтитом позволяет обосновать этиологический диагноз заболевания, назначить адекватную антибактериальную терапию, направленную на санацию пациента от возбудителей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Грудянов А.И., Овчинникова В.В. Профилактика воспалительных заболеваний пародонта. М: МИА, 2007. 80 с.
2. Лукиных Л.М., Круглова Н.В. Хронический генерализованный пародонтит. Часть I. Современный взгляд на этиологию и патогенез. Стоматология. 2011. 1: 123-125.
3. Николаева Е.Н., Царев В.Н., Щербо С.Н. и др. Применение новой тест-системы, основанной на полимеразной цепной реакции, в пародонтологии. Клиническая стоматология. 2004. 4: 63-67.
4. Царев В.Н., Ушаков Р.В. Антимикробная терапия в стоматологии. М.: Медицинское Информационное Агентство, 2004. 143 с.
5. Albander J.M., De Nardin E. Serum Ig G level to P. Gingivalis in healthy and early-onset periodontitis individuals. J. Dent. Res. 1999. 78: 250-255.
6. Haffajee A.D., Socransky S.S. Microbiological etiological agents of destructive periodontal diseases. Periodontology. 2000. 1: 78-111.

Поступила 25.06.2014

(*Контактная информация*: **Тамарова Эльмира Рифовна** – аспирант кафедры фундаментальной и прикладной микробиологии Башкирского государственного медицинского университета; E-mail: tamarovufa2@mail.ru).