

**ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОФЛОРЫ ПЕРИОДОНТАЛЬНЫХ КАРМАНОВ
ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПЕРИОДОНТА С ПОМОЩЬЮ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО МЕТОДА**

Яковлева-Малых М. О., Юдина Н. А.

Государственное учреждения образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

г. Минск, Республика Беларусь

Реферат. Проведено исследование периодонтопатогенной микрофлоры периодонтальных карманов у 54 пациентов с хроническим сложным периодонтитом с помощью молекулярно-генетического метода. Использован метод полимеразной цепной реакции для обнаружения *Porphyromonas gingivalis*,

Aggregatibacter actinomycetemcomitans, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola* в содержимом пародонтальных карманов. В 56 % случаев в пародонтальных карманах был обнаружен *Porphyromonas gingivalis*; *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* были определены почти у 24 % пациентов; *Prevotella intermedia* был выявлен только у 3 пациентов (6 %).

Ключевые слова: хронический периодонтит, полимеразная цепная реакция, микрофлора пародонтальных карманов.

Введение. Заболевания пародонта являются серьезной проблемой общественного здравоохранения. Они имеют высокую распространенность, снижают качество жизни и жевания, отрицательно влияют на эстетику, приводят к потере зубов, являются причиной большинства случаев полной потери зубов, имеют финансовые последствия и являются хроническими заболеваниями с потенциальными негативными последствиями для здоровья в целом.

По данным разных авторов, болезнями пародонта поражено от 50 до 98 % населения земного шара (Орехова Л. Ю., 1997; Иванюшко Т. П. с соавт., 2000; Кречина Е. К., 2000; Haffajee A. D., Socransky S. S., 1994; Безрукова И. В., 2004; Еке Р., 2012; Юдина Н. А., 2017).

Главенствующее место среди причин возникновения воспалительных заболеваний пародонта, безусловно, занимают микробные биопленки. Из пародонтального кармана человека может быть выделено более 500 видов бактерий, причем в норме преобладают кокковая микрофлора и актиномицеты (*A. viscosus*). Наиболее выраженными патогенными свойствами отличаются пять видов: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola* [5–7].

Известно что *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* продуцирует лейкотоксин, вызывающий лизис полиморфно-ядерных лейкоцитов; факторами вирулентности других перечисленных выше анаэробных грамотрицательных микроорганизмов являются энзимы, эндотоксины, различные метаболиты [4]. *Porphyromonas gingivalis* считается наиболее вирулентным видом пародонтопатогенных бактерий ввиду возможности ингибировать активность нейтрофилов, наличия эндотоксина и других выраженных патогенных свойств. *Prevotella intermedia* продуцирует фосфолипазу А, повреждающую мембраны эпителиальных клеток, содержит эндотоксины, вырабатывает гидролитические протеазы, воздействующие на белки тканей пародонта. Особо важное значение имеет способность этого микроорганизма связывать Ig G. *Tannerella forsythia* обладает свойством адгезии к поверхности эпителия, выделяет специфические пептидазы, способные нарушать зубодесневое прикрепление. *Treponema denticola* обладает способностью адгезии к клеткам эпителия, вырабатывает химотрипсиноподобную протеазу, активирует выработку интерлейкина-1.

В зависимости от патогенной значимости пародонтопатогенная микрофлора делится на 2 группы. К 1-й группе относят микрофлору, играющую первостепенную роль при воспалительных заболеваниях пародонта, которая, как правило, связана с агрессивным характером и неуклонным прогрессированием воспалительно-деструктивного процесса в пародонте. Представители этой группы *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* и *Tannerella forsythia* отличаются выраженной вирулентностью, обусловленной наличием у них механизмов, обеспечивающих адгезию к структурам пародонта, подавление местных защитных реакций, деструктивное воздействие на ткани пародонта. Микроорганизмы 2-й группы играют второстепенную роль, характеризуются меньшей вирулентностью, но обладают выраженной способностью образовывать микробные ассоциации с представителями 1-й группы. Микробные эндотоксины легко проникают через тонкий эпителий зубодесневого прикрепления и при нарушении динамического равновесия «микробы — система местной защиты» вызывают каскад иммунопатологических реакций, результатом чего является развитие воспалительной деструкции в тканях пародонта. Известны работы, указывающие на значимую роль пародонтопатогенных микроорганизмов в развитии не только воспалительно-деструктивного процесса в пародонте, но и тяжелых общесоматических заболеваний, что несомненно, обуславливает высокую медико-социальную значимость проблемы [1, 2]. Методы идентификации пародонтопатогенной микрофлоры до недавнего времени были ограничены техническими сложностями, что было решено с появлением молекулярно-генетического метода или полимеразно-цепной реакции (ПЦР), в основу которой положено определение ДНК микроорганизмов [3]. Однако и на сегодняшний день исследования с идентификацией пародонтопатогенной микрофлоры молекулярно-генетическим методом не многочисленны, что послужило поводом к проведению данного исследования.

Цель работы — качественная характеристика пародонтопатогенной микрофлоры пародонтальных карманов у лиц с хроническим периодонтитом.

Материалы и методы. Материалом исследования являлось содержимое пародонтальных карманов 54 пациентов с хроническим сложным пародонтитом в возрасте до 55 лет без тяжелой общесоматической патологии. Забор материала проводили с помощью стерильных бумажных штифтов № 35, которые затем помещали в стерильные пластиковые одноразовые контейнеры с муколитиком и отправляли

на исследование в лабораторию. Идентификацию периодонтопатогенной микрофлоры в содержимом периодонтальных карманов проводили методом мультипраймерной ПЦР. Выявление ДНК периодонтопатогенной микрофлоры: *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia* проводили методом ПЦР «Мультидент» ООО НПФ «ГЕНТЕХ» (Россия).

Результаты и их обсуждение. В таблице 1 представлена частота встречаемости различных видов периодонтопатогенной флоры в содержимом периодонтального кармана пациентов с хроническим периодонтитом.

Таблица 1. — Частота встречаемости периодонтопатогенной микрофлоры

Виды микроорганизмов	Обследуемая группа (n = 54)	
	n	%
<i>Tannerella forsythia</i>	13	24
<i>Prevotella intermedia</i>	3	6
<i>Treponema denticola</i>	12	22
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	30	56
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	14	26

Как следует из полученных результатов, из микроорганизмов 1-й группы у 56 % обследованных идентифицировался микроорганизм *Porphyromonas gingivalis*; *Tannerella forsythia* определялся лишь в 24 % случаев, а *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* — в 26 %. Что касается микроорганизмов 2-й группы, то здесь на первом месте определялись *Treponema denticola* — 22 % и *Prevotella intermedia* только у 3 пациентов (6 %).

Распространенность периодонтопатогенных комплексов 1-й группы имеет следующую структуру: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* — 22 %; *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis* — 17 %; *Porphyromonas gingivalis* — 15 %; *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* — 11 %; *Tannerella forsythia* — 2 %.

Таблица 2. — Частота встречаемости комплексов микроорганизмов

Виды микроорганизмов	Обследуемая группа (n = 54)	
	n	%
<i>Tannerella forsythia</i>	1	2
<i>Prevotella intermedia</i>	3	6
<i>Treponema denticola</i>	5	9
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	8	15
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	6	11
<i>Tannerella forsythia</i> , <i>Treponema denticola</i>	2	4
<i>Tannerella forsythia</i> , <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	1	2
<i>Tannerella forsythia</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i>	9	17
<i>Treponema denticola</i> , <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	1	2
<i>Treponema denticola</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i>	4	7
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i>	12	22
<i>Treponema denticola</i> , <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i>	1	2

Заключение. Использование методов ПЦР открывает новые возможности диагностики заболеваний периодонта.

Результаты молекулярно-генетических исследований при хроническом пародонтите позволяют назначить адекватное лечение с использованием антибактериальной терапии.

Литература

1. Елисеева, А. Ф. Роль смешанной инфекции в развитии хронического генерализованного пародонтита и ишемической болезни сердца / А. Ф. Елисеева, А. В. Цимбалстов, Г. Б. Шторина // Институт стоматологии. — 2012. — Т. 2. — С. 78–79.
2. Матисова, Е. В. Колонизация условно-патогенными микроорганизмами слизистой оболочки полости рта при хроническом пародонтите : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Е. В. Матисова. — Волгоград, 2010. — 21 с.
3. Царев, В. Н. Микробиологическая диагностика воспалительных заболеваний полости рта и челюстно-лицевой области с помощью отечественной системы «МультиДент» / В. Н. Царев, Е. Н. Николаева // Сб. тр. 2-й Всерос. науч.-практ. конф. «Образование, наука и практика в стоматологии». — М., 2005. — С. 224–226.
4. Галиуллина, Э. Ф. Новые подходы к этиологии заболеваний пародонта в свете современной концепции их патогенеза / Э. Ф. Галиуллина // Пародонтология. — 2017. — Т. 22, № 2. — С. 21–24.
5. Интегративный подход в диагностике и лечении хронического генерализованного пародонтита и хеликобактерной инфекции / А. М. Ковалевский [и др.] // Пародонтология. — 2012. — Т. 17, № 4. — С. 85–88.
6. Состояние местного иммунитета полости рта лиц, страдающих хроническими воспалительными заболеваниями кишечника / С. Ю. Тютюк [и др.] // Кубанский науч. мед. вестн. — 2015. — № 4. — С. 131–135.
7. Цепов, Л. М. Пародонтит: локальный очаг серьезных проблем (обзор литературы) / Л. М. Цепов, Е. Л. Цепова, А. Л. Цепов // Пародонтология. — 2014. — Т. 19, № 3. — С. 3–6.

RESEARCH OF PERIODONTAL POCKETS' BIOFILM DURING PERIODONTAL DISEASES USING THE MOLECULAR GENETIC METHOD

Iakovleva-Malykh M. O., Yudina N. A.

State Educational Institution “The Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education”, Minsk, Republic of Belarus

A study of periodontal pathogenic microflora of periodontal pockets was conducted in 54 patients with chronic complicated periodontitis using the molecular genetic method. The polymerase chain reaction method was used for the detection of *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola* in the contents of periodontal pockets. In 56 % of cases, *Porphyromonas gingivalis* was detected in the periodontal pockets; *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* were detected in almost 24 % of patients; *Prevotella intermedia* was detected in only three patients (6 %).

Keywords: chronic periodontitis, polymerase chain reaction, microflora of periodontal pockets.