

МІКРОФЛОРА ПАРОДОНТАЛЬНИХ КИШЕНЬ У ХВОРИХ ГЕНЕРАЛІЗОВАНИМ ПАРОДОНТИТОМ ІІ СТУПЕНЯ

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава)

*Луганський державний медичний університет (м. Луганськ)

Дана робота є фрагментом НДР «Удосконалення ортопедичних методів профілактики та лікування вторинної адентії, патологічної стертості, уражень тканин пародонту та захворювань СНЩС у дорослих на тлі загальносоматичної патології», державний реєстраційний номер 0111U004872.

Вступ. Запальні захворювання пародонта, а саме генералізований пародонтит, є однією з глобальних проблем стоматології [1, 2, 3]. Медичне та соціальне значення цього захворювання визначається не тільки наявністю патологічних процесів в пародонті та погіршенням функції зубощелепної системи, але і порушенням при цьому процесів травлення, обмінних процесів, інфікуванням та сенсибілізацією організму, загрозою виникнення вогнища хроніосепсиса і нервово-психічними розладами, які призводять до зниження працездатності [4]. Відповідно до сучасних уявлень, в основі захворювань пародонту в більшості випадків лежить мікробне запалення. Найважливішу роль у виникненні запального процесу в пародонті грає мікробний чинник [5]. Різноманітна мікрофлора, яка вегетує на поверхні епітелію ясен, здатна вступати в активну взаємодію з тканинними елементами, розташованими під епітелієм ясенних борозен. Особливе значення в цьому плані має щільні під'ясенні нашарування – зубний камінь (мікробна бляшка) [6, 7].

Мета дослідження. З метою встановлення ролі облигатних анаеробних бактерій в розвитку генералізованого пародонтиту було проведено бактеріологічне дослідження у практично здорових людей і у пацієнтів, хворих на хронічний генералізований пародонтит ІІ ступеню.

Об'єкт і методи дослідження. Нами проведено клінічне обстеження 30 пацієнтів хворих на генералізований пародонтит більше 5 років з другим ступенем розвитку у віці від 23 до 55 років (середній вік $39 \pm 1,9$ року). До контрольної групи увійшли 20 клінічно здорових осіб того ж віку. Діагноз ставили на підставі клінічних і параклінічних досліджень.

Мікробіологічне дослідження здійснювали в бактеріологічній лабораторії кафедри мікробіології Луганського державного медичного університету (зав. лаб. д. мед. н, проф. І. С. Гайдаш) з використанням бактеріоскопічного й бактеріологічного методу. Матеріалом для дослідження служив вміст пародонтальних кишень у пацієнтів хворих на генералізований пародонтит ІІ ступеню, який забирали при проведенні обстеження хворих.

Критерієм етіологічної ролі збудників генералізованого пародонтиту були титри КУО/МЛ (колонієутворюючих одиниць). Етіологічно значимими патогенними чинниками вважалися ті, для яких титри склали 1 Іg КУО/МЛ і більше. У наших дослідженнях титри для бактерій, виділених в монокультури і при змішаній інфекції, склали 1 – 2 Іg КУО/МЛ.

Матеріал (ексудат із зубоясенних кишень) брали за допомогою стерильних паперових штифтів, які просочувалися ексудатом на 1 см своєї довжини, що дозволило брати однакову кількість ексудату. Штифт поміщали в стерильну пробірку і негайно проводили вимивання ексудату 0,5мл ізотонічного розчину натрію хлориду, підігрітого до 37 °С.

Для культивування анаеробних неспортованих бактерій використовували анаеростат, заповнений трикомпонентною газовою сумішшю (азот – 80%, водень – 10%, вуглекислота – 10%). Посів для виявлення анаеробної мікрофлори проводили негайно в проміжок часу не більше ніж 2 години з моменту забору матеріалу (безпосередньо у клініці). При транспортуванні матеріалу з клініки в лабораторію, використовували одноразові інсулінові шприці, наповнені стерильним середовищем 199, голки яких встромляли в стерильні гумові пробки для створення анаеробних умов. Шприці транспортували в спеціальному термосі, що підтримує температуру 37°C.

Засів патологічного матеріалу проводили на свіжоприготований комерційний агар 'Anaerobe basal agar' з кров'ю й одним з антибіотиків (канаміцин, гентаміцин); збагачений напіврідким тіогліколевим середовищем; для виявлення клостридій матеріал засівали в 2 пробірки із заздалегідь регенованим печінковим бульйоном з наповнювачем під маслом, одну з пробірок після внесення матеріалу прогрівали при 80 °С протягом 20 хв для виявлення спорних форм. Крім того, матеріал засівали в пробірку із знежиреним молоком, середовищем Вільсона-Блера і на кров'яний агар. Бактеріологічний аналіз анаеробних бактерій (бактероїдів, фузобактерій і превотелл) включав мікроскопічне вивчення нативного патологічного матеріалу (забарвлення по Граму в модифікації Копелова). Для виявлення в нативному матеріалі бактерій роду *Prevotella* клінічний матеріал проглядали в ультрафіолетовому світлі (люмінесцентний мікроскоп). Для ідентифікації анаеробних збудників на четвертому етапі лабораторного дослідження (6–7 день) використовували культури анаеробних бактерій, що виростили на твердих і напіврідких накопичувальних середовищах. Досліджували

Таблиця 1

**Видовий склад і мікробна колонізація
облігатних анаеробних бактерій у
здорових людей (n=20)**

Видова назва	Кількість штамів (абс.)	Питома вага в загальній структурі ізолятів (%)	Бактерійна колонізація (КУО/МЛ)
Грампозитивні бактерії			
<i>Streptococcus</i> <i>hanseni</i>	15	6,0	(1,6±0,07)*2 lg
<i>Peptostreptococcus</i> <i>asaccharolyticus</i>	27	10,7	(2,3±0,11) *2 lg
<i>Peptostreptococcus</i> <i>magnus</i>	13	5,3	(0,9±0,04)*1 lg
<i>Peptostreptococcus</i> <i>anaerobius</i>	22	8,7	(0,5±0,02) *2 lg
<i>Eggerthella</i> <i>lenta</i>	7	2,7	(3,6±0,15) *1 lg
<i>Eubacterium</i> <i>tenu</i>	4	1,6	(0,7±0,09) *1 lg
<i>Gemella</i> <i>morbillorum</i>	9	3,6	(3,2±0,15) *1 lg
<i>Actinomyces</i> <i>naeslundii</i>	6	2,4	(1,2±0,05) *1 lg
<i>Propionibacterium</i> <i>arridum</i>	11	4,4	(0,3±0,01) *1 lg
<i>Clostridium</i> <i>subterminale</i>	8	3,2	(1,8±0,07) *1 lg
<i>Clostridium</i> <i>histolyticum</i>	5	2,0	(0,6±0,05) *1 lg
<i>Lactobacillus</i> <i>catenaforme</i>	18	7,1	(1,5±0,07) *2 lg

культури ідентифікували до роду і вигляду за наслідками вивчення культуральних, морфологічних, біохімічних властивостей і чутливості до антибіотиків. Ідентифікацію анаеробних бактерій по біохімічній активності проводили за допомогою діагностичного набору «Анаеротест 23» виробництва фірми МикрОЛА-тест, АТ «Лахема» (Чехія).

У лабораторії з досліджуваного матеріалу готували мазок, забарвлювали його за Грамом і вивчали в іммерсійній системі мікроскопа. У мазках визначали всі форми бактерій, що були в препараті (окрім трепонем), враховували їх морфологічні й тінкторіальні особливості, які потім зіставляли з результатами зростання бактерій в аеробних і анаеробних умовах.

Паралельно з приготуванням і мікроскопією мазка, здійснювали посів на дві чашки Петрі, в нашій роботі використовували агар Шедлера, анаеробний базальний агар фірми «Oxoid», GB. Одну чашку з посівом розташовували в термостаті для культивування аеробів, другу – в анаеростаті для виділення анаеробів.

Інкубували посіви при температурі 36 – 37 °С. Результати вирощення в чашках можна спостерігати через 24 години для факультативних анаеробів і через 48 години для строгих анаеробів.

Біохімічний метод заснований на ферментативних властивостях мікроорганізмів. Для ідентифікації використовували набори «Анаеротест 23» – для ідентифікації анаеробних бактерій, «НЕФЕРМ тест 24» – для ідентифікації неферментируючих бактерій, «ЕНТЕРО тест 16» – для ідентифікації мікроорганізмів сімейства ентеробактерій. Всі тести містять в пластмасових лунках ліофілізовані вуглеводи за розщеплюванням яких і судять про ферментативну активність мікроорганізмів, а, отже, і їх видовий належності.

Результати досліджень та їх обговорення. Як впливає з матеріалів, приведених в таблиці 1, у здорових людей в області пародонтальних кишень мешкає достатньо різноманітний видовий склад облігатних анаеробних бактерій, що відносяться до 17 родів різних сімейств. Всього з 252 штамів бактерій, виділених від 20 здорових людей, грампозитивних облігатних анаеробних бактерій припало на частку 145 штамів (57,7%), на долю грамнегативних – 107 штамів (42,3%). З числа грампозитивних бактерій найчастіше зустрічалися такі види, як *P. asaccharolyticus* (10,7%), *P. anaerobius* (8,7%), *L. catenaformis* (7,1%), *S. hanseni* (6,0%), *P. magnus* (5,2%). Питома вага інших грампозитивних видів була нижча вказаних і коливалась в межах від 4,4% для *P. arridum* до 1,6% для *E. tenue*. Група грамнегативних облігатних анаеробних бактерій, виділених від здорових людей, була представлена 9 видами, що відносяться до 8 родів. Найчастіше з досліджуваного матеріалу від здорових осіб виділяли такі види, як *V. parvula* (11,9%) і *V. alcalescens* (9,1%). Питома вага інших видів коливалась від 4,8% (*V. putredinus*) до 2,0% (*D. nodosus*, *F. varium*). Разом з вивченням видового складу, бактеріологічне дослідження включало вивчення бактерійної колонізації кожного з ідентифікованих видів облігатних анаеробних бактерій (табл. 1 та 2). Як виявилось,

домінуючими в популяції облігатних анаеробних бактерій у здорових людей були представники роду *Veillonella*, у яких показник бактерійної колонізації склав (КУО/МЛ): для *V. parvula* (3,8(0,15)*3 lg, для *V. alcalescens* – (2,7(0,13)* 4 lg. На порядок нижче бактерійна колонізація (КУО/МЛ) у здорових людей зареєстрована для: *V. putredinus* (2,1(0,09)*2 lg), *L. catenaformis* (1,5(0,07)*2 lg), *P. anaerobius* (0,5(0,02)*2 lg), *P. asaccharolyticus* (2,3(0,11)*2 lg) і *S. hanseni* (1,6(0,07)*2 lg). Показник бактерійної колонізації (КУО/МЛ) інших видів облігатних анаеробних бактерій знаходився в межах від (3,6(0,15)*1 lg для *E. lenta* до (0,2(0,01)*1 lg для *D. pneumosintes*.

В цілому, видовий склад мікрофлори області пародонтальних кишень здорових людей характеризувався значною видовою різноманітністю з перевагою одних видів над іншими.

Результати дослідження видового складу і бактерійної колонізації пародонтальних кишень хворих на генералізований пародонтит II ступеню представлені в таблиці 3 та 4.

Встановлено, що видовий склад облігатних анаеробних бактерій в загальній групі хворих на генералізований пародонтит не відрізнявся від такого в групі здорових осіб, проте питома вага кожного виду

Таблиця 2
Видовий склад і мікробна колонізація
облігатних анаеробних бактерій у
здорових людей (n=20)

Видова назва	Кількість штамів (абс.)	Питома вага в загальній структурі ізолятів (%)	Бактерійна колонізація (КУО/МЛ)
Грамнегативні бактерії			
<i>Acidaminococcus fermentans</i>	10	3,9	(0,8±0,03) *1 lg
<i>Dichelobacter nodosus</i>	5	2,0	(0,5±0,02) *1 lg
<i>Bacteroides putredinus</i>	12	4,8	(2,1±0,09) *2 lg
<i>Tissierella praeacuta</i>	7	2,7	(0,4±0,02) *1 lg
<i>Fusobacterium varium</i>	5	2,0	(0,9±0,05) *1 lg
<i>Veillonella parvula</i>	30	11,9	(3,8±0,15) *3 lg
<i>Veillonella alcalescens</i>	23	9,1	(2,7±0,13) *3 lg
<i>Prevotella melaninogenica</i>	6	2,4	(0,5±0,02) *1 lg
<i>Dialister pneumosintes</i>	9	3,6	(0,2±0,01) *1 lg
Разом	252	100,0	-

бактерій і їх індивідуальна колонізація були істотно змінені в порівнянні з такими у здорових людей. Так, з 471 штаму облігатних анаеробних бактерій, виділених від хворих на генералізований пародонтит, було ідентифіковано 21 вид бактерій, що відносяться до

Таблиця 3
Видовий склад і мікробна колонізація
облігатних анаеробних бактерій у хворих
на генералізований пародонтит (n=30)

Видова назва	Кількість штамів (абс.)	Питома вага в загальній структурі ізолятів (%)	Бактерійна колонізація (КУО/МЛ)
Грамнегативні бактерії			
<i>S. hansenii</i>	12	2,55	(2,0±0,05) *5 lg
<i>P. asaccharolyticus</i>	24	5,10	(1,7±0,06) *6 lg
<i>P. magnus</i>	21	4,45	(2,3±0,11) *5 lg
<i>P. anaerobius</i>	9	1,90	(1,1±0,05) *3 lg
<i>E. lenta</i>	48	10,20	(3,2±0,12) *6 lg
<i>E. tenue</i>	12	2,55	(0,9±0,05) *3 lg
<i>G. morbillorum</i>	48	10,20	(3,5±0,17) *6 lg
<i>A. naeslundii</i>	24	5,10	(6,9±0,10) *4 lg
<i>P. arridum</i>	6	1,30	(0,5±0,06) *3 lg
<i>C. subterminale</i>	39	8,30	(1,8±0,09) *5 lg
<i>C. histolyticum</i>	15	3,20	(0,6±0,08) *3 lg
<i>L. catenaforme</i>	12	2,55	(3,2±0,15) *3 lg

17 родів. Найбільш численними у видовому відношенні були роду *Peptostreptococcus* (3 види), *Clostridium* (2 види) і *Veillonella* (2 види). Останні 14 родів було представлено одиничними видами.

Незміненим в порівнянні із здоровими людьми у хворих на генералізований пародонтит опинилося співвідношення грампозитивних і грамнегативних бактерій – 57,7%, 42,3% і 57,2% і 42,8% відповідно.

У хворих на генералізований пародонтит мало місце зменшення питомої ваги бактерій, які переважали в групі здорових людей, а саме: *P. asaccharolyticus* (зниження в 2,1 рази), *S. hansenii* (у 2,4 рази), *L. catenaforme* (у 2,8 рази), *V. parvula* (у 6,3 рази), *V. alcalescens* (у 7,0 разів). Разом з тим,

Таблиця 4
Видовий склад і мікробна колонізація
облігатних анаеробних бактерій у хворих
на генералізований пародонтит (n=30)

Видова назва	Кількість штамів (абс.)	Питома вага в загальній структурі ізолятів (%)	Бактерійна колонізація (КУО/МЛ)
Грамнегативні бактерії			
<i>A. fermentans</i>	60	12,70	(2,6±0,12) *6 lg
<i>D. nodosus</i>	51	10,80	(2,0±0,10) *6 lg
<i>B. putredinus</i>	24	5,10	(1,1±0,06) *5 lg
<i>T. praeacuta</i>	18	3,80	(0,8±0,05) *4 lg
<i>F. varium</i>	12	2,55	(0,6±0,03) *2 lg
<i>V. parvula</i>	9	1,90	(0,7±0,05) *5 lg
<i>V. alcalescens</i>	6	1,30	(0,6±0,02) *4 lg
<i>P. melaninogenica</i>	12	2,55	(1,3±0,06) *4 lg
<i>D. pneumosintes</i>	9	1,90	(0,6±0,03) *4 lg
Разом	471	100,0	-

питома вага інших видів, що рідко зустрічалися у здорових людей, навпаки, у хворих на генералізований пародонтит збільшувався. Так, у обстежених питома вага *E. lenta* і *G. morbillorum* виріс до 10,2% (у 3,8 рази), *C. subterminale* – до 8,3% (у 2,6 рази), *A. fermentans* – до 12,7% (у 3,3 рази), *D. nodosus* – до 10,8% (у 5,4 рази), *A. naeslundii* – до 5,1% (у 2,1 рази). Менш значне збільшення питомої ваги в загальній структурі облігатних анаеробних бактерій у хворих на генералізований пародонтит зареєстроване для таких патогенів, як *E. tenue* (у 1,6 рази), *C. histolyticum* (у 1,6 рази), *T. praeacuta* (у 1,4 рази), *F. varium* (у 1,3 рази).

Клінічна маніфестація генералізованого пародонтиту, разом із зміною питомої ваги окремих видів бактерій, супроводжувалася також загальним збільшенням показників бактерійної колонізації. Так, збільшення показника мікробної колонізації (КУО/МЛ) на 4 порядки (в порівнянні з аналогічним показником в групі здорових людей) було відмічене для *E. lenta* – (3,2(0,12)*5 lg, проти (3,6(0,15)*1 lg, відповідно, *A. fermentans* – (2,6(0,12)*5 lg проти

(0,80(0,03)*1 Ig. Збільшення бактерійної колонізації на 3 порядки зареєстроване для *P. asaccharolyticus*, *P. magnus*, *G. morbillorum*, *C. subterminale*, збільшення на 2 порядки – для *S. hansenii*, *E. tenue*, *A. naeslundii*, *P. arridum*, *C. histolyticum*, *B. putredinus*, *T. praeacuta*, *P. melaninogenicus* і *D. pneumosintes*. У решти видів облигатних анаеробних бактерій, виділених від хворих на генералізований пародонтит, показники бактерійної колонізації відрізнялися від таких у здорових людей на 1 порядок.

Висновки. Таким чином, проведені бактеріологічні дослідження свідчать про те, що у хворих на генералізований пародонтит спостерігалася активація мікрофлори пародонтальних кишень,

що виявлялося істотним збільшенням бактерійної колонізації облигатних анаеробних бактерій і видовим дисбалансом їх популяції. Останнє виражалося в зниженні питомої ваги одних видів, наприклад, *V. parvula*, *V. alcalescens*, *P. asaccharolyticus*, *P. anaerobius* і ін., і збільшенням питомої ваги інших патогенів, зокрема, *E. lenta*, *G. morbillorum*, *C. subterminale*, *A. fermentans*, *D. Nodosus*.

Перспективи подальших досліджень. В подальшому нами планується удосконалити діагностику та методику комплексного лікування хронічного генералізованого пародонтиту II ступеня на основі виявлення та ідентифікації мікрофлори пародонтальних кишень.

Список літератури

1. Барабаш Л. Д. Концепции этиологии и патогенеза заболеваний пародонта / Л. Д. Барабаш // *Стоматология*. – 1987. – № 1. – С. 81–84.
2. Данилевский Н. Ф. Заболевания пародонта / Н. Ф. Данилевский, А. В. Борисенко. – К.: Здоров'я, 2000. – 464 С.
3. Мищенко В. П. Пародонт и гемостаз / В. П. Мищенко, Ю. И. Силенко. – Полтава: Рік, 2001. – 151 С.
4. Силенко Ю. І. Клініко-патогенетичне обґрунтування лікування генералізованого пародонтиту з застосуванням поліпептидних препаратів: дис. доктора мед. наук: 14. 01. 22 / Силенко Юрій Іванович. – Полтава, 2000. – 303 С.
5. Копельян Н. Н. Психосоматические нарушения, как один из этиологических факторов развития генерализованного пародонтита / Н. Н. Копельян, Р. Ю. Кулешов // *Український медичний альманах*. – 2005. – Т. 8, № 4. – С. 106–108.
6. Олейник И. И. Микробиология и иммунология полости рта: биология полости рта / Олейник И. И.; [под ред. Боровского, В. К. Леонтьева]. – М.: Медицина, 1991. – С. 226–260.
7. Цепов Л. М. К вопросу об этиологии и патогенезе воспалительных заболеваний пародонта (обзор литературы) / Л. М. Цепов, А. И. Николаев, Е. Н. Жажков // *Пародонтология*. – 2000. – № 2 (16). – С. 9–13.

УДК 616.31-002-008.87

МІКРОФЛОРА ПАРОДОНТАЛЬНИХ КИШЕНЬ У ХВОРИХ ГЕНЕРАЛІЗОВАНИМ ПАРОДОНТИТОМ II СТУПЕНЯ

Силенко Ю. І., Копельян Н. Н., Хребор М. В., Силенко Б. Ю., Ковач Г. М.

Резюме. Проведені бактеріологічні дослідження свідчать про те, що у хворих на генералізований пародонтит спостерігалася активація мікрофлори пародонтальних кишень, що виявлялося істотним збільшенням бактерійної колонізації облигатних анаеробних бактерій і видовим дисбалансом їх популяції. Останнє виражалося в зниженні питомої ваги одних видів, наприклад, *V. parvula*, *V. alcalescens*, *P. asaccharolyticus*, *P. anaerobius* і ін., і збільшенням питомої ваги інших патогенів, зокрема, *E. lenta*, *G. morbillorum*, *C. subterminale*, *A. fermentans*, *D. Nodosus*.

Ключові слова: генералізований пародонтит, мікрофлора пародонтальних кишень.

УДК 616.31-002-008.87

МИКРОФЛОРА ПАРОДОНТАЛЬНЫХ КАРМАНОВ У БОЛЬНЫХ ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫМ ПАРОДОНТИТОМ II СТЕПЕНИ

Силенко Ю. И., Копельян Н. Н., Хребор М. В., Силенко Б. Ю., Ковач Г. М.

Резюме. Проведенные бактериологические исследования свидетельствуют о том, что у больных генерализованным пародонтитом наблюдалась активация микрофлоры пародонтальных карманов, что проявлялось существенным увеличением бактериальной колонизации облигатных анаэробных бактерий и видовым дисбалансом их популяции. Последнее выражалось в снижении удельного веса одних видов, например, *V. parvula*, *V. alcalescens*, *P. asaccharolyticus*, *P. anaerobius* и др., и увеличением удельного веса другого патогена, в частности, *E. lenta*, *G. morbillorum*, *C. subterminale*, *A. fermentans*, *D. Nodosus*.

Ключевые слова: генерализованный пародонтит, микрофлора пародонтальных карманов.

UDC 616.31-002-008.87

Microflora Parodontalnykh Of Pockets At Patients With The Generalized Periodontal Disease Of The II Degree

Silenko Yu. I., Kopelyan N. N., Hrebor M. V., Silenko B. Yu., Kovac G. M.

Summary. The conducted bacteriologic examinations testify to activating of microflora of parodontal pockets in the patients with general parodontitis, that appeared the substantial increase of bacterial colonization of anaerobic bacteria and specific disbalance of their population. The last was shown in the decrease of specific gravity of one kinds, for example, *V. parvula*, *V. alcalescens*, *P. asaccharolyticus*, *P. anaerobius* and other, and gains in specific weight of other pathogens, in particular, *E. lenta*, *G. morbillorum*, *C. subterminale*, *A. fermentans*, *D. Nodosus*.

Key words: general parodontitis, microflora of parodontal pockets.

Стаття надійшла 18. 07. 2012 р.

Рецензент – проф. Скрипников П. М.