

ХАРАКТЕРИСТИКА ВИДОВОГО СКЛАДУ ПАРОДОНТОПАТОГЕННОЇ МІКРОФЛОРИ В РОТОВІЙ РІДИНІ ПРИ ХРОНІЧНОМУ КАТАРАЛЬНОМУ ГІНГІВІТІ У ПІДЛІТКІВ

Національний Медичний Університет імені О. О. Богомольця (м. Київ)

Дана робота є фрагментом НДР «Рання діагностика, профілактика та лікування карієсу зубів і захворювань пародонта у дітей різного віку», Недерж. реєстрації 0110U001486.

Вступ. Висока розповсюдженість хвороб тканин пародонта серед населення всього світу є предметом досліджень як вітчизняних, так і закордонних науковців [1–2, 6–7]. Надзвичайно актуальними залишаються питання ранньої діагностики та своєчасної профілактики цих захворювань, особливо в осіб молодого віку [2, 7]. Доведено, що розвиток пародонтиту найчастіше асоціюється з персистенцією в тканинах пародонта представників анаеробної мікрофлори: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia* (*Bacteroides forsythus*), *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* [1, 3–5].

Впровадження такого високочутливого методу як полімеразна ланцюгова реакція – ПЛР дозволяє більш точно визначати склад пародонтопатогенної мікрофлори у ротовій рідині при гінгівіті [1]. Це суттєво розширює наші уявлення щодо чинників ризику запальних захворювань пародонта, а також надає можливість адекватно призначати етіотропну терапію та оцінювати її ефективність.

Метою нашого дослідження було виявлення маркерних представників пародонтопатогенної мікрофлори в ротовій рідині у підлітків віком 15-16 років з діагнозом хронічний катаральний гінгівіт різного ступеня важкості.

Об'єкт і методи дослідження. Для виконання поставленої мети нами було обстежено 120 підлітків 15-16-річного віку. Стан тканин пародонта об'єктивно оцінювали, використовуючи індекси РМА в модифікації Парма (1960) та CPI (1997).

Для виявлення ДНК пародонтопатогенних мікроорганізмів в ротовій рідині 20 хворих на хронічний катаральний гінгівіт (ХКГ) різного ступеня важкості використовували метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) в реальному часі [8]. Ротову рідину для обстеження забирали в стерильні пробірки типу еппендорф. Постановка ПЛР включала 3 етапи: 1) виділення сумарної кількості нуклеїнових кислот з отриманого матеріалу; 2) ампліфікація; 3) детекція. Для виявлення ДНК пародонтопатогенних мікроорганізмів використовували комплект реагентів для виділення нуклеїнових кислот «проба-НК» (компанія «ДНК-технологія», Росія). До складу набору входили

контрольні проби: негативний контроль (К-) (дистильована вода, замість зразка нуклеїнових кислот) та позитивний контроль (К+) (зразки ДНК мікроорганізмів, що вивчаються). ПЛР для досліджуваних патогенних бактерій та К- і К+ проводили в ампліфікаційних пробірках. Ампліфікацію ДНК здійснювали за допомогою відповідного набору «Мультидент-5» компанії ООО НПФ «Генлаб» (Росія) в ампліфікаторі за наступною програмою: 95° С, 2 мин; 36 циклів ампліфікації: 95° С, 40 с; отжигу 62° С, 40 с; елонгації: 72° С, 40 с; кінцева елонгація 72° С, 1 хв. Детекцію продуктів ампліфікації проводили методом електрофорезу у 1,6% агарозному гелі, що містив бромистий етидій у концентрації 0,8 мкг/мл. Перегляд та фотографування гелів було проведено за допомогою УФ-транслюмінатора «BDA Digital» фірми «Biometra» при довжині хвилі 312 нм. Дані електрофорезу документували за допомогою цифрової фотокамери «Canon Powershot».

Результати досліджень та їх обговорювання.

Нами було встановлено високу розповсюдженість запальних захворювань тканин пародонта – 95%. У 5% випадків діагностовано генералізований пародонтит хронічного перебігу.

Згідно з даними індексу РМА у більшості обстежених (65,2%) було діагностовано середній ступінь важкості хронічного катарального гінгівіту – 37,9±1,26% (табл. 1). Легкий ступінь важкості запального процесу в яснах було виявлено у 36,8%. Середнє значення РМА у цих хворих становило 23,5±0,58%.

У 68,05% обстежених із середнім ступенем тяжкості гінгівіту спостерігався генералізований характер запального процесу в яснах. Об'єктивно було виявлено набряк та гіперемію слизової оболонки

Таблиця 1

Стан тканин пародонта за даними індексу РМА у 15-16-річних підлітків м. Києва

Ступінь тяжкості гінгівіту	Кількість обстежених		Значення індексу РМА
	абс.	%	
Легкий	42	36,8	23,5±0,58 %
Середній	72	65,2	37,9±1,26 %
Всього	114	100	30,2±0,84 %

Таблиця 2

Стан тканин пародонта за даними індексу CPI у 15-16-річних підлітків м. Києва

Показники індексу CPI	Значення індексу CPI	
	Розповсю-дження	Інтенсив-ність
Здорові секстанти	70,2 %	0,44±0,09
Секстанти з кровоточи-вістю ясен	95,0 %	3,02±0,19
Секстанти з зубним каменем	95,6 %	2,15±0,12
Секстанти з пародон-тальними кишнями	5,0 %	0,39±0,07

ясен, з ціанотичним відтінком. Ясенний край мав великоподібне потовщення, а сосочки – куполоподібну форму.

Більш сприятливим виявився клінічний перебіг хронічного катарального гінгівіту легкого ступеня важкості. У 85,7 % скарги були відсутні. Спостерігався помірний набряк і ціаноз слизової оболонки ясен. Запальний процес мав переважно обмежений характер та локалізувався у фронтальній ділянці верхньої та нижньої щелеп.

Характеристику стану тканин пародонта згідно з даними індексу CPI наведено у **таблиці 2**.

Особливу увагу привертає наявність сегментів із пародонтальними кишнями глибиною до 3 – 3,5 мм, переважно у фронтальній ділянці щелеп.

В результаті виявлення ДНК пародонтопатогенних мікроорганізмів методом ПЛР в реальному часі у ротовій рідині 20 хворих на хронічний катаральний гінгівіт було встановлено наявність патогенної мікрофлори, що складала 75 %, у 15 з 20 хворих (**рис.**).

T. denticola було ідентифіковано у 93 % хворих із наявністю пародонтопатогенної мікрофлори. *T. forsythensis* (*B. forsythus*) виявлено у 80 % з цих обстежених. *P. intermedia* спостерігалася у 53 % хворих з пародонтопатогенною мікрофлорою. Присутність *P. gingivalis* та *A. actinomycetemcomitans* було виявлено у 13 % даного контингенту хворих.

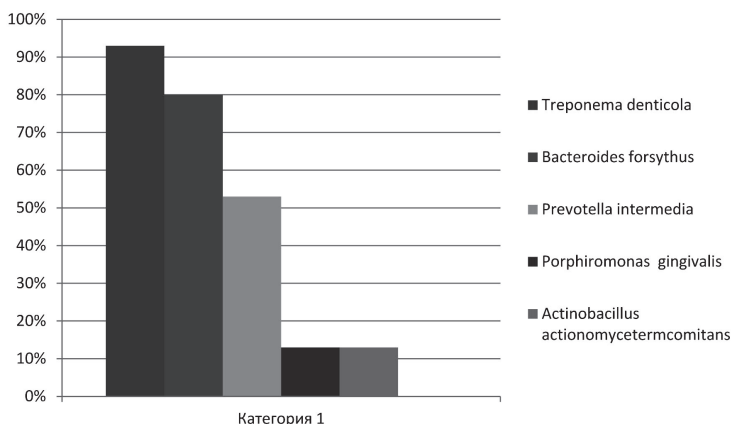


Рис. 1. Частота виявлення ДНК різних представників пародонтопатогенної мікрофлори у ротовій рідині хворих на хронічний катаральний гінгівіт.

Частоту виявлення «маркерних» представників пародонтопатогенної мікрофлори у зразках ротової рідини пацієнтів із різним ступенем тяжкості хронічного катарального гінгівіту представлено в **таблиці 3**. Її дані свідчать, що у переважній більшості пацієнтів було ідентифіковано *Treponema denticola* як при легкому, так і при середньому ступені тяжкості запального процесу в яснах – 61,5 % і 83,3 % відповідно. Друге місце за частотою виявлення посідав *B. forsythus*. При легкому ступені тяжкості хронічного катарального гінгівіту його було визначено у 46,2 % обстежених, а при середньому – у 83,3 % осіб. Привертає увагу наявність у досліджуваних зразках *Prevotella intermedia*, кількість якого при середньому ступені тяжкості запального процесу в яснах виявилася вдвічі вищою, ніж при легкому – 66,7 % і 30,8 % відповідно. Слід відзначити, що *Porphyromonas gingivalis* було ідентифіковано лише у хворих із середнім ступенем тяжкості хронічного катарального гінгівіту – 33,3 %. Порівняно рідко у досліджуваних

Таблиця 3

Частота виявлення ДНК представників пародонтопатогенної мікрофлори у ротовій рідині в залежності від ступеня тяжкості хронічного катарального гінгівіту

Представники пародонтопатогенної мікрофлори	Ступінь важкості ХКГ			
	Легкий		Середній	
	Абс.	%	Абс.	%
<i>Prevotella intermedia</i>	4	30,8	4	66,7
<i>Bacteroides forsythus</i>	6	46,2	5	83,3
<i>Treponema denticola</i>	5	61,5	8	83,3
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	1	7,7	2	28,6
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	-	-	2	33,3
Всього пацієнтів з загальною кількістю обстежених за допомогою метода ПЛР (n=20)	13	100	7	100

зразках спостерігався *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. При легкому ступені тяжкості його було виявлено тільки в одному випадку (7,7 %), а при середньому – у двох (28,6 %).

Нами було проведено співставлення кількості комбінацій виявлених пародонтопатогенів (**табл. 4**). При середньому ступені тяжкості хронічного катарального гінгівіту найбільш часто одночасно було виявлено від двох до чотирьох маркерних мікроорганізмів, тимчасом як при легкому ступеню тяжкості – від двох до трьох пародонтопатогенів. Зокрема, у хворих із легким ступенем тяжкості запального процесу в яснах було ідентифіковано ДНК двох (*B. f.* + *T. d.*) і трьох видів маркерних мікроорганізмів – *P. i.* + *B. f.* + *T. d.*

Таблиця 4

Кількість різних комбінацій представників пародонтопатогенної мікрофлори у ротовій рідині в залежності від ступеня тяжкості хронічного катарального гінгівіту

Представники пародонтопатогенної мікрофлори	Легкий ступінь хронічного катарального гінгівіту	Середній ступінь хронічного катарального гінгівіту
<i>P. i.</i>	-	1
<i>P. i. +B. f. +T. d.</i>	3	2
<i>P. i. +B. f. +T. d. +A. a.</i>	1	1
<i>P. i. +B. f. +T. d. +P. g.</i>	-	2
<i>B. f. +T. d.</i>	2	2
<i>T. d.</i>	2	-

В одному випадку одночасно було виявлено чотири представники пародонтопатогенної мікрофлори – *P. i.* +*B. f.* +*T. d.* +*A. a.* У двох досліджуваних зразках спостерігалось ДНК одного виду мікрофлори – *Treponema denticola*.

При середньому ступеню тяжкості хронічного катарального гінгівіту, на відміну від легкого, частіше було ідентифіковано комбінацію ДНК чотирьох видів різних маркерних мікроорганізмів – *P. i.* +*B. f.* +*T. d.* +*P. g.* Вищезазначені представники пародонтопатогенної мікрофлори характеризуються синергічною

взаємодією, що посилює негативний вплив кожного з них на тканини пародонту.

Висновки. В результаті проведених досліджень у 75% дітей із діагнозом хронічний катаральний гінгівіт було виявлено присутність ДНК маркерних мікроорганізмів у ротовій рідині. При співставленні кількісного складу пародонтопатогенної мікрофлори і ступеню тяжкості запального процесу в яснах встановлено істотні відмінності. У хворих із середнім ступенем тяжкості хронічного катарального гінгівіту, порівняно з легким, ДНК *Prevotella intermedia* і *B. forsythus* було ідентифіковано вдвічі частіше.

Виявлений нами при середньому ступеню тяжкості запального процесу в яснах комплекс маркерних мікроорганізмів *P. i.* +*B. f.* +*T. d.* +*P. g.* може бути несприятливим прогностичним критерієм щодо розвитку деструктивних змін в тканинах пародонту та їх прогресуванні.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження передбачають вивчення різних комбінацій маркерних для хронічного катарального гінгівіту мікроорганізмів у ротовій рідині підлітків з хронічним катаральним гінгівітом різного ступеня тяжкості. Аналіз отриманих даних надасть можливість прогнозування та своєчасного адекватного лікування запально-дистрофічних процесів пародонта. Впровадження даного сучасного методу діагностики пародонтопатогенної мікрофлори можливо використовувати в загальній системі профілактики захворювань тканин пародонта на ранніх стадіях їх розвитку.

Література

1. Григорьян А. С. Микроорганизмы в заболеваниях пародонта: этиология, патогенез, диагностика / А. С. Григорьян, С. Ю. Рахметова, Н. В. Зырянова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 56 с.
2. Грудянов А. И. Профилактика воспалительных заболеваний пародонта / А. И. Грудянов, В. В. Овчинникова. – М.: МИА, 2007. – 80 с.
3. Грудянов А. И. Частота выявления различных представителей пародонтопатогенной микрофлоры при пародонтите разной степени тяжести / А. И. Грудянов, В. В. Овчинникова // Стоматология. – 2009. – № 3. – С. 34 – 37.
4. Зырянова Н. В. Видовой состав анаэробной микрофлоры пародонтального кармана в зависимости от стадии пародонтита / Н. В. Зырянова, А. С. Григорьян, А. И. Грудянов, О. А. Фролова, И. И. Шильникова, М. И. Кобозев // Стоматология. – 2009. – № 4. – С. 43 – 47.
5. Ламонт Ричард Дж. Микробиология и иммунология для стоматологов / Ричард Дж. Ламонт, М. С. Лантц, Р. А. Берне, Д. Дж. Лебланк: пер. с англ. под ред. В. К. Леонтьева. – М.: Практическая медицина, 2010. – 504 с.
6. Остапко О. І. Стан тканин пародонта у дітей і підлітків як індикатор стану довкілля / О. І. Остапко // Науковий вісник Національного медичного університету імені О. О. Богомольця. – 2006. – № 3. – С. 103 – 106.
7. Хоменко Л. А. Заболевания пародонта у лиц молодого возраста: проблема риска и диагностики / Л. А. Хоменко, Н. В. Биденко, Е. И. Остапко // Стоматолог. – 2006. – № 1 – 2. – С. 54 – 58.
8. Царев В. Н. Применение новых молекулярно-биологических систем для диагностики и прогнозирования заболеваний пародонта. Пособие для врачей. – М., 2005. – 524 с.
9. Colombo A. V. Identification of oral bacteria associated with cervical cells from chronic periodontal lesions / A. V. Colombo, C. M. Silva, A. Haffajee, A. P. Colombo // J. Med. Microbiol. – 2006. – Vol. 55. – P. 609 – 615.

УДК 616. 311. 2-002. 2-053. 6:616. 31-022

ХАРАКТЕРИСТИКА ВИДОВОГО СКЛАДУ ПАРОДОНТОПАТОГЕННОЇ МІКРОФЛОРИ В РОТОВІЙ РІДИНІ ПРИ ХРОНІЧНОМУ КАТАРАЛЬНОМУ ГІНГІВІТІ У ПІДЛІТКІВ

Шинчуковська Ю. О.

Резюме. В статті запропоновано метод полімеразної ланцюгової реакції з метою ранньої діагностики пародонтопатогенної мікрофлори в ротовій рідині у підлітків з діагнозом хронічний катаральний гінгівіт. Наведено дані щодо видового складу маркерних мікроорганізмів при даному захворюванні. На підставі отриманих результатів проаналізовано варіанти комбінацій пародонтопатогенів в ротовій рідині при хронічному катаральному гінгівіті різного ступеня тяжкості.

Ключові слова: хронічний катаральний гінгівіт, підлітки, пародонтопатогени, ротова рідина, полімеразна ланцюгова реакція.

УДК 616. 311. 2-002. 2-053. 6:616. 31-022

ХАРАКТЕРИСТИКА ВИДОВОГО СОСТАВА ПАРОДОНТОПАТОГЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ В РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ КАТАРАЛЬНОМ ГИНГИВИТЕ У ПОДРОСТКОВ

Шинчуковская Ю. А.

Резюме. В статье предложено использование метода полимеразной цепной реакции с целью ранней диагностики наличия пародонтопатогенной микрофлоры в ротовой жидкости у подростков с диагнозом хронический катаральный гингивит. Предоставлены полученные данные относительно видового состава маркерных микроорганизмов при данном заболевании. На основании полученных результатов проанализированы варианты комбинаций пародонтопатогенов в ротовой жидкости при хроническом катаральном гингивите разной степени тяжести.

Ключевые слова: хронический катаральный гингивит, подростки, пародонтопатогены, ротовая жидкость, полимеразная цепная реакция.

UDC 616. 311. 2-002. 2-053. 6:616. 31-022

DESCRIPTION OF SPECIFIC COMPOSITION PARODONTOPATOGENNIC MICROFLORA IN MOUTH LIQUID AT CHRONIC CATARRHAL GINGIVITIS FOR TEENAGERS

Shynchukovska Iuliia

Summary. There were proposed a method of polymerase chain reaction to research different types of parodontopatogenic microflora in saliva for teenagers. A connection between different combinations of parodontopatogenic microflora and weight of chronic catarrhal gingivitis was studied.

Key words: polymerase chain reaction, saliva, chronic catarrhal gingivitis, teenagers, parodontopatogenic.

Стаття надійшла 24. 01. 2012 р.

Рецензент – проф. Каськова Л. Ф.