

УДК: 616.314.17

© Мошель Т.М., Ганчо О.В., Дарчия М.В., 2013

ІМУНОМІКРОБІОЦЕНОЗ ПАРОДОНТАЛЬНИХ КИШЕНЬ

Мошель Т.М., Ганчо О.В., Дарчия М.В.

ВДНЗУ „Українська медична стоматологічна академія”

Вступ. Захворювання порожнини рота, як і будь-які хвороби людини, здебільшого індукуються і визначаються двома групами факторів: місцевими (у тому числі і мікроорганізмами) та системними факторами, серед яких основне значення має спадковість, стан імунної та ендокринної систем і т.і. Початок і результат захворювання визначається взаємодією цих місцевих та загальних факторів [3].

Більшість авторів у розвитку захворювань пародонта надають важливе значення мікроорганізмам біоплівки. За умов незадовільної гігієни порожнини рота, змінах в екологічній ніші або в системі місцевого чи системного захисту організму відбувається непропорційне розмноження деяких бактерій-сапрофітів, тобто потенційно патогенних бактерій [5].

В порожнині рота виявлено 300-400 видів мікроорганізмів, з яких тільки деякі є вірогідними патогенами. За даними Muller (2004), пародонтопатогенна мікрофлора розподіляється на наступні види:

1. Патогени з суттєвою асоціацією до захворювань пародонта – *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*.

2. Патогени з помірною асоціацією до захворювань пародонта – *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus*, *Peptostreptococcus micros*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Eubacterium* spp., *Seimonas* spp., β-гемолітичні стрептококи.

3. В певних випадках мають значення – *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., ентерококи, кишкові палички, *Candida* spp.

Таким чином, сучасні концепції етіопатогенезу захворювань пародонта передбачають наявність комбінацій превалюючих бактеріальних патогенів, з якими пов'язують клінічні форми і тяжкість перебігу хвороби [6].

У патогенезі хвороб пародонта суттєва роль належить не тільки мікробним факторам, але і імуннопатологічним механізмам. Імунопатогенез захворювань пародонта можна розділити на дві фази: оборотну і необоротну. Оборотна фаза пов'язана з нормальною імунною відповіддю захисного характеру із боку місцевих тканин. Її механізм обумовлений посиленням розмноження грамнегативних бактерій у біоплівці і клінічно проявляється ознаками гінгівіту. Своєчасне лікування зупиняє масоване надходження антигенів, що призводить до ліквідації запалення ясен. Але якщо масоване надходження мікробних антигенів не зупиняється, мобілізовані захисні механізми можуть призвести до розвитку детруктивно-запальних змін у тканинах пародонта [9].

Однак, у межах проблеми генералізованого пародонтиту слід визнати, що зміни біоценозу пародонтальної еконіші, оцінка його значущості у формуванні захворювання і наступного його клінічного перебігу вивчені недостатньо.

Тому метою нашого дослідження було вивчення характеру змін мікробіоценозу пародонтальних кишень і стану неспецифічної резистентності порожнини рота у хворих на генералізований пародонтит I та II ступеня тяжкості.

Матеріали і методи. У відповідності до поставленої мети здійснювали клінічне, лабораторне і мікробіологічне дослідження 36 хворих на хронічний генералізований пародонтит (ГП) I та II ступеня тяжкості віком від 45 до 65 років. Серед всіх обстежених жінок виявилось 75%, а чоловіків – 25%. Контрольну групу склали відповідні за віком і статтю 20 осіб з інтактним пародонтом.

При дослідженні стану тканин пародонта і постановці діагнозу використовували об'єктивні критерії: пробу Шиллера-Писарева, індекс РМА за С. Парма, пародонтальний індекс за Russel, вакуумну пробу Кулаженка, термометрію ясенних сосочків. Стан кісткової тканини альвеолярних відростків визначали за допомогою ортопантомографії. Стан гігієни порожнини рота оцінювали за допомогою індексу Гріна-Вермільона [3].

Забір матеріалу з пародонтальних кишень хворих на ГП або із зубо-ясенної борозни у пацієнтів контрольної групи проводили стерильним паперовим штифтом довжиною 1 см, який переносили у фізіологічний розчин і ретельно відмивали. Для визначення мікробної заселеності і виділення умовно-патогенних та патогенних мікроорганізмів проводили посів матеріалу на спеціальні, селективні та диференційно-діагностичні середовища: кров'яний агар, жовтково-сольовий агар, середовище Сабууро, седовище Ендо. Посіви інкубували 24-48 годин при температурі 37⁰ С. Щільність популяції визначали шляхом підрахунку мікроорганізмів в 1 мл матеріалу (КУО /мл) [1,7].

Вивчення особливостей складу 5 основних пародонтопатогенних бактерій у хворих на ГП здійснювали методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) за допомогою реактивів виробництва ООО НПФ „ГенТех”.

Стан неспецифічної резистентності порожнини рота оцінювали методом визначення активності лізоциму ротової рідини з використанням музейного штаму тест культури *Micrococcus lysodeicticus* [2] та методом визначення фагоцитарної активності лейкоцитів ясенної крові за їх здатністю захоплювати частинки латексу. Розраховували фагоцитарний індекс – відсоток фагоцитів, що мають поглинуті частинки, до загального числа нейтрофілів у мазку, і фагоцитарне число – середнє число частинок на один фагоцит [6].

Статистичну обробку результатів досліджень здійснювали варіаційно-статистичним методом на персональному комп'ютері Pentium IV допомогою програми Microsoft Excel Office 2007. Достовірність отриманих результатів аналізували за допомогою t-критерію Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення. У

процесі вивчення особливостей мікробіоценозу пародонтальних кишень хворих на ГП та ясенних борозенок пацієнтів контрольної групи встановлена суттєва різниця щільності колонізації мікроорганізмами. Загальна мікробна заселеність ясенних борозенок у осіб із відсутністю патологічних змін у тканинах пародонта склала $1,55 \times 10^9 \pm 0,50$ КУО/мл. Загальне мікробне число пародонтальних кишень хворих на ГП склало $1,95 \times 10^{10} \pm 0,84$ КУО/мл, тобто було збільшено у 12 разів ($p < 0,001$).

В результаті проведених мікробіологічних досліджень встановлено, що на відміну від пацієнтів з інтактним пародонтом, в яких переважала сапрофітна та умовно-патогенна мікрофлора (лактобактерії, стрептококи), у хворих на ГП переважали асоціації умовно-патогенних та патогенних мікроорганізмів. У вмісті пародонтальних кишень хворих переважали стафілококи, спірохети, бактероїди та гриби роду *Candida* (табл. 1).

Таблиця 1. Склад мікрофлори пародонтальних кишень та ясенних борозенок обстежених ($M \pm m$)

Мікроорганізми	Частота заселення мікроорганізмами			
	Здорові (n=20)		Хворі на ГП (n=36)	
	Абс.	%	Абс.	%
<i>Streptococcus spp.</i>	20	100	19	58,3
<i>Staphylococcus spp.</i>	17	85	35	91,7
<i>Lactobacillus spp.</i>	20	100	18	50
<i>Actinomyces spp.</i>	7	35	15	41,7
<i>Leptotrichia spp.</i>	13	65	9	25
<i>Bacteroides spp.</i>	7	35	27	75
<i>Veillonella spp.</i>	4	20	6	16,7
<i>Spirochaetaceae</i>	10	50	30	83,3
<i>Corynebacterium spp.</i>	7	35	12	33,3
<i>Candida spp.</i>	5	25	12	66,7

Примітка. n-кількість спостережень.

При цьому, в якісному складі мікробіоценозу пародонтальних кишень відсоток стафілококів був найвищим, але значимих відмінностей у порівнянні з цим же показником здорових осіб не було виявлено.

Кількість хворих на пародонтит, у пародонтальних кишнях яких виявлені бактероїди, перевищувала аналогічний показник контрольної групи у 2,5 разів ($p < 0,05$), а спірохети виявлялися у 1,7 разів ($p < 0,05$) частіше контрольної групи. Також у пацієнтів основної групи було виявлено збільшення частоти виділення з пародонтальних кишень грибів *Candida spp.* у 2,7 разів ($p < 0,01$).

Разом з тим у пародонтальних кишнях хворих на ГП було виявлене значне зменшення кількості сапрофітної мікрофлори, зокрема відсоток хворих, у пародонтальних кишнях яких виявлені стрептококи, зменшувався у 1,7 разів ($p < 0,01$).

Слід відмітити, що у хворих на ГП були явно виражені дисбіотичні порушення. Частота виділення лактобактерій в основній групі хворих зменшувалася у 2 рази ($p < 0,01$) порівняно з контрольною групою. Також у 3 рази ($p < 0,01$) зменшувалась кількість хворих на ГП, із пародонтальних кишень яких були виділені лептотрихії.

Відсоток осіб, у яких в мікропрепаратах з пародонтальних кишень виявлялися актиноміцети, вейлонели і дифтероїди, не мав достовірних відмінностей між групою хворих на ХГП та групою людей із відсутністю змін у тканинах пародонта.

Аналіз характеристик окремих груп мікроорганізмів пародонтальних кишень дозволив встановити, що у хворих на ГП спостерігається значне, у 3,3 рази ($p < 0,001$), зменшення частоти виявлення *Streptococcus spp.*, які є симбіонтними мікроорганізмами.

В результаті вивчення складу п'яти основних пародонтопатогенів пародонтальних кишень хворих на ГП встановлено, що у п'яти серед усіх обстежених хворих до лікування було виявлено ДНК одного виду пародонтопатогенних бактерій, що складало 13,9 %.

У 10 хворих (27,8 %) було виявлено два види пародонтопатогенів. Три види мікроорганізмів виявлено нами у 12 пацієнтів, що складало 33,3 %. При цьому в асоціаціях частіше зустрічались *Treronema denticola* (Td) та *Porphyromonas gingivalis* (Pg).

Чотири види пародонтопатогенних бактерій були виявлені у 9 хворих (25 %). При цьому, крім зазначених мікроорганізмів, виявлялись також *Bacteroides forsythus* (Bf) та *Prevotella intermedia* (Pi).

У вмісті пародонтальних кишень хворих на ГП найчастіше була ідентифікована ДНК *Bacteroides forsythus*. Її було виділено у 26 (72,2 %) пацієнтів. ДНК *Prevotella intermedia* визначалася у пародонтальних кишнях 21 (58,3 %) обстеженого хворого.

У значній кількості хворих на ГП визначалася також ДНК *Porphyromonas gingivalis*, яка була виділена у 19 (52,8 %) пацієнтів. Майже з такою ж самою частотою була ідентифікована ДНК *Treronema denticola* – у 18 (50,0 %) серед усіх обстежених хворих.

Найменшою в наших дослідженнях була частота ідентифікації ДНК *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aac), яка складала 36,1 % (13 хворих).

Вивчення показників неспецифічного захисту порожнини рота показало, що у хворих на генералізований пародонтит спостерігається пригнічення фагоцитарної ланки захисту. Так, в основній групі спостерігалось достовірне зменшення фагоцитарного індексу на 39,3% ($p < 0,05$), а фагоцитарного числа – на 42,7% ($p < 0,05$).

В оцінці реактивної здатності організму важливу роль має фагоцитоз, як показник природного імунітету. Аналіз фагоцитарної здатності нейтрофілів дозволив встановити, що у хворих на генералізований пародонтит спостерігається фагоцитарна недостатність клітин крові.

Послаблення антимікробного потенціалу є однією з ознак „функціонального виснаження” за умов тривалого хронічного процесу, яке іде після попередньої стимуляції нейтрофілів.

Як видно з наведених даних, активність лізоциму ротової рідини хворих на генералізований

пародонтит знижується у 3,9 разів ($p < 0,05$) у порівнянні з контрольною групою (табл. 2).

Таблиця 2. Зміни показників неспецифічного захисту порожнини рота хворих на генералізований пародонтит ($M \pm m$)

Показники	Контрольна група (n=20)	Хворі на генералізований пародонтит (n=36)
Фагоцитарний індекс, %	68,80±3,39	41,80±3,14 $p < 0,05$
Фагоцитарне число	6,81±0,53	3,97±0,43 $p < 0,05$
Активність лізоциму, мкг/мл	9,57±2,17	2,45±1,09 $p < 0,05$

Примітки: n-кількість спостережень; p – вірогідність відмінностей до показників осіб контрольної групи.

Висновки:

1. Загальна мікробна заселеність пародонтальних кишень хворих на генералізований пародонтит у 12 разів більша ($p < 0,05$), ніж у пацієнтів з інтактним пародонтом.

2. Мікробіоценоз пародонтальних кишень хворих на генералізований пародонтит характеризується збільшенням частоти колонізації агресивної умовно-патогенної мікрофлори (*S. aureus*, *Streptococcus* spp. β -haemolyticus, *Escherichia* spp., *Candida* spp.), зменшенням частоти виявлення симбіотичної стабілізуючої мікрофлори (*Streptococcus* spp. viridans) та переважанням асоціацій двох-

чотирьох видів пародонтопатогенів (*Bacteroides forsythus*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis* та *Treponema denticola*).

3. У хворих на генералізований пародонтит спостерігається послаблення неспецифічної резистентності порожнини рота, про що свідчить зниження зменшення фагоцитарного індексу ($p < 0,05$), фагоцитарного числа ($p < 0,05$) та активності лізоциму ротової рідини ($p < 0,05$).

Результати проведених досліджень можуть бути використані при плануванні комплексного лікування хворих на генералізований пародонтит.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Бактеріологія і вірусологія: Нормативне виробничо-практичне видання. – К.:МНІАЦ мед.статистики, МВЦ «Медінформ», 2004. – С.135-137.
 2. Дорощук В.Г. Определение активности лизоцима нефелометрическим методом / В.Г. Дорощук // Лабораторное дело. – 1968. – №1. – С. 28-30.
 3. Заболевания пародонта / [под ред. Л.Ю. Ореховой]. – М.: Поли Медиа Пресс, 2004. – 432 с.
 4. Левицкий А.П. Лизоцим вместо антибиотиков / А.П. Левицкий. – Одесса: КП ОГТ, 2005. – 73 с.
 5. Лобань Г.А. Мікробне заселення ясної рідини як об'єктивний критерій гігієни порожнини рота / Г.А. Лобань, О.В. Ганчо, В.В. Черда // Український стоматологічний альманах. – 2006. – № 2. – С. 13-15.

6. **Мащенко І.С.** Диагностика и коррекция нарушений иммуномикробиоценоза у больных генерализованным пародонтитом / И.С. Мащенко, К.В. Скидан, Е.Н. Рябоконь // Вісник стоматології. – 2005. – №1. – С. 35-38.
 7. Практична мікробіологія: Посібник / [Климнюк С.І., Ситник І.О., Творко М.С., Ширококов В.П.]. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – 440 с.
 8. Цепов Л.М. Роль мікрофлори в возникновении воспалительных заболеваний пародонта / Л.М. Цепов, Н.А. Голева // Пародонтология. – 2009. – №1 (50). – С. 7-12.
 9. **Gibbons R.J.** Adherent interaction which may affect microbial ecology in the mouth / R.J. Gibbons // J. Dental Research. – 2004. – Vol. 63. – P. 378-385.

Мошель Т.М., Ганчо О.В., Дарчия М.В. Імуномікробіоценоз пародонтальних кишень // Український медичний альманах. – 2013. – Том 16, № 1 (додаток). – С. 74-76.

В роботі вивчені особливості імуномікробіоценозу пародонтальних кишень 36 хворих на генералізований пародонтит I та II ступеня тяжкості. Виявлене збільшення загальної мікробної заселеності пародонтальних кишень у 12 разів ($p < 0,05$), підвищення частоти колонізації агресивної умовно-патогенної мікрофлори та зменшення частоти виявлення симбіотичної стабілізуючої мікрофлори. Встановлено, що у хворих на генералізований пародонтит I та II ступеня тяжкості спостерігається фагоцитарна недостатність клітин крові.

Ключові слова: генералізований пародонтит, імуномікробіоценоз, пародонтальна кишеня.

Мошель Т.М., Ганчо О.В., Дарчия М.В. Иммуномикробиоценоз пародонтальных карманов // Український медичний альманах. – 2013. – Том 16, № 1 (додаток). – С. 74-76.

В работе изучены особенности иммуномикробиоценоза пародонтальных карманов 36 больных генерализованным пародонтитом I и II степени тяжести. Обнаружено увеличение общей микробной заселенности пародонтальных карманов в 12 раз ($p < 0,05$), повышение частоты колонизации агрессивной условно-патогенной микрофлоры и уменьшение частоты выявления симбиотичной стабилизирующей микрофлоры. Установлено, что у больных генерализованным пародонтитом I и II степени тяжести наблюдается фагоцитарная недостаточность клеток крови.

Ключевые слова: генерализованный пародонтит, иммуномикробиоценоз, пародонтальный карман.

Moshel' T.N., Hancho O.V., Darchiya M.V. Immunomicrobiocenosis of periodontal pockets // Український медичний альманах. – 2013. – Том 16, № 1 (додаток). – С. 74-76.

On the basis of modern microbiological and immunological methods the features of immunomicrobiocenosis of periodontal pockets are studied 36 patients on generalized periodontitis I and II degree. Found out the increase of general microbial population density of periodontal pockets in 12 times ($p < 0,05$), increases of frequency of colonization of aggressive casual pathogenic microflora and diminishing of frequency of exposure of symbiotic stability of microflora. It is set that for patients on generalized periodontitis I and II degree of weight there is phagocytic insufficiency of blood cells.

Key words: generalized periodontitis, immunomicrobiocenosis, periodontal pockets.