

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ И ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАРОДОНТИТОВ И ГИНГИВИТОВ С АКТИНОМИКОТИЧЕСКОЙ ЭТИОЛОГИЕЙ

Н.А. Агаева

*Азербайджанский медицинский университет, г.Баку,
кафедра медицинской микробиологии и иммунологии*

В патологических материалах пациентов с парадонтитом и синуситом был выявлен актиномицет в ассоциации с другими микроорганизмами.

В ходе определения ряда цитокинов и иммуноглобулинов в сыворотке крови были исследованы субпопуляции Т- и В-лимфоцитов.

В результате исследования было установлено, что все определения в иммунной системе пациентов с актиномикотической этиологией были ниже нормы.

Ключевые слова: пародонтит, иммунная система, исследования.

THE FEATURES OF MICROBIOLOGY AND IMMUNOLOGY IN THE PARADONTIT AND GINGIVIT DISEASES WITH ACTINOMICOTIC ETHIOLOGY

N.A. Agaeva

*Azerbaijan Medical University, department of microbiology
and immunology, Baku, Azerbaijan*

Revealing the association of actinomisetes taken from pathological materials of patients who are paradontitis and gingivitis diagnoses and other microorganisms.

In order to determine some cytokines immunoglobulins in saliva blood the subpopulations of T and B-lymphocytes in blood have been researched.

In the result of investigation it has been revealed that all determinations in immune system of the patients who have actinomisetes diseases have been lower than normal.

Keywords: paradontitis, immune system, researches

Изучение микробиологических аспектов этиологии и патогенеза болезней пародонта является актуальной проблемой стоматологии. Обоснование роли определенных видов микроорганизмов в развитии патологического процесса, определение условий и механизмов реализации неповреждающе-

го действия открывают новые перспективы для профилактики и лечения данных заболеваний. Уже установлена ведущая роль стрептококков в возникновении кариозных повреждений эмали зубов, а также значение отдельных сероваров *Streptococcus mutans* в этом процессе [1]. Продолжается выясне-

ние влияния инфекционного фактора на этиологию и других форм патологических процессов в полости рта.

В полости рта местные микроорганизмы часто ассоциируются с этиологией двух широко распространенных патологических процессов – кариес и перидонтальные заболевания. Оральная патология, как правило, развивается после нарушения сбалансированного состояния среди местной микрофлоры, что приводит к появлению потенциально патогенных микроорганизмов [2].

В полости рта существующая важная среда обеспечивает относительно стабильную температуру (от 34° до 36°C) и pH ближе к нейтральной в большинстве участков, таким образом, поддерживается рост широко-го разнообразия микроорганизмов. Вместе с тем ротовую полость нельзя рассматривать как однообразную среду. В ней можно определить несколько участков – мест для обитания микроорганизмов, каждое из которых характеризуется разнообразными физико-химическими факторами и таким образом поддерживает рост и развитие разной микробной общины. Это происходит частично из-за большого анатомического разнообразия полости рта, а также взаимосвязи между разными анатомическими структурами [3, 4].

Оральная микрофлора у людей весьма сложная и разнообразная. Она включает более чем 300 бактериальных видов, к которым можно добавить Protozoa, грибы, а также микоплазмы и актиномицеты. Их распространение меняется качественно и количественно в зависимости от их местообитания [5].

Как известно, количественный критерий имеет важное значение при установлении возбудителя инфекционного процесса. Возрастание доли определенного вида среди остальных микроорганизмов в течение заболевания, а также доминирование его в популяции, населяющей очаг поражения, может косвенно свидетельствовать об этиологической роли данного вида [6, 7]. У здоровых людей десневая бороздка содержит ограниченное количество матрикса зубной бляшки. Более 30% всей культивируемой микрофлоры такой бляшки составляют грамположительные палочки. Около 90% из них — это представители актиномицетов (*Actinomyces viscosus*, *A. naeslundii*, *A. israeli*) [1]. Прекращение гигиенического ухода за полостью рта ведет к накоплению матрикса бляшки. Это сопровождается, с одной стороны, развитием гингивита, а с другой – возрастанием доли актиномицетов, которые постепенно становятся доминирующей флорой. В зрелой, ненарушенной зубной бляшке актиномицеты составляют примерно половину всех микроорганизмов: *A. viscosus* и *A. naeslundii* — 38,4%, *A. israeli* — 10%, *A. odontolyticus* — 3,5% [1].

На модели экспериментального гингивита показано, что количество *A. viscosus* и *A. israeli* увеличивается параллельно с нарастанием интенсивности воспаления десен. Другими исследователями также отмечена прямая корреляция между выраженностью клинических симптомов гингивита и содержанием *A. viscosus* в материале зубной бляшки.

При микробиологическом исследовании десневой жидкости и зубной бляшки у больных пародонтитом определено, что числен-

ность популяции *A. viscosus* и *Rothia dentocariosa* в области поражения оказалась больше, чем в непораженных участках. На преобладание актиномицетов в зубной бляшке при пародонтите указывают, в то время как другие авторы наблюдали высокое содержание *R. dentocariosa*, *A. naeslundii*, *A. viscosus* лишь у больных с минимальной активностью процесса.

Другая форма патологии органов рта, при которой доминируют актиномицеты – пришеечный кариес. В таких кариозных поражениях обнаружено более 50% *A. viscosus*, *A. naeslundii*, *A. odontolyticus*.

Поверхность слизистой полости рта омывается стабильно двумя важными физиологическими жидкостями – слюна и жидкость гингивальной щели. Они существенно важны для поддержания экосистемы оральной полости, обеспечивая ее при этом водой, питательными веществами, адгезией микроорганизмов, а также антимикробными факторами. Супрагингивальная среда промывается слюной, в то время сабгингивальный регион (гингивальная щель) промывается в основном жидкостью гингивальной щели [5].

В настоящей работе рассматривается вопрос о патологическом значении ферментирующих актиномицетов, а также микробиологические и иммунологические аспекты при пародонтите и гингивите с актиномикотической этиологией.

Материал и методы

Микробиологические исследования патологического материала проводились на кафедре микробиологии и иммунологии АМУ. Проведено микробиологическое исследование мазков ротовой полости больных па-

родонтитом и гингивитом. В ходе работы 139 больных, проходивших обследование и лечение в стоматологической поликлинике АМУ, были разделены на 2 группы. 1 группу составили 56 больных пародонтитом, 2 группу — 83 больных с гингивитом. А также каждая группа была разделена на две подгруппы: «а» — с актиномикотической этиологической, «б» — больные, у которых этиологическим аспектом служили другие микроорганизмы (бактерии и грибы).

Материалом для исследования служили мазки из ротовой полости, материалы пародонтального кармана зубов и из гингивальной щели. Параллельно приготовлениям мазков образец поместили в 5 мл транспортную среду (0,06% обогащенную тиогликолевую среду), морфологические и тинктовые свойства изучали при окрашивании препаратов по Грамму, Цилью Нельсону и Романовскому Гимзе.

Для выделения культур *Actinomyces* в качестве плотной среды использовали тиогликолевую, крахмаламмиачную, а также среду Сабуро, кровяной агар.

Инкубации при 35–37°C проводили в анаэробных и аэробных условиях в течение 15 дней. Исследовали морфологические, культуральные, физиологические и биохимические свойства выделенных изолятов по общепринятому методу. Колонии изучали при помощи лупы и микроскопа.

Концентрацию иммуноглобулинов классов А, М, G провоспалительных цитокинов (TNFα, IL-1) в сыворотке крови, а также уровня sIgA в слюне определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа. Для изучения количества субпопуляции

Т-лимфоцитов (CD₃, CD₄, CD₈), а также CD₂₂ в крови был использован коммерческий тест-набор, «колоноспектр», предназначенный для определения дифференцированных антигенов лейкоцитов человека методом «иммунопероксидазного окрашивания клеток».

Результаты и обсуждение

В результате бактериологического и бактериоскопического анализа больных гингивитом и пародонтитом был выявлен актиномицет в ассоциации с другими микроорганизмами. У больных пародонтитом (50 человек) у 23 (46%) были выделены актиномицеты в ассоциации с другими микроорганизмами, у 27 (54,0%) были выделены лишь другие микроорганизмы. У больных гингивитом (83 человека) у 33 (40%) были выделены актиномицеты в ассоциации с другими микроорганизмами, а у 50 (60%) только другие микроорганизмы. При пародонтите часто выделены *Act.odontolyticus*, *Act.viscosus*, *Act.israelii*, *Act.eriocsonii*, *Act.albicans*, *Act.nauslandii*, *Act.spp.* А при гингивите были выделены актиномицеты — *Act.odontolyticus*, *Act.viscosus*, *Act.israelii*, *Act.eriocsonii*. Все эти актиномицеты были выделены в ассоциации с аэробными и анаэробными микроорганизмами.

При пародонтите были выделены следующие микроорганизмы: *S.aureus*, α гемолитические стрептококки, *E.coli*, *C.albicans*, *A.actinomycetemcomitans*, *Fuzabacterium spp.*, грамположительные анаэробные кокки, бактериоиды. А при гингивите актиномицеты были выделены в ассоциации с аэробными бактериями — *S.aureus*, α гемолитические стрептококки, *Neisseria spp.*, *C.albicans*, *Micrococcus*

spp., *A.actinomycetemcomitans*, из анаэробных — грамположительные анаэробные кокки, *Porphyromonas gingivalis*.

Исходя из этих данных, можно предположить, что при возникновении таких болезней, как гингивит и пародонтит ротовой полости, значительную роль играют актиномицеты и так называемые «сопутствующие микроорганизмы» (бактерии и грибы), и они создают локальные условия для патологического процесса [6]. Поэтому необходимо изолировать и идентифицировать выделенные актиномицеты, а также другие микроорганизмы из очагов актиномикотических поражений. Развитие актиномикоза следует рассматривать как проявление аутоинфекции, которая возникает и прогрессирует на фоне гнойно-воспалительных заболеваний, травм, иммунодефицитных состояний. В ряде случаев для возникновения заболевания необходимо наличие гиперсенсibilизации или ассоциации с другими бактериями, обитающими в организме (микст инфекция) [8, 9]. При этом сопутствующая микрофлора значительно усугубляет тяжесть поражения и нередко способствует ошибкам при лабораторной диагностике заболевания, поскольку актиномицеты часто при микроскопическом исследовании не выявляются, а на питательных средах их видимый рост проявляется намного позже (на 7–14 день) сопутствующей микрофлоры, к тому же в зависимости от вида актиномицетов для их культивирования необходимы аэробные или анаэробные условия, что не всегда учитывается в практике врачей. Необходимо отметить, что при воспалительных заболеваниях пародонта наряду с увеличением количества актиномицетов наблюдаются

ся изменение морфологии этих бактерий. В частности, зубная бляшка здоровых людей представлена палочко- и кокковидными бактериями, а у больных гингивитом, пародонтитом она содержит плотные агрегаты нитевидных грамположительных бактерий.

В дальнейших исследованиях были проанализированы сравнительные показатели иммунной системы у больных пародонтитом и гингивитом актиномикотической этиологии, а также без нее.

У больных пародонтитом (IgA — $1,70 \pm 0,09$ мг/мл, IgM — $1,5 \pm 0,01$ мг/мл, IgG — $13,8 \pm 0,09$ мг/мл) и гингивитом (IgA — $1,25 \pm 0,1$ мг/мл, IgM — $0,98 \pm 0,01$ мг/мл, IgG — $6,0 \pm 0,1$ мг/мл) с актиномикотической этиологией анализ средних уровней иммуноглобулинов в сыворотке крови показал достоверное понижение, чем у больных, у которых этиологическим агентом служили другие бактерии и грибы (пародонтиты: IgA — $8,77 \pm 0,1$ мг/мл, IgM — $3,91 \pm 0,2$ мг/мл, IgG — $23,7 \pm 0,04$ мг/мл; гингивиты: IgA — $2,72 \pm 0,02$ мг/мл, IgM — $1,7 \pm 0,01$ мг/мл, IgG — $12,7 \pm 0,02$ мг/мл). А концентрация sIgA у больных с актиномикотической этиологией была заметно понижена (пародонтит — $56,4 \pm 10,1$ мг/мл, гингивит — $45,3 \pm 9,1$ мг/мл) по сравнению с нормой, а также у больных, у которых выделены другие микроорганизмы, так как в норме уровень sIgA составляет $207,5 \pm 92,2$ мг/мл.

У больных пародонтитом и гингивитом, у которых заболевания вызваны актиномицетами в сочетании с другими микроорганизмами, в уровне цитокинов в сыворотке крови отмечалось незначительное увеличение (у больных гингивитом: TNFα

— $77,3 \pm 3,5$, IL-1 — $78,4 \pm 3,3$; у больных пародонтитом: TNFα — $71,8 \pm 6,3$, IL-1 — $72,3 \pm 7,5$). Можно полагать, что отмеченные изменения в концентрации цитокинов обусловлены у больных с остротой воспалительных процессов. По всей вероятности, как пародонтиту, так и гингивиту, обусловленным актиномицетами в ассоциации с другими микроорганизмами, свойственно было хроническое течение заболевания. Напротив, у больных пародонтитом и гингивитом, вызванным другими микроорганизмами, воспалительный процесс (как гнойный, так и без него) протекал остро, что сказывалось на содержании провоспалительных цитокинов (у больных гингивитом: TNFα — $102,5 \pm 10,4$, IL-1 — $106,5 \pm 10,7$; у больных пародонтитом: TNFα — $169,6 \pm 13,0$, IL-1 — $236,8 \pm 11,5$).

Результаты количественного определения субпопуляции Т-лимфоцитов показали, что содержание CD₃ (у больных гингивитом — $48,2 \pm 10,0\%$, у больных пародонтитом — $38,6 \pm 8,3\%$), CD₄ (гингивит — $29,9 \pm 7,5\%$, пародонтит — $27,3 \pm 7,0\%$), CD₈ (гингивит — $21,0 \pm 5,9\%$, пародонтит — $14,5 \pm 3,5\%$), а также CD₂₂ (гингивит — $9,5 \pm 3,1\%$, пародонтит — $4,5 \pm 1,1\%$) у всех больных с актиномикотической этиологией, были снижены по сравнению с лицами контрольной группы (CD₃ — $65,5\%$, CD₄ — $38,5\%$, CD₈ — $29,5\%$, CD₂₂ — $12,8\%$) ($p < 0,05$).

Данное обстоятельство свидетельствует, прежде всего, об ослаблении клеточных механизмов защиты организма у больных гингивитом и пародонтитом, особенно с актиномикотической этиологией. Со стороны гуморального звена установлено уменьше-

ние CD₂₂ клеток В-лимфоцитов с появлением иммуноглобулин продуцирующей функции, что свидетельствует о наличии заметного иммунодефицитного состояния как по клеточному, так и гуморальному типу.

Список литературы

1. Олейник И.И., Мельников В.Г. Роль актиномицетов в развитии патологических процессов в полости рта. — М.: Стоматология, 1990. — №1. — С. 92–93.

2. Beem J.E., Hurley G.G. et al. Subgingival microbioto in squivelle monkeys with naturally occurring periodontal dieseses.// Impactand immunity. — 1991, V. 59: P. 4034–4041.

3. Bolton R.W., Hlava G.L. Evaluation of salivary IgA antibodies to cariogenic microorganisms in children.// S.Dent. Res., 1982. — P. 1225-1228.

4. Bistor A.R., Redly M.S., Levine M.S. Infection of asalivary mucin secrotomy IgA.// Exp. Med. — 1991. — V.167. — P. 194-195.

5. Дмитриев Л.А., Геблоева М.М. Особенности изменения микрофлоры пародонтального кармана при использовании озонотерапии.// Пародонтология. — 2004. — №4. — С. 20–24.

6. Агаева Н.А. Бактериальные ассоциации при актиномикотических поражениях у человека.// Журнал Инфекционной патологии. — Иркутск, 2001. Т.16, №1. — С. 26–30.

7. Азизов Р.Ф., Агаева Н.А., Сулейманова Т.Г. Бактериальный фактор в этиологии воспалительных заболеваний пародонта.// Georgian Medical News, Tbilisi New Work. — 2009, №9(174). — С. 13–18.

8. Агаева Н.А. Секреторный IgA и инфекционная патология актиномикоза.// Журнал Инфекционной патологии. — Иркутск, 2007. — №1-4. — С. 3-6.