

УДК 616.314.18-002.4:579.61

БАКТЕРИИ РОДА ЛЕПТОТРИЧИЯ В МИКРОБИОМЕ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗУБОДЕСНЕВЫХ КАРМАНОВ ПРИ ПАРОДОНТИТАХ

Шаповаленко Е.С., Антонова А.А., Стрельникова Н.В.

ГБОУ ВПО «Дальневосточный медицинский государственный университет»,

Министерства здравоохранения Российской Федерации, Хабаровск,

e-mail: kate-dv@yandex.ru, alex.antonova@rambler.ru, jpdom@mail.ru

Исследован бактериальный состав биотопов патологических зубодесневых карманов у 432 пациентов при пародонтитах разной степени тяжести в течение 2013 г. в регионе Хабаровского края, в возрасте от 20 до 70 лет. В составе микробиомов выявлены бактерии рода *Leptotrichia* и другие микроорганизмы: *Streptococcus anginosus*, экологическая группа кокков *Streptococcus viridans*, гемолитические *Streptococcus pyogenes* группы А, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* и некоторые другие виды. Анализировалось как наличие отдельных видов микроорганизмов, так и их ассоциации с лептотрихиями. При тяжёлых формах пародонтитов в 91,5% случаев выявлялись бактерии *Streptococcus pyogenes*, а также *Leptotrichia* spp. – в 78,5% случаев и патогенные *Staphylococcus aureus* – в 50% случаев. При пародонтитах средней степени выделены *Streptococcus pyogenes* – в 81,4% случаев, *Leptotrichia* spp. в 84,7% случаев, *Staphylococcus aureus* – в 49%, группа *Streptococcus viridans* – в 45% случаев. Отмечается увеличение частоты встречаемости лептотрихий в микробиоценозе при утяжелении патологического процесса в зубодесневых карманах. Так, при пародонтитах лёгкой степени *Leptotrichia* spp. выявлена в 47,4% случаев, при пародонтитах средней степени – в 84,7% случаев, а при пародонтитах тяжёлой степени – в 78,95% случаев. Выявлено, что при пародонтитах лёгкой степени наиболее часто бактерии рода *Leptotrichia* вступают в ассоциации с бактериями *Streptococcus viridans*. При средних и тяжёлых формах пародонтитов – со *Streptococcus pyogenes* группы А и *Staphylococcus aureus*.

Ключевые слова: пародонтит, микробиом зубодесневых карманов, *Leptotrichia* spp., *Streptococcus pyogenes* группы А, *Staphylococcus aureus*

BACTERIA OF THE GENUS LEPTOTRICHIA IN THE MICROBIOME OF PATHOLOGICAL PERIODONTAL POCKETS IN PERIODONTITIS

Shapovalenko E.S., Antonova A.A., Strelnikova N.V.

The Far Eastern State Medical University, Khabarovsk,

e-mail: kate-dv@yandex.ru, alex.antonova@rambler.ru, jpdom@mail.ru

Investigated the bacterial composition of pathological periodontal pockets with periodontitis of varying severity in 432 patients during 2013 in the Khabarovsk region, age from 20 to 70 years old. The genus *Leptotrichia* bacteria and other microbes are revealed: *Streptococcus anginosus*, environmental group *Streptococcus viridans*, *Streptococcus pyogenes* group A, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* and other microorganisms. Analyzed as the presence of certain types of microorganisms and their associations with *Leptotrichia*. In severe forms of periodontitis *Streptococcus pyogenes* detected in 91,5% of cases, *Leptotrichia* – in 78,5% of cases, *Staphylococcus aureus* – 50% of cases. When the average degree of periodontitis *Leptotrichia* in 84,7% of cases, *Streptococcus pyogenes* – in 81,4% of cases, *Staphylococcus aureus* – 49%, *Streptococcus viridans* – in 45% of cases. When mild periodontitis, *Leptotrichia* detected in 47,4% of cases, with an average degree of periodontitis, in 84,7% cases, and in severe periodontitis, in 78,95% of the cases. Revealed that the most common kind of bacteria *Leptotrichia* enter into association with the bacteria *Streptococcus viridans* and *Staphylococcus aureus* with mild periodontitis, while medium and heavy forms – with *Streptococcus pyogenes* group A and *Staphylococcus aureus*.

Keywords: periodontitis, microbiome of periodontal pockets, *Leptotrichia* spp., *Streptococcus pyogenes* group A, *Staphylococcus aureus*

Пародонтит – стоматологическое заболевание, распространённость и интенсивность которого неуклонно растёт, несмотря на профилактические, диагностические, лечебные, научно-исследовательские мероприятия пародонтологической службы [10]. Такая тенденция прослеживается по причине воздействия на макроорганизм не только местных, но и общих, а также социальных факторов, оказывающих влияние на развитие процесса и риск рецидивов [1].

По своей природе полиэтиологические и мультифакторные заболевания пародонта представляются непростой терапевти-

ческой задачей для современного практикующего пародонтолога [3]. Ведущим фактором, ускоряющим развитие воспалительных заболеваний пародонта, является зубной налёт и другие отложения на эмали зубов, в основе которых выявлены бактерии рода *Leptotrichia*, относящиеся к семейству *Fusobacteriaceae*. На поверхность длинных, грам-негативных палочек прикрепляются другие, более мелкие бактерии – кокки и палочки, а также грибы рода *Candida*, что облегчает формирование биоплёнок [2]. В Хабаровском крае в разных группах населения выявление лептотрихий у здоровых

детей и взрослых составило от 95 до 99,7% [5]. Встречаемость лептотрихозов слизистых оболочек полости рта в 1998 году составляла 47 случаев на 100 000 населения, в 2010 году – 52 случая на 100 000 населения [5]. Рост числа больных в регионе, преобладание рецидивирующих, хронических форм заболеваний и частые обострения, устойчивость к стандартной терапии свидетельствуют о недооценивании роли бактерий рода *Leptotrichia* в развитии воспалительных заболеваний слизистых оболочек полости рта и тканей пародонта, это поднимает вопросы детального изучения биологических особенностей фузобактерий рода *Leptotrichia* [5].

Цель исследования: изучить роль бактерий рода *Leptotrichia* в видовом составе микроорганизмов зубодесневых карманов при пародонтитах различной степени тяжести.

Материалы и методы исследования

Клиническое обследование стоматологического и пародонтологического статуса основными и дополнительными методами диагностики проведено у 432 пациентов в возрасте от 20 до 70 лет, с диагнозом пародонтит. Пациенты распределены на 3 группы исследования по степени тяжести заболевания:

- 1) 95 человек с пародонтитом тяжёлой степени;
- 2) 183 человека с пародонтитом средней степени;
- 3) 154 человека с пародонтитом лёгкой степени.

Биоматериал для бактериологического исследования – содержимое патологических зубодесневых карманов, забирали в стерильную пробирку Deltalab с транспортной средой Стюарта, в течение 1–2 часов доставляли в бактериологическую лабораторию. Из полученного материала делали разведения 10^{-3} – 10^{-5} стерильным 0,89% раствором NaCl. Первичный посев материала из приготовленных разведений осуществляли калиброванной бактериологической петлей (0,2 мм, ёмкость 0,005 мл) на поверхность пластинчатой среды «Уриселект», производства «Bio-Rad» (Франция), методом секторных посевов на четыре сектора, каждый раз обжигая петлю, в 90 мм чашки Петри и далее инкубировали первичные посеы в анаэробных и микроаэрофильных (5–10% CO₂) условиях, $t_{\text{opt}} = +35...+37^{\circ}\text{C}$ в течение 48–72 часов [6]. На хромогенной питательной среде колонии *Escherichia coli* имели красный цвет, колонии *Enterococcus faecalis* выявляли по тёмно-фиолетовому цвету, размеру от 1 до 5 мм, по морфологии – круглые, с ровным краем, гладкие, блестящие. Колонии *Leptotrichia* на пластинчатой среде «Уриселект» отличались по морфологии и представляли мелкие, диаметром от 0,3 до 3 мм, как правило, яркого голубого цвета, матовые, в проходящем свете непрозрачные. Край колонии под микроскопом неровный, фестончатый, микроскопическая структура колонии мелко волокнистая. Колонии *Staphylococcus aureus* имели обычную морфологию и были окрашены в белый цвет.

Для выявления факторов патогенности *Staphylococcus aureus*, посев первичного материала дополнительно проводили на маннитол-солевой агар (HiMedia, Индия). Через 18–24 часа на среде образовывались гладкие, выпуклые, ярко-жёлтые колонии,

диаметром от 1 до 4 мм, вокруг колоний регистрировали зоны лецитиназной активности.

Для выявления *Streptococcus pyogenes* первичный посев проводили на 5% кровяной агар путём нанесения материала на 1/6 кровяного агара с помощью петли штрихом и разнесением материала в 4-х квадрантах, осуществляемым полуколичественным методом. На поверхность кровяного агара после первичного посева наносили диск с бацитрацином-S. Инкубировали 24 часа при температуре $t_{\text{opt}} = +35...+37^{\circ}\text{C}$, выявлялась зона просветления шириной 2–3 мм вокруг мелких точечных колоний за счёт бета-гемолиза эритроцитов стрептолизинами O и S. *Streptococcus anginosus* образовывали очень мелкие колонии, зона гемолиза вокруг которых значительно превышала размеры колонии. *Streptococcus viridans* представлял собой разнородную группу зеленеющих оральных стрептококков, вокруг мелких серых колоний которых наблюдали зону неполного, альфа-гемолиза, имеющего серо-зелёный или зелёный цвет. Данные исследований обрабатывались в программах Статистика 6, Microsoft Excel 2010.

Результаты исследования и их обсуждение

Доля пациентов с пародонтитами тяжёлой степени составила в группе из 432 исследуемых $36\% \pm 5,31\%$, с пародонтитами средней степени – $42\% \pm 5,6\%$, лёгкой степени – $22\% \pm 3,9\%$.

Фузобактерии рода *Leptotrichia* выявили в 47,4% клинических случаев при пародонтитах лёгкой степени, у обследованных с пародонтитами средней степени тяжести – в 84,7% случаев и тяжёлой степени – в 78,9% случаев, эти данные представлены в таблице. *Streptococcus pyogenes* группы А определялся у обследованных с пародонтитами тяжёлой степени в 91,6% случаев, с пародонтитами средней степени – в 81,4% случаев и у пациентов с пародонтитами лёгкой степени – в 20,8% случаев (таблица).

Из данных таблицы видно, что *Staphylococcus aureus* обнаруживали при пародонтитах лёгкой степени тяжести в 51,9% случаев, при пародонтитах средней степени – в 49,2% случаев, при пародонтитах тяжёлой степени – в 56,84% случаев. В случае выявления золотистого стафилококка из патологических десневых карманов достоверного различия между степенями тяжести течения пародонтитов не выявлено, поскольку стафилококк регулярно выделяли у половины пациентов в каждой из групп обследованных.

По данным таблицы, у обследованных лиц с пародонтитом лёгкой степени *Streptococcus viridans* выявлялся в 50,65 случаев, его доля уменьшалась при пародонтитах средней степени тяжести до 37,2% случаев, и до 28,4% случаев при тяжёлой.

Видовой состав бактерий микробиома зубодесневых карманов при пародонтитах

Вид микроорганизма	Степень тяжести пародонтита					
	Лёгкая (n = 154)		Средняя (n = 183)		Тяжёлая (n = 95)	
	N (чел.)	M ± m, %	N (чел.)	M ± m, %	N (чел.)	M ± m, %
<i>Leptotrichia spp.</i>	73	47,4 ± 1,8*	155	84,7 ± 0,9*	75	78,95 ± 1,2*
<i>Streptococcus pyogenes</i> группы А	32	20,78 ± 1,2*	149	81,42 ± 1,1*	87	91,58 ± 0,6*
<i>Streptococcus viridans</i>	78	50,65 ± 1,8*	83	45,36 ± 1,8*	38	40 ± 1,7*
<i>Streptococcus anginosus</i>	66	42,86 ± 1,8*	50	27,32 ± 1,4*	15	15,79 ± 0,9*
<i>Staphylococcus aureus</i>	80	51,9 ± 1,8*	90	49,18 ± 1,8*	54	56,84 ± 1,8*
<i>Escherichia coli</i>	0	0	30	16,39 ± 1,1*	26	27,37 ± 1,4*
<i>Enterococcus faecalis</i>	0	0	34	18,58 ± 1,1*	29	30,53 ± 1,5*

Примечание. *Статистически значимые различия рассчитаны по отношению к пародонтиту лёгкой степени, $p < 0,001$.

Streptococcus anginosus определяется в 42,9% случаев при пародонтите лёгкой степени. Данные подтверждают разнообразие видового состава микрофлоры содержимого патологических зубодесневых карманов, в основном это условно-патогенная микрофлора полости рта. В дальнейшем при развитии патологического процесса, *S. anginosus* утрачивает своё патогенетическое значение и обнаруживается при пародонтитах средней степени тяжести в 27,32 случаях, при пародонтитах тяжёлой степени – в 15,79 случаях, каждый раз его патогенный потенциал снижается в два раза.

Enterococcus faecalis выявляли в 18,58% случаев при средней степени тяжести, 30,53% – при пародонтитах тяжёлой степени, случаев выявления энтерококков при лёгком течении пародонтита – нет.

Энтеробактерии *Escherichia coli* выявляли в 16,39% случаев при средней степени тяжести, в 27,37% – при пародонтитах тяжёлой степени, нет случаев выявления кишечных палочек при лёгком течении пародонтитов. Тем не менее имеется тенденция увеличения представительства энтерококков и кишечных палочек в микробиоме зубодесневых карманов в случае утяжеления процесса примерно в 2 раза.

Выводы и обсуждение

1. В регионе Хабаровского края по степени тяжести проявления патологического процесса наиболее частыми являются пародонтиты средней степени тяжести, их число представлено 42% случаями по данным нашего исследования.

2. Фузобактерии рода *Leptotrichia* выявили в 47,4% клинических случаев при пародонтитах лёгкой степени, в 84,7% случаев при пародонтитах средней степени тяжести, в 78,9% случаев – тяжёлой степени, что свидетельствует о ведущей роли леп-

тотрихий в поддержании патологического процесса и возникновения рецидивов.

3. Преимущественное выявление фузобактерий рода *Leptotrichia* при пародонтитах средней степени тяжести, 84,7% случаев, может свидетельствовать о недостаточном собственном патогенном потенциале лептотрихий – нормальных обитателей полости рта.

4. Патогенность фузобактерий рода *Leptotrichia* значительно возрастает в случае их симбиоза с пиогенными кокками – стрептококками и стафилококками.

5. *Streptococcus pyogenes* группы А определяется преимущественно при пародонтитах тяжёлой степени – в 91,6% случаев и пародонтитах средней степени – в 81,4%.

6. Регулярно, в 51,9; 49,2; 56,84% случаев соответственно степеням тяжести пародонтитов, выявляется *Staphylococcus aureus*, что подтверждает его патогенетическую роль в развитии пародонтитов в нашем регионе, наряду с лептотрихиями.

7. Стрептококки экологической группы *Streptococcus viridans* наибольшую роль играют при пародонтитах лёгкой степени, выявляются в 50,65 ± 1,8 случаев заболеваний.

8. Выявляемость энтерококков и кишечных палочек возрастает пропорционально тяжести патологического процесса.

Заключение

Высокая степень распространённости лептотрихозов в полости рта у здоровых жителей Хабаровского края увеличивает риск обсеменения лептотрихиями слизистой оболочки полости рта и тканей пародонта у пациентов с пародонтитами. Хотя видовой состав патологических зубодесневых карманов при пародонтитах постоянно меняется, у 47,4–84,7% пациентов с пародонтитами различной степени тяжести в регионе Хабаровского края выделяются фузо-

бактерии рода *Leptotrichia*. Следовательно, этиологическая значимость лептотрихий имеет региональное значение для нашего края. Роль лептотрихий в развитии и течении пародонтитов, возникновении рецидивов и осложнений недооценивается. В этой связи требуется более детальное изучение данного вида микроорганизмов и особенностей его ассоциативных взаимодействий с другими участниками пародонтопатогенного симбиоза.

Список литературы

1. Аболмасов Н.Г. Современные представления и размышления о комплексном лечении заболеваний пародонта / Н.Г. Аболмасов, Н.Н. Аболмасов, П.Н. Гелетин, А.А. Соловьев // Российский стоматологический журнал. – 2009. – № 5. – С. 26-32.
2. Александров М.Т. Определение антимикробной активности препаратов, используемых в комплексном лечении больных пародонтитом // Стоматология. – 2009. – Т. 88. – № 2. – С. 13-15.
3. Ахметова Д.М. Эффективность озонированного оливкового масла в лечении хронического генерализованного пародонтита лёгкой и средней степени тяжести: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Казань, 2008. – 21 с.
4. Гончарова Е.И. Препараты лекарственных растений в стоматологической практике: учебное пособие. – М.: Институт повышения квалификации Федерального медико-биологического агентства, 2008. – 45 с.
5. Стрельникова Н.В. Микробиологические свойства потенциальных патогенов человека рода *Leptotrichia*: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Владивосток, 2010. – С. 3-5.
6. Стрельникова Н.В., Антонова А.А., Холодок Г.Н., Кольцов И.П., Алексеева И.Н. Способ культивирования бактерий рода *Leptotrichia* – резидентов микрофлоры полости рта // Патент России № 2441908 С2. – 2012. – 11 с.
7. Хватова В.А. Патогенетические принципы лечебно-профилактической помощи больным с патологией пародонта // Маэстро стоматологии. – 2008. – № 4. – С. 65-68.
8. Чепуркова О.А. Особенности микробиоценоза пародонтального кармана при генерализованном пародонтите средней степени тяжести / О.А. Чепуркова, М.Г. Чеснокова, В.Б. Недосеко // Институт стоматологии. – 2007. – № 3. – С. 86-88.
9. Янушевич О.О. Антимикробная терапия и профилактика осложнений воспалительных заболеваний пародонта: учебное пособие / О.О. Янушевич, Р.В. Ушаков, В.Н. Царев. – М., 2009. – 57 с.

10. Янушевич О.О. Стоматологическая заболеваемость населения России. Состояние тканей пародонта и слизистой оболочки рта / под ред. проф. О.О. Янушевича. – М., 2009. – С. 228.

References

1. Abolmasov N.G. Modern ideas and reflections on the complex treatment of periodontal disease / N.G. Abolmasov, N.H. Abolmasov, P.N. Geletin, A.A. Solovyov // Russian Journal of Dentistry, 2009. no. 5. P. 26-32.
2. Alexandrov M.T. Determination of antimicrobial activity of drugs used in treatment of patients with periodontitis // Dentistry, 2009. T. 88. no. 2. pp. 13-15.
3. Akhmetov D.M. Effectiveness of ozonated olive oil in the treatment of chronic generalized periodontitis mild to moderate severity: Author. dis. Candidate Science. Kazan, 2008. 21 p.
4. Goncharova E.I. Preparations of medicinal plants in dental practice: a tutorial. M: Institute for Advanced Studies of the Federal Medical Biological Agency, 2008. 45 p.
5. Strelnikova N.V. Microbiological properties of human emergent pathogens of the genus *Leptotrichia* // dissertation for the degree of candidate of medical sciences / Vladivostok, 2010. pp. 3-5.
6. Strelnikova N.V. Cultivation way of the genus *Leptotrichia* bacteria residents of microflora of an oral cavity // N.V. Strelnikova, A.A. Antonova, G.N. Kholodok, I.P. Koltsov., I.N. Alexeeva / Patent RU 2441908 C2, 2012. 11 p.
7. Khvatova V.A. Pathogenetic principles of medical and preventive care for patients with periodontal pathology // Maestro dentistry, 2008. no. 4. pp. 65-68.
8. Chepurkova O.A. Features microbiocenosis periodontal pocket with generalized periodontitis of moderate severity / O.A. Chepurkova, M.G. Chesnokov, V.B. Nedoseko // Institute of Dentistry, 2007. no. 3. pp. 86-88.
9. Yanushevich O.O. Antimicrobial therapy, and prevention of complications of inflammatory periodontal diseases: Textbook / O.O. Yanushevich, R.V. Ushakov, V.N. Tsarev. Moscow, 2009. 57 p.
10. Yanushevich O.O. Dental morbidity in Russia. Condition of periodontal tissues and oral mucosa // Under red. prof. O.O. Yanushevich. Moscow, 2009. pp. 228.

Рецензенты:

Юркевич А.В., д.м.н., профессор кафедры ортопедической стоматологии, ГБОУ ВПО «ДВГМУ» Минздрава РФ, г. Хабаровск;

Холодок Г.Н., д.м.н., профессор, НИИ охраны материнства и детства, г. Хабаровск.
Работа поступила в редакцию 15.07.2014.