

Частота встречаемости и количественное содержание основных пародонтопатогенов при пародонтитах различной степени тяжести

К.Ю.Швец^{1,2}, Э.Р.Тамарова¹, А.Р.Мавзютов¹, А.И.Булгакова¹

¹ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа, Российская Федерация

²ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет» Минобрнауки России, Уфа, Российская Федерация

Цель исследования заключалась в анализе встречаемости основных пародонтопатогенных бактерий в пародонтальных карманах при пародонтитах различной степени тяжести и в зависимости от тактики ведения пациентов. Установлено, что при хроническом генерализованном пародонтите чаще обнаруживались виды *Streptococcus mutans* (на 40,6%, $\chi^2 = 32,2$, $p < 0,05$), *Streptococcus sobrinus* (на 39,1%, $\chi^2 = 30,2$, $p < 0,05$), *Streptococcus oralis* (на 31,4%, $\chi^2 = 18,9$, $p < 0,05$) и *Treponema denticola* (на 11,2%, $\chi^2 = 4,55$, $p < 0,05$) и ассоциации *Treponema denticola*-*Porphyromonas gingivalis* (на 13,3%, $\chi^2 = 4,4$, $p < 0,05$). При тяжелой форме в порядке убывания возрастала представленность *Porphyromonas gingivalis* ($\chi^2 = 10,5$, $p < 0,05$), *Streptococcus sobrinus* ($\chi^2 = 10,5$, $p < 0,05$), *Streptococcus salivarius* ($\chi^2 = 7,9$, $p < 0,05$), *Treponema denticola* ($\chi^2 = 7,7$, $p < 0,05$), *Streptococcus mutans* ($\chi^2 = 6,6$, $p < 0,05$) и *Streptococcus macacae* ($\chi^2 = 6,0$, $p < 0,05$). При включении в схему лечения Vector-терапии и антибактериальных препаратов достоверно снижалась частота выявления *Porphyromonas gingivalis* – на 18,6% ($\chi^2 = 11,6$, $p < 0,05$) и *Treponema denticola* – на 15,1% ($\chi^2 = 8,48$, $p < 0,05$). При использовании сконструированного нами калибратора pAL-TAstrSob16S на фоне системной антибиотикотерапии статистически значимо снижались концентрации *Porphyromonas gingivalis* (средняя концентрация – $2,1E+06$ копий ДНК/мл) и *Treponema denticola* (средняя концентрация – $1,2E+06$ копий ДНК/мл).

Ключевые слова: пародонтальный карман, ПЦР, *P. gingivalis*, *S. sobrinus*, *S. salivarius*, *T. denticola*, *S. mutans*, *S. macacae*

Для цитирования: Швец К.Ю., Тамарова Э.Р., Мавзютов А.Р., Булгакова А.И. Частота встречаемости и количественное содержание основных пародонтопатогенов при пародонтитах различной степени тяжести. Бактериология. 2017; 2(4): 40–45. DOI:10.20953/2500-1027-2017-4-40-45

Frequency of occurrence and quantitative content of main parodontopathogenes at parodontitis of different degree of gravity

К.Yu.Shvets^{1,2}, E.R.Tamarova¹, A.R.Mavzyutov¹, A.I.Bulgakova¹

¹The Bashkir State Medical University, Ufa, Russian Federation;

²The Bashkir State University, Ufa, Russian Federation

Aim of the study was analysis of occurrence of the main parodontopathogenic bacteria in the periodontal pockets with periodontitis of varying severity and depending on the tactics of patient management. It was found that in the case of chronic generalized periodontitis, the species of *Streptococcus mutans* were more frequently detected (by 40.6%, $\chi^2 = 32.2$, $p < 0.05$), *Streptococcus sobrinus* (by 39.1%, $\chi^2 = 30.2$, $p < 0.05$), *Streptococcus oralis* (31.4%, $\chi^2 = 18.9$, $p < 0.05$) and *Treponema denticola* (11.2%, $\chi^2 = 4.55$, $p < 0.05$) and associations *Treponema denticola*-*Porphyromonas gingivalis* (13.3%, $\chi^2 = 4.4$, $p < 0.05$). In severe cases we have obtained another results: *Porphyromonas gingivalis* ($\chi^2 = 10.5$, $p < 0.05$), *Streptococcus sobrinus* ($\chi^2 = 10.5$, $p < 0.05$), *Streptococcus salivarius* ($\chi^2 = 7.9$, $p < 0.05$), *Treponema denticola* ($\chi^2 = 7.7$, $p < 0.05$), *Streptococcus mutans* ($\chi^2 = 6.6$, $p < 0.05$), and *Streptococcus macacae* ($\chi^2 = 6.0$, $p < 0.05$). Under the treatment by using Vector-therapy and antibacterial drugs, the detection rate of *Porphyromonas gingivalis* was significantly decreased by 18.6% ($\chi^2 = 11.6$, $p < 0.05$) and *Treponema denticola* by 15.1% ($\chi^2 = 8.48$, $p < 0.05$). The concentrations of *Porphyromonas gingivalis* (average concentration of $2.1E + 06$ copies of DNA/ml) and *Treponema denticola* (average concentration of $1.2E + 06$ copies of DNA/ml) were statistically significantly lower against the background of systemic antibiotic therapy under the using the pAL-TAstrSob16S calibrator designed by authors.

Keywords: periodontal pocket, PCR, *P. gingivalis*, *S. sobrinus*, *S. salivarius*, *T. denticola*, *S. mutans*, *S. macacae*

For citation: Shvets K.Yu., Tamarova E.R., Mavzyutov A.R., Bulgakova A.I. Frequency of occurrence and quantitative content of main parodontopathogenes at parodontitis of different degree of gravity. Bacteriology. 2017; 2(4): 40–45. (In Russian). DOI:10.20953/2500-1027-2017-4-40-45

Для корреспонденции:

Мавзютов Айрат Радикович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фундаментальной и прикладной микробиологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России

Адрес: 450008, Уфа, ул. Ленина, 3
Телефон: (347) 276-1960
E-mail: ufalab@mail.ru

Статья поступила 11.10.2017 г., принята к печати 22.12.2017 г.

For correspondence:

Airat R. Mavzyutov, MD, PhD, DSc, professor, chief of department of fundamental and applied microbiology, Bashkir State Medical University

Address: 3 Lenina str., Ufa, 450008, Russian Federation
Phone: (347) 276-1960
E-mail: ufalab@mail.ru

The article was received 11.10.2017, accepted for publication 22.12.2017

Воспалительная патология пародонта занимает второе место в мире по распространенности среди стоматологических заболеваний [1, 2] и не имеет тенденции к снижению [3]. При этом микроорганизмы полости рта оказывают существенное влияние не только на течение воспалительного процесса в тканях пародонта, но и на течение общесоматической патологии [4–8].

В связи с этим характеристика микробиоты пародонтальных карманов имеет большое научно-практическое значение, но остается серьезной проблемой, что обусловлено, с одной стороны, физиологическими особенностями пародонтопатогенных бактерий, а с другой – отсутствием стандартных воспроизводимых методических подходов для анализа содержимого пародонтальных карманов. Однако в последние годы, благодаря все более широкому применению полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени в стоматологии, обозначились реальные перспективы при решении указанных задач [9] и были предложены способы получения количественных данных о микробиоте пародонтальных карманов [10]. Это обстоятельство открывает, на наш взгляд, принципиально новые возможности как для диагностической оценки этиологической значимости условно-патогенных пародонтопатогенов, так и для оценки эффективности методов и/или проводимого лечения.

Цель исследования – сравнительная оценка частоты встречаемости и количественных данных о содержании основных пародонтопатогенных бактерий в содержимом пародонтальных карманов при пародонтитах различной степени тяжести и в зависимости от тактики ведения пациентов.

Материалы и методы

В основу работы положены результаты комплексного обследования 170 больных пародонтитом (основная группа), находившихся на амбулаторном лечении в ГКУЗ РБ РКБ №2 (г. Уфа) в период с 2012 по 2016 гг. У 129 (75,9%) пациентов был диагностирован пародонтит средней степени тяжести, у 41 (24,1%) пациента – тяжелая степень пародонтита.

Контрольная группа была представлена 66 пациентами (26 мужчин и 40 женщин, средний возраст $45,3 \pm 7,62$ лет) без патологии пародонта после санации полости рта.

Диагноз заболевания устанавливали в соответствии с критериями классификации заболеваний пародонта, принятой на заседании Президиума секции пародонтологии Стоматологической ассоциации России в 2001 г., на основе Международной классификации болезней и проблем, связанных со здоровьем (МКБ-10) [11].

Все проведенные исследования соответствовали этическим нормам Хельсинкской декларации (2013 г.) и Федеральному закону Российской Федерации от 21 ноября 2011 г. № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан Российской Федерации». Протокол исследования был одобрен комитетом по этике Башкирского государственного медицинского университета. Каждый пациент давал согласие на участие в исследовании и получал подробную информацию о его результатах.

У всех больных основной и контрольной групп было проведено молекулярно-генетическое исследование с целью

обнаружения пародонтопатогенных видов *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus macacae*, рассматриваемых в настоящее время в качестве наиболее информативных «маркерных» пародонтопатогенов [6, 12–14].

Материал для молекулярно-генетического исследования – содержимое пародонтальных карманов зубов. Содержимое пародонтального кармана отбирали следующим образом. Первоначально пациенты трехкратно полощали полость рта физиологическим раствором натрия хлорида. Затем ротовую жидкость собирали путем сплевывания в стерильную пробирку типа Eppendorf (1,5 мл), а далее вводили пинцетом стерильный бумажный эндодонтический штифт (размер №25) в наиболее глубокие участки пародонтальных карманов на 10 с с последующим помещением в стерильную пластиковую пробирку типа Eppendorf (1,5 мл), содержащую 1 мл физиологического раствора. Забор проводили в двух повторностях для каждого пациента. Хранили и транспортировали образцы в лабораторию при $+4^{\circ}\text{C}$ в течение 2 ч. Транспортировку партий проб в лабораторию осуществляли в термоконтейнерах с хладагентом. Молекулярно-генетическое исследование у пациентов проводилось дважды – до и через 10 дней лечения по описанной схеме.

ДНК бактерий выделяли из 50 мкл клинического материала (содержимое пародонтального кармана) с использованием ионообменной смолы Chelex100.

Для постановки ПЦР в режиме реального времени использовали подобранные и апробированные пары видоспецифичных праймеров к участкам ДНК *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus macacae* и реакционную смесь ПЦР-Микс SYBR Green I (ООО «СИНТОЛ»). ПЦР проводили с помощью детектирующего амплификатора CFX96 Touch «REAL TIME» (Bio-Rad, США). Учет результатов проводили с помощью программного обеспечения Bio-Rad CFX Manager. Прибор калибровали тремя разведениями калибровочных образцов, приготовленных путем серийного разведения плазмиды pAL-TAStrSob16S известной концентрации.

Статистическая обработка полученных результатов выполнялась с помощью биометрических методов анализа [15, 16]. Методы описательной статистики заключались в оценке среднего арифметического (M), средней ошибки среднего значения (m) – для признаков, имеющих непрерывное распределение, а также частоты встречаемости – для признаков с дискретным значением.

Для анализа признаков, подчиняющихся закону нормального распределения, применяли метод выявления различия признаков по средним величинам. Достоверность различий определяли с помощью t -критерия Стьюдента. Для анализа распределения частот признаков, не подчиняющихся закону нормального распределения, использовали критерий χ^2 . Для определения наличия взаимосвязи между двумя признаками применялся коэффициент корреляции r , который рассчитывался методом непараметрической статистики Спирмена. Результаты считались достоверными при $p < 0,05$.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программного пакета Statistica 7.0, руководствуясь пособием Трухачевой Н.В. по методам статистической обработки данных в биологии и медицине [17].

Результаты и обсуждение

Оценка частоты встречаемости пародонтопатогенных микроорганизмов у больных пародонтитом различных степеней тяжести

В ходе анализа частоты встречаемости основных пародонтопатогенов (*Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sobrinus* и *Streptococcus macacae*) [6] было установлено, что у больных хроническим генерализованным пародонтитом в содержимом пародонтальных карманов обнаруживались все указанные виды бактерий. Однако существенно чаще, в сравнении с пациентами без патологии пародонта в группе контроля, у больных пародонтитом вне дифференцирования

по степени тяжести обнаруживались виды *Streptococcus mutans* (на 40,6%, $\chi^2 = 32,2$, $p < 0,05$), *Streptococcus sobrinus* (на 39,1%, $\chi^2 = 30,2$, $p < 0,05$), *Streptococcus oralis* (на 31,4%, $\chi^2 = 18,9$, $p < 0,05$) и *Treponema denticola* (на 11,2%, $\chi^2 = 4,55$, $p < 0,05$), а среди микробных ассоциаций у больных пародонтитом достоверно возрастала сочетанная встречаемость видов *Treponema denticola* и *Porphyromonas gingivalis* (на 13,3%, $\chi^2 = 4,4$, $p < 0,05$) при сопоставлении с группой сравнения.

У больных с тяжелой формой заболевания в содержимом пародонтальных карманов в порядке убывания обнаружено существенное возрастание, в сравнении с таковым у здоровых лиц, представленности *Porphyromonas gingivalis* ($\chi^2 = 10,5$, $p < 0,05$), *Streptococcus sobrinus* ($\chi^2 = 10,5$, $p < 0,05$), *Streptococcus salivarius* ($\chi^2 = 7,9$, $p < 0,05$), *Treponema denticola* ($\chi^2 = 7,7$, $p < 0,05$), *Streptococcus mutans* ($\chi^2 = 6,6$, $p < 0,05$) и *Streptococcus macacae* ($\chi^2 = 6,0$, $p < 0,05$) (табл. 1).

По результатам исследований, у пациентов с пародонтитом средней степени тяжести статистически значимые различия в частоте встречаемости бактерий в сравнении с контрольной группой выявлены только для *Streptococcus mutans* ($\chi^2 = 37,6$, $p < 0,05$), *Streptococcus sobrinus* ($\chi^2 = 33,4$, $p < 0,05$) и *Streptococcus oralis* ($\chi^2 = 23,9$, $p < 0,05$). Сравнительный анализ данных молекулярно-генетических исследований содержимого пародонтальных карманов пациентов с разными степенями тяжести пародонтита позволил выявить, что для таких пациентов характерны различия в составе микробиоценозов пародонтальных карманов. Было установлено, что у пациентов с тяжелой степенью пародонтита в сравнении с группой пациентов со средней степенью тяжести достоверно чаще встречаются виды *Streptococcus macacae* ($\chi^2 = 13,3$, $p < 0,05$), *Streptococcus salivarius* ($\chi^2 = 9,14$, $p < 0,05$), *Streptococcus sanguis* ($\chi^2 = 7,67$, $p < 0,05$), *Streptococcus oralis* ($\chi^2 = 6,69$, $p < 0,05$) и *Porphyromonas gingivalis* ($\chi^2 = 4,58$, $p < 0,05$).

Анализ ассоциативных связей между пародонтопатогенными микроорганизмами у больных пародонтитом различных степеней тяжести

По литературным данным [3, 18, 19] известно, что бактерии суббиотопов полости рта, в частности пародонтальных карманов, наиболее часто представлены в микробных ассоциациях, образованных облигатно- и факультативно-анаэробными микроорганизмами, играющими важнейшую роль в утяжелении воспалительного процесса в тканях пародонта. Соответственно анализ наличия ассоциативных связей между пародонтопатогенными микроорганизмами у больных пародонтитом является важным диагностическим инструментом при мониторинге и прогнозировании течения заболевания, при определении тактики дальнейшего ведения больного. Именно поэтому нами был проведен анализ на предмет наличия ассоциативных связей между пародонтопатогенными видами у пациентов со средней и тяжелой степенями тяжести пародонтита.

У больных пародонтитом средней степени тяжести в сравнении с группой пациентов с интактным пародонтом в содержимом пародонтальных карманов достоверно чаще остальных выявлялись ассоциации *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus oralis* ($\chi^2 = 17,61$, $p < 0,05$),

Таблица 1. Частота выделения условно-патогенных бактерий в содержимом пародонтального кармана у больных пародонтитом основной группы (n = 86)

Виды бактерий	Исходно		ч/з 14 дней	
	абс.	%	абс.	%
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	21	24,4 $\chi^2 = 11,6$, $p = 0,001$	5 ^a	5,8
<i>Treponema denticola</i>	18	20,9 $\chi^2 = 8,48$, $p = 0,005$	5 ^a	5,8
<i>Streptococcus mutans</i>	58	67,4 $\chi^2 = 6,78$, $p = 0,017$	41 ^a	47,7
<i>Streptococcus salivarius</i>	9	10,5 $\chi^2 = 1,24$, $p = 0,373$	5	5,8
<i>Streptococcus sanguis</i>	53	61,6 $\chi^2 = 8,03$, $p = 0,011$	35 ^a	40,7
<i>Streptococcus oralis</i>	48	55,8 $\chi^2 = 9,43$, $p = 0,002$	28 ^a	32,6
<i>Streptococcus macacae</i>	10	11,6 $\chi^2 = 1,10$, $p = 0,436$	6	7,0
<i>Streptococcus sobrinus</i>	47	54,7 $\chi^2 = 12,68$, $p = 0,001$	24 ^a	27,9

Примечание: ^a – различие со значением до лечения достоверно ($p < 0,05$).

Таблица 2. Частота выделения условно-патогенных бактерий в содержимом пародонтального кармана у больных пародонтитом группы сравнения (n = 84)

Виды бактерий	Исходно		ч/з 14 дней	
	абс.	%	абс.	%
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	20	23,8 $\chi^2 = 5,04$, $p = 0,040$	9 ^a	10,7
<i>Treponema denticola</i>	14	16,7 $\chi^2 = 6,22$, $p = 0,023$	4 ^a	4,8
<i>Streptococcus mutans</i>	60	71,4 $\chi^2 = 5,01$, $p = 0,033$	46 ^a	54,8
<i>Streptococcus salivarius</i>	10	11,9 $\chi^2 = 1,83$, $p = 0,277$	5	6,0
<i>Streptococcus sanguis</i>	45	53,6 $\chi^2 = 4,71$, $p = 0,036$	31 ^a	36,9
<i>Streptococcus oralis</i>	44	52,4 $\chi^2 = 1,53$, $p = 0,279$	36 ^a	42,9
<i>Streptococcus macacae</i>	9	10,7 $\chi^2 = 0,66$, $p = 0,626$	6	7,1
<i>Streptococcus sobrinus</i>	40	47,6 $\chi^2 = 1,98$, $p = 0,241$	31	36,9

Примечание: ^a – различие со значением до лечения достоверно ($p < 0,05$).

Porphyromonas gingivalis, *Treponema denticola* ($\chi^2 = 13,15$, $p < 0,05$), *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sobrinus* ($\chi^2 = 9,84$, $p < 0,05$).

У больных тяжелой формой пародонтита наблюдалась значимо более высокая, чем у пациентов с пародонтитом средней степени и у здоровых лиц, частота встречаемости ассоциаций микроорганизмов *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* ($\chi^2 = 16,7$, $p < 0,05$), *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus oralis* ($\chi^2 = 11,05$, $p < 0,05$).

Качественная оценка содержания пародонтопатогенных микроорганизмов в клинических образцах

На фоне проводимого лечения у больных как основной группы, так и группы сравнения отмечалось определенное уменьшение представленности всех изученных пародонто-

патогенных микроорганизмов. В основной группе больных в ходе комплексной терапии, включавшей Vector-терапию и антибактериальные препараты, обращает на себя внимание достоверное снижение частоты выявления в содержимом пародонтальных карманов *Porphyromonas gingivalis* – на 18,6% ($\chi^2 = 11,6$, $p < 0,05$) и *Treponema denticola* – на 15,1% ($\chi^2 = 8,48$, $p < 0,05$) (см. табл. 1).

У больных группы сравнения, которым Vector-терапия не назначалась, наблюдалось существенное снижение частоты выделения в содержимом пародонтального кармана *Streptococcus mutans* – на 16,6% ($\chi^2 = 5,01$, $p < 0,05$), *Streptococcus sanguis* – на 16,6% ($\chi^2 = 4,71$, $p < 0,05$), *Porphyromonas gingivalis* – на 13,1% ($\chi^2 = 5,04$, $p < 0,05$) и *Treponema denticola* – на 11,9% ($\chi^2 = 6,22$, $p < 0,05$) (табл. 2). Изменения в содержании других видов были незначительными. Так, если в основной группе частота представленности *Streptococcus oralis* и *Streptococcus sobrinus* достоверно снизилась по сравнению с уровнями, предшествовавшими лечению, то в группе сравнения изменения частоты выявления указанных бактерий были незначительными. При этом включение в комплексную терапию пародонтита лечения аппаратом Vector способствовало более значительному снижению распространенности *Streptococcus oralis* и *Streptococcus sobrinus* в содержимом пародонтального кармана – соответственно на 23,2% ($\chi^2 = 9,43$, $p < 0,05$) и 26,8% ($\chi^2 = 12,68$, $p < 0,05$).

При изучении динамики изменения микробиоты в содержимом пародонтального кармана в зависимости от степени тяжести пародонтита в обеих группах больных установлено значимое снижение представленности большинства микроорганизмов (табл. 3). Так, у пациентов основной группы с пародонтитом средней степени тяжести частота встречаемости *Porphyromonas gingivalis* была ниже показателей до начала лечения на 15,6% ($\chi^2 = 6,46$, $p < 0,05$), а *Treponema denticola* – на 12,5% ($\chi^2 = 5,89$, $p < 0,05$). Среди представителей рода *Streptococcus spp.* наиболее выраженные изменения были обнаружены для видов *Streptococcus sobrinus* – снижение на 31,3% ($\chi^2 = 12,70$, $p < 0,05$), *Streptococcus oralis* – на 28,1% ($\chi^2 = 10,16$, $p < 0,05$), *Streptococcus sanguis* – на 23,5% ($\chi^2 = 7,17$, $p < 0,05$) и *Streptococcus mutans* – на 20,3% ($\chi^2 = 5,68$, $p < 0,05$). Частота выделения пародонтопатогенов *Streptococcus salivarius* и *Streptococcus macacae* осталась практически без изменений, однако следует отметить, что их встречаемость до лечения среди данного контингента больных была низкой и не превышала 6,3%.

У пациентов основной группы с тяжелой формой заболевания в содержимом пародонтальных карманов достовер-

Таблица 3. Частота выделения бактерий в содержимом пародонтального кармана у больных пародонтитом средней и тяжелой степеней в зависимости от тактики лечения

Параметры	Основная группа		Группа сравнения	
	исходно	ч/з 14 дней	исходно	ч/з 14 дней
Пародонтит средней степени тяжести				
Количество больных	64		65	
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	14 (21,9%)	4 (6,3%) ^a	12 (18,5%)	6 (9,2%)
<i>Treponema denticola</i>	10 (15,6%)	2 (3,1%) ^a	9 (13,8%)	2 (3,1%) ^a
<i>Streptococcus mutans</i>	47 (73,4%)	34 (53,1%) ^a	49 (75,4%)	37 (56,9%) ^a
<i>Streptococcus salivarius</i>	4 (6,3%)	3 (4,7%)	4 (6,2%)	1 (1,5%)
<i>Streptococcus sanguis</i>	44 (68,8%)	29 (45,3%) ^a	38 (58,5%)	25 (38,5%) ^a
<i>Streptococcus oralis</i>	39 (60,9%)	21 (32,8%) ^a	38 (58,5%)	31 (47,7%)
<i>Streptococcus macacae</i>	3 (4,7%)	2 (3,1%)	5 (7,7%)	3 (4,6%)
<i>Streptococcus sobrinus</i>	38 (59,4%)	18 (28,1%) ^a	33 (50,8%)	26 (40,0%)
Тяжелая степень пародонтита				
Количество больных	22		19	
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	7 (31,8%)	1 (4,5%) ^a	8 (42,1%)	3 (15,8%) ^a
<i>Treponema denticola</i>	8 (36,4%)	3 (13,6%) ^a	5 (26,3%)	2 (10,5%)
<i>Streptococcus mutans</i>	11 (50,0%)	7 (31,8%)	11 (57,9%)	9 (47,4%)
<i>Streptococcus salivarius</i>	5 (22,7%)	2 (9,1%)	6 (31,6%)	4 (21,1%)
<i>Streptococcus sanguis</i>	9 (40,9%)	6 (27,3%)	7 (36,8%)	6 (31,6%)
<i>Streptococcus oralis</i>	9 (40,9%)	7 (32,8%)	6 (31,6%)	5 (26,3%)
<i>Streptococcus macacae</i>	7 (31,8%)	4 (18,2%)	4 (21,1%)	3 (15,8%)
<i>Streptococcus sobrinus</i>	9 (40,9%)	6 (27,3%)	7 (36,8%)	5 (26,3%)

Примечание: ^a – различие со значением до лечения достоверно ($p < 0,05$).

Таблица 4. Абсолютное количество патогенных и условно-патогенных бактерий в содержимом пародонтальных карманов у больных хроническим генерализованным пародонтитом (копий ДНК/мл)

Вид бактерии	Основная группа		Группа сравнения	
	до лечения	ч/з 10 дней	до лечения	ч/з 10 дней
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	1,1E + 07	5,7E + 06 ^a	7,2E + 07	2,1E + 06 ^a
<i>Treponema denticola</i>	2,5E + 07	4,8E + 06 ^a	6,3E + 07	1,2E + 06 ^a
<i>Streptococcus oralis</i>	2,4E + 08	9,7E + 07 ^a	3,8E + 08	4,7E + 07
<i>Streptococcus sanguis</i>	4,3E + 08	1,7E + 06 ^a	4,7E + 08	4,7E + 06
<i>Streptococcus sobrinus</i>	4,4E + 08	8,8E + 06 ^a	5,4E + 08	2,1E + 06
<i>Streptococcus mutans</i>	1,6E + 09	7,7E + 07 ^a	2,7E + 09	3,9E + 07
<i>Streptococcus salivarius</i>	4,1E + 08	1,3E + 06 ^a	1,2E + 09	8,7E + 06
<i>Streptococcus macacae</i>	3,5E + 09	7,9E + 07 ^a	7,3E + 07	3,5E + 06

Примечание: ^a – достоверность различий показателей в процессе лечения ($p < 0,05$).

ные различия с показателями до лечения выявлены для *Porphyromonas gingivalis* и *Treponema denticola* – ниже соответственно на 27,3% ($\chi^2 = 5,50, p < 0,05$) и 22,8% ($\chi^2 = 5,26, p < 0,05$). Необходимо отметить заметное снижение представленности в содержимом пародонтального кармана *Streptococcus mutans* (на 13,6%, $\chi^2 = 3,76, p < 0,05$), однако эти различия были статистически незначимы и носили характер тенденции.

Для пациентов группы сравнения со средней степенью пародонтита в содержимом пародонтального кармана установлено существенное снижение представленности бактерий *Streptococcus sanguis* – на 20,0% ($\chi^2 = 5,20, p < 0,05$), *Streptococcus mutans* – на 18,5% ($\chi^2 = 4,95, p < 0,05$) и *Treponema denticola* – на 10,7% ($\chi^2 = 4,87, p < 0,05$).

У пациентов данной группы с тяжелой формой заболевания пародонтита обращает на себя внимание уменьшение встречаемости *Porphyromonas gingivalis* (на 26,3%, $\chi^2 = 13,75, p < 0,05$) и *Treponema denticola* (на 21,1%, $\chi^2 = 11,04, p < 0,05$), однако эти различия с исходными показателями оказались недостоверными, что, вероятно, обусловлено небольшим объемом выборки (19 человек). В то же время суммарное снижение представленности указанных микроорганизмов было статистически значимым – на 47,4% ($\chi^2 = 8,53, p < 0,05$).

Таким образом, проведение молекулярно-генетических исследований у больных пародонтитом позволило оценить бактериостатический эффект проводимого лечения и доказать целесообразность включения в состав базовой антибактериальной терапии заболевания ультразвуковой обработки зубодесневых карманов и поверхности корня с помощью аппарата Vector.

Количественная оценка содержания пародонтопатогенных микроорганизмов в клинических образцах

Количественная оценка содержания условно-патогенных микроорганизмов является одним из наиболее широко применяемых способов оценки их этиологической значимости, обязательной для диагностики инфекционно-воспалительных процессов, в том числе в тканях пародонта. Однако для получения указанных количественных данных методом ПЦР в режиме реального времени при пародонтите до настоящего времени существовали определенные технические сложности по стандартизации исследования, обусловленные трудностью извлечения и измерения количества содержимого пародонтальных карманов.

В этой связи нами был разработан способ получения клинических образцов известного объема [10], а также сконструирован калибровочный образец pAL-TASrSob16S с известной концентрацией (копий ДНК/мл) для получения достоверных результатов при диагностике пародонтита. Количественное содержание бактерий в выравненных по объему клинических образцах определяли методом ПЦР в режиме реального времени в приборе, откалиброванном тремя разведениями рекомбинантной плазмиды pAL-TASrSob16S, что позволяло определять абсолютное количество копий ДНК возбудителя в клиническом образце (копий ДНК/мл).

В группе больных, проходивших курс системной антибиотикотерапии, наблюдалось статистически значимое сниже-

ние концентрации пародонтопатогенов *Porphyromonas gingivalis* (средняя концентрация – $2,1E + 06$ копий ДНК/мл) и *Treponema denticola* (средняя концентрация – $1,2E + 06$ копий ДНК/мл) (табл. 4).

Таким образом, полученные при использовании молекулярно-генетических методов количественные данные о видовом составе пародонтопатогенных бактерий позволяют в известной степени объективно оценить эффективность проводимого лечения (в нашем случае ультразвука) и микробиологические особенности хронических генерализованных пародонтитов различных степеней тяжести, повысить обоснованность антибиотикотерапии и, соответственно, снизить риски селекции антибиотикорезистентных вариантов.

Продолжение исследований в обозначенной области будет способствовать накоплению количества данных, достаточных для получения статистически достоверных значений, необходимых для разработки референсных интервалов и включения их в соответствующие протоколы и/или стандарты оказания медицинской помощи пациентам с данной патологией.

Литература

- Costa FO, Susin C, Cortelli JR, Pordeus IsA. Epidemiology of Periodontal Disease. Int J Dent. 2012;2012:848641. DOI: 10.1155/2012/848641.
- Hatem AE. Epidemiology and risk factors of periodontal disease. In: Periodontal Diseases a clinician's guide. Dr. Jane Manakil (Ed.), 2012, pp. 213-230.
- Янушевич ОО, Дмитриева ЛА, Ревазова ЗЗ. Пародонтит. XXI век. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016.
- Тамарова ЭР, Мавзютов АР. Исследование распространенности соматической патологии у больных пародонтитом. Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2013;3:53-6.
- Тамарова ЭР, Мавзютов АР. Клинико-лабораторные параллели между видовым составом микробиоты полости рта и общесоматической патологией у больных пародонтитом. Пермский медицинский журнал. 2014;31(6):68-73.
- Царев ВН, Давыдова ММ, Николаева ЕН. Микробиология, вирусология и иммунология полости рта. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016.
- AlJehani Y. A. Risk Factors of Periodontal Disease: Review of the Literature. Int J Dent. 2014;2014:182513. DOI: 10.1155/2014/182513.
- Borgnakke WS, Ylostalo PV, Taylor GW, Genco RJ. Effect of periodontal disease on diabetes: systematic review of epidemiologic observational evidence. J Clin Periodontol. 2013 Apr;40 Suppl 14:S135-52. DOI: 10.1111/jcpe.12080.
- Царев ВН, Николаева ЕН, Ягодина ЕВ, Трефилова ЮА, Ипполитов ЕВ. Молекулярные методы диагностики гингивита и пародонтита у ВИЧ-инфицированных пациентов. Клиническая лабораторная диагностика. 2016; 61(1): 54-59.
- Тамарова ЭР, Мавзютов АР, Баймиев АХ, Швец КЮ. Способ количественного определения видового состава микробиоты пародонтальных карманов. Патент на изобретение RUS 2612023 24.12.2015
- Григорьян АС, Грудянов АИ, Рабухина НА, и др. Болезни пародонта. М., 2005.
- Грудянов АИ, Овчинникова ВВ. Частота выявления различных представителей пародонтопатогенной микрофлоры при пародонтите разной степени. Стоматология. 2009;88(3):34-7.
- Miyamoto E, Nakano K, Fujita K, Nomura R, Okawa R, Matsumoto M, Ooshima T. Bacterial profiles of oral streptococcal and periodontal bacterial species in saliva specimens from Japanese subjects. Arch Oral Biol. 2009 Apr;54(4):374-9. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2009.01.010
- Wade WG. The oral microbiome in health and disease. Pharmacol Res. 2013 Mar;69(1):137-43. DOI: 10.1016/j.phrs.2012.11.006.

15. Наследов А. SPSS компьютерный анализ данных в психологии и социальных науках. М., 2006.
16. Реброва ОЮ. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: Медиа Сфера, 2006.
17. Трухачева НВ. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013
18. Зорина ОА, Беркутова ИС, Рехвиашвили БА, Аймадинова НК. Сравнительная характеристика микробиоценозов пародонтальных карманов при хроническом генерализованном и агрессивном пародонтите до и после комплексного лечения. Российский стоматологический журнал. 2013;1:27-31.
19. Тамарова ЭР, Баймиев АХ, Швец КЮ, Мавзютов АР. Молекулярно-генетическая характеристика видового состава микробиоты слюны и десневых карманов при пародонтите. Клиническая лабораторная диагностика. 2015;60(12):56-9.
- specimens from Japanese subjects. Arch Oral Biol. 2009 Apr;54(4):374-9. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2009.01.010
14. Wade WG. The oral microbiome in health and disease. Pharmacol Res. 2013 Mar;69(1):137-43. DOI: 10.1016/j.phrs.2012.11.006.
15. Nasledov A. SPSS komp'yuternyi analiz dannykh v psikhologii i sotsial'nykh naukakh [SPSS computer data analysis in psychology and social sciences]. Moscow, 2006. (In Russian).
16. Rebrova OYu. Statisticheskii analiz meditsinskikh dannykh. Primenenie paketa prikladnykh programm STATISTICA [Statistical analysis of medical data. Application of the STATISTICA software package]. Moscow: "GEOTAR-Media" Publ., 2006. (In Russian).
17. Trukhacheva NV. Matematicheskaya statistika v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s primeneniem paketa Statistica [Mathematical statistics in biomedical research using the Statistica package]. Moscow: "GEOTAR-Media" Publ., 2013 (In Russian).
18. Zorina OA, Berkutova IS, Rekhviashvili BA, Aymadinova NK. Comparative characteristics of microbiocenoses of the periodontal pocket with chronic generalized periodontitis and aggressive periodontitis before and after the treatment. Rossiiskii Stomatologicheskii Zhurnal (Russian Journal of Dentistry). 2013;1:27-31. (In Russian).
19. Tamarova ER, Baimiev AKh, Shvets KYu, Mavzyutov AR. The molecular genetic characteristic of species content of saliva and gingival recess under periodontitis. Russian Clinical Laboratory Diagnostics. 2015;60(12):56-9. (In Russian).

References

1. Costa FO, Susin C, Cortelli JR, Pordeus IsA. Epidemiology of Periodontal Disease. Int J Dent. 2012;2012:848641. DOI: 10.1155/2012/848641.
2. Hatem AE. Epidemiology and risk factors of periodontal disease. In: Periodontal Diseases a clinician's guide. Dr. Jane Manakil (Ed.), 2012, pp. 213-230.
3. Yanushevich OO, Dmitrieva LA, Revazova ZE. Parodontit. XXI vek [Periodontitis. XXI century]. Moscow: "GEOTAR-Media" Publ., 2016. (In Russian).
4. Tamarova ER, Mavzutov AR. Study of the prevalence of somatic pathology among patients with periodontitis. Kursk scientific and practical bulletin «Man and his health». 2013;3:53-6. (In Russian).
5. Tamarova R, Mavzyutov AR. Clinicolaboratory parallels between species composition of oral microbiota and general somatic pathology in patients with periodontitis. Perm Medical Journal (Permskii meditsinskiy zhurnal). 2014; 31(6):68-73. (In Russian).
6. Tsarev VN, Davydova MM, Nikolaeva EN. Mikrobiologiya, virusologiya i immunologiya polosti rta [Microbiology, virology and immunology of the oral cavity]. Moscow: "GEOTAR-Media" Publ., 2016. (In Russian).
7. AlJehani Y. A. Risk Factors of Periodontal Disease: Review of the Literature. Int J Dent. 2014;2014:182513. DOI: 10.1155/2014/182513.
8. Borgnakke WS, Ylostalo PV, Taylor GW, Genco RJ. Effect of periodontal disease on diabetes: systematic review of epidemiologic observational evidence. J Clin Periodontol. 2013 Apr;40 Suppl 14:S135-52. DOI: 10.1111/jcpe.12080.
9. Tsarev VN, Nikolaeva EN, Iagodina EV, Trefilova YuA, Ippolitov EV. The molecular techniques of diagnostic of gingivitis and periodontitis in HIV-infected patients. Russian Clinical Laboratory Diagnostics. 2016; 61(1):54-59. (In Russian).
10. Tamarova ER, Mavzyutov AR, Baimiev AKh, Shvets KYu. Method for quantitative determination of species composition of microbiota of periodontal pockets. Patent for invention RUS 2612023 24.12.2015 (In Russian).
11. Grigor'yan AC, Grudyanov AI, Rabukhina HA, et al. Bolezni parodonta [Periodontal disease]. Moscow, 2005. (In Russian).
12. Grudyanov AI, Ovchinnikova VV. Frequency of revelation of different representatives of parodontopathogenic microflora in cases of parodontitis of different severity. Stomatologiya (Stomatology). 2009;88(3):34-7. (In Russian).
13. Miyamoto E, Nakano K, Fujita K, Nomura R, Okawa R, Matsumoto M, Ooshima T. Bacterial profiles of oral streptococcal and periodontal bacterial species in saliva

Информация об авторах:

Швец Ксения Юрьевна, ассистент кафедры фундаментальной и прикладной микробиологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России
 Адрес: 450008, Уфа, ул. Ленина, 3
 Телефон: (347) 276-1960
 E-mail: kseniya.shvets@yandex.ru

Тамарова Эльмира Рифовна, аспирант кафедры пропедевтики и физиотерапии стоматологических заболеваний, кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России
 Адрес: 450008, Уфа, ул. Ленина, 3
 Телефон: (347) 272-4173
 E-mail: tamarovufa2@mail.ru

Булгакова Альбина Ирековна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой пропедевтики и физиотерапии стоматологических заболеваний ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России
 Адрес: 450008, Уфа, ул. Ленина, 3
 Телефон: (347) 272-4173

Information about authors:

Kseniya Yu. Shvets, assistant department of fundamental and applied microbiology, Bashkir State Medical University
 Address: 3 Lenina str., Ufa, 450008, Russian Federation
 Phone: (347) 276-1960
 E-mail: kseniya.shvets@yandex.ru

Elmira R. Tamarova, postgraduate student, department of propaedeutics and physiotherapy of dental diseases, department of fundamental and applied microbiology, Bashkir State Medical University
 Address: 3 Lenina str., Ufa, 450008, Russian Federation
 Phone: (347) 272-4173
 E-mail: tamarovufa2@mail.ru

Al'bina I. Bulgakova, MD, PhD, DSc, professor, head of the department of propaedeutics and physiotherapy of dental diseases, Bashkir State Medical University
 Address: 3 Lenina str., Ufa, 450008, Russian Federation
 Phone: (347) 272-4173