

МИКРОБИОЛОГИЯ

УДК 616.314.18-002.4:579.61

УЧАСТИЕ БАКТЕРИЙ РОДА *LEPTOTRICHIA* В АССОЦИИ С МИКРООРГАНИЗМАМИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗУБОДЕСНЕВЫХ КАРМАНОВ В РАЗВИТИИ ПАРОДОНТИТОВ

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

Государственное бюджетное образовательное учреждение Высшего профессионального образования «Дальневосточный государственный медицинский университет» Минздрава России

Проведено микробиологическое исследование содержимого зубодесневых карманов при пародонтитах различных степеней тяжести у 432 больных. Выявлены бактерии рода *Leptotrichia*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus viridans*, *Enterococcus faecalis* и другие микроорганизмы. Анализировали участие бактерий рода *Leptotrichia* и их ассоциаций с другими микроорганизмами в развитии пародонтитов. Отмечено, что выявление ассоциаций бактерий рода *Leptotrichia* с *S. pyogenes* и *S. aureus* сопряжено с отягощением клинических симптомов пародонтита.

Ключевые слова: пародонтит, микробные ассоциации, *Leptotrichia*, *Streptococcus pyogenes*, *S. aureus*.

Part bacteria of the genus *Leptotrichia* in association with microorganisms of pathological periodontal pockets in development periodontitis

Shapovalenko E.S., Antonova A.A., Strel'nikova N.V.

The Far Eastern State Medical University

An microbiological investigation of periodontal pockets in 432 patients with different severity of periodontitis was performed. Bacterium of the genus *Leptotrichia*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus viridans*, *Streptococcus pyogenes* group A, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* and other microorganisms were identified. The role of bacterium of the genus *Leptotrichia* and their associations with other microorganisms during the development periodontitis was analyzed. It was found that the associations of bacterium of the genus *Leptotrichia* with *Streptococcus pyogenes* and *Staphylococcus aureus* were correlated with the severity of clinical symptoms.

Key words: periodontitis, microbial associations, *Leptotrichia*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*

Введение

Пародонтит – стоматологическое заболевание, распространенность и интенсивность которого неуклонно продолжает расти, несмотря на профилактические, лечебные, диагностические, научно-исследовательские мероприятия в пародонтологии [7]. Такая тенденция прослеживается на протяжении многих лет. Пародонтит – мультифакторное и полиэтиологическое заболевание, представляющее значительные трудности для современного практикующего пародонтолога [1].

Ведущим фактором развития воспалительных заболеваний пародонта являются зубные отложения на эмали зубов, в основе которых выявлены бактерии рода *Leptotrichia*, относящиеся к семейству фузобактерий [5].

На поверхность длинных, грам-негативных палочек лептотрихий прикрепляются другие, более мелкие бактерии (кокки и палочки), а также клетки грибов рода *Candida*, что облегчает формирование биопленок, играющих немаловажную роль в патогенезе этого заболевания [2, 6]. В Хабаровском крае зарегистрировано большое количество лептотрихиозов слизистой оболочки полости рта [3].

Рост числа больных, преобладание осложненных форм заболеваний, хронизация процесса и

частые обострения, неэффективность терапии, свидетельствуют о недооценке роли бактериальной флоры, в том числе бактерий рода лептотрихия, в развитии воспалительных заболеваний пародонта [4].

Цель исследования

Изучить участие бактерий рода *Leptotrichia* в ассоциациях микроорганизмов зубодесневых карманов в развитии пародонтитов различной степени тяжести.

Материалы и методы

По результатам клинического обследования (стоматологического и пародонтологического) 432 пациента с диагнозом пародонтит распределены на 3 группы: 1) с пародонтитом легкой степени тяжести - 154 человека, 2) с пародонтитом средней степени - 183 человека, 3) с пародонтитом тяжелой степени - 95 человек.

Содержимое патологических зубодесневых карманов помещают в стерильную пробирку Del-talab с транспортной средой Стюарта, течение 1-2 часов доставляют в бактериологическую лабораторию. Из полученного материала делают разведения 10^{-3} - 10^{-5} стерильным 0,85% раствором NaCl. Первичный посев материала из приготовленных разведений осуществляют калиброванной бактериологической петлей (0,2 мм, емкость 0,005 мл) на поверхность пластинчатой среды «Уриселект» методом секторных посевов на четыре сектора, каждый раз обжигая петлю, в 90 мм чашки Петри и далее инкубируют первичные посевы в анаэробных и микроаэрофильных (5%-10% CO₂) условиях, $t_{opt}=+35+37^{\circ}\text{C}$ в течение 48-72 часов. Посев клинического материала для выявления *Leptotrichia*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* на поверхность пластинчатой хромогенной среды «Уриселект», представляющей собой неселективную, агаризированную, богатую пептоном и триптофаном среду производства «Bio-Rad» (Франция), методом секторных посевов [4]. Чашки с посевами инкубируют в анаэробных и микроаэрофильных (5%-10% CO₂) условиях, $t_{opt}=+35+37^{\circ}\text{C}$, в течение 48-72 часов. При необходимости осуществляют повторные пересевы выросших колоний изолятов лептотрихий, при этом пересев проводят методом штрихования и/или стерильным ватным тампоном и инкубируют пересевы в тех же условиях. Колонии *Leptotrichia* на пластинчатой среде «Уриселект» по морфологии мелкие, диаметром от 0,3 до 3 мм, как правило, яркого голубого цвета, матовые, в проходящем свете непрозрачные. R-формы колоний напоминают вросшие в агар фигуры цветов, колонии приподняты над поверхностью около 0,1-0,2 мм, не выпуклые, плоские, шероховатые, суховатые, бактериальная петля скользит по колонии, забор материала части колонии проводится с трудом. После снятия материала колонии с поверхности среды в агаре остается небольшое углубление. Край колонии неровный, фестончатый, структура колонии мелко волокнистая, при световой микроскопии колоний (увеличение 40) наблюдаются фигуры в форме окружности, по структуре и характеру напоминающие одуванчик голубого цвета. *Streptococcus viridans* выявляется по характерному зеленому гемолизу на кровяном агаре и морфологии микроорганизмов, *Streptococcus anginosus* образуют очень мелкие колонии, зона гемолиза вокруг которых значительно превышает размеры колонии. Данные исследований обрабатывались в программе Статистика 6, Microsoft Excel.

Результаты исследования

Доля пациентов с пародонтитом легкой степени тяжести составила $22\pm 3,9\%$, с пародонтитом средней степени тяжести – $42\pm 5,6\%$, тяжелой степени – $36\pm 5,3\%$. Статистически значимые различия рассчитаны по отношению к пародонтиту легкой степени тяжести – $p<0,001$. Фузобактерии лептотрихии регулярно выявляли при пародонтитах всех степеней тяжести в монокультуре, в двух и трехкомпонентных ассоциациях.

Анализ ассоциаций микроорганизмов, выявленных в патологических зубодесневых карманах показал, что доминирующей ассоциацией патогенов является сочетание *Leptotrichia* и *S. ruogenes* группы А. Этот комплекс определен у весомой доли обследованных пациентов с пародонтитами средней и тяжелой степеней тяжести (66,1% и 72,6% случаев соответственно), однако редко выявлялся при заболевании легкой степени тяжести – в 7,14% случаях (табл. 1).

Следующее ранговое положение по частоте выявляемости занимало сочетание бактерий *Leptotrichia* и *Staphylococcus aureus*, которое встречалось в половине случаев при пародонтитах средней и тяжелой степеней тяжести – в 43,2% и 50,5% случаев соответственно. При заболевании легкой степени тяжести это сочетание определялось только у 25,3% больных.

Третью ранговую позицию занимала ассоциация *Leptotrichia* и *Streptococcus viridans*, которую чаще выявляли при заболеваниях средней степени тяжести – в 37,2% случаев и реже при тяжелой и легкой форме заболевания (28,4-24,6% соответственно).

Таблица 1.

**Ассоциации лептотрихий с другими видами микроорганизмов, выявленные
в патологических десневых карманах**

Виды микроорганизмов, ассоциированных с лептотрихиями	Степени тяжести пародонтитов					
	лёгкая (154 чел.)		средняя (183 чел.)		тяжёлая (95 чел.)	
	n	%	n	%	n	%
<i>S. pyogenes</i> группы A	11	7,14±0,5*	121	66,12±1, *7	69	72,63±1,5*
<i>S. viridans</i>	38	24,68±1,1*	68	37,2± 1,8*	27	28,4±1,5*
<i>S. anginosus</i>	28	18,2±1,1*	43	23,5±1,4*	11	11,6±0,8*
<i>Staphylococcus aureus</i>	39	25,3±1,4*	79	43,2±1,9*	48	50,5±1,9*
<i>Escherichia coli</i>	-	-	28	15,3±0,9*	20	21±1,3*
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	24	15,8±1,1*	11	25,3±1,4*

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

Комбинация бактерий *Leptotrichia* и *Enterococcus faecalis* выявляли при пародонтитах средней (15,3%) и тяжелой степени тяжести (28,4%) и не обнаружили при заболеваниях легкой степени тяжести.

Ассоциация бактерий *Leptotrichia* и *E. coli* выявлялась довольно редко при заболеваниях средней степени тяжести (15,3% и 21,0% случаев соответственно) и так же не обнаружены при заболеваниях легкой степени тяжести.

Композиция *Leptotrichia* и *S. anginosus* выявлялась в незначительных количествах при пародонтитах всех степеней тяжести и несколько чаще при заболеваниях средней степени тяжести.

Актуально дальнейшее исследование не только отдельных видов микроорганизмов, но и доминирующих микробных ассоциаций, заселяющих пародонтальные карманы.

Выводы

1. Пародонтиты широко распространены на территории Хабаровского края. Заболевания средней степени тяжести выявляются чаще (42% случаев), чем заболевания легкой и тяжелой степени (22% и 36% случаев).

2. Наиболее часто при пародонтитах выявляются комбинации *Leptotrichia* и *S. pyogenes* групп A, а также *Leptotrichia* и *S. aureus*.

3. Комбинация бактерий *Leptotrichia* и *S. pyogenes* группы A определяли у 66,1% больных пародонтозом средней степени тяжести и у 72,6% больных тяжелой степени заболевания.

4. Комбинация бактерий *Leptotrichia* и *S. aureus* выявлена в 43,2% случаев – у больных средней степени тяжести и у 50,5% больных тяжелой степени заболевания.

5. Патологическое влияние на ткани пародонта увеличивается при ассоциации фузобактерий *Leptotrichia* с грамположительными пиогенными кокками – стафилококками и стрептококками.

Литература

1. Аболмасов Н.Г., Абломасов Н.Н., Гелетин П.Н. и др. Современные представления и мышления о комплексном лечении заболеваний пародонта // 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. Стрельникова Н.В. Микробиологические свойства потенциальных патогенов человека рода *Leptotrichia*: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. - Владивосток, 2010. - С. 3-5.
4. Стрельникова Н.В., Антонова А. А., Холодок Г.Н., и др. Способ культивирования бактерий рода *Leptotrichia* - резидентов микрофлоры полости рта // Патент России № 2441908 С2. - 2012. - 11 с.
5. Цепов Л.М., Голева Н.А.. Роль микрофлоры в возникновении воспалительных заболеваний пародонта // Пародонтология. - 2009. - № 1(50). - С. 7-12.
6. Чепуркова О.А., Чеснокова М.Г., Недосенко В.Б. Особенности микробиоценоза пародонтального кармана при генерализованном пародонтите средней степени тяжести // Институт стоматологии. - 2007. - № 3. - С. 86-88.
7. Янушевич О.О. Стоматологическая заболеваемость населения России. Состояние тканей

пародонта и слизистой оболочки рта. М., 2009. - С. 228.

Сведения об авторах

Шаповаленко Екатерина Сергеевна - аспирант кафедры стоматологии детского возраста ДВГМУ, г. Хабаровск, врач стоматолог-терапевт, пародонтолог стоматологической клиники ООО «ГОЛЛИ-ВУД» E-mail: kate-dv@yandex.ru

Антонова Александра Анатольевна - заведующая кафедрой стоматологии детского возраста ДВГМУ, д.м.н., профессор, г. Хабаровск, E-mail: alex.antonova@rambler.ru

Стрельникова Наталья Викторовна - заведующая бактериальной лаборатории КГБУЗ №1 имени профессора С.И. Сергеева, доцент, к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ДВГМУ, г. Хабаровск E-mail: jpdot@mail.ru

УДК 597-12:576.85

ВОЗБУДИТЕЛИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ СЕПТИЦЕМИИ (БГС) РЫБ, МИКРОФЛОРА ВОДЫ И КОМБИКОРМОВ, ИМЕЮЩАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Л.Н. Юхименко, Л.И. Бычкова, А.А. Дружинина

ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт пресноводного рыбного хозяйства", п. Рыбное, Дмитровский р-н, Московская область

Приведены результаты многолетних исследований этиологических агентов БГС рыб, имеющих эпидемиологическое значение.

Ключевые слова: *аэромонады, энтеробактерии, моракселлы, ацинетобактеры, энтерококки, псевдомонады.*

Pathogens of bacterial hemorrhagic septicemia (BHS) in fish, epidemiologic important specimens of water microbiocenosis and formula feeds

L.N. Yukhimenko, L.I. Bychkova, A.A. Druzhinina

FGBNU "VNIIPRKh" All-Russian Research Institute of Freshwater Fish Farming, Rybnoe, Dmitrov district, Moscow region

This article reported the results based on long-term investigations of epidemiologic important pathogens of bacterial hemorrhagic septicemia in fish.

Key words: *Aeromonas, enterobacteria, moraxella, acinetobacter, enterococci, pseudomonas.*

Введение

Бактериальная геморрагическая септицемия - заболевание полиэтиологичной природы. В настоящее время у рыб очень редко регистрируют заболевания, вызываемые одним возбудителем, такие, как вибриоз, фурункулез, аэромоноз, псевдомоноз. Чаще всего при исследовании паренхиматозных органов больной рыбы выделяют несколько возбудителей, иногда до 9 видов микроорганизмов, что весьма затрудняет диагностику и подбор лекарственных препаратов. В таких случаях часто используют антибиотики широкого спектра действия без проведения бактериологического исследования, что не всегда даёт положительный результат. Это объясняется тем, что у разных представителей микробиоценоза различная чувствительность. Бесконтрольно назначенное лечение, подавляет рост одних бактерий, способствует размножению других, что иногда приводит к летальному исходу. Кроме этого, в результате бесконтрольного применения антибактериальных препаратов появляются резистентные и даже зависимые формы микроорганизмов (рис.1), снижается иммунофизиологический статус рыб и при дальнейшем ухудшении ситуации развивается эндогенная БГС.