СТОМАТОЛОГІЯ

УДК 616.314.17-008.1:[616.993:576.893.161.22:616.31-022]-078

Н.М. Савєльєва
Харківський національний медичний університет

ДІАГНОСТИКА ЛЯМБЛІОЗУ У ХВОРИХ НА ГЕНЕРАЛІЗОВАНИЙ ПАРОДОНТИТ ЗА ВИЗНАЧЕННЯМ СТАНУ МІКРОБІОЦЕНОЗУ ПОРОЖНИНИ РОТА

При комплексному обстеженні хворих на генералізований пародонтит на тлі паразитарних захворювань (лямбліозу, ентеробіозу, токсокарозу) проведено мікробіологічне дослідження вмісту порожнини роту. Встановлені відмінності в частоті виділення різних умовно-патогенних мікроорганізмів залежно від типу паразитозу. Наявність мікроорганізму *E. faecalis*, виділеного в найбільшій кількості від хворих на генералізований пародонтит на тлі лямбліозу може бути непрямою ознакою паразитарного захворювання і слугувати додатковим методом для його виділення.
Ключові слова: *генералізований пародонтит, лямбліоз, мікрофлора ротової порожнини, E. faecalis.*

До теперішнього часу немає сумнівів, що в етіопатогенезі пародонтита найважливішу роль відіграють порушення асоціативних взаємовідношень представників автономної флори порожнини рота, у частковому чи повному витіснені характеристичних видів, посиленому розмноженні бактерій, не притаманних для мікробіоценозу порожнини рота здорової людини [12]. Проведені дослідження з метою об'єктивізації стану ротової порожнини хворих на генералізований пародонтит, прогнозування протікання цього захворювання на тлі лямбліозу, виявили штам *E. fae-calis* – вид ентерококів, який зазвичай входить до складу нормальної мікрофлори травневого тракту людини і вважається найбільш патогенним серед ентерококів.

Ентерококи, до яких належить *E. faecalis*, є представниками групи умовно-патогенних бактерій, здатних викликати аутоінфекцію.

Найбільш достовірним критерієм, який дозволяє охарактеризувати ентерококи в плані їх потенційної патогенності, є наявність у ентерококовому штамі набору генів патогенності.

Більшість генів патогенності (наприклад, комплекс генів цитолізинів) виявляються тільки у бактеріальних клітин *E. faecalis*, причому останні розташовуються на геномі в межах «островів» патогенності [3].

Штами *E. faecalis* мають високу протеолітичну активність щодо ряду білків – гідролізують колаген, гемоглобін, казеїн, желатин та інші білки.

Дані бактерії синтезують істотну кількість речовин, так званих факторів вірулентності, що сприяють розвитку інфекційного процесу. До таких факторів можна віднести поверхневі білки, що беруть участь у процесі адгезії та інвазії, екскретуємі білки і токсини, що забезпечують пошкодження тканини господаря, білки, що обумовлюють стійкість до антибіотиків, а також фактори, що індукують запалення [4].

Деякі штами *E. faecalis* володіють гіалуронідазною активністю. Ентерококовий цитолізин вражає еритроцити і деякі еукаріотичні типи клітин у той час, як бактеріальний феромон є низкомолекулярним пептидом, що сприяє до коньюгативної передачі плазмідної ДНК від штаму до штаму. Існує припущення, що цей феромон може діяти, як хемоатрактант для нейтрофілів, сприяючи посиленню запальної відповіді на інфекцію.

Наявність кишкових бактерій в порожнині рота, до яких належить *E. faecalis*, можна розцінювати як сигнал про можливе неблагополуччя, зниження імунологічної реактивності організму [6].

Вміст нормальної флори ротової порожнини може змінюватися під впливом різнома-нітних несприятливих умов, послаблюючих захисні сили організму. Зміни мікрофлори ротової порожнини, які клінічно проявляються у вигляді патології тканин пародонту є одним із проявів паразитарних захворювань, до яких належить і лямбліоз.

Сучасний рівень знань дозволяє визначати паразитарні інвазії як захворювання, у патогенезі яких важливу роль відіграють імунні порушення у відповідь на антигенну стимуляцію мікробного або іншого походження.

Паразитарні хвороби у теперішній час є одними з найбільш актуальних, оскільки, за даними Всесвітньої Організації Охорони Здоров'я, цим класом хвороб заражені 4,5 млрд жителів планети (більше 90 % населення); але й для України ці хвороби також мають вагоме значення, тому що кожен рік тільки офіційно реєструють 300–400 тис. випадків паразитарних інвазій [7]. Відомо понад 60–65 тис. видів паразитів, серед яких більше 500 є паразитами людини [2].

Лямбліоз – широко розповсюджене паразитарне захворювання людини, що викликається представником сімейства *Protozoe Giardia lamblia* (синоніми: *Giardia intestinalis*, *Giardia duodenalis*, *Lamblia intestinalis*). Збудник лямбліозу був відкритий в 1859 році професором Харківського університету Д.Ф. Лямблем.

Лямблії – найпростіші, що мешкають в організмі людини в просвіті тонкої кишки.

В результаті тривалої персистенції лямблій в організмі, накопиченні їх продуктів метаболізму, у тому числі за рахунок субстанцій розпаду життєдіяльності найпростіших, особливо при недостатньо ефективному імунному захисті, здатному відокремити їх розмноження, формується синдром хронічної ендогенної інтоксикації, що призводить до ушкодження усіх органів і систем, у тому числі і органів порожнини рота.

Різноманітність клінічних проявів лямбліозу і відсутність патогномонічних симптомів цього захворювання потребує обов'язкового лабораторного підтвердження діагнозу.

Незважаючи на те, що лямбліоз відомий вже давно, існують серйозні проблеми в його діагностиці. Традиційно діагноз встановлюють з виявлення цист або трофозоітів в зразках фекалій або дуоденальному вмісті [10]. Ефективність простої мікроскопії калу становить близько 50 % через характерну уривчастість в цистовиділенні, пов'язаної з особливостями розмноження трофозоітів лямблій [11]. Тривалість «німих» проміжків складає 8–12 днів, а на думку деяких фахівців – до 14 днів [1]. Причина переривчастого виділення цист не вивчена, багато хто бачить її у зміні імунореактивних властивостей макроорганізму.

Складність представляє також ідентифікація атипових цист. За даними S. Wahtquist і співавт. (1991 р.), точність діагностики лямбліозу підвищується при повторних дослідженнях [1]. З цим пов'язана рекомендація багатьох авторів проводити обстеження триразово.

На сьогоднішній день даний метод найпоширеніший у діагностиці лямбліозу. Однак він є значною мірою суб'єктивним, бо багато чого залежить від вірності проведення всіх етапів дослідження, та і дозволяє виявляти тільки паразитів з нормальною морфологією.

У зв'язку зі складнощами діагностики лямбліозу в останні роки активно розробляються нові, більш ефективні методи. Зокрема, в даний час на практиці використовують виявлення специфічних антигенів у фекаліях і специфічних антитіл у сироватках крові методом імуноферментного аналізу (ІФА) [13]. Чутливість і специфічність цих імунологічних методів варіюють залежно від складу і якості використаних діагностичних наборів. Зокрема, існує проблема перехресних реакцій антигенів лямблій з іншими паразитарними і соматичними антигенами, які дають хибнопозитивні результати. Тому для підвищення надійності та достовірності діагностики лямбліозу рекомендується комплексне застосування тестів на антитіла і антигени [1].

В останні роки з'явилася можливість і для молекулярно-генетичної діагностики лямбліозу методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Однак це діагностування не входить у стандарт офіційної діагностики і потребує підтвердження аналізом калу.

Стійкі зміни складу і властивостей мікрофлори порожнини рота при ГП на тлі лямбліозу та поява певного мікроорганізму – *E. faecalis*, не характерного для даного біотопу, виявилися вирішальними для ще одного методу об'єктивної діагностики цього паразитарного захворювання.

Метою дослідження є підвищення ефективності діагностики лямбліозу у хворих на генералізований пародонтит.

Матеріал і методи. В ході досліджень було обстежено 90 хворих з генералізованим пародонтитом I–II ст. тяжкості, що знаходились на лікуванні з приводу паразитарних інвазій. За типом ураження пацієнти були розподілені на три групи. У першу групу входили 30 хворих із лямбліозом (протозойний паразитоз), в другу – 30 хворих з ентеробіозом (просвітний глистяний паразитоз), в третю групу – 30 хворих з токсокарозом (тканевий паразитоз). Наявність протозойної або глистяної інвазії було підтверджено за допомогою вивчення дуоденального вмісту (у разі лямбліозу) і світлової мікроскопії фекалій (у перших двох групах). Також для підтвердження діагнозу у всіх групах хворих досліджували сироватку крові з метою виявлення специфічних антитіл класу IgM та IgG до збудників захворювань за допомогою імуноферментного аналізу.

Для усунення контамінації матеріалу мікрофлорою з харчових продуктів, матеріал із ротової порожнини забирали натще серце або через 3–4 години після їжі. У день взяття матеріалу для дослідження рекомендували утриматися від чищення зубів, а також застосування лікарських препаратів і полоскання порожнини рота. Забір матеріалу проводили за допомогою стерильного тампона в такій послідовності: слизова щік, кореня язика, зовнішня поверхня ясен. Виділення аеробних, факультативно-анаеробних бактерій та грибів проводили за загально прийнятою методикою [9]. Для цього робили посіви на 5 % кров'яний агар, цукровий бульйон, середовище Ендо та Сабуро. Інкубація матеріалу проводилась при температурі 37 °С, а матеріал середовища Сабуро витримували протягом 24 годин при кімнатній температурі. При появі росту на твердих поживних середовищах проводили підрахунок колоній різної морфології, беручи до уваги їхнє співвідношення. При помутнінні бульйону робили мазки, забарвлювали їх за Грамом й відповідно до результатів мікроскопії робили подальші посіви на щільні поживні середовища (кров'яний агар, жовточно-сольовий агар, середовище Ендо тощо). Потім проводили ідентифікацію мікроорганізмів за морфологічними, культуральними та біохімічними властивостями до виду, а в деяких випадках у разі неможливості видової ідентифікації – до роду.

Культивування анаеробних бактерій здійснювали з використанням анаеростатів і газорегенераторних пакетів «Anaerocult-A mini» згідно з рекомендаціями [8]. Усі мікробіологічні дослідження проведені на базі ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова» (м. Харків).

Для статистичної обробки даних використовували стандартні методи описової статистики [5]. Порівняння частот виділення мікроорганізмів проведено із застосуванням методів хі-квадрат Пірсена, а при малих частотах – критерію Фішера. Рівень статистичної достовірності був прийнятий як $p < 0{,}05$.

Результати та їх обговорення. Від 90 хворих було виділено 395 штамів мікроорганізмів, тобто в середньому від одного хворого було виділено 4,4 мікроорганізмів. Переважна більшість мікроорганізму належала до бактерій – 395 штамів (89,6 %), також було виділено 46 штамів (10,4 %) грибів *Candida albicans*.

Серед усіх виділених мікроорганізмів переважали грам-позитивні коки, які склали більше половини штамів 226 штамів, що складає – 51,2% від загальної кількості виділених мікроорганізмів, а саме: *Streptococcus spp.* – 134 штами (30,4 %), Staphylococcus spp. – 92 штами (20,8 %), *Enterococcus spp.* – 12 штамів – (2,8 %). Рід *Staphylococcus* був представлений *S. epidermidis* – 56 штамів (12,8 %), і *S. aureus* – 33 штами (7,6 %), а також були виділені 2 штами *S. haemolyticus*. Стрептококи були представлені переважно *S. pyogenes* – 62 штами (14 %), і *S. mitis* – 48 штамів (10,8 %). Із паличкоподібних бактерій найчастіше були виділені *Lactobacillus spp.* –

67 штамів (15,2 %), а також представники родини *Enterobacteriaceae* – 84 штами (7,6 %), а саме: *Escherichia coli* – 21 штам (4,8 %), *Klebsiella pneumoniae* – 7 штамів (1,6 %) та *Enterobacter aerogenes* – 5 штамів (1,2 %).

Серед виділених мікроорганізмів переважали *Lactobacillus spp.* – (74,51 % хворих) (рис. 1), *S. pyogenes* – (68,63 % хворих), *S. epidermidis* (62,75 % хворих) та *S. mitis* (52,94 % хворих). Гриби *C. albicans* були виділені у 50,98 % пацієнтів, тобто у половини обстежених хворих. У 37,25 % хворих був присутній *S. aureus* та у 23,53 % – *E. coli*. У 21,57 % були виділені *Neisseria subflava*, у 19,61 % хворих – *Corynebacterium spp.*

Наявність змивів з порожнини рота умовно-патогенних бактерій, таких як золотистий стафілокок, кишкова паличка, клебсієла, ентерококи, а також грибів свідчить про порушення нормобіоценозу ротової порожнини, що потребує більш пильної уваги. Тому на наступному етапі дослідження було детально проаналізовано склад мікрофлори залежно від типу наявного паразитозу – лямбліоз (протозойний паразитоз), ентеробіоз просвітний глистяний паразитоз та токсокароз (тканевий паразитоз). Отримані дані наведені в таблиці.

Дані таблиці свідчать, що при лямбліозі у 10 хворих (35,29 % випадків) був висіяний *E. faecalis*, тоді як при ентеробіозі цей вид мікроорганізмів був відсутній, а при токсокарозі – був виявлений лише у 1 хворого (3,3 % випадків) (p=0,006).

Серед решти мікроорганізмів відмінності були статично незначущими, але деякі з них також потребують уваги, а саме: наявність *C. albicans* була більш характерною для лямбліозу та токсокарозу, ніж для ентеробіозу. На сучасному етапі своєчасна й точна діагностика лямбліозу і токсокарозу нерідко зазнає труднощів, тому виділення цих мікроорганізмів у ротовій порожнині повинно привернути увагу лікаря та вказати на необхідність ретельного обстеження хворого з метою пошуку паразитозу.

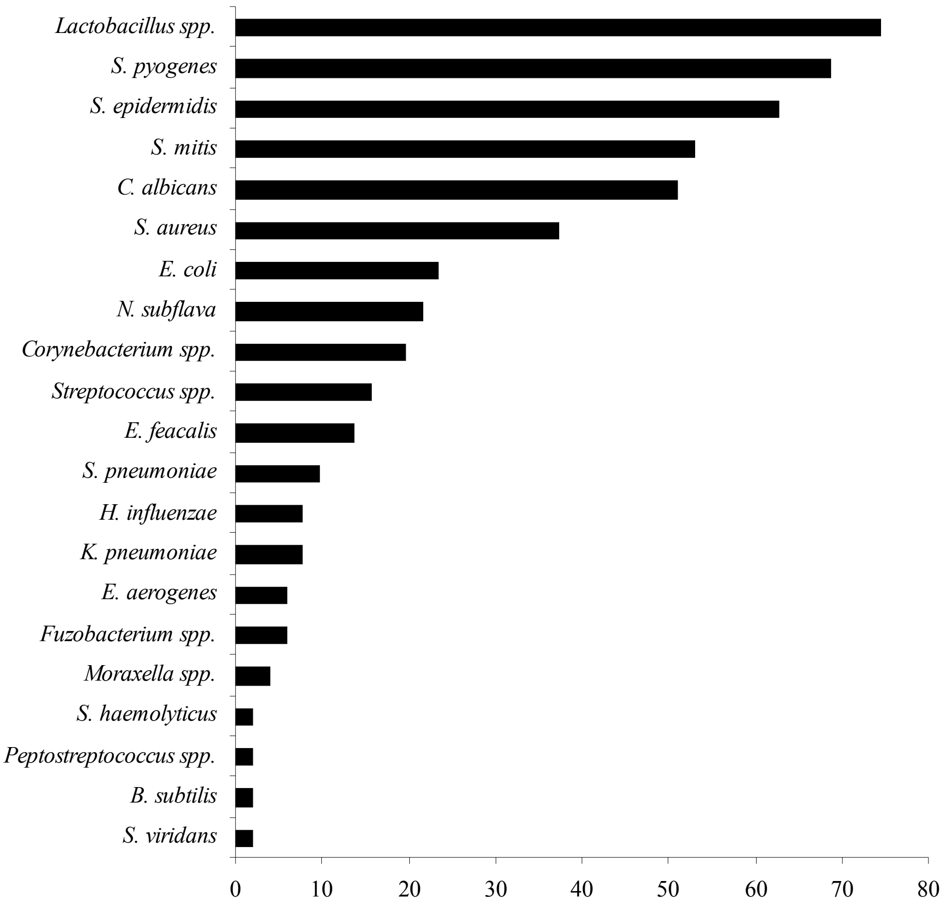

Рис. 1. Мікроорганізми у ротовій порожнині обстежених хворих (% від кількості обстежених хворих)

Мікроорганізми, виділені з ротової порожнини у хворих на різні паразитози

Мікроорганізм	Тип паразитозу			p
	лямбліоз	ентеробіоз	токсокароз	
E. faecalis	10 (35,29 %)	0	1 (3,3 %)	0,006
S. epidermidis	23 (76,47 %)	16 (52,94 %)	18 (58,82 %)	0,336
S. aureus	12 (41,18 %)	14 (47,06 %)	7 (23,53 %)	0,336
Lactobacillus spp.	21 (70,59 %)	19 (64,71 %)	26 (88,24 %)	0,261
N. subflava	10 (35,29 %)	7 (23,53 %)	2 (5,88)	0,111
Corynebacterium spp.	7 (23,53 %)	3 (11,76 %)	7(23,53 %)	0,608
C. albicans	16 (52,94 %)	10 (35,29 %)	20 (67,71 %)	0,225
E. coli	9 (29,41 %)	5 (17,65 %)	7 (23,53 %)	0,721
S. pyogenes	23 (76,47 %)	21 (70,59 %)	18 (58,82 %)	0,529
S. mitis	21 (70,59%)	10 (35,29 %)	16 (52,94 %)	0,119

Був також вивчений абсолютний вміст мікроорганізмів у ротовій порожнині (рис. 2). Статистично значущих відмінностей залежно від типу паразитозу не було знайдено, проте були виявлені наступні відмінності. В найбільшій концентрації був виділений *S. pyogenes*, його вміст в середньому досягав (5,33±0,28) КУО/мл. Слід зазначити, що максимальних концентрацій вміст цього стрептококу досягав у хворих на лямбліоз – (5,62±0,21) КУО/мл, а найменша концентрація була у хворих на токсокароз – (5,00±0,30) КУО/мл. Серед усіх виділених видів мікроорганізмів найменша концентрація була у грибів *C. albicans* – (3,31±0,13) КУО/мл в середньому, та у кишкової палички – (3,58±0,19) КУО/мл. Концентрація *E. faecalis* не представлена на графіку, оскільки цей мікроорганізм був характерний переважно для лямбліозу, але слід зазначити, що у хворих на лямбліоз концентрація ентерококу досягала (5,33±0,12) КУО/мл.

Висновки

Встановлені відмінності в частоті виділення різних умовно-патогенних мікроорганізмів залежно вид типу паразитозу: *E. faecalis*, виділені в найбільшій кількості від хворих на генералізований пародонтит на тлі лямбліозу. Саме тому наявність цього мікроорганізму в ротовій порожнині може бути непрямою ознакою паразитарного захворювання і слугувати додатковим методом для його виявлення.

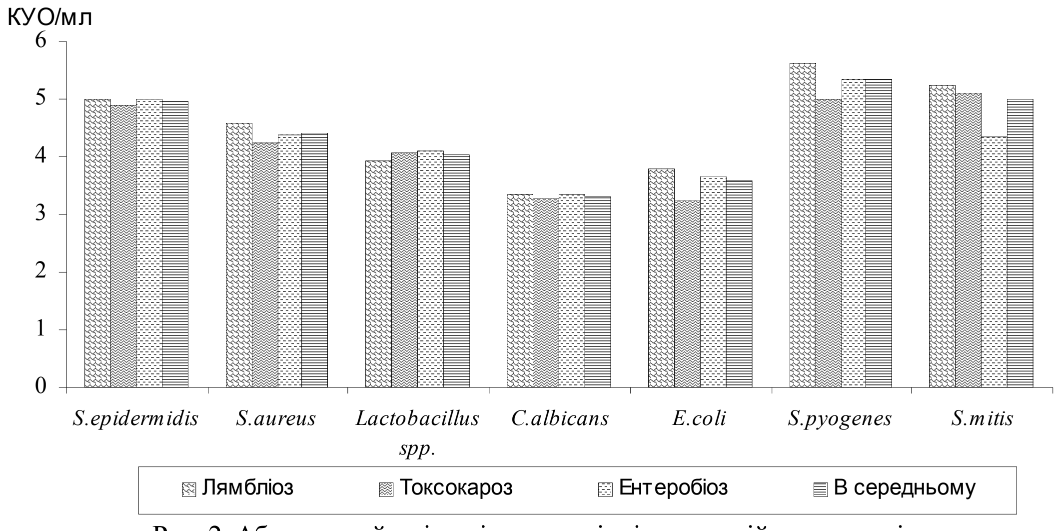

Рис. 2. Абсолютний вміст мікроорганізмів у ротовій порожнині:
КУО – колонієутворюючі одиниці в мл матеріалу

Список літератури

1. *Авдюхина Т. И.* Лямблиоз (учебное пособие) / Т. И. Авдюхина, Т. Н. Константинова, Т.В. Кучеря. – М., 2003. – С. 16–17.
2. *Бодня Е. И.* Клинико-иммунологические аспекты паразитарных болезней / Е. И. Бодня, И. П. Бодня // Клиническая иммунология. Аллергология. Инфектология. – 2007. – № 8. – С. 18–24.
3. *Бондаренко В.М.* «Острова» патогенности бактерий / В. М. Бондаренко // Журн. микробиол. – 2001. – № 4. – С. 67–74.
4. *Боровиков В.* STATISTICA. Искусство анализа данных на компьютере: Для профессионалов / В. Боровиков. – [2-е изд.]. – СПб. : Питер, 2003. – 688 с.
5. *Бондаренко В. М.* Симбиотические энтерококки и проблемы энтерококковой оппортунистической инфекции / В. М. Бондаренко, А. Н. Суворов. – М., 2007. – 30 с.
6. *Клемпарская Н. Н.* Аутофлора как индикатор радиационного поражения организма / Н. Н. Клемпарская, Г. А. Шальнова. – М. : Медицина, 1966. – 207 с.
7. *Кушнир И.Э.* Паразитарные инвазии в практике гастроэнтеролога / И.Э. Кушнир // Здоров'я України. – 2010. – № 1. – С. 40–42.
8. Лабораторна діагностика гнійно-запальних захворювань, обумовлених аспорогенними анаеробними мікроорганізмам: методичні рекомендації / В. Ф. Дяченко, С. В. Бірюкова, З. Г. Старобінець [та ін.]. – Харків, 2000. – 35 с.
9. Приказ № 535 МЗ СССР от 22.04.85 г. «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений». – М. : Мин. здрав. СССР, 1985. – 123 с.
10. Современные аспекты диагностики лямблиоза у человека / Е.В. Агафонова, Д. А. Долбин, С. Н. Куликов [и др.] // Рус. мед. журн. – 2008. – № 16 (17). – С. 146–149.
11. *Adam R. D.* Biology of Giardia lamblia / R. D. Adam // Clin. Microbiol. Rev. – 2001. – № 14. – С. 447–475.
12. *Chizhoy N.P* . N-Methyl-N-D-glucopyranosylammonium-2-acridin-9-on-10-yl-acetate with interferon producing activity / N. P. Chizhoy, R. A. Kupchinsky, A. L. Kovalenko // Europ. Pat. WO 94/22.837 01.04.93.
13. *Faubert G.* Immune response to giardia duodenalis / G. Faubert // Clin. Microbiol. Rev. – 2000. – № 1. – С. 35–54.

Н.Н. Савельева

ДИАГНОСТИКА ЛЯМБЛИОЗА У БОЛЬНЫХ ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫМ ПАРОДОНТИТОМ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ СОСТОЯНИЯ МИКРОБИОЦЕНОЗА ПОЛОСТИ РТА

При комплексном обследовании больных генерализованным пародонтитом на фоне паразитарных заболеваний (лямблиоза, энтеробиоза, токсокароза) проведено микробиологическое исследование содержимого полости рта. Установлены различия в частоте выделения различных условно-патогенных микроорганизмов в зависимости от типа паразитозов. Наличие микроорганизма *E. faecalis*, выделенного в наибольшем количестве от больных генерализованным пародонтитом на фоне лямблиоза может быть косвенным признаком паразитарного заболевания и служить дополнительным методом для его выявления.

Ключевые слова: *генерализованный пародонтит, лямблиозная инвазия, микрофлора ротовой полости, E. faecalis.*

N.N. Saveleva

DIAGNOSIS OF GIARDIASIS IN PATIENTS WITH GENERALIZED PERIODONTITIS IN DETERMINING THE STATE OF THE ORAL MICROBIOTA

Under the complex examination of patients with generalized periodontitis against parasitic diseases (giardiasis, enterobiosis, toxocarosis) conducted microbiological research contents of the mouth. The differences in the frequency of isolation of various opportunistic pathogens, depending on the type of parasites. The presence of the microorganism *E. faecalis,* isolated in the greatest number of patients with generalized periodontitis against giardiasis may be an indirect sign of parasitic diseases and serve as an additional method for its detection.

Key words: *generalized periodontitis, Giardiasis invasion, oral microflora, E. faecalis.*

Поступила 25.03.13