

Определение соотношения патогенных микроорганизмов десневого кармана в норме и при пародонтите

Брехов Антон, 11 «Б»

Научный руководитель:

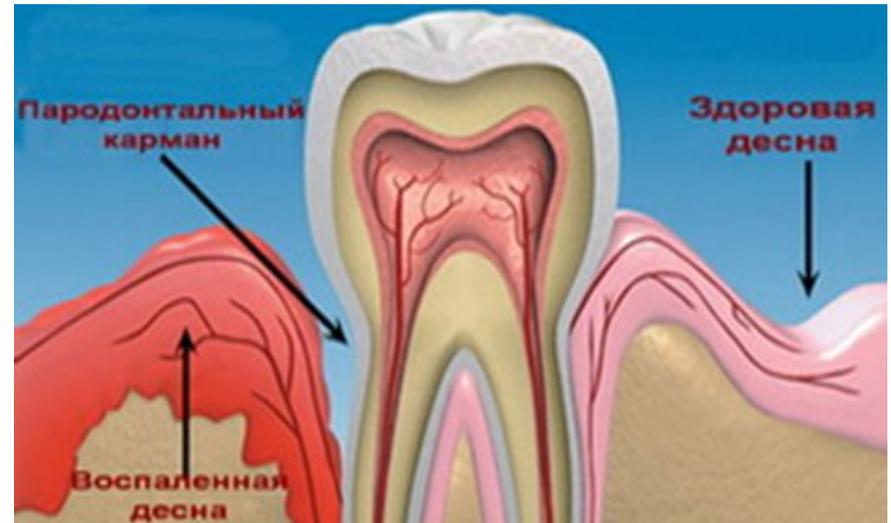
д.б.н. Ребриков Денис

Работа выполнена в Институте общей генетики им. Вавилова РАН
и Московской гимназии на Юго-Западе № 1543

Москва 2012 год

Пародонтит

Пародонтит – это часто встречающееся хроническое мультибактериальное заболевание тканей пародонта.



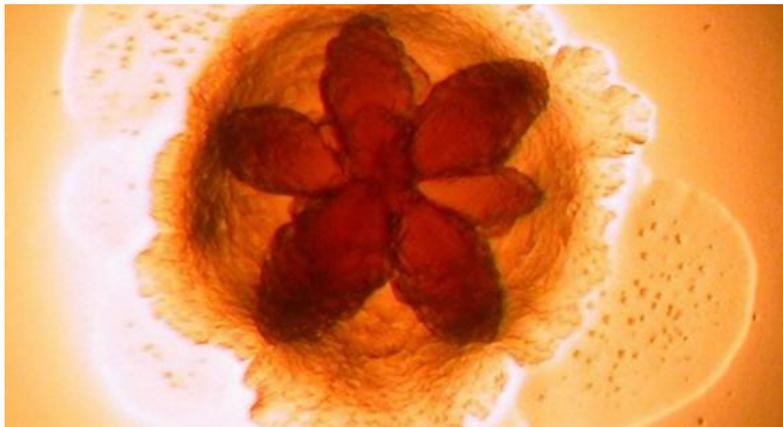
Различают хронический и агрессивный пародонтиты.

Факторы развития

Предрасполагающие факторы развития хронического пародонтита:

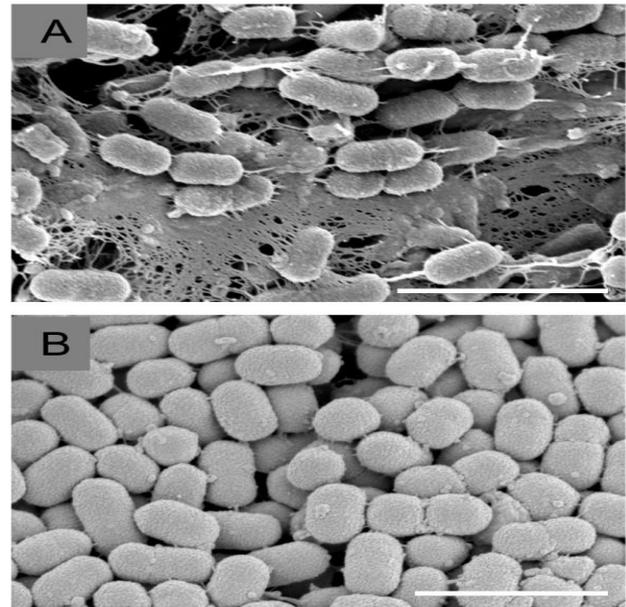
- низкий уровень гигиены рта (бактерии);
- ошибки стоматологов при пломбировании и протезировании;
- заболевания слюнных желез;
- неблагоприятные условия жизни (плохая экология, дефицит витаминов) и т.п.;
- застой крови в тканях пародонта.

Основные пародонтопатогены десневого кармана

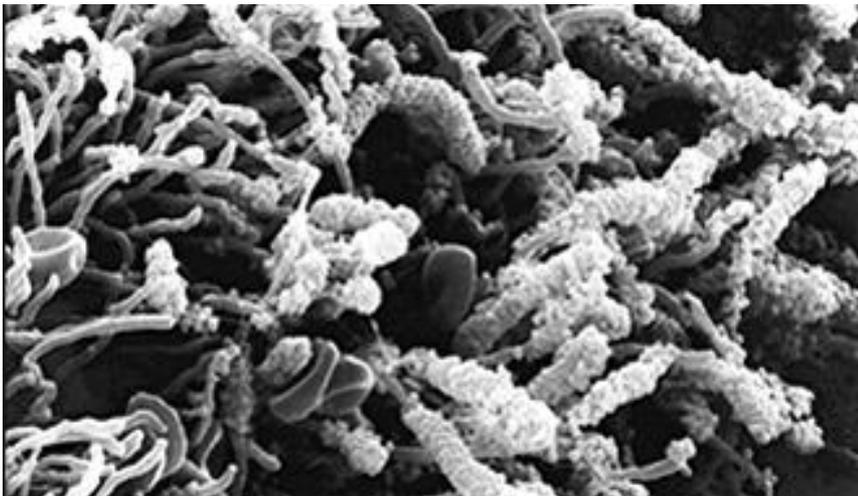


- ***Prevotella intermedia*** – это вид грамотрицательных строго анаэробных бактерий стержневой (палочковидной) формы. Один из основных возбудителей гингивита.

- ***Actinobacillus actinomycetemcomitans*** - это вид грамотрицательных строго анаэробных бактерий палочковидной формы.



Основные пародонтопатогены десневого кармана



- *Tannerella forsythensis*, *Porphyromonas gingivalis* и *Treponema denticola* – это грамотрицательные анаэробные бактерии, составляющие основной список видов, связанных с острым течением пародонтита.

- *Candida albicans* – это вид дрожжевых грибов, часто обнаруживаемых в ротовой полости, и являющийся условнопатогенным.



Цели и задачи

Цель работы:

- Определение соотношения пяти основных пародонтопатогенных микроорганизмов десневого (пародонтального) кармана: *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythensis*, *Treponema denticola*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, а также условного патогена *Candida albicans*, и взаимосвязи профиля микроорганизмов с развитием пародонтита.

Задачи:

- Провести анализ литературы по теме микробных биоценозов пародонтального кармана.
- Методом ПЦР «в реальном времени» определить соотношение пяти основных патогенных микроорганизмов десневого кармана: *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythensis*, *Treponema denticola*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, условного патогена *Candida albicans*, а также суммарного количества бактерий, с нормировкой по геномной ДНК человека для пациентов с пародонтитом.
- Сравнить полученные результаты с аналогичными данными для здоровых индивидов с целью выявления закономерностей.

Исследованный материал

Всего было исследовано 62 человека:

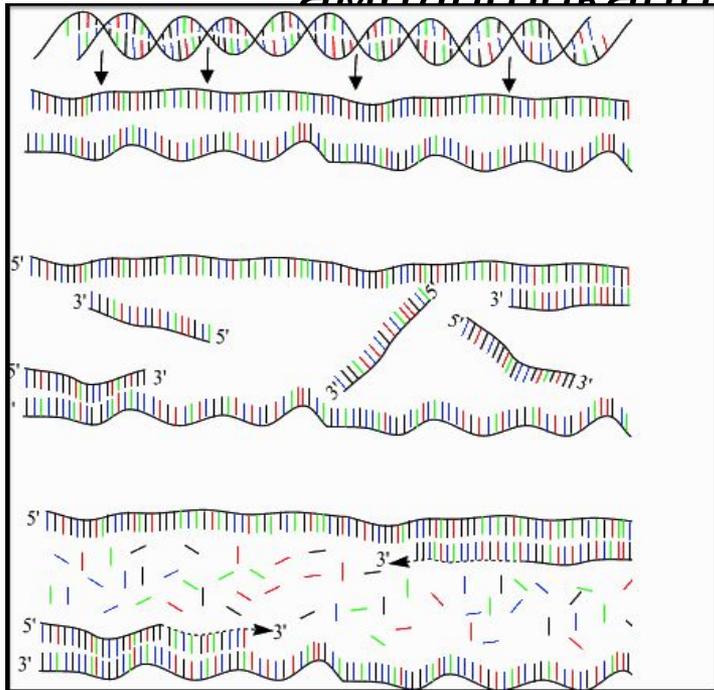
- 15 человек – молодежь в возрасте 21 – 31 год с хроническим генерализованным пародонтитом (ХГП) легкой степени.
- 47 человек – лица в возрасте 40 – 69 лет с ХГП тяжелой степени.
- В качестве контрольной группы была взята ранее обследованная в работе О.А. Зориной выборка здоровых индивидов в количестве 100 человек (с данными О.А. Зориной)

Методы исследования

Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

- ДНК, праймеры, Taq-полимераза, буфер, дезоксирибонуклеотидфосфаты
- циклический температурный режим

Стадии цикла амплификации



- Денатурация
- Отжиг праймеров
- Элонгация

Постановка ПЦР

- Для проведения исследования использовали коммерчески доступный набор тест-систем (ООО «НПО ДНК-Технология») и ПЦР-амплификатор ДТ-322 (ООО «НПО ДНК-Технология») в соответствии с инструкцией производителя.

Постановка ПЦР

Амплификатор ДТ-322



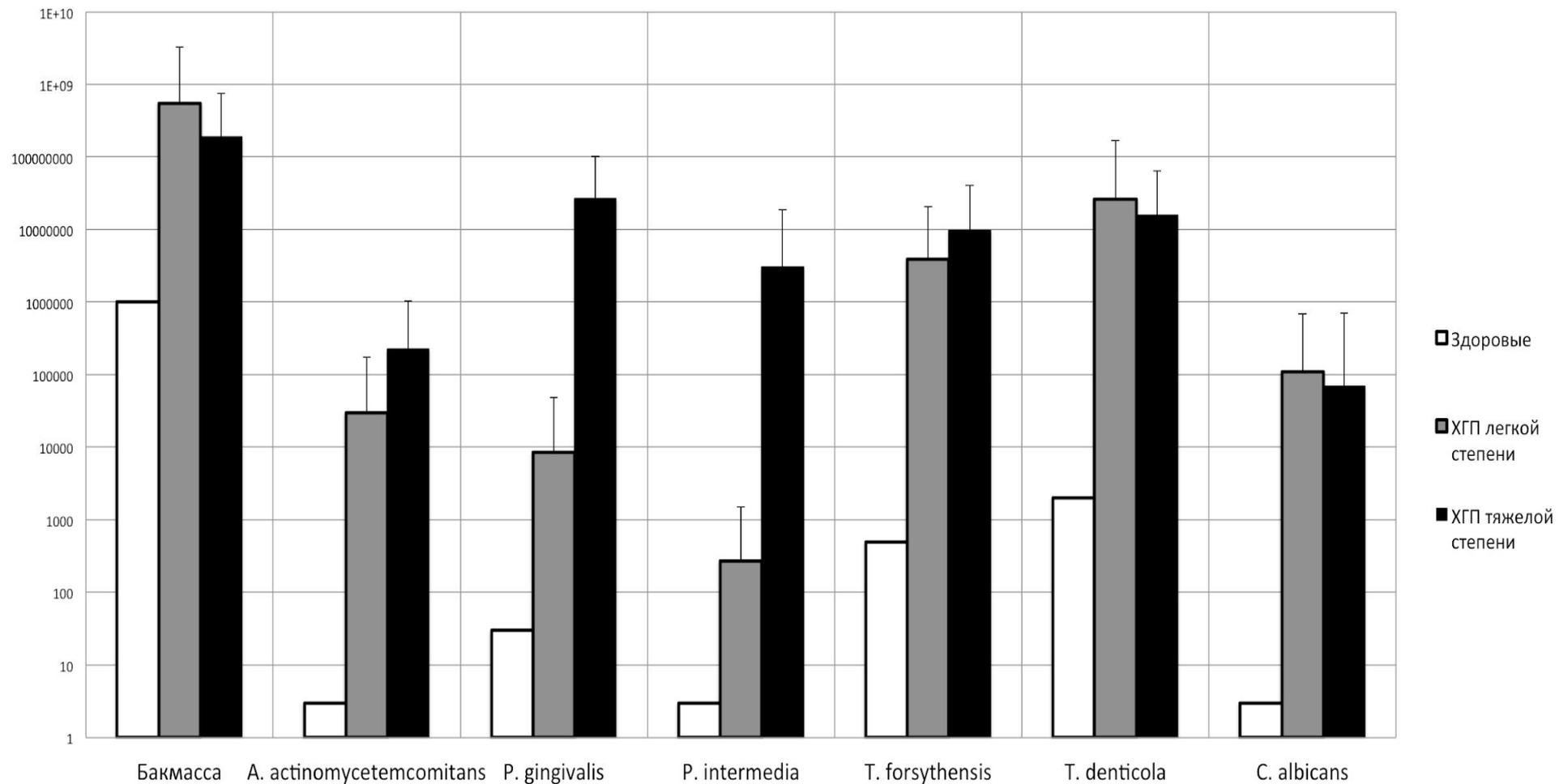
Программа амплификации

Температура	Время	Количество циклов
80°C	1 мин	1
94°C	1 мин 30 сек	
94°C	30 сек	5
64°C	15 сек	
94°C	10 сек	45
64°C	15 сек	
10°C	...	Хранение

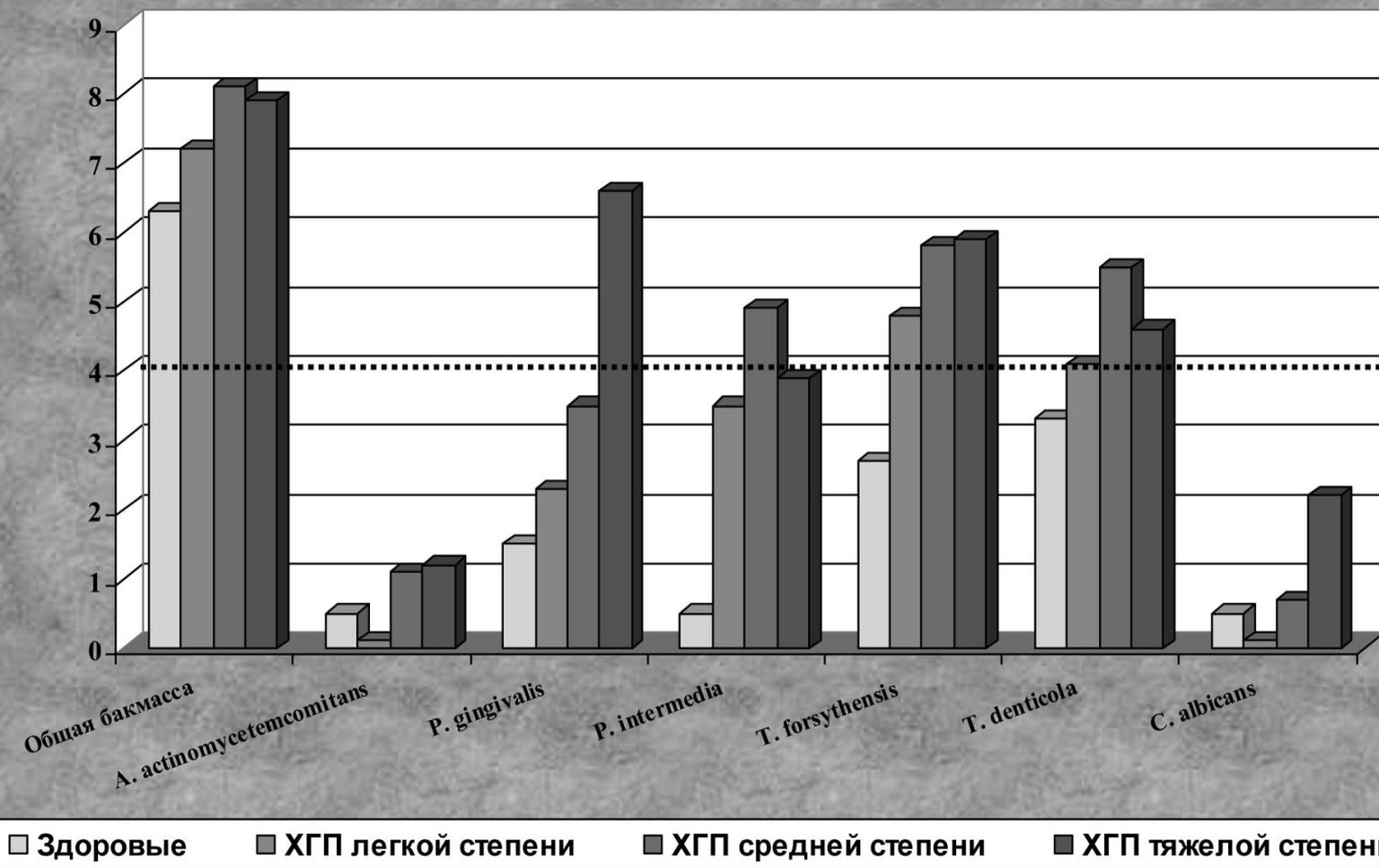
Результаты: частота выявления

Название микроорганизма	Здоровые (контроль) (n=100) (%)	Больные ХГП (%) (n=62)
<i>A.actinomycetemcomitans</i>	10,0	27,42
<i>P.gingivalis</i>	47,0	53,22
<i>P.intermedia</i>	33,0	48,39
<i>T.forsythensis</i>	53,0	85,48
<i>T.denticola</i>	60,0	81,45
<i>C.albicans</i>	10,0	10,48

Результаты: количество патогена



Результаты



Выводы

- Анализ литературы по теме микробных биоценозов десневого кармана показал высокую новизну данного направления исследований и наличие лишь отдельных работ по количественному исследованию пародонтопатогенов.
- Установлено, что все пять исследованных пародонтопатогенов достоверно чаще выявляются в группе больных пародонтитом, в сравнении с контрольной группой, что согласуется с данными других исследователей. Условный патоген выявляется с той же частотой.

Выводы

- Установлено, что в пародонтальном кармане в период заболевания возрастает как суммарная бактериальная нагрузка (в среднем в 100 раз), так и содержание отдельных пародонтопатогенов (от 1000 до 10000 раз), что указывает на существенную «перестройку» всего микробиоценоза.
- Полученные данные указывают на возможность использования количественного исследования основных пародонтопатогенов методом ПЦР «в реальном времени» как диагностического инструмента для оценки состояния пародонта и прогноза развития пародонтита.

Благодарности

Автор благодарит Дмитрия Коростина за помощь в выполнении научно-исследовательской работы, рецензента за ценные замечания, а также Сергея Менделевича Глаголева за организацию практики.