УДК : 616.314 - 07

МЕТОДЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПАРО- И ПЕРИОДОНТА

Медведева Л. С., Суворова М. Г.

ФГБОУ ВО Пермский государственный медицинский университет им. академика Е. А. Вагнера Минздрава России (614000, Пермь, ул. Петропавловская, 26)

e-mail: zzzadorina@rambler.ru

Аннотация: По данным ВОЗ (2002), около 95% взрослого населения планеты и 80% детского населения имеют те или иные признаки пародонтопатий. На сегодняшний день имеется тенденция к увеличению количества больных с заболеваниями пародонта. Высокая распространенность заболеваний пародонта является одной из наиболее сложных и актуальных проблем в современной стоматологии. В последнее время увеличивается резистентность пародонтопатогенов к традиционной терапии, в связи с этим возникает проблема микробиологической диагностики для назначения адекватного лечения. Распространенность заболеваний периодонта среди взрослого населения в мире превышает 75 %, антимикробная терапия при данных заболеваниях является важным этапом эндодонтического лечения. В статье рассматриваются возможные варианты методов микробиологической диагностики при заболеваниях паро- и периодонта, преимущества и недостатки каждого из методов, что дает возможность врачу-стоматологу выбрать тот метод, который будет отвечать его целям, экономическим и техническим возможностям. С помощью описанных микробиологических методов исследования врач-стоматолог сможет оценить количественный и качественный состав микрофлоры биологического материала при заболеваниях паро- и периодонта, а также определить эффективность антибактериальной терапии при данных заболеваниях.

Ключевые слова: микрофлора, периодонтит, пародонтит, методы микробиологической диагностики.

METHODS OF MICROBIOLOGICAL DIAGNOSTICS FOR DISEASES OF THE PARO - AND PERIODONTAL

Medvedeva L.S., Suvorova M.G.

The State Medical University n.a. E.A. Wagner (614000, Perm, street Petropavlovskay, 26)

e-mail: zzzadorina@rambler.ru

Annotation: According to WHO (2002), about 95% of the adult population of the planet and 80% of the children's population have some signs of periodontal disease. Today there is a tendency to increase the number of patients with periodontal disease. The high prevalence of periodontal disease is one of the most difficult and pressing problems in modern dentistry. Recently, the resistance of periodontal pathogens to traditional therapy has increased, and in this regard, the problem of microbiological diagnostics has arisen to prescribe adequate treatment. The prevalence of periodontal diseases in the adult population in the world exceeds 75%, antimicrobial therapy for these diseases is an important step in endodontic treatment. The article discusses possible options for the methods of microbiological diagnosis in diseases of the steam and periodontal, the advantages and disadvantages of each method, which allows the dentist to choose the method that will meet its goals, economic and technical capabilities. Using the described microbiological research methods, the dentist will be able to assess the quantitative and qualitative composition of the microflora of biological material in diseases

of the steam and periodontal, as well as to determine the effectiveness of antibacterial therapy in these diseases.

The Key Words : microflora, periodontitis, periodontitis, methods of microbiological diagnostics.

Лечение и реабилитация пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта являются одной из наиболее сложных проблем в стоматологии, что находит подтверждение в огромном количестве предложенных для этих целей средств и методов, которые далеко не всегда оказываются эффективными и необходимости использования лекарственных антимикробных препаратов избирательного действия [3, 7, 12].

Для определения вида возбудителя, назначения эффективного лечения и его оценки необходим микробиологический анализ патологического материала. Кроме того, с помощью микробиологической диагностики врач сможет конкретизировать диагноз и составить прогноз развития болезни [14].

Наиболее важными показаниями к проведению микробиологической диагностики являются такие заболевания как:

1. Острый язвенно-некротический гингивит.

2. Хронический пародонтит с частым рецидивированием и абсцедированием.

3. Болезни паро- и периодонта, устойчивые к лечению.

4. Агрессивные формы болезней пародонта (препубертатный, ювенильный пародонтит, быстропрогрессирующий у взрослых).

5. Тяжелые формы патологии пародонта на фоне системных заболеваний.

6. Комплексное лечение заболеваний пародонта с проведением системной антимикробной терапии, лоскутных операций, в случаях сложного протезирования или внутрикостной имплантации зубов, связанных с большими финансовыми затратами.

Сегодня актуальна выработка стандартов диагностических исследований при заболеваниях пародонта, которые могут использоваться в повседневной практике врача-стоматолога [17].

Цель исследования: на основе данных литературы сделать обзор методов диагностики микрофлоры при заболеваниях пародонта, рассмотреть преимущества и недостатки каждого из методов, что даст возможность врачу-стоматологу выбрать тот метод, который будет отвечать его целям, экономическим и техническим возможностям.

Цитологический метод исследования

Содержимое пародонтального кармана изучают по методике П. М. Покровского и М. С. Макаровой в модификации И. А. Бенюмовой (1962). Пародонтальные карманы

предварительно промывают изотоническим раствором хлорида натрия, стерильной корневой иглой с турундой производят забор материала.

Забор содержимого из корневого канала проводится на этапе механической обработки корневых каналов стерильным эндодонтическим инструментом (Н-файлом) (методика А. А. Кунина, 2003) [16].

Исследуемый материал распределяется на предметном стекле. Препарат фиксируют смесью Никифорова и окрашивают по Граму и Гимзе-Романовскому. Далее материал высушивается и микроскопируется при помощи светового микроскопа [1, 6].

Преимущества: простота в использовании

Недостатки: не позволяет определить вид возбудителя и его чувствительность к антибактериальным препаратам

Метод жидкостной цитологии

Жидкостная тонкослойная цитология – это способ получения монослойных цитолологических препаратов при переносе клеток из фиксирующего или транспортного растворов с использованием методов центрифугирования, осаждения и/или фильтрации.

С помощью урогенитального зонда или стоматологических бумажных адсорбентов производится забор материала из пародонтального пространства. Материал сразу помещается в специальный контейнер (виалу) и отправляется в лабораторию. В лаборатории виалы в базовых штативах помещаются в цитопроцессор, проводится обработка цитологического материала с полным сохранением клеточных и субтканевых структур. Производят окрашивание по методу Папаниколау [10].

Преимущества:

– быстрый и удобный микроскопический анализ: препарат занимает небольшую площадь, клетки располагаются в один слой, в скоплениях хорошо видна структура ядер;

– возможность неоднократного приготовления препаратов из одного и того же контейнера;

– более высокая информативность по сравнению с традиционным цитологическим методом за счет обеспечения сохранности клеточных структур.

Недостатки:

– более высокая, по сравнению с традиционной цитологией, стоимость пробоподготовки;

– необходимость дополнительного оборудования для приготовления препаратов;

– необходимость дополнительного обучения для интерпретации результатов [8].

Бактериологический метод исследования

Забор содержимого пародонтального кармана проводят стерильной ватной турундой на глубине 2 мм. Затем концевую часть турунды промывают в 10 мл физиологического раствора и получают взвесь микроорганизмов [6].

Забор содержимого корневого канала проводится следующим образом. Коронку зуба очищают от зубного налета гигиенической полировочной щеткой с последующей обработкой 3 %-ой перекисью водорода. После препарирования кариозной полости, раскрытия полости зуба, обеспечения эндодонтического доступа в канале Н-файлом № 15-20 инструментальными движениями с ирригацией физиологическим раствором создают суспензию инфицированного состава, которую забирают с помощью стерильного бумажного штифта [11].

Образцы полученных проб помещают в транспортные системы и в течение 24 часов доставляют в бактериологическую лабораторию. Далее делают секторальный посев по методике Мельникова-Царева на 5 % кровяном агаре Шедлера, для идентификации микроорганизмов в современных условиях используют специальные тест-системы [9]. Определяют чувствительность выделенных микроорганизмов к антибактериальным препаратам, а также к препаратам растений, действие которых активно изучают в последнее время [3, 5].

Преимущества:

– позволяет установить видовой состав микрофлоры;

– возможность определения чувствительности микроорганизмов к определенным антибактериальным препаратам

Недостатки:

– дороговизна;

– чувствительность к забору материала, транспортировке и условиям проведения

ПЦР

Сбор мягкого зубного налета производят методом смыва из пародонтального кармана (в случае патологии) или из десневой бороздки (в случае нормы) с помощью стерильных бумажных эндодонтических штифтов [15].

Сбор твёрдого зубного налета производят следующим образом. После предварительного полоскания ротовой полости водой проводят обработку ватным тампоном зуба с целью полного удаления мягкого налета и соскабливают поддесневой твердый налет, используя кюрету Грейси [14].

Исследуемый материал помещают в пробирки с транспортной средой, предварительная обработка материала не требуется. ПЦР проходит в 3 этапа: выделение ДНК/РНК, амплификация ДНК/РНК-фрагментов, детекция ДНК/РНК-продуктов

амплификации. Современные ДНК/РНК тесты способны идентифицировать от 3 до 11 периодонтопатогенов [4, 11, 13, 17].

Преимущества:

– высокая специфичность;

– высокая чувствительность;

– возможность анализа до 96 образцов за один запуск (использование при скрининговых исследованиях большого числа пациентов) [2];

– не требует специальных транспортных сред (для проведения анализа необязательно присутствие живых микроорганизмов);

– быстрый результат (весь процесс с момента передачи в лабораторию занимает не более одного рабочего дня);

– за счет автоматической интерпретации полученных результатов снимается проблема субъективной оценки;

– возможность определения чувствительности к антибактериальным препаратам

Недостатки:

– дороговизна;

– ограничение оценки лекарственной устойчивости (данные о конкретных генетических механизмах резистентности могут отсутствовать, резистентность к препаратам часто связана с различными механизмами и мутациями в различных генах, которые независимо влияют на фенотип);

– возможность ложноположительного результата в результате загрязнения исследуемого материала и ложноотрицательного результата в результате ингибирования реакции компонентами биологических образцов [9].

Таким образом, на клиническом приеме врач-стоматолог при лечении заболеваний пародонта в целях определения вида возбудителя, назначения эффективного лечения и его оценки может использовать различные методы микробиологической диагностики. Выбор определяется преимуществами и недостатками каждого метода. Цитологический метод позволяет определить только наличие микрофлоры без возможности определить вид возбудителя и чувствительность к противомикробным средствам. Метод жидкостной цитологии является более информативным, однако также не дает возможности определения чувствительности к противомикробным средствам и является более дорогим. Бактериологический метод позволяет установить видовой состав микрофлоры, определить чувствительность микроорганизмов к антибактериальным препаратам, но является еще более дорогим и имеет чувствительность к забору и транспортировке материала. Метод ПЦР позволяет с высокой точностью определить видовой состав микрофлоры, не требователен к

забору и транспортировке материала, дает возможность определения чувствительности к антибактериальным препаратам, однако имеет высокую стоимость и возможны ложные результаты.

Список литературы:

1. Александрова А. А. Оценка стоматологического статуса и разработка комплекса индивидуальной гигиены полости рта у беременных с сахарным диабетом: (На правах рукописи). — Санкт-Петербург, 2017. — 137 с.

2. Аникаев А. Ю., Ломоносов А. М. Применение секвенирования нового поколения (NGS) в клинической Практике / А.Ю. Аникаев, А.М. Ломоносов // Лабораторная служба. – 2014. – № 1. – С. 32-36.

3. Быкова Л. П., Годовалов А. П., Сибиряков Д. А. Изучение антимикробной активности SalviaOfficinalisL. и FucusVesiculosusL. // Актуальные проблемы медицины (27 янв. 2015 г., г. Гродно) – Гродно, 2015. – С. 96-97.

4. Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики // Москва: ИнтерЛабСервис, 2010. — 36 с.

5. Годовалов А. П., Быкова Л. П. Антимикробная активность производных некоторых растений / А. П. Годовалов, Л. П. Быкова // Современные научные исследования и разработки. – 2017. – Т. 2, № 1. – С. 58-61.

6. Данилевский Н.Ф., Борисенко А.В. Заболевания пародонта / Н. Ф. Данилевский, А. В. Борисенко. – Киев: Здоровье, 2000. – 464 с.

7. Заболевания пародонта // Л. Ю. Орехова. – Москва: Поли Медиа Пресс, 2004. – С. 432.

8. Касоян К. Т., Джангирова Т. В., Шабалова И. П. Анализ результатов последовательного приготовления препаратов традиционным методом и методом жидкостной цитологии из материала из шейки матки / К. Т. Касоян, Т. В. Джангирова, И. П. Шабалова, Л. Г. Созаева // Новости клинической цитологии России. – 2012. – Т. 16, № 3-4. – С. 49.

9. Колчанова Н. Э. Роль микрофлоры и ее способность формировать биопленку в патогенезе хронического периодонтита / Н. Э. Колчанова // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2017. –Т. 16, № 5. – С. 127-135.

10. Лопухов Л. В., Эйдельштейн М. В. Полимеразная цепная реакция в клинической микробиологической диагностике / Л. В. Лопухов, М. В. Эйдельштейн // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2000. – Т. 2, № 3. – С. 96-106.

11. Митронин А. В., Царёв В. Н., Ясникова Е. Я. Особенности контаминации экосистемы корневых каналов на этапах эндодонтического лечения острого периодонтита /

А. В. Митронин, В. Н. Царёв, Е. Я. Ясникова, Д. А. Черджиева // Оригинальные статьи. – 2008. – № 1. – С. 26-32.

12. Мозговая Л. А., Задорина И. И., Быкова Л. П. Микрофлора корневых каналов зубов в динамике лечения хронических форм апикального периодонтита / Л. А. Мозговая, И. И. Задорина, Л. П. Быкова, А. П. Годовалов // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2013. – Т. 9, № 3. – С. 447-449.

13. Полимеразная цепная реакция в реальном времени (Real-Time PCR)/ Екимов А.Н., Шипулин Г.А., Бочкарев Е.Г. Рюмин Д.В. http://www.interlabservice.ru/catalog/faq/?id=3422 (дата обращения 03. 10. 2018)

14. Токмакова С. И., Чудова Л.В. Состав микрофлоры пародонтального кармана при тяжелых формах пародонтита, устойчивых к стандартному лечению / С. И. Токмакова, Л. В. Чудова // Проблемы стоматологии. – 2014. – № 6. – С. 20-23.

15. Шибаева А. В. Исследование бактериальных консорциумов в качестве этиологического фактора развития болезней пародонта: — Москва, 2017 — 201 с.

16. Шишкин А. В. Выявление грибов рода Candida в составе микробных ассоциаций в дентине корневых каналов зубов при хронических периодонтитах / А. В. Шишкин // Вестник новых медицинских технологий. – 2011. –Т. 18, № 2. – С. 221-223.

17. Юдина Н. А. Диагностика болезней периодонта / Н. А. Юдина // Современная стоматология. – 2011. – № 1. – С. 26-32.