

Клинико-микробиологическое обоснование комплексного лечения больных пародонтитом со средней и тяжелой степени тяжести с учетом молекулярно-генетической характеристики микробиоты полости рта

А.И. БУЛГАКОВА*, д.м.н., профессор, зав. кафедрой

А.Р. МАВЗЮТОВ**, д.м.н., профессор, зав. кафедрой

Э.Р. ТАМАРОВА*, аспирант

Н.А. ВАСИЛЬЕВА***, к.м.н., врач

К.Ю. ШВЕЦ**, ассистент

*Кафедра пропедевтики и физиотерапии стоматологических заболеваний

**Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Уфа

***ГБУЗ РБ Стоматологическая поликлиника №5, г. Уфа

Clinical and microbiological substantiation of a complex treatment of patients with periodontitis with moderate and severe severity in view of molecular genetic characteristics oral microbiota

A.I. BULGAKOVA, A.R. MAVZYUTOV, E.R. TAMAROVA, N.A. VASILJEVA, K.Yu. SHVETZ

Резюме

В статье рассматривается вопрос оценки комплексной терапии пародонтита по молекулярно-генетической характеристике частоты встречаемости пародонтопатогенов. Обследованы 64 больных пародонтитом. Методом ПЦР проведена детекция *P. gingivalis*, *T. denticola*, *S. oralis*, *S. sanguis*, *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. sobrinus*, *S. macacae* в содержимом пародонтального кармана зубов и ротовой жидкости. Показано, что включение в состав базовой терапии пародонтита ультразвуковой обработки зубодесневых карманов и поверхности корня оказывает более значимое положительное влияние на состояние микробиоценоза в ротовой полости.

Ключевые слова: пародонтит, комплексная терапия, пародонтопатогенная микрофлора, полимеразная цепная реакция.

Abstract

Objective: evaluation of complex therapy of periodontitis on molecular genetic characterization of the periodontopathogen frequency. Examined 64 patients with periodontitis. The detection of *P. gingivalis*, *T. denticola*, *S. oralis*, *S. sanguis*, *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. sobrinus*, *S. macacae* was carried out in content of periodontal pocket teeth and saliva by PCR method. It is shown that inclusion in the composition of the basic periodontitis treatment ultrasonic treatment of periodontal pockets and root surface has a more significant positive impact on the microflora of the oral cavity.

Key words: periodontitis, complex therapy, periodontopathogenic microflora, polymerase chain reaction.

Среди важнейших проблем современной стоматологии одно из ведущих мест занимают воспалительные заболевания пародонта. Современный уровень научных знаний об этиопатогенезе пародонтита определяет пародонтальную микрофлору в качестве доминирующего фактора.

В этиопатогенезе пародонтита в качестве доминирующего этиологического фактора, с одной стороны, выделяют пародонтальную микробиоту и в связи с этим широко используются антибиотики, ориентированные на подавление бактериальной составляющей поддесневой зубной бляшки

и снижение концентраций продуктов жизнедеятельности бактерий, включая все виды токсинов [2, 4, 6]. С другой стороны, не менее важной задачей пародонтологического лечения является минимализация воспалительных реакций, обусловленных механическим воздействием под- и наддесневого налета и камня и вызванной этим травматизации тканей. Однако в последние годы наряду с вышеуказанным все чаще отмечаются посттравматические воспалительные осложнения, связанные с местными нарушениями кровообращения, ретракцией десны, оголением шеек зубов, несовершенством техники проведения деэпителизации внутренней поверхности пародонтального кармана [1, 5, 11, 12].

В связи с этим в комплекс терапевтических мер все чаще включают дополнительные физические воздействия, одновременно обеспечивающие и бактерицидный, и физиотерапевтический эффекты. В частности, сообщалось о положительных результатах, полученных при использовании ультразвука («Вектор», Durr Dental, Германия) благодаря щадящему удалению биопленки и зубных отложений без травматизации твердых и мягких тканей [8–10].

В оценке бактерицидного эффекта существенное значение имеют качественные данные о видовом составе микробиоты и количественные изменения, характеризующие бактерицидные эффекты. Применительно к стоматологии и пародонтологии такие данные преимущественно получают в ходе культурального исследования, информативность которого невысока в связи с наличием в составе микробиоты десневых карманов и зубного камня труднокультивируемых форм микроорганизмов. В этой связи для решения указанных задач представляется возможным применение молекулярно-генетических методов, не предполагающих выделение чистых культур микроорганизмов и позволяющих выявлять их некультивируемые формы.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка эффективности комплексной терапии пародонтита по молекулярно-генетической характеристике частоты встречаемости пародонтопатогенов, включая труднокультивируемые формы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследованы 64 больных пародонтитом (28 мужчин и 36 женщин) в возрасте от 20 до 68 лет, средний возраст $46,7 \pm 9,21$ лет. Длительность заболевания колебалась от нескольких месяцев до 13 лет и составила в среднем $6,90 \pm 3,47$ лет. У 44 (68,8%) человек был диагностирован пародонтит средней степени тяжести, у 20 (31,2%) человек — тяжелая степень пародонтита.

Пациентам до лечения проводили общепринятые клинико-рентгенологические исследования; состояние тканей пародонта оценивали на основании гигиенического индекса, пародонтального индекса и индекса кровоточивости десен. Пациенты были разделены на две группы — основную (34 человека) и группу сравнения (30 человек). Все пациенты получали базовую терапию: обучение чистке зубов, снятие зубных отложений, юретаж (закрытый или открытый в зависимости от степени тяжести пародонтита), противовоспалительную терапию, витаминотерапию, фитолечение и антибиотикотерапию 30% раствором линкомицина гидрохлорида 1 мл. Непосредственно перед инъекцией смешивается с 2% раствором лидокаина гидрохлорида 0,2 мл и 1,2 мл смеси растворов антибиотика и анестетика вводится по переходной складке полости рта один раз в день, по 0,6 мл с правой и левой стороны, поочередно на верхней и нижней челюсти. При антибактериальном лечении пародонтита курс лечения составлял 10 дней.

Пациентам основной группы на фоне базового лечения дополнительно была проведена ультразвуковая терапия при помощи аппарата Vector (фирма Durr Dental, Германия) — обработка зубодесневых карманов и поверхности корня всех четырех квадрантов с помощью модифицированного ультразвука и гидроксиапатита кальция в одно посещение.

У всех пациентов с хроническим пародонтитом определяли в исследуемом материале специфические фрагменты

ДНК наиболее частых пародонтопатогенов: *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus macacae* [3, 7].

Материалом для микробиологического исследования служило содержимое пародонтального кармана зубов и ротовая жидкость. Содержимое пародонтального кармана отбирали из наиболее глубоких участков с помощью стерильных бумажных эндодонтических штифтов (размер №25), которые затем помещали в пробирку с физиологическим раствором. Одновременно в другую пробирку собирали ротовую жидкость. Полученные образцы транспортировали в лабораторию в охлажденном состоянии.

ДНК выявляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). ДНК выделяли с использованием наборов «ДНК-экспресс» (НПФ «Лиетх», Россия). Для амплификации использовали подобранные нами видоспецифичные пары праймеров *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus macacae*. Амплификацию осуществляли в термоциклере Терцик МС-2 (НПФ «ДНК-Технология», Россия). Детекцию продуктов амплификации проводили электрофоретически на соответствующих наборах реагентов (ООО «Интерлабсервис», Россия) согласно инструкции производителя. Амплифицированные фрагменты ДНК разделяли электрофоретически в 2,0%-м горизонтальном агарозном геле, окрашивали бромидом этидия и визуализировали при освещении ультрафиолетом в фотодокументационной системе.

Микробиологическое исследование проводили до начала лечения и в динамике через 10 дней терапии.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При обследовании и анкетировании пациентов нами было определено, что длительность заболевания при пародонтите средней степени тяжести составила в среднем $6,60 \pm 1,89$ лет, при тяжелой форме заболевания — $8,90 \pm 1,27$ лет; средняя продолжительность периодов ремиссии — $8,20 \pm 0,38$ месяцев и $4,30 \pm 0,27$ месяцев, соответственно.

У обследованных больных пародонтитом отмечалось значимое возрастание показателей всех индексов состояния тканей пародонта. У подавляющего большинства пациентов величина индекса гигиены Silness-Loe превышала пороговый уровень 0,5, что указывает на неудовлетворительное гигиеническое состояние полости рта. Уровень клинического индекса РМА составил в среднем $51,90 \pm 6,24$, что свидетельствует о наличии воспалительных изменений в тканях пародонта. Значения индекса кровоточивости Mühlemann были равны $2,47 \pm 0,26$. Глубина пародонтальных карманов у больных колебалась от 4,9 мм до 8,6 мм при среднем уровне $7,08 \pm 1,64$ мм.

По результатам оценки индекса CPITN $3,46 \pm 0,52$, у всех обследованных пациентов при первичном осмотре выявлена необходимость проведения профессиональной гигиены полости рта и специализированного пародонтологического лечения.

В результате проведенных исследований микробиологического статуса установлено, что у больных хроническим пародонтитом до лечения в содержимом пародонтального кармана присутствовали все исследованные микроорганизмы (табл. 1). Наиболее распространены были бактерии

Streptococcus mutans, которые были выявлены у 50 (78,1%) из 64 обследованных больных. Следует отметить высокую представленность *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus oralis* и *Streptococcus sobrinus* 68,8%, 67,2% и 56,3%, соответственно. Остальные микроорганизмы встречались заметно реже: *Porphyromonas gingivalis* — в 14 (21,9%) случаях, *Treponema denticola* — в 10 (15,6%) случаях, *Streptococcus macacae* — в 9 (14,1%) случаях, *Streptococcus salivarius* — в 7 (10,9%) случаях.

В образцах ротовой жидкости обследованных больных пародонтитом до начала лечения также были обнаружены все исследованные микроорганизмы. Максимальная представленность показана для *Streptococcus mutans* (46 человек, 71,9%). Доля больных с *Streptococcus sanguis* составила 38 (59,4%) человек, с *Streptococcus oralis* — 34 (53,1%) человек, с *Streptococcus sobrinus* — 27 (42,2%) человека. Представленность в ротовой жидкости остальных бактерий была достаточно низкой и не превышала 20%. Так, для *Streptococcus macacae* ее величина составила 18,8% (12 человек), для *Porphyromonas gingivalis* — 17,2% (11 человек), для *Treponema denticola* — 10,9% (7 человек), для *Streptococcus salivarius* — всего 4,7% (3 человека). Следует отметить, что частота встречаемости исследованных бактерий соответствовала таковой в содержимом пародонтального кармана зубов.

При повторном осмотре через 10 дней лечения у всех пациентов отмечалось улучшение пародонтологических показателей: слизистая оболочка тканей пародонта стала бледно-розового цвета, плотно прилегала к зубу, поддесневые и наддесневые зубные отложения отсутствовали, кровоточивость не отмечалась, пародонтальные карманы уменьшены от 3 до 4 мм.

Пациенты основной группы уже через два-три дня после сеанса вектор-терапии отмечали состояние особого комфорта, легкости и ощущение здоровья в полости рта. Применение аппарата «Вектор» через четыре недели привело к исчезновению признаков воспаления у 14 пациентов (46,7%). В 13 случаях (43,3%) наблюдались локальные признаки воспаления, и только у 3 больных (10,0%) были выявлены генерализованные признаки воспаления.

На фоне проводимого комплексного лечения в обеих группах больных пародонтитом отмечалось определенное

Таблица 1. Частота выделения патогенных и условно-патогенных бактерий у больных хроническим пародонтитом

Бактерии	Биотопы полости рта (n = 64)			
	содержимое пародонтального кармана		ротовая жидкость	
	абс.	%	абс.	%
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	14	21,9	11	17,2
<i>Treponema denticola</i>	10	15,6	7	10,9
<i>Streptococcus mutans</i>	50	78,1	46	71,9
<i>Streptococcus salivarius</i>	7	10,9	3	4,7
<i>Streptococcus sanguis</i>	44	68,8	38	59,4
<i>Streptococcus oralis</i>	43	67,2	34	53,1
<i>Streptococcus macacae</i>	9	14,1	12	18,8
<i>Streptococcus sobrinus</i>	36	56,3	27	42,2

снижение представленности исследованных микроорганизмов (табл. 2). Так, в основной группе частота выделения *Streptococcus oralis* и *Streptococcus sobrinus* в содержимом пародонтального кармана уменьшилась на 23,2% и 20,0%, соответственно; *Porphyromonas gingivalis* — на 13,3%, а *Treponema denticola* и *Streptococcus sanguis* — на 10,0%. Встречаемость остальных бактерий осталась практически на уровнях до лечения.

У больных группы сравнения, которым вектор-терапия не проводилась, можно отметить снижение частоты выделения в содержимом пародонтального кармана *Porphyromonas gingivalis* и *Treponema denticola* — на 11,7%, тогда как изменения в содержании остальных микроорганизмов были незначительны и не превысили 6%. У пациентов данной группы после проведенной терапии обнаружена существенно более высокая, чем в основной группе, представленность *Streptococcus oralis* (на 27,6%, $\chi^2 = 4,91$, $p = 0,041$) и *Streptococcus sobrinus* (на 25,5%, $\chi^2 = 4,16$, $p = 0,044$).

При этом, если в основной группе больных среднее количество патогенных и условно-патогенных бактерий в содержимом пародонтального кармана уменьшилось на 26,5% (с 3,27 исходно до 2,40 после лечения), то в группе сравнения эти различия составили 13,0% (с 3,38 до 2,94), то есть на 13,5% меньше.

В результате исследования (табл. 2) микробиологический статус ротовой жидкости у больных пародонтитом основной группы характеризовался более низкой, чем

Таблица 2. Частота выделения патогенных и условно-патогенных бактерий у больных хроническим пародонтитом после комплексного лечения (%)

Бактерии	Основная группа (n = 30)		Группа сравнения (n = 34)	
	исходно	через 10 дней	исходно	через 10 дней
Содержимое пародонтального кармана				
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	20,0	6,7	23,5	11,8
<i>Treponema denticola</i>	16,7	6,7	14,7	2,9
<i>Streptococcus mutans</i>	76,7	70,0	79,4	73,5
<i>Streptococcus salivarius</i>	13,3	13,3	8,8	5,9
<i>Streptococcus sanguis</i>	70,0	60,0	67,6	61,8
<i>Streptococcus oralis</i>	63,3	40,0 a	70,6	67,6
<i>Streptococcus macacae</i>	13,3	10,0	14,7	11,8
<i>Streptococcus sobrinus</i>	53,3	33,3*	58,8	58,8
Ротовая жидкость				
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	16,7	10,0	17,6	8,8
<i>Treponema denticola</i>	13,3	3,3	8,8	2,9
<i>Streptococcus mutans</i>	73,3	60,0	70,6	61,8
<i>Streptococcus salivarius</i>	6,7	3,3	2,9	0,0
<i>Streptococcus sanguis</i>	56,7	46,7	61,8	55,9
<i>Streptococcus oralis</i>	50,0	40,0	55,9	52,9
<i>Streptococcus macacae</i>	20,0	6,7	17,6	11,8
<i>Streptococcus sobrinus</i>	43,3	36,7	41,2	32,4

* различие со значением в группе сравнения достоверно ($p < 0,05$)

до лечения, распространенностью *Streptococcus mutans* и *Streptococcus macacae* — на 13,3%, а также *Treponema denticola*, *Streptococcus sanguis* и *Streptococcus oralis* — на 10,0%. В группе сравнения изменения в представленности микроорганизмов были менее значимы и колебались в пределах от 8,8% для *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus mutans* и *Streptococcus sobrinus* до 2,9% для *Streptococcus salivarius* и *Streptococcus oralis*.

Детекция микроорганизмов в ротовой жидкости после комплексного лечения показала отсутствие статистически значимых различий в распространенности исследованных бактерий у пациентов исследованных групп. В основной группе больных среднее количество патогенных и условно-патогенных бактерий в ротовой жидкости уменьшилось с 2,80 до 2,07, т.е. на 26,2%, в группе сравнения с 2,76 до 2,26, т.е. на 18,1%.

Следует отметить, что все пациенты основной группы уже через два-три дня после сеанса вектор-терапии отмечали состояние особого комфорта, легкости и ощущение здоровья в полости рта. На контрольном осмотре через четыре недели признаки воспаления отсутствовали у 15 пациентов (50,0%). В 13 случаях (43,3%) наблюдались локальные признаки воспаления, и только у двух больных (6,7%) были выявлены генерализованные признаки воспаления.

Заключение

Таким образом, исследование ДНК микроорганизмов, колонизирующих экосистему при пародонтите (*Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus macacae*, *Streptococcus sobrinus*), показало, что у больных хроническим пародонтитом включение в состав базовой антибактериальной терапии заболевания ультразвуковой обработки зубодесневых карманов и поверхности корня оказывает более значимое положительное влияние на состояние микробиоценоза в ротовой полости по сравнению с эффектами базовой антибиотикотерапии.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Булгакова А. И., Васильева Н. А., Андреева Ю. В. Исследование показателей иммуноцитогрaмм у больных с воспалительными заболеваниями пародонта // Пародонтология. 2012. №3. С. 22–27.
2. Bulgakova A. I., Vasil'eva N. A., Andreeva Ju. V. Issledovanie pokazatelej immunocitogramu u bolnyh s vospalitel'nymi zabolovanijami parodonta // Parodontologija. 2012. №3. С. 22–27.
3. Булгакова А. И., Солдатова Ю. О., Зубаирова Г. Ш. Клиническая характеристика состояния полости рта у лиц с табакoзависимостью // Медицинский вестник Башкортостана. 2014. №1. С. 60–63.
4. Bulgakova A. I., Soldatova Ju. O., Zubairova G. Sh. Klinicheskaja harakteristika sostojanija polosti RTA u lic s tabakozavisimost'ju // Medicinskij vestnik Bashkortostana. 2014. №1. С. 60–63.
5. Гильмияров Э. М., Бережной В. П., Гильмиярова И. Е., Тлустенко В. П. Клинико-метаболическая база данных по хроническому генерализованному пародонтиту // Стоматология. 2008. №5 (87). С. 23–26.

Gil'mijarov E. M., Berezhnoj V. P., Gil'mijarova I. E., Tlustenko V. P. Kliniko-metabolicheskaja baza dannyh po hronicheskomu generalizovannomu parodontitu // Stomatologija. 2008. №5 (87). С. 23–26.

4. Зорина О. А., Беркутова И. С., Рехвиашвили Б. А. Сравнительная характеристика микробиоценозов пародонтальных карманов при хроническом генерализованном и агрессивном пародонтите до и после комплексного лечения // Стоматология. 2012. №6. С. 28–32.

Zorina O. A., Berkutova I. S., Rehviashvili B. A. Sravnitel'naja harakteristika mikrobiocenzov parodontal'nyh karmanov pri hronicheskom generalizovanom i agressivnom parodontite do i posle kompleksnogo lechenija // Stomatologija. 2012. №6. С. 28–32.

5. Лукиных Л. М., Круглова Н. В. Хронический генерализованный пародонтит. Часть II. Современные методы лечения и профилактики // Современные технологии в медицине. 2011. №2. С. 140–142.

Lukinyh L. M., Kruglova N. V. Hronicheskij generalizovannyj parodontit. Chast' II. Sovremennye metody lechenija i profilaktiki // Sovremennye tehnologii v medicine. 2011. №2. С. 140–142.

6. Николаева Е. Н., Царев В. Н., Ипполитов Е. В. Пародонтопатогенные бактерии — индикаторы риска возникновения и развития пародонтита // Стоматология для всех. 2011. №4. С. 4–7.

Nikolaeva E. N., Carev V. N., Ippolitov E. V. Parodontopatogennye bakterii — indikatory riska vozniknovenija i razvitiya parodontita // Stomatologija dlja vseh. 2011. №4. С. 4–7.

7. Орехова Л. Ю., Демченко Т. В., Нейзберг Д. М., Артемьев Н. А., Лобода Е. С. Эндоскопическая техника: этапы развития, перспективы применения в пародонтологии // Пародонтология. 2015. №4 (77). С. 14–20.

Orehova L. Ju., Demchenko T. V., Nejzberg D. M., Artem'ev N. A., Loboda E. S. Jendoskopicheskaja tehnika: jetapy razvitiya, perspektivy primeneniya v parodontologii // Parodontologija. 2015. №4 (77). С. 14–20.

8. Сарапульцева М. В., Шляхтова И. А. Уровень болевого симптома у пациентов при применении разных типов ультразвуковых скейлеров // Пародонтология. 2009. №4. С. 26–31.

Sarapul'ceva M. V., Shljahtova I. A. Uroven' bolevogo simptoma u pacientov pri primenenii raznyh tipov ul'trazvukovyh skejlerov // Parodontologija. 2009. №4. С. 26–31.

9. Трунин Д. А., Кириллова В. П., Бажутова И. В. Способ хирургического лечения пародонтита с применением композиции аллоимплантата // Пародонтология. 2008. №1 (46). С. 40–46.

Trunin D. A., Kirillova V. P., Bazhutova I. V. Sposob hirurgicheskogo lechenija parodontita s primeneniem kompozicii alloimplantata // Parodontologija. 2008. №1 (46). С. 40–46.

10. Gojkov-Vukelic M. et al. Application of a diode laser in the reduction of targeted periodontal pathogens // Acta Inform Med. 2013. Vol. 21. №4. P. 237–240.

11. Ioannou I. et al. Hand instrumentation versus ultrasonic debridement in the treatment of chronic periodontitis: a randomized clinical and microbiological trial // J Clin Periodontol. 2009. Vol. 36. №2. P. 132–141.

12. Shah M., Kumar S. Improvement of oral health related quality of life in periodontitis patients after non-surgical periodontal therapy // Indian Journal of Dentistry. 2011. Vol. 2. P. 26–29.

13. Teles R. P., Teles F. R. Antimicrobial agents used in the control of periodontal biofilms: effective adjuncts to mechanical plaque control? // Braz. Oral Res. 2009. Vol. 23. P. 39–48.

Поступила 17.01.2017
450077, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3
БашГМУ

Информацию об издательстве «Поли Медиа Пресс»
вы можете получить на сайте

www.dentoday.ru