

Закиров Т.В., Ворошилина Е.С., Бимбас Е.С., Стати Т.Н.

Микробиологическая оценка эффективности комплексного лечения агрессивного пародонтита с использованием лазерного кюретажа пародонтальных карманов

ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Екатеринбург

Zakirov T.V., Voroshilina E.S., Bimbass E.S., Stati T.N.

Microbiological evaluation of the effectiveness of complex treatment of aggressive periodontitis with laser curettage of periodontal pockets

Резюме

Целью работы было изучение эффективности комплексного лечения, включающего лазерный кюретаж, у больных с генерализованным агрессивным пародонтитом. В общей сложности 112 соматически здоровых людей в возрасте от 11 до 35 лет были включены в исследование. Метод полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) использовали для обнаружения пародонтопатогенных бактерий. Настоящее исследование показало, что комплексное лечение приводит к существенному сокращению содержания основных пародонтопатогенов в течение 1 года наблюдения. После первого этапа лечения, идентификация наиболее агрессивных микроорганизмов P.g., T.f. и T.d. в количестве, превышающем 10⁵, снизилась с более чем 60% до 32%, 39% и 34% соответственно. Через 1 месяц после использования диодного лазера частота встречаемости этих бактерий еще больше уменьшилась и составила 9%, 19% и 11% соответственно. Медианы содержания анаэробных микроорганизмов снижались с более чем 10⁶ до лечения до 10³ через 1 месяц после использования диодного лазера. Достигнутые результаты сохранялись в течение одного года наблюдений при регулярном проведении поддерживающей терапии. **Ключевые слова:** агрессивный пародонтит, ПЦР в реальном времени, антимикробная терапия

Summary

The aim of the study was to investigate the effectiveness of complex treatment including curettage using a diode laser in patients with generalized aggressive periodontitis. A total of 112 systemic healthy people, from 11 to 35 years old, were included in the study. The real-time Polymerase Chain Reaction (PCR) method was used for detection of periopathogens. The present study showed that the complex treatment may lead to a significant reduction of periopathogens over the 1-year monitoring period. After the first stage of treatment identifying the most aggressive microorganisms P.g., T.f. and T.d. in an amount of more than 10⁵ decreased from over 60% to 32%, 39% and 34% respectively. After 1 month of using diode laser incidence of these bacteria has decreased even more and reached 9%, 19% and 11% respectively. Median content of anaerobic microorganisms decreased from more than 10⁶ before treatment to 10³ after 1 month of using a diode laser. The results were maintained over one year of observations with regular maintenance therapy. **Keywords:** aggressive periodontitis, real-time PCR, antimicrobial therapy

Введение

Одной из наиболее актуальных проблем в стоматологии остается профилактика и лечение агрессивного пародонтита. Для этого заболевания характерно возникновение на фоне дефектов местного иммунитета и несостоятельности защитных функций полиморфно ядерных лейкоцитов, неуклонное прогрессирующее, низкая эффективность традиционных методов лечения. Лечение агрессивного пародонтита представляет большую трудность для стоматологов, требует участия нескольких специалистов. Методы лечения дорогостоящи, продол-

жительны по времени и имеют низкую эффективность. Хирургическое лечение травматично, и без адекватной эрадикации анаэробных пародонтопатогенных бактерий приводит только к временному снижению интенсивности воспалительного процесса, а иногда, особенно в детском возрасте, может стимулировать прогрессирующее разрушение костной ткани. Часто, несмотря на проведенное лечение, воспалительный процесс в пародонте купировать не удается, и итогом становится быстрое присоединение осложнений и потеря большинства зубов в молодом возрасте [10].

Несмотря на большое количество исследований, заключения авторов об эффективности использования лазера при лечении пародонтита крайне противоречивы [2, 3, 4, 9, 12]. Так Камма J.J. с соавт., 2009, после сравнительной оценки эффективности лечения 30 пациентов с агрессивным пародонтитом с использованием диодного лазера с длиной волны 980 нм, обнаружили значительное снижение общей бактериальной нагрузки в пародонтальных карманах и уменьшение количества P.g. и T.d.. Достигнутый эффект сохранялся в течение 6 месяцев. Однако отличий по уровню образования налета и индексу кровоточивости обнаружено не было [8]. Casuso U., с соавт., 2008, наоборот показали, что дополнительное лечение с помощью диодного лазера со сходными параметрами использования вело к небольшому улучшению клинических показателей, в то время как значимых различий между тестируемой и контрольной группами по уровню редукции основных пародонтопатогенов выявлено не было [5]. При оценке возможности альтернативного использования Nd:YAG лазера вместо хирургической операции при лечении агрессивного пародонтита Mumpolo S., Marchetti E. (2008) не обнаружили статистически значимых различий в результатах лечения, однако авторы сделали вывод, что лечение лазером может быть альтернативным методом, особенно в терапии пациентов молодого возраста, при высоком анестезиологическом риске, нарушении свертываемости у больных с тромбоцитопенией [10].

Необходимо отметить, что большинство исследований проводилось на маленькой выборке и имело незначительные сроки наблюдения, что затрудняет оценку эффективности в долгосрочном периоде [1, 6, 7].

Таким образом, на сегодняшний день недостаточны данные о возможности эффективного использования лазера при лечении агрессивного генерализованного пародонтита тяжелой степени как альтернативе хирургическим методикам [11, 13].

Цель исследования: определить изменение микробиологического статуса пародонтальных карманов у пациентов с агрессивным пародонтитом в ходе комплексного лечения включающего лазерный кюретаж на протяжении одного года наблюдения.

Материалы и методы

В обследование были включены 112 пациентов: 44 (39,29%) мужчины и 68 (60,71%) женщин, обратившихся в многопрофильную стоматологическую поликлинику УГМУ с сентября 2010 по июнь 2015 года, которым был поставлен диагноз генерализованный агрессивный пародонтит тяжелой степени в стадии обострения. Критериями включения были возраст до 35 лет, характерная клиническая картина, семейный анамнез заболевания, потеря прикрепления более 2 мм за 1 год или до наступления 18 лет, рентгенологически определяемая резорбция костной ткани альвеолярного отростка более 1/2 длины корней зубов, отсутствие ранее проводимого комплексного пародонтологического лечения. Исключались пациенты, принимавшие антибиотики в течение 1 месяца

до момента обследования, имеющие соматические заболевания. Возраст пациентов варьировал от 11 до 35 лет и в среднем составил $22,6 \pm 7,02$ года.

Первым этапом лечения назначали антибактериальную терапию и проводили глубокую обработку пародонтальных карманов с полноценным удалением зубных отложений и полированием поверхности корней аппаратом «Vector». Через один месяц проводили лазерный кюретаж пародонтальных карманов с использованием диодного лазера «Sirolaser» (длина волны 970 нм, световод 320 мкм, мощность 2,8 Вт, частота 75–100 Гц в импульсном режиме). Через 6 и 12 месяцев проводили поддерживающую терапию с использованием ультразвукового аппарата «Vector».

Микробиологическую диагностику проводили до лечения, через 1 месяц после первого этапа лечения, через 1 месяц после лазерного кюретажа, а также через 6 и 12 месяцев. Решение о месте забора материала принимали на основании совокупной характеристики жалоб пациента и клинической картины. Зуб изолировали ватными валиками, высушивали стерильными тампонами. Стерильные абсорбенты (бумажные штифты) погружали в наиболее активный пародонтальный карман на 1–2 секунды на стандартную глубину 3 мм. При извлечении абсорбента полностью исключали его касание к слизистой оболочке полости рта. Биоматериал помещали в пробирку 1,0 мл «эппендорф» с транспортной средой (физиологический раствор).

Взятый биологический материал был промаркирован. В сопроводительном документе - направлении указывали Ф.И.О. и возраст пациента, материал, предполагаемый диагноз, показания к обследованию, дату взятия пробы, наименование учреждения. Если время транспортировки биологического материала с момента взятия до момента его доставки в лабораторию было не более суток, то пробирку с биоматериалом хранили и доставляли в лабораторию при температуре бытового холодильника (+ 4–10 С), не замораживая. В случае невозможности доставки образца в лабораторию в течение суток, проводили однократное замораживание и хранение образца биоматериала при минус 200 С до 1-го месяца.

Выявление пяти пародонтопатогенных микроорганизмов: *Actinobacillus* (*Aggregatibacter*) *actinomycetemcomitans* (A.a.), *Porphyromonas gingivalis* (P.g.), *Prevotella intermedia* (P.i.), *Tannerella forsythensis* (T.f.) и *Treponema denticola* (T.d.) производили методом количественной ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени (ПЦР-РВ). ДНК микроорганизмов выделяли при помощи набора реагентов «Проба-ГС» (производства ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) согласно прилагаемой инструкции производителя. Методика выделения основана на сорбции ДНК на органическом носителе, отмывке примесей с последующей элюцией нуклеиновых кислот с сорбента.

После прохождения амплификации, по показателю индикаторного цикла (Cp) рассчитывали количество ДНК исследуемого инфекционного агента в исходном материале. Учет результатов вели с помощью программного

обеспечения, прилагающегося к детектирующему амплификатору «ДТ-96».

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью программного пакета статистического анализа SPSS v19.0. В качестве меры центральной тенденции количественных признаков выбрана медиана, а в качестве интервальной оценки — верхний и нижний квартили, указанные в виде 25% и 75% процентиля. Для оценки достоверности различий в группах использовался непараметрический критерий знаковых рангов Вилкоксона. Различия значений между группами считались статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При качественной оценке содержания основных пародонтопатогенных бактерий можно отметить, что частота их встречаемости до и после проведения основных этапов лечения практически не изменялась. Максимальное уменьшение выявления микроорганизмов наблюдалось после первого этапа, а также после проведения лазерного кюретажа пародонтальных карманов, однако статистически эти различия были недостоверными. Так, например присутствие A.a. в общей выборке было выявлено в 38% случаев до лечения, снижалось до 22% после завершения основного этапа лечения (лазерный кюретаж) и снова возрастало до 36% через 1 год в ходе поддерживающей терапии. Содержание P.g. — одного из основных анаэробных микроорганизмов, ответственных за прогрессирование воспалительного процесса и дальнейшую утрату тканей пародонтального комплекса колебалось в пределах 88% - 96% на всех этапах лечения и поддерживающей терапии (рис.1). Аналогичные незначительные колебания были выявлены в отношении трех других пародонтопатогенных микроорганизмов. Так, содержание P.i. с 93% до лечения незначительно снижалось до 85% и 89% после первого и второго этапов лечения и повышалось до 94% через 1 год наблюдения. Начальное выявление T.f. и T.d. составило 100% и 97%, снизилось до 96% и 90% после завершения основного этапа лечения и увеличилось до 100% и 94% через 1 год наблюдения соответствен-

но. Такие незначительные и недостоверные изменения в содержании патогенных бактерий можно объяснить тем, что на современном этапе развития медицинских технологий полная эрадикация анаэробных микроорганизмов при пародонтите невозможна и речь идет только о значительном уменьшении их количества и смещении микробиоценоза в сторону развития сапрофитных микроорганизмов. Также эти результаты свидетельствуют о низкой значимости научных исследований, в которых определение анаэробов ведется только с помощью качественной оценки присутствия или отсутствия микроорганизма в образце.

С позиций микробиологии клинически значимым количеством микроорганизмов считается их содержание в концентрации превышающей 10^5 . С этой точки зрения ведущим исследованием, позволяющим оценить эффективность антибактериальной терапии в пародонтологии, остаются количественные методы микробиологической диагностики, в частности ПЦР в реальном времени. При изучении частоты встречаемости микроорганизмов в количестве, превышающем 10^5 , мы наблюдали значительное уменьшение содержания пародонтопатогенных бактерий в ходе лечения. Небольшое увеличение частоты встречаемости наблюдалось через 1 год, что вполне объяснимо погрешностями пациентов в выполнении ежедневного гигиенического ухода за полостью рта. Например, частота встречаемости наиболее агрессивных микроорганизмов красного комплекса P.g., T.f. и T.d. уменьшилась с более чем 60% до 32%, 39% и 34% соответственно после первого этапа лечения. Через 1 месяц после проведения лазерного кюретажа частота выявления данных бактерий еще более снизилась и достигла 9%, 19% и 11% соответственно ($p < 0,05$). Через 1 год наблюдения мы диагностировали незначительное увеличение содержания T.d. до 20% при сохранении выявления P.g. и T.f. на уровне 9% и 19% соответственно. Содержание *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* в количестве, превышающем 10^5 в образце, снизилось с 19% до лечения до 2% через 1 месяц после проведения лазерного кюретажа и сохранялось на низком уровне в 1% и 3% через 6 и 12 месяцев наблюдения соответственно (рис.2).

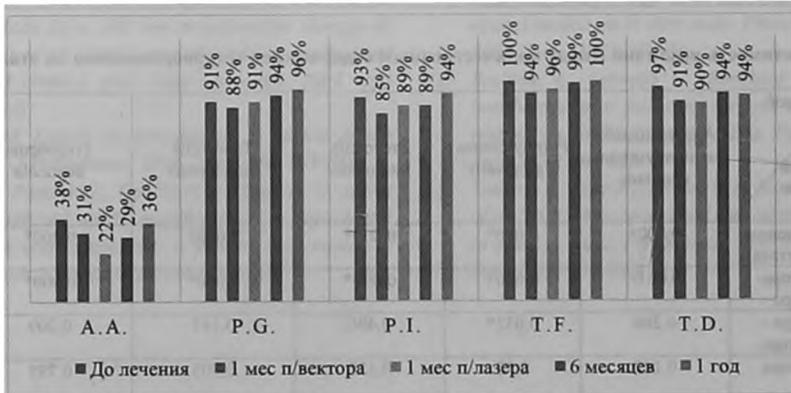


Рис.1. Частота встречаемости пародонтопатогенных бактерий на этапах лечения по данным ПЦР-РВ

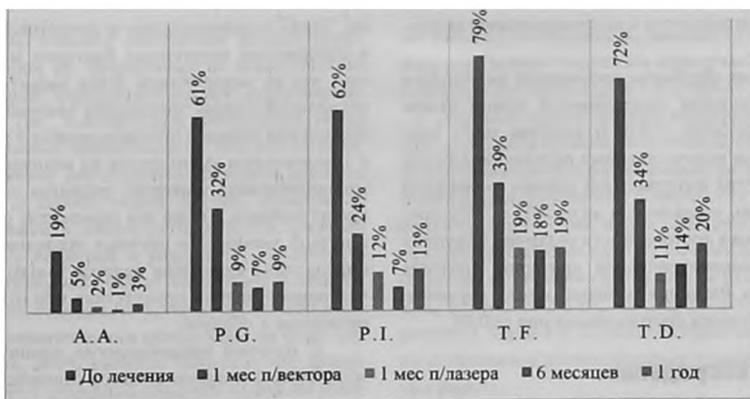


Рис.2. Частота встречаемости пародонтопатогенных бактерий в количестве более 105 по данным ПЦР-РВ

При количественной оценке основных патогенных микроорганизмов на этапах лечения наиболее значительное уменьшение содержания бактерий в пробах было выявлено после начального и основного этапов лечения. В ходе годичной поддерживающей терапии статистически достоверного изменения содержания бактерий не регистрировалось. Например, медиана содержания P.g. с 105,9 до лечения уменьшилась до 104,3 после начального этапа терапии и достигла 103,2 через 1 месяц после проведения лазерного кюретажа.

Затем с незначительными изменениями она сохранялась через 6 и 12 месяцев наблюдения (103,5 и 103,2 соответственно). Количество других бактерий красного комплекса демонстрировало аналогичную динамику в ходе наблюдения. Так медианы содержания T.f и T.d. с 107 и 106 до лечения снизились до 104,4 и 104,3, а через 1 месяц после использования диодного лазера достигли значений 103,7 и 103,5 соответственно и сохранялись примерно в тех же значениях через 6 и 12 месяцев (табл.1).

Таблица 1. Количественная оценка основных пародонтопатогенных микроорганизмов на этапах лечения

Микроорганизм Количество м.о.		Aggregatibacter actinomycetem-comitans	Porphyromonas gingivalis	Prevotella intermedia	Tannerella forsythensis	Treponema denticola
		Медиана (25-75 проценти ль)	До лечен	0,0 (0,0-0,4)	5.9 (3.5-7.8)	5.7 (4.0-6.9)
	п/вектора	0,0 (0,0-0,2)	4.3 (2.8-5.4)	3.9 (2.5-4.9)	4.4 (3.4-6.0)	4.3 (2.8-5.4)
	п/лазера	0,0 (0,0-0,0)	3.2 (2.2-4.2)	3.2 (2.1-4.1)	3.7 (2.3-4.6)	3.5 (2.2-4.3)
	6 мес	0,0 (0,0-0,1)	3.5 (2.5-4.2)	3.2 (2.3-4.2)	3.8 (3.1-4.3)	3.7 (2.6-4.3)
	1 год	0,0 (0,0-0,2)	3.2 (2.2-4.2)	3.3 (2.4-4.2)	3.8 (2.7-4.6)	3.7 (2.6-4.3)

Таблица 2. Значимость различий между количественным содержанием микроорганизмов на этапах лечения

Микроб Сравниваемые этапы	Aggregatibacter actinomycetem-comitans	Porphyromona s gingivalis	Prevotella intermedia	Tannerella forsythensis	Treponema denticola
До лечения - п/вектора	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
п/вектора- п/лазера	0,001*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
п/лазера – 6 месяцев	0,208	0,032*	0,496	0,147	0,209
6 месяцев -1 год	0,167	0,58	0,139	0,903	0,795

* - $p < 0,05$

При этом значимость различий между исходным показателем и состоянием после первого этапа лечения, а также между вторым и третьим измерением для всех микроорганизмов колебалась в пределах 0,000 - 0,001. Разность же показателей между последующими измерениями (через 6 месяцев и через 1 год) в ходе динамического наблюдения была статистически недостоверна (р варьирует от 0,139 до 0,903). Таким образом, применение кюретажа с использованием диодного лазера позволило значительно уменьшить содержание патогенных микроорганизмов в пародонтальных карманах у пациентов с агрессивным пародонтитом.

Выводы

1. После комплексного лечения агрессивного пародонтита с использованием лазерного кюретажа частота встречаемости P.g., T.f. и T.d. в количестве, превышающем 10⁵, достоверно снизилась с более чем 60% до 9%, 19% и 11% соответственно.

2. Медианы содержания анаэробных микроорганизмов снижались с более чем 10⁶ перед началом лече-

ния до 10³ через 1 месяц после использования диодного лазера.

3. Достигнутые результаты сохранялись в течение одного года наблюдений при регулярном проведении поддерживающей терапии.■

Закиров Т.В., к.м.н., доцент кафедры стоматологии детского возраста и ортодонтии ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России, г.Екатеринбург; Ворошилина Е.С., д.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России, г.Екатеринбург; Бимбас Е.С., д.м.н., профессор, зав. кафедрой стоматологии детского возраста и ортодонтии ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России, г.Екатеринбург; Стати Т.Н., к.м.н., главный врач многопрофильной стоматологической поликлиники ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России, г. Екатеринбург. Автор, ответственный за переписку – Закиров Тарас Валерьевич, 620146, г. Екатеринбург, ул. Чкалова д. 248, кв. 64. Телефон – 89122238957. E-mail: sekir-zakirov@mail.ru

Литература:

1. Закиров Т.В. Современные представления о возможности использования лазера при лечении воспалительных заболеваний пародонта/ Проблемы стоматологии. 2012. №3. – С. 10 - 14.
2. Прохончуков А.А., Жижина Л.А., Григорьянц М.Л., Стебелькова А.М. Лечение заболеваний пародонта и слизистой оболочки рта с применением лазерного и магнито-лазерного излучений /Пародонтология. 2008. № 4. С. 36 – 42.
3. Хамитова Н.Х., Мамаева Е.В. Клиника, диагностика и лечение заболеваний пародонта в детском возрасте. – Казань: Медлитература, 2009. – С. 121 – 122.
4. Assaf M., Yilmaz S., Kuru B., Ipci S.D. Effect of the diode laser on bacteremia associated with dental ultrasonic scaling: a clinical and microbiological study. *Photomed. Laser Surg.* 2007, Aug; 25(4):250-256.
5. Caruso U., Nastro L., Piccolomini R., d'Ercole S. Use of diode laser 980 nm as adjunctive therapy in the treatment of chronic periodontitis. A randomized controlled clinical trial. *New Microbiol.* 2008 Oct; 31(4):513-8.
6. Cobb C.M. Lasers in periodontics: a review of the literature. *J.Periodontol.* 2006, Apr; 77(4):545-564.
7. Galli C., Passeri G., Cacchioli A., Gualini G. Effect of laser-induced dentin modifications on periodontal fibroblasts and osteoblasts: a new in vitro model. *J. Periodontol.* 2009, Oct; 80(10):1648-1654.
8. Kamma J.J., Vasdekis V.G., Romanos G.E. The effect of diode laser (980 nm) treatment on aggressive periodontitis: evaluation of microbial and clinical parameters. *Photomed. Laser Surg.* 2009 Feb; 27(1):11-19.
9. Lopes B.M., Theodoro L.H., Melo R.F., Thompson G.M., Marcantonio R.A. Clinical and microbiologic follow-up evaluations after non-surgical periodontal treatment with erbium:YAG laser and scaling and root planing. *J. Periodontol.* 2010. May; 81(5):682-691.
10. Mummolo S., Marchetti E., Di Martino S., Scorzetti L., Marzo G. Aggressive periodontitis: laser Nd:YAG treatment versus conventional surgical therapy. *Eur. J. Pediatr. Dent.* 2008, Jun; 9(2):88-92.
11. Romanos G.E., Henze M., Banihashemi S., Parsanejad H.R. Removal of epithelium in periodontal pockets following diode (980 nm) laser application in the animal model: an in vitro study. *Photomed. Laser Surg.* 2004, Jun; 22(3):177-183.
12. Sculean A., Schwarz F., Berakdar M. Healing of intrabony defects following surgical treatment with or without an Er:YAG laser. *J. Clin. Periodontol.* 2004, Aug; 31(8):604-608.
13. Yukna R.A., Carr R.L., Evans G.H. Histologic evaluation of an Nd:YAG laser-assisted new attachment procedure in humans. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* 2007, Dec; 27(6):577-587.