

Клинико-микробиологическая оценка эффективности эндоканального применения биоактивного геля Коллапан в лечении хронического периодонтита

А.В. Митронин

к.м.н., доцент

В.Н. Царев

д.м.н., профессор

Кафедра факультетской терапевтической стоматологии МГМСУ
Кафедра микробиологии, иммунологии и вирусологии МГМСУ, НИМСИ

Проблема лечения верхушечного периодонтита является одной из важных и не полностью решенных задач терапевтической стоматологии. Это связано со значительной распространенностью этого заболевания, сложностью и трудоемкостью врачебных манипуляций, большим процентом неудач и осложнений при лечении, а также частым отсутствием стабильности результатов, полученных при использовании известных методов лечения. Этим объясняется актуальность проблемы периодонтита и постоянный поиск новых лекарственных средств и методов лечения периодонтита [3,9,17,22].

Кроме того, одонтогенный очаг часто ведет к прогрессированию инфекции, развитию общих очагово-обусловленных заболеваний, что делает эндодонтию одной из важнейших проблем стоматологии [4,20,26]. Развивающееся воспаление в периодонте как острое, так и хроническое при нормальной реактивности организма представляет защитную реакцию. Вместе с тем при нарушении иммунной системы изменяются защитные реакции и несмотря на правильно проведенное лечение возникает прогрессирование воспалительного процесса, и развиваются его осложнения [2,5,27].

В этой связи представляются важным разработка новых методов диагностики и прогрессивных программ местного и общего лечения больных с периодонтитом при учете патогенетических факторов в развитии и течении заболевания и профилактики осложнений, в том числе у больных с иммунной недостаточностью [10].

Лечение хронического периодонтита требует разработки новых технологий клинико-лабораторной диагностики с точки зрения этиологических факторов. Это позволит установить основные патогены и сопутствующие им микроорганизмы, участвующие при различных клинических проявлениях воспалительного процесса. Микробиологическая диагностика будет способствовать определению стратегии лекарственной терапии с избирательным выводом медикаментозных препаратов для санации системы корневых каналов и периапикального очага.

Современные данные о роли облигатной анаэробной, смешанной бактериальной флоры околоверхушечных тканей в развитии воспалительного процесса в периодонте определяют необходимость поиска эффективных средств для проведения местной антибиотикотерапии в комплексном лечении заболевания [1,8,24]. Сведения о бактериологических показаниях к использованию антибиотиков при периодонтите немногочисленны [13,16,21], а для их применения в составе паст для пролонгированного антисептического действия отсутствуют. Местное использование антибиотиков, обладающих бактерицидным действием, диктуется данными о нередко возникающей токсичности при их пероральном приеме [6].

Нередко в терапии периодонтита отсутствует принцип индивидуального и комплексного подхода [8]. Практические врачи не всегда учитывают этиопатогенетические факторы воспалительного процесса в периодонте, которые связаны с нарушением иммунитета при сопутствующих заболеваниях [7,11,23,25], а вместе с тем, эмпирическое и безосновательное назначение и применение антибактериальных препаратов может быть неэффективным и способствует развитию резистентности к ним микроорганизмов.

Осуществлению микробиологической диагностики и оценке роли отдельных видов бактерий в развитии неспецифических гнойно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области способствует метод анаэробного культивирования. Однако, такая этиологическая диагностика является менее точной и крайне затруднительна из-за длительности данного исследования и не позволяет определить все виды бактерий, участвующих в развитии заболевания. Все это приводит к ошибкам в этиопатогенетической диагностике и в выборе метода лечения воспалительного процесса.

В современных условиях микробиологической диагностики инфекционных заболеваний стало возможным использование более точных молекулярно-генетических технологий. Быстрота и высокая чувствительность, генодиагностики позволяет выявить единичные молекулы специфической ДНК-последовательности в течение нескольких часов, что способствует более эффективному решению задач в клинической диагностике [12,15,18].

Остается также открытым вопрос о выборе антибактериальных препаратов различных групп в составе эндоканальных паст для лечения периодонтита.

Среди современных цефалоспоринов третьего поколения имеются антибиотики, обладающие выраженным антибактериальным и иммуномодулирующим действием, что является их существенным преимуществом и является весьма перспективным при лечении вяло текущих и хронических очагов инфекции [14,19].

Актуальным является разработка новых методов клинко-микробиологического контроля за околоверхушечными очагами деструкции, состояния костной ткани, минерализации в зависимости от антисептической обработки с учетом особенностей микрофлоры, пломбирочных материалов, применения стимуляторов остеогенеза. Целесообразна разработка показаний и оценка результатов по использованию остеоиндуктивного и остеокондуктивного препарата Коллапан, содержащего антибактериальные средства, в том числе цефалоспорины и линкозамиды, при лечении хронического периодонтита.

Целью работы являлось эндоканальное применение отечественного гелеобразного препарата Коллапан в комплексном лечении больных с деструктивными формами хронического периодонтита и оценка его эффективности на основании данных клинического, культурального и молекулярно-генетического исследований.

Материалы и методы исследования. Обследовано 69 пациентов (от 18 до 65 лет) в том числе 38 женщин и 31 мужчина у которых диагностированы деструктивные формы хронического периодонтита (хронический гранулирующий периодонтит – у 24 больных; хронический гранулематозный периодонтит – у 21 больных; радикулярная киста – у 11 больных; хронический

деструктивный периодонтит в стадии обострения – у 13 больных). Всем больным наряду с клиническими методами обследования проводили культуральные и молекулярно-генетическое (ПЦР) исследования содержимого корневой системы зуба и периапикальной области. Для микробиологических исследований у больных с хроническим периодонтитом проводили забор материала из корневых каналов зубов (до применения химиотерапевтических препаратов) с помощью стерильного бумажного эндодонтического штифта стандартного размера (№ 30), который затем помещали в транспортную систему полужидкую питательную среду Амиеса и хранили при температуре 2-4°C. Дальнейшее культуральное исследование проводили в соответствии с общепринятыми правилами клинической анаэробной микробиологии. Исследование включало количественный секторальный посев на среды, предназначенные для культивирования бактерий полости рта в аэробных и анаэробных условиях. Чистые культуры облигатно-анаэробных и микроаэрофильных бактерий получали в анаэробных условиях, используя 5% кровяной агар, приготовленный на основе Columbia Agar фирмы Oxoid (с добавлением гемина -5 мкг/мл и менадиона - 0,1 мкг/мл). Посевы инкубировали в анаэроостате с бескислородной газовой смесью, содержащей 80% азота, 10% водорода, 10% углекислого газа в течение 3-5 суток. Для редукции остатков кислорода использовали палладиевый катализатор.

Идентификацию пяти вирулентных видов бактерий в корневом канале также осуществляли с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Методика исследований заключалась в следующем [18]: введение стерильного бумажного эндодонтического штифта в корневой канал так, чтобы исключить контакт со слизистой, поверхностью эмали или коронкой зуба; перенос бумажных штифтов в пробирки типа Eppendorf с физиологическим раствором и транспортировка их в лабораторию; выделение ДНК; проведение ПЦР; учет результатов с помощью обратной гибридизации или электрофореза в геле.

Образцы исследуемого материала из корневых каналов в течение 1 часа доставляли в лабораторию кафедры микробиологии, иммунологии и вирусологии МГМСУ, проводящую молекулярно-генетические исследования. Для выделения ДНК из клинического материала использовали вариант ускоренной подготовки проб с помощью набора “Энзимикс” (ООО НПФ “ГЕНТЕХ”). Для амплификации маркерных фрагментов ДНК вирулентных бактерий *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus* и *Treponema denticola* применяли метод мультиплексной ПЦР, позволяющей использовать одновременно 2 – 4 и более праймеров нескольких возбудителей, который осуществляли с помощью теста MicroDent^R (Германия) и аналогичной отечественной системы, разработанной ООО НПФ “ГЕНТЕХ” и коллективом кафедры микробиологии, иммунологии и вирусологии МГМСУ.

ПЦР проводили в амплификаторе “Терцик” (ЗАО “НПФ ДНК-Технология”, Москва) с компьютерной программой, разработанной изготовителями. Учет результатов проводили с помощью обратной гибридизации ДНК с генетическими маркерами исследуемых видов бактерий, нанесенных на нитроцеллюлозные полоски (MicroDent^R) или электрофореза в 1,5 % агарозном геле (ООО НПФ “ГЕНТЕХ”).

Для обоснования выбора антибактериальных препаратов при лечении периодонтита проводили оценку чувствительности выделенных штаммов вирулентных бактерий к антибиотикам диффузным методом с применением способов «дисков» и «лунок» для гелевых лекарственных форм [19].

Лечение хронического периодонтита с применением Коллапана, содержащего различные antimicrobные средства (цефатаксим, линкомицин, метронидазол), проведено у 54 пациентов. В стадии ремиссии заболевания после эндодонтической обработки канала и индивидуального подбора испытуемых антибактериальных средств на основании полученных данных микробиологических тестов препарат-гель вводили в корневой канал каналнаполнителем или с помощью гуттаперчевого штифта под герметичную временную пломбу из стеклоиономерного цемента на 7-14 дней. У 18 больных с периодонтитом использовали следующие гелевые формы препаратов: Коллапан-К (1 группа), у 18 больных – Коллапан-Л (2 группа), у 18 – Коллапан-М (3 группа), контрольной группой служили 15 больных у которых проводили традиционные методы эндоканальной обработки при лечении хронического периодонтита. Затем после 2-3 дней у контрольной группы больных, и через 7-14 дней у 1, 2 и 3 групп вновь проводили забор материала из корневого канала для микробиологической оценки. Пломбирование корневых каналов проводили гуттаперчевыми штифтами методом латеральной конденсации с силером до верхушки корня зуба с использованием рентген-контроля. Клиническую эффективность ближайших результатов оценивали по отсутствию болевого синдрома, гиперемии и отечности в области слизистой переходной складки, боли при накусывании.

Полученный цифровой материал обрабатывали методами вариационной статистики с вычислением средней арифметической величины (M) и ошибки средней величины (m). На основании критерия Стьюдента (T) и количества наблюдений в каждом эксперименте (n) рассчитывали вероятность различий (P). За достоверную разницу принимали значения при $P < 0,05$.

Статистическую значимость изменения частоты обнаружения вирулентных видов бактерий после лечения проводили, используя критерий Z , оценки доверительных интервалов для разности долей с помощью компьютерных программ “Биостатистика”.

Результаты исследования и их обсуждения

При культуральном исследовании содержимого системы корневых каналов и периапикальной области с использованием техники анаэробного культивирования у каждого больного были выделены ассоциации разных видов бактерий (от 5 до 7 видов) с высокой частотой (более 50%) из исследуемого материала выделялись наиболее агрессивные виды патогенных бактерий: пептострептококки, бактероиды и актиномицеты и фузобактерии, в значительно меньшей степени встречались *S.epidermidis* и негемолитический стрептококк.

При проведении молекулярно-генетического исследования (генодиагностики) этих материалов частота встречаемости данных видов бактерий существенно увеличивалась.

Кроме того, такие виды, как *B.forsythus* и *T. Denticola*, при культуральном методе исследования вообще не выявлялись, тогда как методом ПЦР у обследуемых больных они выявлены в 49,5% случаев. Приемы генодиагностики, основанной на молекулярно-генетических технологиях

идентификации вирулентных анаэробных бактерий в корневом канале с помощью ПЦР, использованы нами впервые в отечественной практике.

Учитывая полученные результаты и данные литературы о роли указанных вирулентных бактерий в развитии воспалительных заболеваний периодонта, мы исследовали чувствительность к антибактериальным препаратам разных штаммов важнейших вирулентных бактерий, которые были выделены у больных. Анализ полученных результатов представлен в таблице 1.

Среди препаратов, действие которых направлено преимущественно на более агрессивную грамотрицательную микрофлору, рассмотрены современные антибактериальные средства, которые применялись нами местно в составе эндоканальных паст: линкомицин (линкозамиды), цефотаксим (цефалоспорины). Как видно из представленных данных их активность не была ограничена грамотрицательной микрофлорой, но также распространялись и на грамположительную анаэробную флору.

Результаты тестирования свидетельствовали о высокой чувствительности анаэробных бактерий к перечисленным цефалоспорином и линкозамидам. Сравнительная оценка их действия не выявила достоверных различий.

Таблица 1. Результаты исследования чувствительности вирулентных видов бактерий из корневого канала больных периодонтитом к химиотерапевтическим препаратам разных групп

препараты	Грамположительные бактерии			Грамотрицательные бактерии				
	Peptostreptococcus anaerobius	Streptococcus intermedius	Str. sanguis	Actinomyces spp.	Bacteroides spp.		Actinobacillus actinomycetem commitans	Fusobacterium spp.
					Prevotella intermedia	Porfiromonas gingivalis		
Метронидазол	SS	RS	R	S	S	S	S	SS
Ампициллин	V	V	S	R	RS	SS	V	S
Цифалексин	SS	S	SS	RS	R	RS	S	S
Цефотаксим	SS	SS	S	SS	SS	SS	SS	S
Цефуросксим	SR	SR	S	S	SR	SR	SR	S
Цефтриаксон	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
Линкомицин	S	S	SS	SS	SS	S	RR	SS
Клиндамицин	RS	S	SS	SS	V	S	R	SS
Эритромицин	SS	RR	V	S	SS	S	RR	RS
Кларитромицин	SS	SS	SS	SS	SS	SS	S	S
Спирамицин	SS	S	SS	S	S	RS	V	S
Рокситромицин	SS	S	SS	SS	SS	S	S	SS
Хлорамфеникол	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
Тетрациклин	S	V	V	R	V	S	SS	SS
Доксициклин	RS	V	SS	S	V	S	SS	SS
Метациклин	SR	S	SS	S	SR	S	SS	SS
Канамицин	V	SS	S	V	SR	SR	S	R
Гентамицин	RS	SS	S	SR	SR	SR	RR	R

Примечание. Чувствительность к препарату: SS – высокая (от 80 до 100% числа ингибированных штаммов), S – средняя (70-79%), V – варибельная (50-69%), SR – чувствительны более половины штаммов, RS – резистентны более половины штаммов, R – низкая с преобладанием резистентных штаммов (21-49%), RR – высокая резистентность (до 20%).

Данные, полученные при использовании указанных групп антибиотиков, сравнивали с результатами исследования активности в отношении анаэробных бактерий препарата метронидазола. Как видно из таблицы метронидазол вызывал гибель не более 80% штаммов анаэробных бактерий (за исключением представителей *Peptostreptococcus* и *Fusobacterium*). Однако уступал большинству макролидов, линкомицину, антибиотикам широкого спектра действия по активности в отношении пептострептококков, *P.intermedia*, *Actinomyces* spp., *A.actinomycetemcomitans*, *Str.intermedius*, *Str.sanguis*. Некоторые грамотрицательные виды - *P.intermedia*, *P.gingivalis*, а также анаэробные кокки и особенно актиномицеты, были чувствительны к метронидазолу, чем к гентамицину и препаратам пенициллинового ряда.

Таким образом, сравнивая спектр действия и активность антибактериальных препаратов разных групп, можно сформулировать бактериологические показания к выбору того или иного препарата для комплексного лечения периодонтита.

У наблюдаемых пациентов с хроническими формами деструктивных периодонтитов в стадии обострения нами отмечена высокая обсемененность грамотрицательной и грамположительной анаэробной флорой (10^5 КОЕ и выше). Поэтому при лечении основными группами выбора должны быть макролиды, цефалоспорины и антибиотики линкомицинового ряда. Наряду со спектром действия, адекватного данной микрофлоре, их характеризует удобная пероральная форма, высокая биодоступность, всасываемость в кровь и накопление в очаге воспаления, хорошая переносимость большинством больных. Данные препараты можно применять также и местно при эндодонтическом лечении периодонтита в виде раствора или в составе официальной пасты, предназначенной для трансканальной терапии деструктивных форм периодонтита. Вместе с тем, следует отметить, что при выделении преимущественно грамположительной облигатно-анаэробной флоры (пептострептококки) или наличии фузобактерий и бактероидов, микробиологически обосновано использование препарата метронидазол. По-видимому, применению метронидазола также показано, когда периодонтит сопровождается пародонтит. Вместе с тем наиболее агрессивная резидентная грамотрицательная микрофлора с участием *A.actinomycetemcomitans*, выделяемая при деструктивных формах хронического периодонтита в большом количестве (10^5 - 10^7 КоЕ). На основании данных микробиологического исследования у этих больных показано применение препаратов группы цефалоспоринов (цефотаксим) и линкозамидов (линкомицин). Целесообразно также назначение этих антибиотиков как местно, так и перорально при выделении актиномицетов, *S.intermedius*, *S.sanguis*. Несомненно, положительным фактором в этих случаях являются также и хорошие фармакокинетические характеристики цефалоспоринов и линкозамидов. Положительным клиническим решением в применении антимикробных препаратов данных групп в комплексном лечении хронического периодонтита стало появление на стоматологическом рынке отечественного материала Коллапан-гель (биоактивного костнопластического материала на основе однородной композиции особо чистого гидроксиапатита, коллагена специальной обработки и антимикробного средства), произведенного фирмой «Интермедапатит». Наличие в Коллапане антимикробных средств

различного спектра действия позволяет целенаправленно выбрать лекарственную форму Коллапана, соответствующую выявленному виду патогенной микрофлоры.

Для обоснования этого мы провели исследование чувствительности выделенных штаммов вирулентных бактерий к разным лекарственным формам Коллапан-гелей, отличающихся по содержащимся в них антимикробным компонентам (рис. 1). Результаты исследования, выполненного с применением способа диффузии в агар из лунок, содержащих Коллапан-гель и гидроксид Са и физиологический раствор (для контроля), представлены в таблице 2.

Таблица 2. Результаты исследования чувствительности вирулентных видов бактерий из корневого канала больных периодонтитом к химиотерапевтическим препаратам разных групп in vitro к лекарственным формам Колапана с антимикробными компонентами и гидроксиду кальция

препараты	Грамположительные бактерии			Грамотрицательные бактерии				
	Peptostreptococcus anaerobius	Streptococcus intermedius	Str. sanguis	Actinomyces spp.	Bacteroides spp.		Actinobacillus actinomycetem committans	Fusobacterium spp.
					Prevotella intermedia	Porfiromonas gingivalis		
Гидроксид кальция	S	SS	SS	S	S	SS	SS	SS
Коллапан-К	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS	SS
Коллапан-Л	S	S	SS	SS	SS	S	SS	SS
Коллапан-М	SS	S	RS	S	S	S	S	SS
физиологический раствор	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR

Примечание. Чувствительность к препарату: SS – высокая (от 80 до 100% числа ингибированных штаммов), S – средняя (70-79%), V – переменная (50-69%), SR – чувствительны более половины штаммов, RS – резистентны более половины штаммов, R – низкая с преобладанием резистентных штаммов (21-49%), RR – высокая резистентность (до 20%).

Среди представленных форм Коллапана мы, основываясь на выявлении вирулентных бактерий из системы корневого канала и области периодонта, а также чувствительности этих штаммов к антибактериальным препаратам, выбрали формы Коллапана, содержащие клафоран (цефотаксим), линкомицина гидрохлорид и метронидазол, соответственно.

В контрольной группе больных с хроническим периодонтитом после традиционной хемомеханической обработки каналов, с последующей ирригацией физраствором и оставлением его под герметичную повязку временной герметичной пломбы на 2-3 дня, проводили микробиологические исследования содержимого корневой системы и периодонта.

Так при культуральном исследовании были выявлены следующие результаты находок видов бактерий и их персистенции (табл. 3).

Таблица 3. Сравнительная частота выявления вирулентных анаэробных бактерий из корневого канала с помощью культурального метода до и после лечения с использованием физиологического раствора (контрольная группа) (n = 15)

ВИД БАКТЕРИИ	ДО ЛЕЧЕНИЯ		ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ			
	количество больных	доля	количество больных	доля	Z	P
<i>A.actinomycetem- commitans</i>	8	0,533	4	0,266	0,120	0,263
<i>B.forsythus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>P.intermedia</i>	11	0,733	8	0,533	2,193	0,028
<i>P.gingivalis</i>	9	0,600	4	0,266	1,478	0,140
<i>T.denticola</i>	-	-	-	-	-	-

У 8 больных из 15 (53,3%) обнаружены *A.actinomycetemcommitans*, у 9 (60%) - *P.gingivalis*, а после эндодонтической обработки их частота выявления снизилась до 26,6%, у 11 (73,3%) выявлена *P.intermedia*, а после – у 8 больных (53,3%).

Такие виды, как *B.forsythus* и *T.denticola* данным методом не обнаружены, тогда как при генодиагностике эти виды бактерий в корневой системе контрольной группы больных были выявлены в 8 случаях из 15 (53,3%) *B.forsythus* и в 6 случаях (40%) – *T.denticola*, также чаще выявлялись: *A.actinomycetemcommitans* (60%), *P.intermedia* (80%), *P.gingivalis* (73,3%).

После традиционной эндодонтической обработки бактерии обнаружены с помощью ПЦР диагностики: *A.actinomycetemcommitans* – в 40%; *B.forsythus* – в 33,3%; *P.intermedia* – в 46,6%; *P.gingivalis* – в 40%; *T.denticola* – в 26,6% (табл.4).

Таблица 4. Сравнительная частота выявления вирулентных анаэробных бактерий из корневого канала с помощью ПЦР до и после лечения контрольной группы (физиологический раствор) (n = 15)

ВИД БАКТЕРИИ	ДО ЛЕЧЕНИЯ		ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ			
	количество больных	доля	количество больных	доля	Z	P
<i>A.actinomycetem- commitans</i>	9	0,600	6	0,400	0,730	0,465
<i>B.forsythus</i>	8	0,533	5	0,333	0,737	0,461
<i>P.intermedia</i>	12	0,800	7	0,466	1,519	0,129
<i>P.gingivalis</i>	11	0,733	6	0,400	1,472	0,141

T.denticola	6	0,400	4	0,266	0,391	0,696
-------------	---	-------	---	-------	-------	-------

Все эти данные показывают, что традиционная эндодонтическая обработка корневых каналов является недостаточной для антисептического воздействия на патогенную агрессивную микрофлору корневых каналов и периапикального очага, имеющуюся при деструктивных формах хронического периодонтита.

При клинической оценке леченных зубов после 2-3 дней нахождения физиологического раствора под временной пломбой больные контрольной группы отмечали боли при накусывании в 4-х случаях (26,7%), в том числе у одного больного зуб не выдержал герметичного закрытия (6,6%).

Учитывая более точную и специфическую индикацию патогенных бактерий, содержащихся в корневых каналах при лечении периодонтита с использованием ПЦР, по сравнению с культуральным методом, дальнейшие микробиологические исследования с препаратом Коллапан, содержащим антимикробные средства мы проводили применяя генодиагностику (рис. 2).

Особый интерес представляют микробиологические исследования содержимого системы корневых каналов, дентина, цемента и периапикальной области зубов с периодонтитом до и после применения технологии пролонгированного антисептического воздействия на них материала Коллапан с антибактериальными препаратами.

При использовании молекулярно-генетического метода исследований частота выявления всех изучаемых видов бактерий после лечения была существенно снижена.

Как видно из результатов микробиологической оценки персистенции вирулентных видов бактерии зарегистрированы в содержимом корневых каналов всех зубов с хроническим периодонтитом (табл. 5). Обсемененность микрофлорой выявлена высокой, а содержание *A.actinomycetemcomitans* – (52,8%) у 19 пациентов, *B.forsythus* – (47,2%) у 17, *P.intermedia* – (69,4%) у 25 пациентов, *P.gingivalis* – (44,4%) у 16 пациентов, *T.denticola* – (36,1%) у 13 пациентов.

Таблица 5. Сравнительная частота выявлению вирулентных анаэробных бактерий из корневых каналов с помощью ПЦР до и после лечения препаратами Коллапан-К, Л (n = 36)

ВИДЫ БАКТЕРИЙ	ДО ЛЕЧЕНИЯ		ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ (7 дней/14 дней)			
	кол-во больных	доля	кол-во больных	доля	Z	P<0,001
<i>A.actinomycetemcomitans</i>	19	0,528	1	0,028	4,472	0,0009
			0	0	4,815	0,0002
<i>B.forsythus</i>	17	0,472	0	0	4,438	0,0002
			0	0	4,438	0,0006
<i>P.intermedia</i>	25	0,694	2	0,055	5,358	0,0008
			1	0,028	5,638	0,0004
<i>P.gingivalis</i>	16	0,444	0	0	4,249	0,0008
			0	0	4,249	0,0003
<i>T.denticola</i>	13	0,361	0	0	3,676	0,0005
			0	0	3,676	0,0008

После удаления из корневых каналов материала Коллапан с клафораном и с линкомицином через 7 и 14 дней наблюдалась иная картина маркерной ДНК вирулентных патогенов; *B.forsythus*, *P.gingivalis* и *T.denticola* не выявлялись.

У одного пациента выделена *A.actinomycetemcomitans* через 7 дней после лечения с применением Коллапан-Л, а после 14 дней уже не выявлялась. И только *P.intermedia* выявлена в 2-х случаях после лечения через 7 дней (1 – Коллапан-К и 1 – Коллапан-Л) и у одного больного через 14 дней после лечения с Коллапан-Л.

Результаты единичных находок объединены для Коллапана-К и Коллапана-Л, т.к. они не имеют существенных различий. А исследования, проводимые с препаратом Коллапан-М отличаются от данных микробиологической оценки после лечения препаратами Коллапан с клафораном и линкомицином.

Сравнительная частота генодиагностики после лечения препаратом Коллапан-М, хотя и показала снижение выявленных ДНК вирулентных бактерий, но в сравнении с другими исследованными композициями препарата Коллапан отмечена меньшая антибактериальная эффективность (табл. 6).

Таблица 6. Сравнительная частота выявлению вирулентных анаэробных бактерий из корневых каналов с помощью ПЦР до и после лечения препаратами Коллапан-М (n = 18)

ВИДЫ БАКТЕРИЙ	ДО ЛЕЧЕНИЯ		ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ (7 дней/14 дней)			
	кол-во больных	доля	кол-во больных	доля	Z	P
<i>A.actinomycetemcomitans</i>	9	0,562	2	0,111	2,511	0,012*
			1	0,055	2,932	0,003*
<i>B.forsythus</i>	8	0,500	2	0,111	2,172	0,03*
			1	0,055	2,609	0,009*
<i>P.intermedia</i>	12	0,750	3	0,166	3,182	0,001*
			2	0,111	3,535	0,0003*
<i>P.gingivalis</i>	7	0,437	1	0,055	2,274	0,023*
			0	0	2,769	0,006*
<i>T.denticola</i>	6	0,375	2	0,111	1,458	0,145
			1	0,055	1,931	0,053

* достоверные различия по сравнению с контролем до лечения $P < 0,05$

В целом частота выделенных бактериальных штаммов у больных после лечения уменьшилась: *A.actinomycetemcomitans* – на 45,1% через 7 дней и на 50,7% через 14 дней; *B.forsythus* – на 38,9% и 44,5%; *P.intermedia* – на 58,4% и 63,9%; *P.gingivalis* – на 38,2% через 7 дней и через 14 дней не выявлено; *T.denticola* – на 26,4% и 17,5%.

Данные виды бактерий обнаружены у 2-х больных. При подробном анализе анамнестических данных оказалось, что эти пациенты ранее принимали курс лечения метронидазолом *per os* для лечения сопутствующего заболевания мочеполовой системы. В этой связи становится объяснимым устойчивость к препарату значительной части микробной флоры. Поэтому у этих пациентов в последствии Коллапан-М заменен другой композицией – Коллапан-К.

При анализе клинической картины в ближайшие сроки после лечения установлено, что боли при накусывании были у 11,1% больных. Других видов периодонтальной реакции не отмечено.

Клиническое обследование больных, которым для заполнения корневых каналов зубов с деструктивными формами хронического периодонтита с применениями Коллапан-К и Коллапан-Л, показало наиболее благоприятные результаты. Так в группе больных, где использовался Коллапан-К пациенты каких-либо беспокоящих их симптомов не отмечали, и только один пациент (5,5%) отметил

болезненность при накусывании на зуб, который эндодонтически лечился с использованием препарата Коллапан-Л.

Таким образом, локальное равномерное пролонгированное выделение антимикробного средства (до 20 суток) в патологическом очаге позволяет обеспечить высокий клинический эффект в лечении деструктивных форм хронического периодонтита.

Сравнительная клинико-микробиологическая оценка эффективности применения Коллапан-геля для эндоканального лечения хронического периодонтита с изучением влияния различных лекарственных форм для пролонгированного действия выявила достоверно выраженный антимикробный эффект, особенно против представителей грамотрицательной вирулентной анаэробной флоры (рис. 3).

У больных контрольной группы вирулентные виды бактерий с помощью ПЦР выявлялись в 61,3%. После традиционной эндодонтической обработки корневых каналов и их ирригации физиологическим раствором через 2-3 дня после удаления временной пломбы и взятия материала из корневых каналов на исследование эти виды бактерий вновь выявлены в 37,3%.

У больных 1 и 2 группы обсемененность микрофлорой корневой системы зубов составила в среднем – 50%, третьей группы – 52,5%. Такое различие среднего количественного показателя обсемененности, на наш взгляд объясняется выявлением у больных различного клинического течения деструктивных форм хронического периодонтита и индивидуальной иммунологической реактивностью организма.

После применения эндоканального лечения зубов с периодонтитом микробиологическая картина изменилась. Так через 7 дней и 14 дней после нахождения в канале препарата Коллапан - К и Л вирулентная микрофлора составила всего 1,6% и 0,6% находок. А при воздействии Коллапана-М вирулентная микрофлора из корневых каналов выявлялось чаще – 11,8% и 5,4%, соответственно.

Следует отметить эффективность исследованных препаратов, однако наиболее широкий спектр действия выявлен у цефалоспоринов и линкозамидов.

Клинические исследования в ближайшие сроки эндоканального применения испытуемых лекарственных препаратов показали следующую картину (рис. 4).

Из представленной диаграммы видно, что периапикальные реакции в контрольной группе отмечены больными в 26,7% случаев. При использовании гелеобразного Коллапана-К (цефотаксим) – клинической периапикальной реакции у обследуемых больных не отмечалось.

Наименьший процент реакции местных тканей периодонта на постэндоканальное воздействие форма Коллапан-Л – 5,5% реакций. У больных при эндоканальном лечении с применением формы Коллапан-М выявлено – 11,1% реакций.

Следует заключить, что после применения вышеуказанных антибактериальных препаратов на этапах антисептического эндодонтического лечения хронического периодонтита в составе Коллапан гелей для пролонгированного лечебного воздействия на систему корневого канала и периодонтальные ткани, в зависимости от выработанной схемы и программы их применения, удаляли из каналов с последующей их постоянной obturацией гуттаперчей с корневыми герметиками.

Диспансерные наблюдения леченных зубов с применением Коллапан-гелей у пациентов показало эффективность методики лечения по данным клинико-рентгенологического контроля (Рис. 5, 6,7).

Таким образом, нам удалось реализовать принцип этиологической диагностики в рамках обследования больных с хроническим верхушечным периодонтитом. Проведенные исследования позволяют обосновать целесообразность и прогнозировать высокую клиническую эффективность применения технологии отсроченного лечения заболевания с применением биоактивного материала Коллапан, содержащего антибактериальные средства.

Литература

1. Барер Г.М., Кочержинский В.В., Овчинникова Л.А. Влияние местного применения комплекса антибактериальных препаратов на течение хронических периодонтитов. *Клин стоматол* 1997; 3: 12-14.
2. Бажанов Н. Н., Козлов В. А., Максимовский Ю. М., Робустова Т. Г. Состояние и перспективы профилактики и лечения гнойных воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области // *Стоматология. Специальный выпуск: Материалы III съезда Стоматологической Ассоциации.*- М., 9-13 сен. 1996 г.
3. Барер Г.М., Воложина С.А. Применение гидроксиполсодержащей цинк-эвгеноловой пасты для пломбирования каналов зубов при лечении периодонтита // *Стоматология.*- 1996.- Т.75 (№ 5).- С.26-27
4. Боровский Е.В., Протасов М.Ю. Распространенность осложнений кариеса и эффективность эндодонтического лечения // *Клин. стоматология.*- 1998.- 3.- 3.
5. Воложин А.И. Особенности патогенеза хронического периодонтита // *Актуальные проблемы эндодонтии. Труды ЦНИИС.* 1990. – С.11-13
6. Крылов Ю.Ф., Зорян Е.В. Антибиотики и их использовании в стоматологии. // *Стоматология.*- 1997.- №6.- Т.76.- С.70-74.
7. Купреева И.В. Особенности клинического течения и лечения хронического верхушечного периодонтита у больных со вторичной иммунной недостаточностью // *Дисс. ... к.м.н.*- Смоленск.- 1993.- 127 с.
8. Максимовский Ю.М. Патогенетическое лечение хронического верхушечного периодонтита // *Стоматология. Специальный выпуск. Материалы III съезда стоматологической ассоциации.*- М.- 9-13 сентября 1996.- С.67
9. Максимовский Ю.М. Эндодонтия и сохранение функции зуба // *Новое в стоматологии.*- 2001.- №6.- С.3-6
10. Максимовский Ю.М., Митронин А.В., Галушкина О.А. Влияние биоактивного костнопластического материала Коллапан на околоверхушечные деструктивные очаги при периодонтите // *Сборник тезисов Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы стоматологии», посвященной 120-летию со дня рождения А.И.Евдокимова.*- М., 2003.- С.84-85.
11. Митронин А.В. Клинико-иммунологическая характеристика больных с хроническими одонтогенными очагами инфекции на фоне соматической патологии // *«Стоматология-2000» Сборник тезисов. «Современные аспекты профилактики и лечения стоматологических заболеваний». «Мораг-ЭКСПО» Международная научно-практическая конференция (7-10 февраля 2000).* с.118-120.
12. Митронин А.В., Царев В.Н., Николаева Е.Н., Новикова А.В. Использование полимеразно-цепной реакции в диагностике верхушечного периодонтита // *Дентал-Ревю. Сборник трудов Всероссийской научно-практической конференции «Образование, наука и практика в стоматологии».*- 10-13 февраля 2004 г. Москва С. 194-197.
13. Митронин А.В., Царев В.Н., Ушаков Р.В., Тютюник Ю.Л., Ласточкин А.А. Экспериментальная оценка иммуномодулирующего и антибактериального действия антибиотиков у больных с хроническим периодонтитом // *Дентал-Ревю. Сборник трудов Всероссийской научно-практической конференции «Образование, наука и практика в стоматологии».*- 10-13 февраля 2004 г. Москва С. 197-201.
14. Плахтий Л.Я., Царев В.Н., Ласточкин А.А. Сравнительная оценка влияния цефтриаксона и цефодизина (модивина) на жизнеспособность и респираторный метаболизм гранулоцитов периферической крови здоровых лиц и больных пародонтитом. // *Владикавказский медико-биологический вестник.*- 2002.- Т.1(вып.1,2).- С.24-27.
15. Робустова Т.Г., Ушаков Р.В. О систематизации флегмон челюстно-лицевой области и шеи. // *Стоматология.*- 1990.- №6.- С.90-92.
16. Романовская Л.Д., Посметная Т.В., Рупалова Н.В. и др. Местное пролонгированное использование линкомицина при лечении хронического периодонтита в стадии обострения: *Сборник научных трудов.* Пенза 1995; 89—90.
17. Соловьева А.М. Совершенствование методов профилактики и лечения хронической очаговой инфекции // *Автореф. дис. ... д.м.н. – СПб., 2000. – С.35*
18. Царев В.Н., Николаева Е.Н., Максимовский Ю.М., Плахтий Л.И. Применение полимеразной цепной реакции для диагностики и контроля эффективности лечения генерализованного

- пародонтита. // Российский стоматологический журнал.- 2002.- №2.- С.12-19.
19. Царев В.Н., Ушаков Р.В. Антимикробная терапия в стоматологии: Руководство.- М.: Медицинское информационное агенство, 2004.- 144 с.
 20. Шаргородский А.Г. Роль хронических периодонтитов в возникновении одонтогенных воспалительных процессов // Актуальные вопросы эндодонтии: Тр. ЦНИИС/ ЦНИИ стоматологии.- М.- 1990.- С.107-111
 21. Akimoto Y. et al. Ampicillin concentrations in human radicular granuloma following a single oral dose of bacampicillin. *J Oral Maxillofac Surg* 1992; 50: 1: 11-13.
 22. Chen S.Y., Wang H.L., Glickman G.N. The influence of endodontic treatment upon periodontal wound healing / *J.Clin.Periodontol.*, 1997, Vol. 24, № 7, P. 449–456
 23. Dorfer C. E., R. Lutz, F. Buggle, C. Lichy et al. Association between periapical lesions and stroke: a case-control study. Эндодонтия today. X Конгресс. Мюнхен. 4-6 октября 2001. С. 44.
 24. Ferrera PC. Uncommon complications of odontogenic infections. *Am J Emerg Med* 1996; 14: 3: 317-322.
 25. Purewall A., Gulabivala K., Coltart J., Wilson M. & Spratt D.A. Molecular detection of oral bacteria in vascular tissue patients with coronary artery disease.- *Int.Endod.J.* European Society of Endodontology 10th biennial Congress. Munich, Germany, 4-6 October 2001, p.6.
 26. Sjogren U., Hanstrom L., Happonen R.P., Sundqvist G. Extensive bone loss associated with periapical infection with *Bacteroides gingivalis*: a case report // *Int Endod J.* - 1990. - V. 23 (№ 5). - P. 254-262.
 27. Torabinejad M., Thefilopoulos A.N., Ketering I.D. Quantitation of circulating immune complexes, immunoglobuling G and M, and C3 complement in patients with large periapical lesions // *Oral. Surg.*- 1985.- V.5, №2.- P.186-190

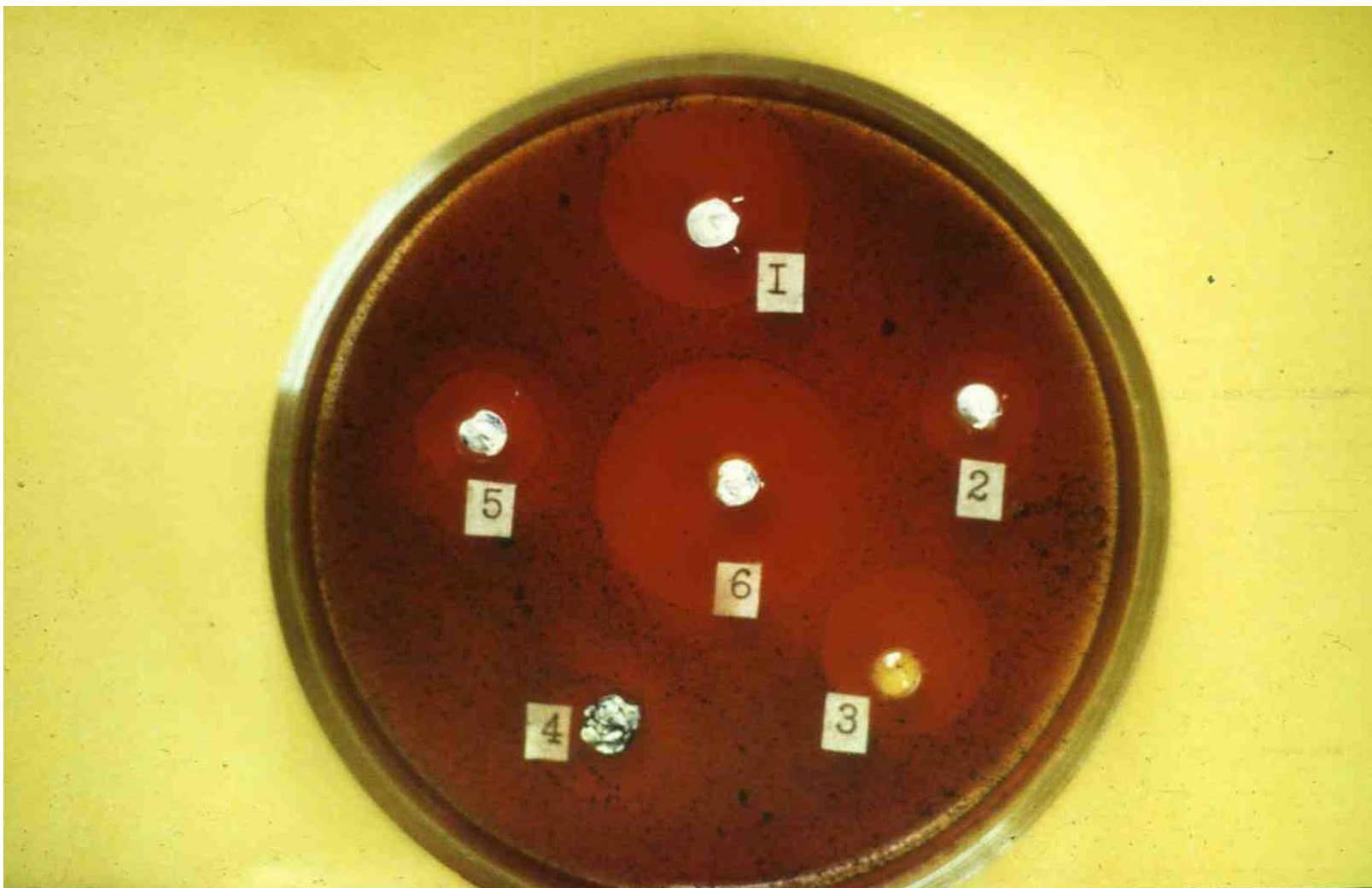


Рисунок 1. Результаты определения чувствительности клинического штамма *Prevotella intermedia* к Коллапан-гелю с различными антибактериальными компонентами: 1 – Цефотаксин (Клафоран), 2 – Гидроксид кальция, 3 – Линкомицина гидрохлорид, 4 – Гентамицина сульфат, 5 – Метронидазол, 6 – Рифампицин.

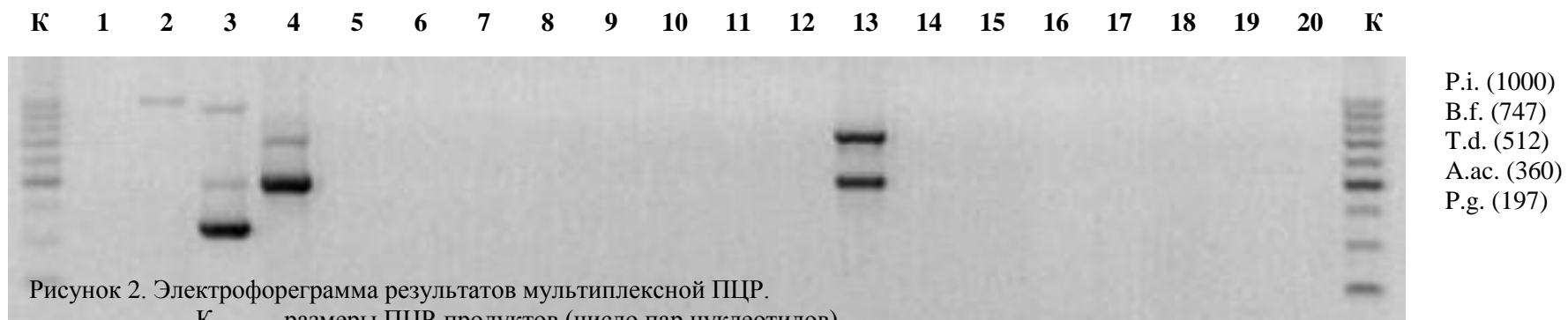


Рисунок 2. Электрофореграмма результатов мультиплексной ПЦР.

К — размеры ПЦР-продуктов (число пар нуклеотидов).

1 – 20 – исследуемые пробы.

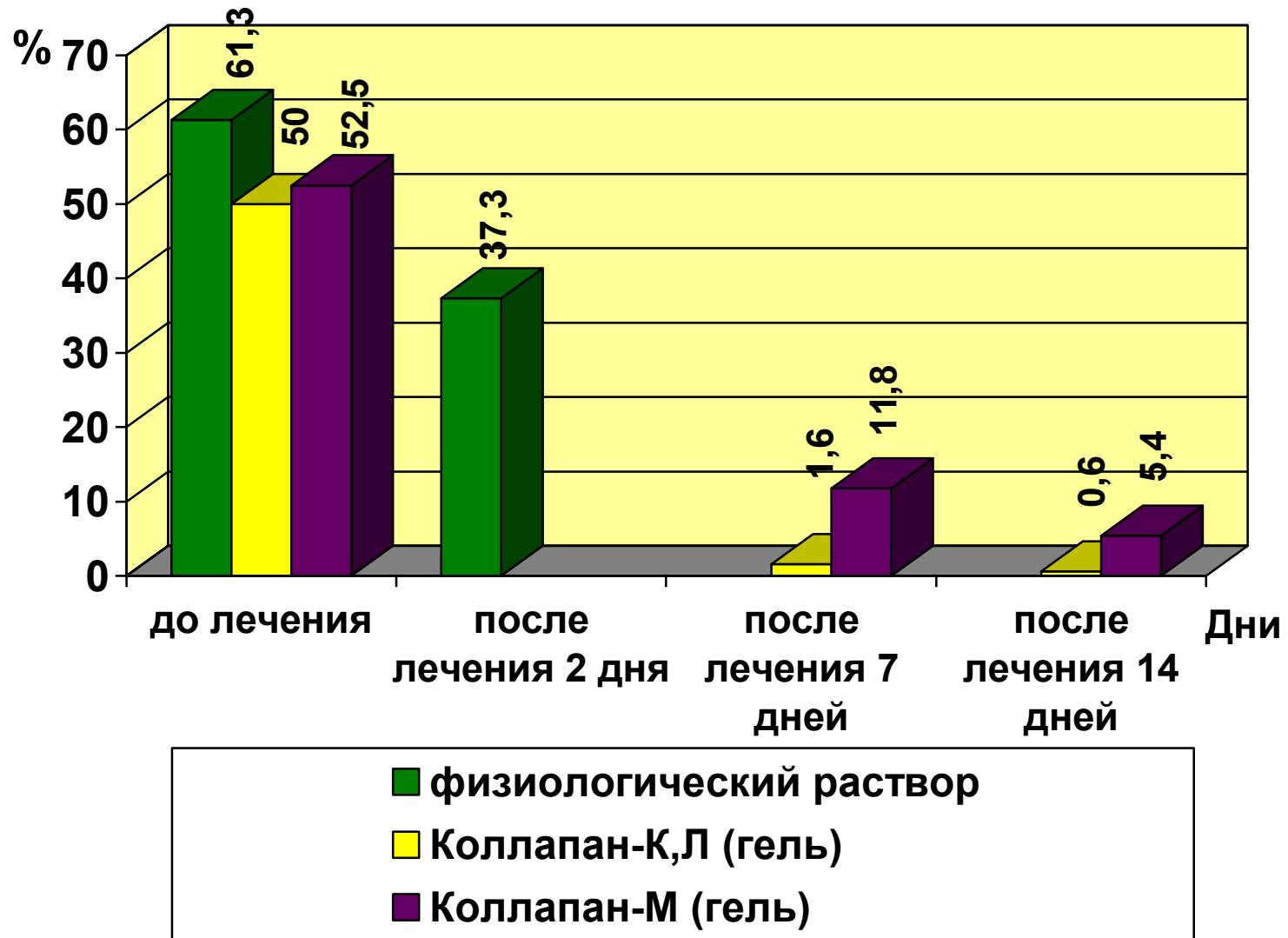


Рисунок 3. Динамика частоты выделения представителей микрофлоры системы корневого канала при хроническом периодонтите и его лечении разными лекарственными препаратами

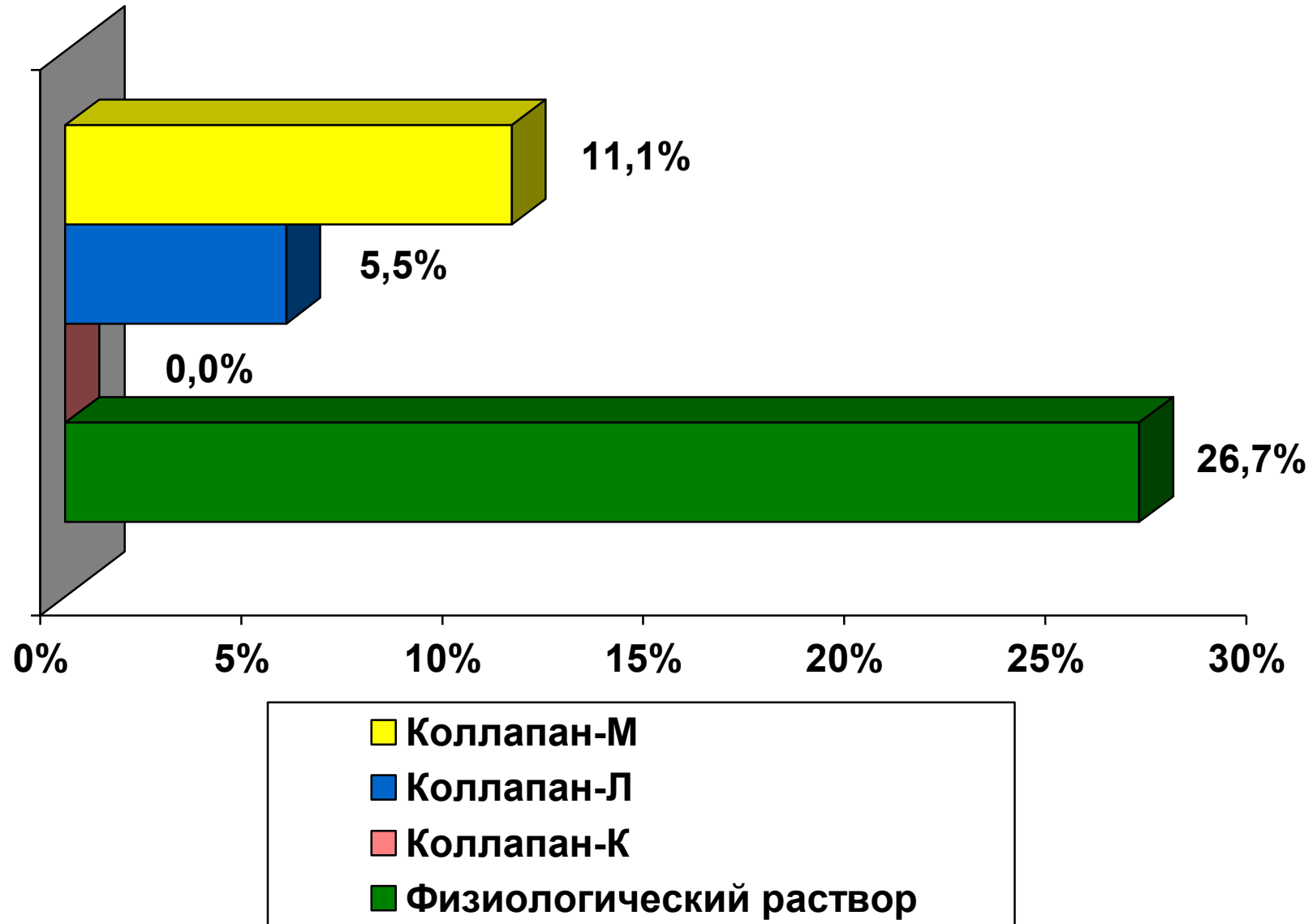


Рисунок 4. Сравнительная характеристика периапикальных реакций в ближайшие сроки после лечения

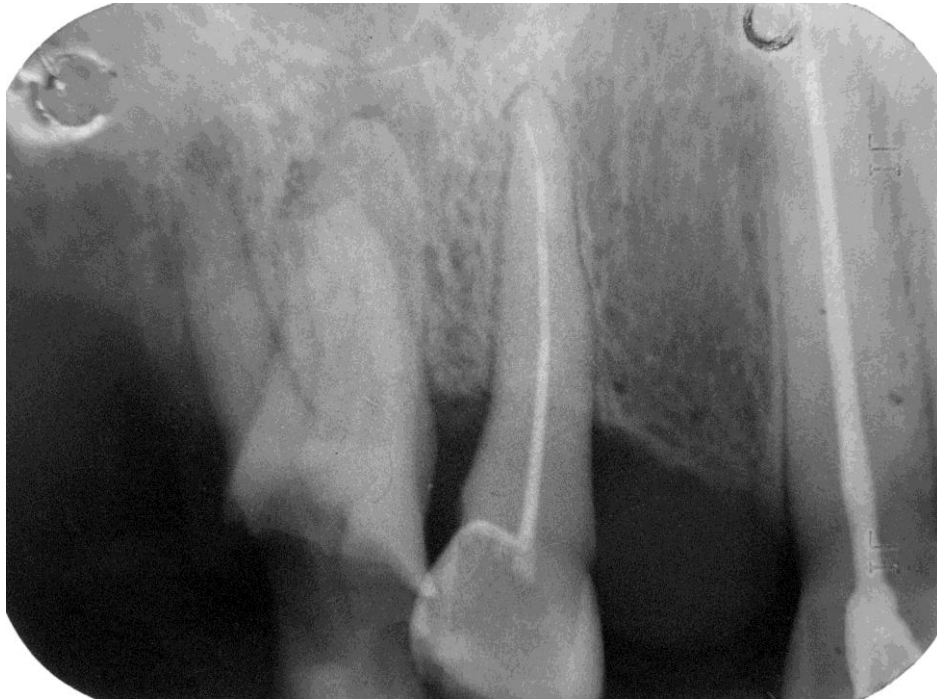


Рис. 5 а,б. Хронический гранулирующий периодонтит 23,25,26 зубов
а - до лечения, б – через 3 месяца после лечения с применением геля Коллапан-М



Рис. 6 а,б. Радикулярная киста 37 зуба
а - до лечения, б – через 4 месяца после лечения с применением геля Коллапан-К

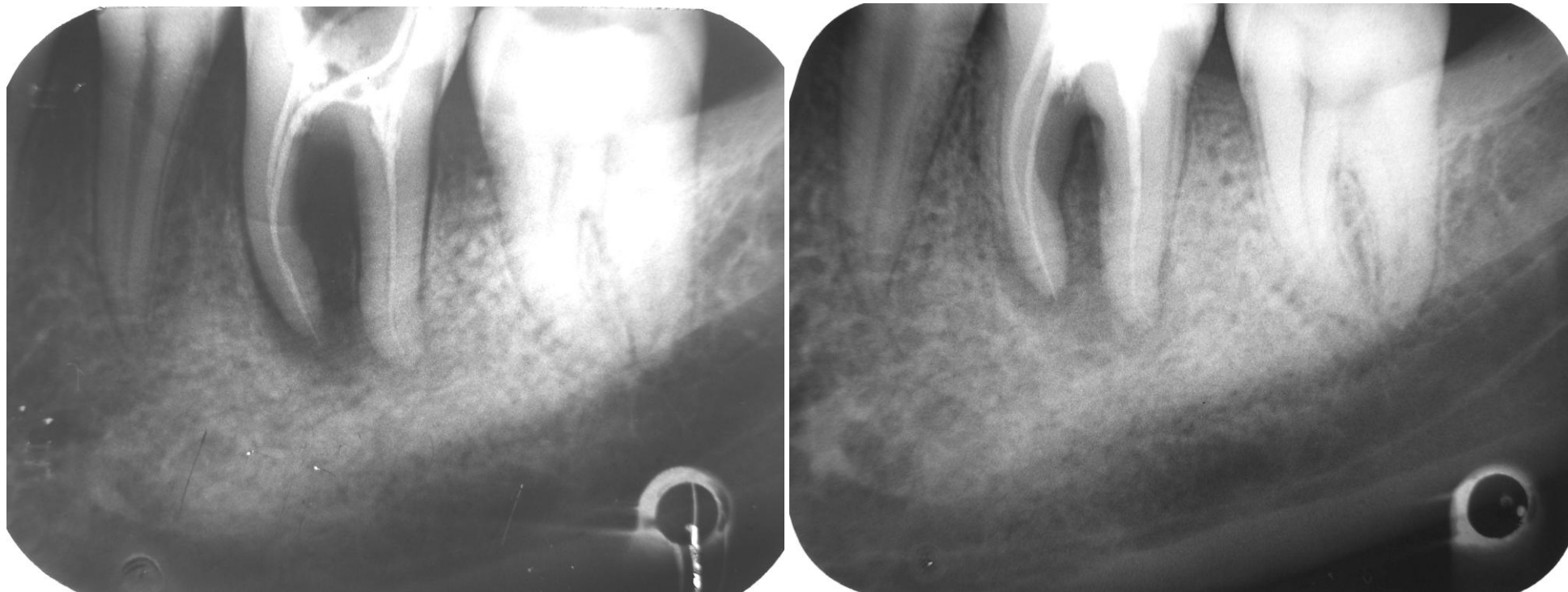


Рис. 7 а,б. Радикулярная киста 37 зуба
а - до лечения, б – через 2 месяца после лечения с применением геля Коллапан-Л