

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ
Первый заместитель министра

_____ Р.А. Часнойть
26 марта 2010 г.
Регистрационный № 016-0210

**МЕТОД МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ
БОЛЕЗНЕЙ ПЕРИОДОНТА**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: ГУО «Белорусская медицинская академия
последипломного образования»

АВТОРЫ: канд. мед. наук, доц. Н.А. Юдина, д-р мед. наук, проф.
Н.Д. Коломиец, канд. мед. наук, доц. О.В. Тонко, канд. мед. наук
С.А. Костюк, А.В. Люговская

Минск 2010

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, ПРЕПАРАТОВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

Стоматологический набор
Стерильные ватные валики
Бумажные штифты
Транспортные среды

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Некоторые формы болезней пародонта		
Классификация ВОЗ, 1994	Классификация Л.Н. Дедовой, 2002	Классификация ААР, 1999
гингивит Венсана (А 69.10)	острый язвенный гингивит	язвенно-некротический гингивит (тип VA)
хронический сложный пародонтит (при условии частых обострений)	хронический сложный пародонтит (при условии частых обострений)	хронический пародонтит (тип II) (при условии частых обострений)
ювенильный пародонтозис (К.05.4)	быстро прогрессирующий, ювенильный, постювенильный, препубертатный пародонтит	агрессивный пародонтит (тип III A, тип III B, тип IV A, тип IV B, тип VB)
Болезни пародонта, устойчивые к лечению, при условии хорошего контроля этиологического фактора (зубной налет)		
Тяжелые формы болезней пародонта на фоне системных заболеваний (сахарный диабет, заболевания сердечно-сосудистой системы)		
Перед началом, во время и по окончании комплексного лечения болезней пародонта с проведением системной антимикробной терапии, лоскутных операций, в случаях сложного протезирования или внутрикостной имплантации зубов, связанных с большими финансовыми затратами		

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Отсутствуют.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СПОСОБА

Заболевания пародонта имеют сложный патогенетический и полиэтиологический механизм развития и отличаются разнообразием клинических проявлений и характера течения патологического процесса. Этим объясняется сложность установления правильного диагноза, от которого зависит выбор адекватной лечебной тактики.

Основными этиологическими агентами пародонтальной болезни являются различные представители микрофлоры. Повышение эффективности

терапии болезней пародонта возможно только при выявлении и целенаправленном воздействии на микробные сочетания, ответственные за возникновение конкретных нозологических форм данной патологии.

Микробиологическая диагностика позволяет получить информацию об этиологии болезни, что делает обоснованным выбор препарата и метода антимикробной терапии, контроль и оценку эффективности проведенного лечения. Кроме этого, при установлении этиологического фактора врач сможет и составить прогноз развития болезни.

ВЫБОР МЕТОДА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ

Среди существующих видов микробиологического исследования наибольшую диагностическую ценность представляют бактериологический (культуральный) метод и молекулярно-биологические тесты (на основе полимеразной цепной реакции — ПЦР).

Бактериологический (культуральный) метод исследования

Применяется с целью определения качественного и количественного состава микрофлоры пародонтального кармана, установления резистентности пародонтопатогенных микроорганизмов к антибактериальным препаратам и для контроля эффективности лечения.

Для проведения культурального метода необходимо наличие живых микроорганизмов, что объясняет повышенные требования при взятии материала, его транспортировке и выполнении методик. Преимуществом данного метода считают относительно высокую чувствительность и точность метода; возможность тестирования *in vitro* восприимчивость изолированных штаммов бактерий к различным антибактериальным препаратам.

Молекулярно-биологические тесты

Метод ПЦР является высокочувствительным среди микробиологических методов и направлен на выявление «маркерных» микроорганизмов. Современные ДНК/РНК тесты дают возможность идентифицировать от 3 до 20 пародонтопатогенов. Любой положительный результат имеет клиническое значение, так как те концентрации бактерий, которые могут присутствовать в здоровой слизистой оболочке, дают отрицательный результат.

Сроки проведения микробиологической диагностики

Микробиологическая диагностика проводится непосредственно перед началом лечения, после лечения, не ранее чем через 1 мес. после антибиотикотерапии, через 6 мес., через 1 год после лечения и далее 1 раз в 3 года (в ходе диспансерного наблюдения пациентов).

Правила взятия биологического материала для микробиологического исследования

После полного клинического обследования пациента и установления предварительного диагноза, при наличии показаний к проведению дополнительной микробиологической диагностики, для взятия материала готовят бумажные шпиглы № 30–40, которые стерилизуются в автоклаве в

крафт-бумаге при температуре 134 °С и давлении 2,2 атм; пробирки с транспортной средой (вид ее определяется методом анализа); до исследования они хранятся в холодильнике.

Пациент дает письменное информированное согласие на взятие материала для микробиологического исследования. Перед этим необходимо прополоскать рот антисептиком (например, раствором 0,05% хлоргексидина) в течение 30 с. Наддесневую поверхность зуба очищают от налета, изолируют место взятия материала стерильными ватными валиками, просушивают стерильным ватным тампоном. Стерильными бумажными штифтами (3 шт.) берут содержимое периодонтального кармана: бумажный штифт вводится до дна и оставляется в кармане на 10 с. Материал забирают из самого глубокого кармана в каждом секстанте. Взятый материал стерильным пинцетом погружается в стерильный контейнер для транспортировки. При молекулярно-биологическом исследовании транспортной средой служит стерильный физиологический раствор, при бактериологическом анализе используется жидкая тиогликолевая среда или другие питательные среды. При извлечении штифта не допускается его контакт со слюной, гноем или слизистой оболочкой рта. Важно указать в карте обследования место взятия материала и дату диагностики. Материал должен доставляться в лабораторию в течение 1 ч. Бактериологическое исследование проводят в микробиологических лабораториях городских и районных центров гигиены и эпидемиологии по месту жительства или других учреждений здравоохранения; молекулярно-биологическое — в специализированных ПЦР-лабораториях.

В сопроводительном документе следует указать наименование учреждения, дату и время забора материала, данные о больном, № истории болезни, диагноз, наименование материала (содержимое периодонтального кармана), вид проводимой ранее антибактериальной терапии, должность, фамилию врача и контактный телефон.

Интерпретация данных микробиологической диагностики

Обнаружение на фоне выраженной клинической картины заболевания в составе микрофлоры периодонтального кармана патогенных для тканей периодонта бактерий: *Aggregatibacter* (ранее *Actinobacillus*) *actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Tannerella forsythia* (ранее *Bacteroides forsythus*), *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter spp.* (*C. concisus gracilis*, *rectus*, *showae*), *Eikenella corrodens*, *Treponema denticola*, *Capnocytophaga sp.*, *Peptostreptococcus micros*, *Eubacterium sp.*, *Streptococcus constellatus*, в высокой концентрации (10^4 и более) является признаком анаэробной периодонтальной инфекции, что свидетельствует об активности процесса и необходимости проведения лечебных мероприятий с использованием antimicrobial терапии. Преобладание в тканях *A. actinomycetemcomitans* является признаком активной деструкции тканей периодонта и прогрессирования патологии. Обнаружение *A. actinomycetemcomitans* в

концентрации 10^5 – 10^6 на фоне клинической симптоматики при низком или среднем содержании других маркерных бактерий позволяет диагностировать агрессивные формы патологии, в т. ч. ювенильный периодонтит. Наличие в средних и высоких (более 10^3) концентрациях микроорганизмов *P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia* свидетельствует о выраженной воспалительной реакции и ассоциируется с частыми обострениями заболевания.

Выделение периодонтопатогенной микрофлоры в высоких концентрациях (10^4 и более) при сниженном количестве или отсутствии бактерий, характерных для нормобиоценоза (*Actinomyces sp.*, *Carnocytophaga ochracea*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguis II*, *Veillonella parvula*, лактобактерий), свидетельствует о дисбиотических изменениях (оппортунистической инфекции рта) и необходимости восстановления нормальной микрофлоры. Пациенту требуется консультация гастроэнтеролога, иммунолога и коррекция микрофлоры, для чего обосновано применение пре- и пробиотиков.

Верификация диагноза — дисбиоз основывается на выделении и количественном определении микроорганизмов полости рта (Хазанова В.В., Рабинович И.М., Земская Е.А., 1996).

Дисбиотический сдвиг диагностируют при незначительных изменениях: превышение количества одного вида условно-патогенной флоры при сохранении нормального видового состава микрофлоры рта.

Дисбиоз I–II степени. Выявление 2–3 патогенных видов на фоне некоторого снижения титра лактобактерий.

Дисбиоз III степени. Характеризуется выявлением патогенной монокультуры при резком снижении количества или полном отсутствии представителей нормальной микрофлоры.

Дисбиоз IV степени. Наличие ассоциаций патогенных видов бактерий с дрожжеподобными грибами.

Критериями эффективности лечения являются уменьшение количества бактерий или исчезновение периодонтопатогенной микрофлоры, появление представителей нормальной микрофлоры. При отсутствии изменений в качественном и количественном составе микрофлоры периодонтального кармана (после проведения терапии) возникает необходимость в пересмотре лечебной тактики.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

Ошибка	Осложнение	Пути устранения
Погрешности при взятии материала	Нет роста анаэробной микрофлоры при использовании бактериологического метода или отрицательный	Точное следование правилам взятия, хранения и транспортировки биологического материала

	результат при использовании тест-систем на основе ПЦР	
Материал взят разными специалистами	При мониторинге состава микрофлоры возникают ошибки в интерпретации полученных данных	Биологический материал для исследования должен брать один и тот же специалист; место взятия необходимо фиксировать в индивидуальной карте пациента
Биологический материал взят после применения курса системной антибактериальной терапии	Нет роста анаэробной микрофлоры при использовании бактериологического метода или отрицательный результат при использовании тест-систем на основе ПЦР	Микробиологическая диагностика проводится через 1 мес. после курса системной антибактериальной терапии