



Рачков А.А. ✉, Шевела Т.Л., Евтухов В.Л.

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

Микробная контаминация костных дефектов у пациентов с корневыми кистами челюстей

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования – Рачков А.А., Шевела Т.Л., Евтухов В.Л.; сбор и обработка материала – Рачков А.А., Шевела Т.Л., Евтухов В.Л.; статистическая обработка – Рачков А.А., Шевела Т.Л., Евтухов В.Л.; написание текста – Рачков А.А., Шевела Т.Л., Евтухов В.Л.; редактирование – Рачков А.А., Шевела Т.Л., Евтухов В.Л.

Подана: 11.10.2022

Принята: 24.10.2022

Контакты: rachkov.alexander.an@gmail.com

Резюме

Проведено молекулярно-генетическое исследование содержимого костных дефектов у пациентов с корневыми кистами челюстей с определением состава микробной флоры в динамике и оценкой генетической резистентности возбудителей к различным группам антибактериальных препаратов.

Цель. Определить качественный состав микробной флоры в области костного дефекта у пациентов с корневыми кистами челюстей в динамике и резистентность флоры к различным группам антибактериальных препаратов.

Материалы и методы. Исследовали качественный состав микрофлоры костных дефектов, образовавшихся в результате развития корневых кист, методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в день операции и на 3-и сутки после операции.

Результаты. Согласно полученным данным, преимущественное влияние на развитие корневых кист челюстей имеют периодонтопатогенные микроорганизмы, являющиеся в числе прочего специфическими маркерами данного заболевания. Определена зависимость частоты выявления патогенов от их морфологических характеристик. Микрофлора всех взятых образцов обладала резистентностью ко всем группам антибактериальных препаратов, кроме метронидазола.

Заключение. Для полной оценки клинической картины, планирования хирургического лечения и корректного назначения антибактериальных препаратов пациентам следует проводить молекулярно-генетическое исследование состава микробной флоры в очаге инфекции с определением генетической резистентности.

Ключевые слова: корневые кисты челюстей, периодонтопатогенные микроорганизмы, полимеразная цепная реакция



Rachkov A. ✉, Shevela T., Evtuhov V.
Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

Microbial Contamination of Bone Defects in Patients with Radicular Cysts of the Jaws

Conflict of interests: nothing to declare.

Authors' contribution: conceptualization, methodology – Rachkov A., Shevela T., Evtuhov V.; resources – Rachkov A., Shevela T., Evtuhov V.; software – Rachkov A., Shevela T., Evtuhov V.; writing – original draft preparation – Rachkov A., Shevela T., Evtuhov V.; writing – review and editing – Rachkov A., Shevela T., Evtuhov V.

Submitted: 11.10.2022

Accepted: 24.10.2022

Contacts: rachkov.alexander.an@gmail.com

Abstract

A molecular-genetic study of the contents of bone defects in patients with radicular cysts of the jaws was carried out, with the determination of composition of microbial flora in dynamics and the assessment of the genetic resistance of pathogens to various groups of antibacterial drugs.

Purpose. To determine the qualitative composition of microbial flora in the area of the bone defect in patients with radicular cysts of the jaws in dynamics and to determine the resistance of the flora to various groups of antibacterial drugs.

Materials and methods. The qualitative composition of the microflora of bone defects formed as a result of the development of radicular cysts was studied by polymerase chain reaction (PCR) on the day of surgery and on the 3rd day after surgery.

Results. According to the data obtained, periodontopathogenic microorganisms, which, among other things, are specific markers of this disease, have a predominant effect on the development of root cysts of the jaws. The dependence of the detection rate of pathogens on their morphological characteristics was determined. The microflora of all the samples taken was resistant to all groups of antibacterial drugs, except for metronidazole.

Conclusion. For a complete assessment of the clinical picture, planning of surgical treatment and the correct prescription of antibacterial drugs to patients, a molecular genetic study of the composition of the microbial flora in the focus of infection with the determination of genetic resistance should be carried out.

Keywords: radicular cysts of the jaws, periodontopathogenic microorganisms, polymerase chain reaction

■ ВВЕДЕНИЕ

Широкое применение резорбируемых барьерных мембран в хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии обусловлено относительной простотой применения и положительными отдаленными результатами. Такие мембраны, подвергаясь резорбции, не требуют дополнительных хирургических вмешательств. Основным материалом для их изготовления служит коллаген I–II типа, мембраны имеют плетеную трехмерную структуру [3, 5]. В инструкциях по применению к данным изделиям отсутствует информация о размерах пор между волокнами. По нашему

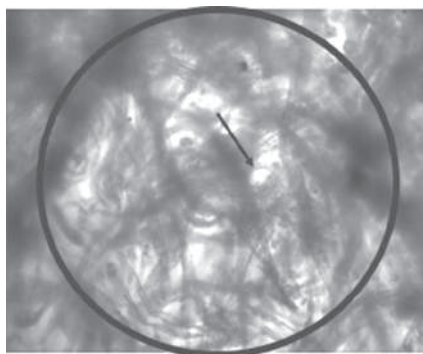


Рис. 1. Пора в структуре резорбируемой мембраны
Fig. 1. Pore in the structure of a resorbable membrane

мнению, эти поры могут быть входными воротами для микробной флоры, что в свою очередь ухудшает условия для регенерации костных дефектов (рис. 1).

Ротовая полость человека является «лидером» по наличию различных видов микроорганизмов. Хирургические вмешательства, независимо от их объема, приводят к нарушению микроциркуляции, снижению механизмов иммунитета и, как следствие, способствуют выходу резидентной флоры из экологической ниши, появлению в операционной зоне облигатно-анаэробной флоры [1, 3, 6, 9]. В совокупности с местными воспалительными явлениями и следствием работы энзимов результатом хирургического вмешательства может стать лизис используемого остеопластического материала и резорбируемой мембраны, микробная инвазия раны и несостоятельность лечения [7].

Большое значение в диагностике корневых кист имеет анализ микрофлоры кистозного содержимого до и после проведения оперативных вмешательств. Известно, что экзо- и эндотоксины, продуцируемые представленными микроорганизмами, вызывают длительное воспаление и нарушение регенерации костной ткани. Однако, несмотря на большое число публикаций по данной тематике, отсутствуют данные по видовому составу микроорганизмов при корневых кистах челюстей.

Таким образом, актуальным направлением в исследовании процессов направленной костной регенерации челюстей с использованием резорбируемых мембран является установление качественного и количественного состава микробной флоры в зоне хирургического вмешательства [2, 4].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить качественный состав микробной флоры в области костного дефекта у пациентов с корневыми кистами челюстей в динамике и резистентность флоры к различным группам антибактериальных препаратов.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 40 пациентов с корневыми кистами челюстей. В соответствии с клиническими протоколами проводилась цистэктомия с резекцией



верхушек корней причинных зубов и их ретроградной пломбировкой. Костные дефекты выполнялись остеопластическим материалом на основе гидроксиапатита (ксеноматериал) и перекрывались резорбируемыми мембранами из коллагена II типа (ксеноматериал). Биологический материал из полости костного дефекта брали в день операции и на 3-и сутки после операции, который затем помещали в эппендорф с транспортной средой для дальнейшего проведения молекулярно-генетического исследования.

Определение качественного и количественного состава микрофлоры содержимого корневых кист челюстей проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Метод основан на многократном избирательном копировании определенного участка нуклеиновой кислоты (ДНК) микроорганизма при помощи ферментов в специальном приборе – амплификаторе. В исследовании ПЦР позволяет обнаружить в биологическом материале в числе прочего некультивируемую анаэробную микрофлору. Выделение ДНК проводили с использованием набора реагентов для выделения ДНК из биологического материала «ДНК-СОРБЕНТ» (НПФ «Литех», РФ) согласно инструкции производителя. Исследования выполняли с использованием амплификатора Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия). Лабораторные исследования по выявлению периодонтопатогенных и условно-патогенных микроорганизмов проводились в соответствии с инструкциями по применению, утвержденными Министерством здравоохранения Республики Беларусь от 27.04.2018 [8].

Определение ДНК периодонтопатогенной и условно-патогенной микрофлоры проводилось в отношении следующих 19 микроорганизмов: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Bacteroides (Tannerella) forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Treponema denticola*, семейства *Enterobacteriaceae*, рода *Staphylococcus* spp., рода *Streptococcus* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter* spp. / *Klebsiella* spp., *Streptococcus* spp., *Serratia* spp., *Proteus* spp., *Enterococcus faecalis* / *E. faecium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Helicobacter pylori*.

С целью профилактики воспалительных осложнений и снижения риска прогрессирования развития корневых кист челюстей было проведено ПЦР-исследование на наличие генетической резистентности указанных микроорганизмов к различным группам антибактериальных препаратов.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В полученных пробах были выявлены ДНК 13 микроорганизмов, при этом ДНК *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Escherichia coli*, *Streptococcus* spp., *Serratia* spp., *Pseudomonas aeruginosa* и *Helicobacter pylori* не была обнаружена ни в одной пробе.

В день операции ДНК *Porphyromonas gingivalis* и *Prevotella intermedia* определялась у 30 (75%) пациентов, а на 3-и сутки ее численное присутствие уменьшилось и было обнаружено у 20 (50%) пациентов.

ДНК *Porphyromonas endodontalis* в день операции определялась у 30 (75%) пациентов, на 3-и сутки после операции была обнаружена у 40 (100%) пациентов.

Численное присутствие ДНК *Tannerella forsythia*, *Fusobacterium nucleatum* и *Treponema denticola* оставалось без изменений в день операции и на 3-и сутки после операции и определялось у 40 пациентов (100%).

В день операции ДНК Enterobacteriaceae была обнаружена у 20 (50%) пациентов, после операции – у 40 (100%) пациентов.

ДНК Streptococcus spp., Enterobacter spp. / Klebsiella spp. обнаружена у 10 (25%) пациентов на момент операции. После операции нуклеиновые кислоты указанных микроорганизмов определялись у 40 (100%) пациентов.

Следует сделать акцент на выявлении на 3-и сутки ДНК микроорганизмов у тех пациентов, у которых первое исследование дало отрицательный результат в отношении конкретного микроорганизма. А именно: ДНК Porphyromonas endodontalis определялась уже у всех 40 наблюдаемых (100%), ДНК Streptococcus spp., Enterobacter spp. / Klebsiella spp. также была выявлена у всех пациентов – 40 (100%). По нашему мнению, появление новых представителей флоры обусловлено рядом причин: миграция бактерий через раневой канал швов, раневую поверхность слизистой оболочки, попадание ротовой жидкости во время операции.

Также обращает на себя внимание следующий факт: при повторном молекулярно-генетическом исследовании сократилось численное присутствие патогенов с более крупными морфологическими характеристиками (более 3 мкм) – Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia. А частота случаев выявления более мелких представителей флоры (менее 2 мкм) повысилась (Enterobacteriaceae, Streptococcus spp., Enterobacter spp.). Это может быть косвенным свидетельством того, что резорбируемые барьерные мембраны обладают избирательной проницаемостью для микроорганизмов.

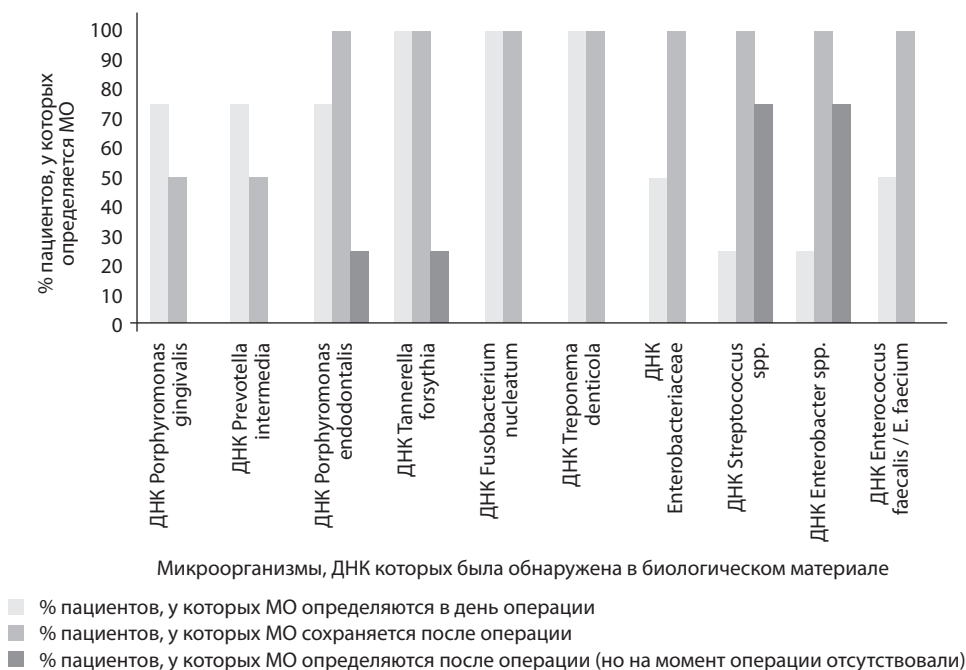


Рис. 2. Динамика видового состава микрофлоры у пациентов с корневыми кистами челюстей в день операции и в послеоперационном периоде

Fig. 2. Dynamics of species composition of microflora in patients with root cysts of the jaws on the day of surgery and in the postoperative period

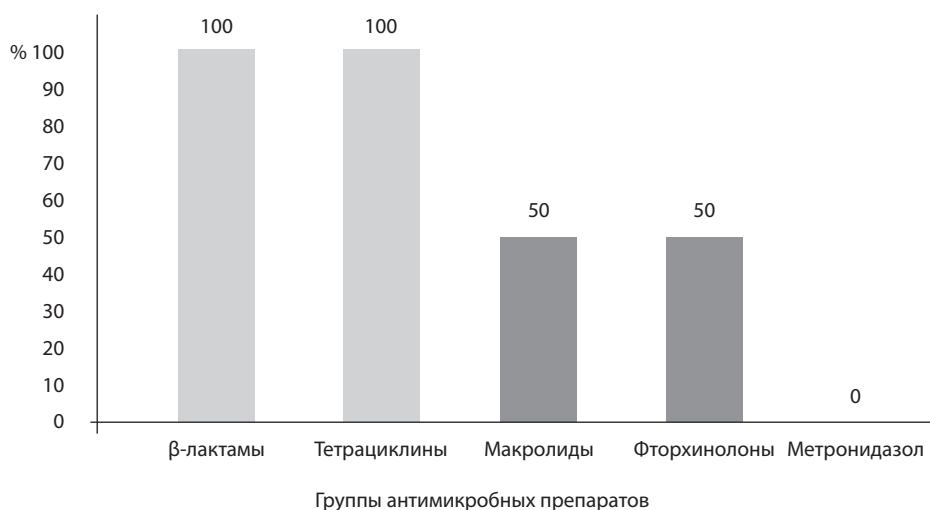


Рис. 3. Результаты определения резистентности микробной флоры к группам антимикробных препаратов у пациентов с корневыми кистами челюстей

Fig. 3. The results of determining the resistance of microbial flora to groups of antimicrobial drugs in patients with root cysts of the jaws

Результаты ПЦР-исследований на наличие генетической резистентности возбудителей к антибактериальным препаратам показали следующее. Исследуемый видовой состав микроорганизмов (13 представителей флоры ротовой полости) во всех пробах ($n=40$) показал 100% устойчивость к β -лактамам и тетрациклинам. В 50% ($n=20$) образцов была выявлена резистентность к макролидам и фторхинолонам. Тогда как резистентность к метронидазолу не была определена ни в одной пробе.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основную этиологическую роль в развитии корневых кист челюстей играют периодонтопатогенные микроорганизмы. Они являются специфическими маркерами и этиологической основой при развитии периапикальных воспалительно-деструктивных процессов челюстей.

Благодаря своей пористой структуре, резорбируемые барьерные мембраны являются избирательно проницаемыми для различных видов микроорганизмов, в зависимости от размеров последних.

Наличие генетической антибиотикорезистентности микроорганизмов к β -лактамам и тетрациклинам у пациентов-носителей, включенных в исследование, может быть связано с неоднократной консервативной терапией в анамнезе.

Для полной оценки клинической картины, планирования хирургического лечения и корректного назначения антибактериальных препаратов пациентам следует проводить молекулярно-генетическое исследование состава микробной флоры в очаге инфекции с определением генетической резистентности.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Zhang H. Antibacterial activity of endodontic sealers by modified direct contact test against *Enterococcus faecalis*. *J. of Endod.* 2009;35(7): 1051–1055.
2. Horlenko I. Clinical and microbiological assessment of root canal decontamination in chronic apical periodontitis using the ultrasound. *Wiad. Lek.* 2020;73(6):1119–1123.
3. Rakhmatia Y.D. Current barrier membranes: titanium mesh and other membranes for guided bone regeneration in dental applications. *J. of Prosthodont. Res.* 2013;57(1):3–14.
4. Curtis M.A., Diaz P.I., van Dyke T.E. The role of the microbiota in periodontal disease. *Periodontol.* 2020;83(1):14–25.
5. Jimenez Garcia J. Effect of cross-linked vs non-cross-linked collagen membranes on bone: A systematic review. *J. of Periodontal. Res.* 2017;52(6):955–964.
6. Santos L.C.S. Histopathological Study of Radicular Cysts Diagnosed in a Brazilian Population. *Braz. Dent. J.* 2011;22(6):449–454.
7. Rachkov A. Microbial composition and genetic resistance of microorganisms to antibacterial drugs in patients with recurrent radicular cysts of the jaws. *Healthcare of Kyrgyzstan.* 2020;3:3–8. (in Russian)
8. Shevela T., Rachkov A., Kostyuk S. Species composition of microbial flora in the operating area of the jaw bone. *Bulletin of the Fund for Basic Research.* 2018;1:75–79. (in Russian)
9. Volkova M., Konopelko E. Analysis of microbial composition of subgingival plaque in patients with chronic periodontitis. *Bull. of the Vit. State Med. Univ.* 2012;11(1):138–145. (in Russian)