

Микробная биопленка корневых каналов и новые подходы к диагностике и лечению хронических форм пульпита с использованием фотоактивируемой дезинфекции и ультразвуковой обработки

В.Н. ЦАРЕВ, д.м.н., проф.

А.В. МИТРОНИН, д.м.н., проф.

М.С. ПОДПОРИН, лаборант-исследователь лаборатории молекулярно-биологически исследований, отдела фундаментальных исследований НИМСИ
ГБОУ ВПО МГМСУ им. А.И. Евдокимова

Microbial biofilm root canals and new approaches to the diagnosis and treatment of the chronic forms of pulpitis using a photoactivatable disinfection and ultrasonic treatment

V.N. TSAREV, A.V. MITRONIN, M.S. PODPORIN

Резюме: Клинико-лабораторное обоснование и оценка эффективности ультразвуковой обработки системы корневых каналов в комплексе с фотодинамической терапией, в отношении микрофлоры корневых каналов в экспериментах *in vitro* и в процессе комплексного лечения пациентов с воспалительными заболеваниями пульпы зуба.

В контрольных подгруппах проводилась инструментальная и медикаментозная обработка корневых каналов. В группах сравнения проводили комплексное лечение с использованием ультразвуковой активации ирриганта и дальнейшей фотодинамической обработкой. Оценку влияния ультразвуковой обработки в комплексе с системой фотоактивируемой дезинфекцией проводили по частоте диагностируемых осложнений при лечении различных форм хронического пульпита. Структуру биопленки корневых каналов изучали с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) с использованием микроскопа Quantum 3D (США). Статистическую обработку данных в 5-и повторях и обрабатывали методом параметрической статистики для малой выборки по Манну-Уитни ($p < 0,05$).

При проведении сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) установлено наличие высокого уровня микробной контаминации зоны корневого канала и дентинных канальцев. В подгруппах, где использовалась стандартная методика лечения, процент повторного лечения и хирургического вмешательства преобладает по сравнению с исследуемой группой. По результатам клинико-микробиологических исследований прослеживалась положительная тенденция к уменьшению количества определяемых патогенных микроорганизмов и использование комплексного взаимодействия УЗ и ФДТ являлось наиболее удачной методикой, по сравнению с традиционной методикой лечения.

Ключевые слова: хронический пульпит, корневые каналы, микробная биопленка, эндодонтическое лечение, ультразвуковая ирригация, фотодинамическая терапия, антимикробная активность *in vitro*.

Abstract: Clinical and laboratory study and evaluation of the effectiveness of ultrasonic treatment of the root canal system in combination with photodynamic therapy, in relation to the microflora of root canals *in vitro* and in the process of complex treatment of patients with inflammatory diseases of dental pulp.

In the control subgroups, we conducted instrumental and medicamentous processing of root canals. In the comparison group were given the combined treatment with ultrasonic activation of irrigant and further photodynamic treatment. Evaluate the influence of ultrasonic treatment in combination with photoactivatable system disinfection was performed according to the frequency of the diagnosed complications in the treatment of various forms of chronic pulpitis. The structure of the biofilm root canals was studied using scanning electron microscopy (SEM) using a microscope Quantum 3D (USA). Statistical processing of data in 5 replicates and were processed by parametric statistics for small samples by Mann-Whitney test ($p < 0,05$).

When performing scanning electron microscopy revealed the existence of high level of microbial contamination of areas of the root canal and dentinal tubules. In subgroups, where it was used the standard method of treatment, the percentage of re-treatment and surgical intervention prevails compared to the study group. According to the results of clinical and microbiological studies have observed a positive trend to reduce the number of the designated pathogens and the use of complex interaction of ULTRASOUND and PDT was the most successful method compared to traditional method of treatment

Key words: chronic pulpitis, root canals, microbial biofilm, endodontic treatment is ultrasonic irrigation, photodynamic therapy, scanning microscopy, antimicrobial activity *in vivo*.

Введение

Лечение хронических форм пульпита — одна из актуальных проблем стоматологии. На сегодняшний день в арсенале врача-стоматолога имеется внушительный набор различных материалов и инструментов, применяемых в клинической практике, но в ряде случаев эндодонтическое лечение оказывается неэффективным и приводит к развитию хронического воспаления. В частности, в России число успешного первичного эндодонтического лечения составляет всего 29%, а повторного лечения — 17% [1]. Потребность в перелечивании зубов в три раза превышает потребность в их первичном лечении [7].

Воспаление пульпы (пульпит) — наиболее распространенное осложнение кариеса, которое в структуре оказания стоматологической помощи



Рис. 1. Аппарат пьезоэлектрической группы Ultrasonic DTE-D5



Рис. 2. Система фотоактивируемой дезинфекции Fotosan 360



Рис. 3. Клинические показатели эффективности комплексного физиотерапевтического лечения (УЗ+ФДТ): А — частота повторного эндодонтического лечения, Б — частота осложнений, требующих хирургического лечения

составляет от 20% до 30%. Причиной возникновения некроза пульпы и его распространенности является бактериальная инвазия [6].

Знание анатомии, гистологии тканей зуба помогает разобраться в развитии механизма патологии при пульпите, а также в последующем обосновании качественного лечения стоматологического больного [12]. Эндодонтическая обработка каналов остается основным этапом в комплексной терапии заболеваний пульпы. От того, как проведен этот этап, напрямую зависят отдаленные результаты лечения. Зачастую определяющую роль в недопущении дальнейших осложнений эндодонтического лечения играет эффективная и качественная инструментальная обработка каналов. Основным протокол лечения может быть дополнен физиотерапевтическими методами воздействия на область корневых каналов, в частности, использованием медицинского озона и фотохимической реакции [2].

В последнее время, в связи с актуальной проблемой растущей резистентности к антибиотикам, все чаще в стоматологической практике используется метод фотоактивируемой дезинфекции. Данный метод основан на использовании различных фотобиологических эффектов, вызываемых посредством сочетанного применения светового излучения, кислорода и фотосенсибилизатора. Но исходы данной терапии могут быть различными, в зависимости от интенсивности генерации АФК, активности антистрессорных протеинов, антиоксидантных ферментных систем бактерий, а также от анатомического строения системы корневых каналов [11].

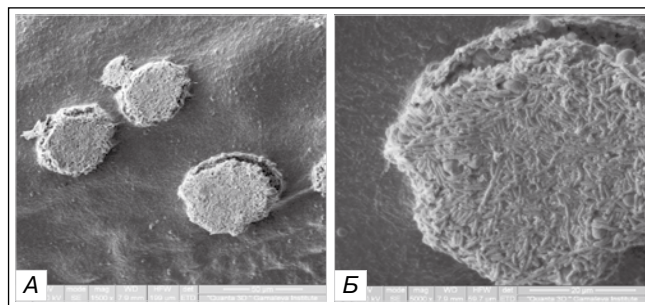


Рис. 4. Микробная obturation дентинных каналов. Сканирующая электронная микроскопия. А — виды устья трех каналов. Ув. x1500. Б — устье одного из каналов. Ув. x5000

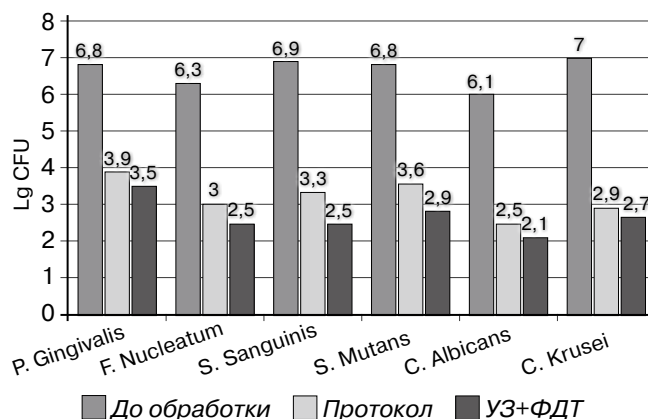


Рис. 5. Результаты клинко-микробиологического исследования до и после традиционной и комплексной (УЗ+ФДТ) обработки корневых каналов у пациентов с хроническим пульпитом

ли частоту диагностируемых осложнений при лечении различных форм хронического пульпита — потребность в повторном эндодонтическом лечении, а также необходимость проведения оперативного хирургического вмешательства. На диаграммах (рис. 3) видно, что в подгруппах, где использовалась стандартная методика лечения, процент повторного лечения и хирургического вмешательства превалирует по сравнению с исследуемой группой (в среднем в 1,5–2 раза чаще).

При проведении сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) установлено наличие высокого уровня микробной контаминации зоны корневого канала и дентинных канальцев (рис. 4). На микрофотографии при увеличении $\times 1500$ раз видны устья дентинных канальцев, которые obturированы скоплениями микроорганизмов, формирующих биопленку (рис. 4А). При увеличении $\times 5000$ раз хорошо различимы палочковидные (бактероидные) микробные клетки и округлые дрожжевые элементы грибов (рис. 4Б).

По результатам клинко-микробиологических исследований (рис. 5) прослеживалась положительная тенденция к уменьшению количества определяемых патогенных микроорганизмов. По сравнению со стандартным протоколом, использование комплексного взаимодействия УЗ и ФДТ являлось наиболее удачной методикой, в результате которой отмечалась статистически достоверная деконтаминация патогенов в корневых каналах ($p < 0,025$).

Наиболее чувствительным оказался клинический изолят штамма *Candida albicans* — снижение на 65,57%. Наиболее устойчивым оказался клинический изолят *Porphyromonas gingivalis* — снижение на 51,47%.

Обсуждение результатов

Врачи-стоматологи смогли понять сложность анатомии корневых каналов и принцип создания адекватного эндодонтического доступа. В ходе совершенствования методов лечения стоматологических больных были предложены новые способы рационального и комбинированного использования ручных и машинных инструментов, тем самым позволяя сохранять без повреждения анатомию каналов и в дальнейшем добиться герметичной obturации устья каналов [13].

Система корневого канала часто имеет сложную морфологию, особенно жевательной группы зубов (рис. 6). Идеально круглый в поперечном сечении, конусовидный корневой канал с одним апикальным отверстием является, пожалуй, редким исключением. Тем самым достичь полноценной очистки, стерилизации и оптимального формирования стенок корневых каналов, возможно далеко не во всех случаях. В подавляющем большинстве случаев каналы имеют неправильную форму, различный диаметр в букколингвальном и мезиодистальном направлении, многочисленные поднутрения, так называемые «плавники» [8].

От основного канала на разных уровнях отходит множество латеральных канальцев. Известно, что основной канал в апикальной части образует дельту и открывается на вершшке корня не одним, а несколькими апикальными отверстиями [15].

При эндодонтической обработке формируется смазанный слой, содержащий микроорганизмы. Смазанный слой для микроорганизмов является питательной средой, а также нарушает адгезию пломбировочных материалов к стенкам корневых каналов. Поэтому при сканирующей электронной микроскопии он представлен элементами микробной биопленки (рис. 6). Соглас-

но современной концепции, ассоциации микроорганизмов полости рта колонизируют экосистему корневых каналов в виде биопленки, что существенно изменяет их свойства и затрудняет их удаление из системы корневых каналов [9, 5].

Биопленка представляет собой сообщество микроорганизмов, окруженных внеклеточным полисахаридным матриксом и прикрепленных к влажной поверхности [5]. Плотное прикрепление биопленки защищает присутствующие в ней микроорганизмы от воздействия неблагоприятных факторов, тем самым создавая благоприятные условия для размножения микроорганизмов. Полисахаридный матрикс является специфическим барьером для проникновения внутрь биопленки антибактериальных агентов, в связи с чем повышается резистентность микробов к антисептикам и антибиотикам [14].

Полученные в нашем исследовании результаты позволяют предположить, что любой из патогенов, колонизирующих поверхность зуба, может контаминировать кариозную полость и проникнуть в пульпу зуба и далее — в систему дентинных канальцев, что является причиной воспалительного процесса (рис. 8).

По данным наших предыдущих исследований [10], из системы дентинных каналов могут выделяться с высокой частотой (от 50 до 90%) представители облигатно-анаэробных видов — *Peptostreptococcus anaerobius*, *Peptococcus niger*, *Porphyromonas* spp., *Prevotella* spp., *Fusobacterium* spp., *Tannerella forsythia*, но с меньшей (от 25% до 40%) — представители преимущественно микроаэрофильных видов — *Streptococcus sanguinis*, *Propionibacterium* spp., *Corynebacterium* spp., *Actinomyces* spp., а также некоторых облигатно-анаэробных — *Streptococcus intermedius*, *Treponema denticola*, *Eubacterium* spp. При этом частота выделения стафилококка составляла всего лишь 6,2%, энтерококка — 24,1%, а грибов рода *Candida* — 13,8% [9].

Считается доказанным, что применение ультразвуковой активации ирриганта в процессе обработки корневых каналов является более эффективной методикой по сравнению с традиционным ручным методом обработки [14]. В эндодонтии ультразвук стали применять благодаря эффекту кавитации (в жидкой среде — формирование пузырьков пара, сопровождающееся шумом и гидравлическими ударами) и акустическим вихревым потокам, возникающим вокруг эндодонтического файла в процессе работы. Вихревые потоки разбивают детрит корневых каналов на опилки и нагревают дезинфицирующий раствор, что значительно повышает качество эндодонтического лечения и создает условия для герметичной obturации корневого канала [4].

Как показали наши клинко-лабораторные исследования, фотодинамическая терапия в комплексе с ультразвуковой обработкой *in vitro* по-разному влияет на процесс размножения микробных клеток штаммов — представителей нормальной микрофлоры полости рта и пародонтопатогенной группы бактерий, а также на размножение грибов рода *Candida*, но во всех случаях имеет место бактериостатический эффект, выражающийся в торможении размножения бактерий или грибов по сравнению с контрольными пациентами группы сравнения.

Заключение

1. Комплексный подход при эндодонтическом лечении с использованием ультразвуковой обработки и фотодинамической терапии, позволяет добиться наилучшего эффекта эрадикации патогена по сравнению со

стандартной методикой, и, следовательно, современные возможности применения эндодонтических методов комплексной терапии заболеваний пульпы и периапикального периодонтита значительно повысили эффективность лечения таких заболеваний.

2. При проведении сканирующей электронной микроскопии подтверждено наличие обильной микробной колонизации смазанного слоя в области устьев дентинных каналов корня зуба, имеющей признаки микробной биопленки, представленной ассоциацией бактериальных и дрожжевых клеток. Установлена обтурация проли-

фирующей микробной биопленкой устьев дентинных каналов.

3. Использование современного оборудования и умение врача использовать инновационные технологии, а также опыта комбинировать разные методы лечения, можно с успехом отнести к понятию высокотехнологичной эндодонтической помощи, следовательно, добиться более качественного лечения пациентов.

Поступила 13.07.2016

*Координаты для связи с авторами:
124473, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1*

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Боровский Е. В. Ошибка и осложнение эндодонтического лечения // *Новости Dentsply*. 2001. №3. С. 21.
Borovskij E. V. Oshibka i oslozhenie endodonticheskogo lechenija // *Novosti Dentsply*. 2001. №3. С. 21.
2. Боровский Е. В., Макеева И. М., Жохова Н. С. Рабочая длина зуба и методы ее определения // *Клиническая стоматология*. 1998. №2. С. 8–11.
Borovskij E. V., Makeeva I. M., Zhohova N. S. Rabochaja dlina zuba i metody ee opredelenija // *Klinicheskaja stomatologija*. 1998. №2. С. 8–11.
3. Бородин Н. Б., Петрова Т. Г. Пути повышения эффективности ирригации корневых каналов с использованием аппарата P5 Newtron XS фирмы Satelec // *Новое в стоматологии*. 2009. №1. С. 2.
Borodina N. B., Petrova T. G. Puti povyshenija effektivnosti irrigacii kornevych kanalov s ispol'zovaniem apparata P5 Newtron XS firmy Satelec // *Novoe v stomatologii*. 2009. №1. С. 2.
4. Доктор Хольгер Деннхардт. Ультразвук в эндодонтии // *Медицинский алфавит*. 2014. №1. С. 10–13.
Doktor Hol'ger Dennhardt. Ul'trazvuk v endodontii // *Medicinskij alfavit*. 2014. №1. С. 10–13.
5. Ипполитов Е. В., Диденко Л. В., Царев В. Н. Особенности морфологии биопленки пародонта при воспалительных заболеваниях десен (хронический катаральный гингивит, хронический пародонтит, кандидо-ассоциированный пародонтит) по данным электронной микроскопии // *Клиническая лабораторная диагностика*. 2015. Т. 60. №12. С. 59–64.
Ippolitov E. V., Didenko L. V., Carev V. N. Osobennosti morfologii bioplenki parodonta pri vospalitel'nyh zabolevanijah desen (hronicheskij kataral'nyj gingivit, hronicheskij parodontit, kandida-associirovannyj parodontit) po dannym elektronnoj mikroskopii // *Klinicheskaja laboratornaja diagnostika*. 2015. Т. 60. №12. С. 59–64.
6. Митронин А. В., Чунихин А. А. Важные аспекты применения диодного лазера при эндодонтическом лечении хронического пульпита. Анализ клинко-лабораторного исследования // *Российская стоматология*. 2011. Т. 4. №4. С. 34–40.
Mitronin A. V., Chunihi A. A. Vazhnye aspekty primenenija diodnogo lazera pri endodonticheskom lechenii hronicheskogo pul'pita. Analiz kliniko-laboratornogo issledovaniya // *Rossijskaja stomatologija*. 2011. Т. 4. №4. С. 34–40.
7. Петрикас А. Ж. Пульпэктомия. Учебное пособие для стоматологов и студентов. 2-е изд. — М.: Альфа Пресс, 2006. — С. 85–86.
Petrikas A. Zh. Pul'pjektomija. Uchebnoe posobie dlja stomatologov i studentov. 2-e izd. — М.: Al'fa Press, 2006. — С. 85–86.
8. Рудз Джон С. Повторное эндодонтическое лечение: Консервативные и хирургические методы. — М.: МЕДпресс-информ, 2009. — 216 с.
Roudz Dzhon S. Povtornoje endodonticheskoe lechenie: Konservativnye i hirurgicheskie metody. — М.: MEDpress-inform, 2009. — 216 s.
9. Ушаков Р. В., Царев В. Н. Микрофлора и иммунные процессы при одонтогенной инфекции / *Микробиология, вирусология и иммунология полости рта*, под ред. профессора В.Н. Царева. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. — С. 455–500.
Ushakov R. V., Carev V. N. Mikroflora i immunnye processy pri odontogennoj infekcii / *Mikrobiologija, virusologija i immunologija polosti rta*, pod red. professora V.N. Careva. — М.: GEOTAR-Media, 2013. — С. 455–500.
10. Царев В. Н., Дмитриева Л. А., Ипполитов Е. В., Нисанова С. Е. Последовательное применение антибактериальных и детоксицирующих препаратов при эндодонтическом лечении хронического апикального периодонтита (клинико-экспериментальное исследование) // *Эндодонтия Today*. 2013. №1. С. 8–14.
Carev V. N., Dmitrieva L. A., Ippolitov E. V., Nisanova S. E. Posledovatel'noe primenenie antibakterial'nyh i detoksicirujushhih preparatov pri endodonticheskom lechenii hronicheskogo apikal'nogo periodontita (kliniko-jeksperimental'noe issledovanie) // *Endodontija Today*. 2013. №1. С. 8–14.
11. Царев В. Н., Митронин А. В., Ипполитов Е. В., Малазония Т. Т., Подпорин М. С., Манучарян Л. А. Оценка антимикробного действия фотодинамической терапии на возбудителей неклостридиальной анаэробной инфекции полости рта и грибы рода *Candida* в экспериментальных и клинических исследованиях // *Эндодонтия Today*. 2015. №3. С. 15–20.
Carev V. N., Mitronin A. V., Ippolitov E. V., Malazonija T. T., Podporin M. S., Manucharjan L. A. Ocenka antimikrobnogo dejstvija fotodinamicheskoj terapii na vzbuditelej neklostroldial'noj anajerobnoj infekcii polosti rta i griby roda *Candida* v eksperimental'nyh i klinicheskix issledovanijah // *Endodontija Today*. 2015. №3. С. 15–20.
12. Card S. J., Sigurdsson A., Ostravik D., Trope M. The effectiveness of increased apical enlargement in reducing intracanal bacteria // *J. Endod.* 2002. V. 28. №11. P. 779–783.
13. Plotino G., Pameijer C.H., Grande N.M., Somma F. Применение ультразвука в эндодонтии. Обзор литературы // *Эндодонтия*. 2011. Т. 5. №3–4. С. 27–45.
Plotino G., Pameijer C.H., Grande N.M., Somma F. Primenenie ul'trazvuka v endodontii. Obzor literatury // *Endodontija*. 2011. Т. 5. №3–4. С. 27–45.
14. Plotino G., Pameijer C.H., Grande N.M., Somma F. Ultrasonic in endodontics: a review of the literature // *J. Endod.* 2007. V.33. №2. P. 81–95.
15. Senia E. S., Marshall F. J., Rosen S. The solvent action of sodium hypochlorite on pulp tissue of extracted teeth // *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1971. V. 31. P. 96–103.

ХОТИТЕ ЧИТАТЬ ЛЮБИМЫЕ ИЗДАНИЯ НА МОБИЛЬНЫХ УСТРОЙСТВАХ?

**QR-коды для оформления подписки
на электронную версию газеты
«Стоматология сегодня»**

