

С.В. Хлебас

# Сравнительная оценка чувствительности бактерий инфицированного корневого канала к медикаментозным препаратам

Институт стоматологии НМАПО имени П.Л. Шупика, г. Киев, Украина

**Резюме.** В работе приведены результаты микробиологического исследования микрофлоры инфицированных корневых каналов и ее чувствительность к препаратам, содержащим антибиотик тетрациклинового ряда, хлоргексидин и метронидазол. Изучаемые препараты подавляют рост бактерий, вызывающих деструкцию в периапикальном участке, что способствует ускорению процесса репарации и приводит к сокращению сроков лечения.

**Ключевые слова:** периодонтит, микробные ассоциации, тетрациклин, хлоргексидин, метронидазол, миноциклин, гидроксид кальция.

**Х**ронические апикальные периодонтиты составляют от 15 до 30 % среди всех заболеваний челюстно-лицевой области [11], а в последнее время наблюдается тенденция к увеличению заболеваемости [3]. Длительное воспаление апикального периемента часто приводит не только к потере зубов, но и способствует развитию хроническим состояниям одонтогенного происхождения, что доказано многими научными исследованиями, следовательно относиться к ним нужно не просто как к медицинской, а как к медико-социальной проблеме [1, 7, 8, 10, 28, 30].

Большинство проблем во время проведения эндодонтического лечения инфицированных корневых каналов и осложнения после лечения имеют бактериальную природу. Для проведения эффективной антимикробной терапии проводится изучение микрофлоры корневого канала путем проведения лабораторного исследования и определяется ее чувствительность к медикаментозным препаратам. Для изучения видового состава микроорганизмов, вызывающих деструкцию в области верхушки корня зуба, во многих странах мира были проведены клинико-лабораторные исследования и их результаты опубликованы в научной литературе [5, 22, 23].

В частности, микробиологические исследования некротической пульпы показали, что доминирует ограниченное количество анаэробных бактериальных популяций в ассоциациях [25], а микроорганизмы и продукты их жизнедеятельности действуют и за пределами корневого канала, тем самым вызывая деструкцию тканей в участке апекса [25, 31]. В одном из наиболее полных исследований по данному вопросу [27] показано, что почти 90 % бактерий в корневом канале являются анаэробными, а при длительном инфицировании корневого канала преобладают представители таких облигатно-анаэробных групп бактерий, как бактероиды, фузобактерии, пептострептококки, представители сложнокультивируемых видов вирулентных анаэробных бактерий (*Prevotella intermedia*, *Prevotella endodontis*, *Porphyromonas spp.*) [14]. Современные методы исследования содержимого инфицированного корневого канала позволяют регистрировать постоянные изменения видового состава микроорганизмов, изменения их свойств и чувствительности к антибактериальным препаратам, что требует постоянного обновления информации. Также имеется достаточно данных о формировании новых микробных ассоциаций, увеличении количества антибиотикорезистентных штаммов, что вызывает необходимость в постоянном уточнении информации и углубленных изучениях, так как это влияет на результаты лечения. Дальнейшие микробиологические исследования микрофлоры корневого канала являются

актуальными и на сегодняшний день, поскольку имеют теоретическое и практическое значение в клинической эндодонтии [2, 5, 6, 12, 13, 14, 16, 17, 19, 22, 23].

В 2012 году опубликованы сравнительные результаты действия на микрофлору корневого канала различных ирригантов, применяемых при проведении эндодонтического лечения [18,24]. При разных техниках инструментальной обработки корневых каналов на его внутренней поверхности образуется смазанный слой и только очищение от него открывает дентинные каналы, способствуя лучшему проникновению ирриганта во внутрь [15, 24]. Это также увеличивает эффективность действия лекарственных средств при проведении внутриканальной ирригации и сокращает время, необходимое для дезинфекции корневого канала [20, 21]. Для антисептической обработки корневого канала широко применяются: хлорсодержащие препараты, окислители, антисептики, йодсодержащие препараты, антииотики разных групп, сульфаниламиды, протеолитические ферменты, препараты нитрофуранового ряда [14].

**Целью** настоящего исследования явилась идентификация штаммов бактерий, выделенных из инфицированных корневых каналов, и сравнительное изучение *in vitro* антимикробного действия медикаментозных препаратов, содержащих антибиотик тетрациклинового ряда, хлоргексидин и метронидазол, применяемые при проведении лечения хронического периодонтита, а также препаратов Periocline (активное вещество – миноциклина гидрохлорид), (SunStar Co., Япония) и Calasept (активное вещество – гидроксид кальция), (NORDISKA DENTAL, Швеция).

## Материал и методы исследования

Для объективной оценки изменений в составе микробиотоза проводили бактериологическое исследование экссудата корневого канала у 20 пациентов (по 10 с каждой клинической группы) с диагнозом: хронический гранулематозный периодонтит (согласно классификации И.Г. Лукомского), который был поставлен на основании проведенных клинического и рентгенологического обследования. Пациенты были выбраны с общей выборки с соблюдением процедуры рандомизации.

Забор клинического материала из корневых каналов проводили с помощью стерильных эндодонтических инструментов (К-файлов) и быстро нанесли на стерильный тампон транспортной системы UNI-TER фирмы MEUS (Италия), которую располагали максимально близко к зубу, чтобы минимизировать воздействие кислорода воздуха на анаэробы. Для оценки чувствительности использовали специально предназначенные питательные среды, разрешенные к применению и по своим характеристикам

соответствующие требованиям. В бактериологической лаборатории посеvy материала производили на специальные питательные среды фирмы bioMerieux (Франция), Laboratories Pvd.Ltd» (Индия), а также отечественного производства: для аэробных и факультативных бактерий – кровяной агар (КА), среда Чистовича, среда Эндо, шоколадный агар с ПолиВитеКсом (bioMerieux); для анаэробных бактерий – агар Мюллера-Хинтона с 5 % эритроцитов барана. Питательную среду готовят согласно инструкции производителя (из сухой среды промышленного производства), автоклавируют и сразу же разливают в чашки Петри. Агар разливают по чашкам с толщиной слоя 4 мм и оставляют при комнатной температуре для застывания. Желательно такую среду использовать немедленно, хотя и допускается хранение в течение 5 суток при температуре 4–8 градусов (в запаянных полиэтиленовых пакетах). Культивирование материала на питательных средах осуществляли в термостате на протяжении 3–5 суток при температуре 37°С. Чашки с анаэробными культурами перед установкой в термостат предварительно помещали в микроанаэроостаты bioMerieux. Согласно общепринятым методикам проводили идентификацию выделенных чистых культур по морфолого-культуральным и биохимическим признакам [9], а также с помощью идентификационных тест-полосок API bioMerieux: API 20 Strep., API 20 A для идентификации анаэробов (bio Merieus SA – Франция).

Для изучения спектра антибактериальной активности к выделенным из инфицированных корнеvых каналов микроорганизмам были применены лечебные комплексы, содержащие антибиотик тетрациклинового ряда (Endogil-TC, Джендентал-Украина), 2 % хлоргексидина диацетат в сочетании с 10 % метронидазола бензоатом (Jen-Metrohecor, Джендентал-Украина), а также препараты Perioclina (активное вещество – миноциклин), (Sunstar-Guidor, Япония) и Calasept (активное вещество – гидроокись кальция), (Nordiska Dental, Швеция).

Чувствительность выделенных бактерий к антибактериальным и антисептическим препаратам определяли «вслепую» диско-диффузионным методом, основанном на способности антибактериального препарата диффундировать в питательную среду из пропитанных ими бумажных дисков стандартного размера (6мм) и угнетая рост посеянных на поверхности агара микроорганизмов. Для этого представляющие интерес чистые культуры бактерий пересевали на плотную питательную среду агара Мюллера-Хинтона (с 5 % эритроцитов барана), ША, КА – агар Шедлера (bioMerieux) методом «газона», а затем в определенном порядке (по часовой стрелке) диски с препаратами под номерами 1, 2, 3, 4 в известных концентрациях, помещали в эти же чашки Петри с засеянными тест-

культурами. Инкубировали посеvy в течение 24–48 часов в термостате при t = 37°С. Список препаратов: 1. – Calasept, 2. – Endogil-TC, 3. – Jen-Metrohecor, 4. – Perioclina.

Учет результатов проводили в отраженном свете после окончания инкубации: на темную матовую поверхность помещали чашки вверх дном, свет падал под углом 45 градусов. Регистрировали результаты исследования антибактериальной активности препаратов путем измерения штангенциркулем с точностью до 1 мм зоны отсутствия роста микроорганизма тест-культуры (в мм) вокруг диска, пропитанного препаратом, учитывая размер самого диска (6 мм). Результатом исследования является отнесение микроорганизма к одной из категорий чувствительности: чувствительный, промежуточный, резистентный).

Микробиологические исследования выполнялись в бактериологической лаборатории ООО «Астерия Нова» ГKB № 10 г. Одессы.

### Результаты исследования и их обсуждение

При бактериологическом анализе содержимого инфицированных корнеvых каналов у 20 пациентов с диагнозом: хронический гранулематозный периодонтит были выделены аэробно-анаэробные ассоциации микроорганизмов. Для дальнейшего изучения отобраны чистые культуры (тест-культуры) бактерий, которые являются типичными представителями условно-патогенной и периодонтопатогенной микрофлоры инфицированных корнеvых каналов: аэробные и факультативные грамположительные кокки – *Staphylococcus aureus*; анаэробные грамположительные бактерии – *Peptostreptococcus anaerobius*, *Enterococcus faecalis*; анаэробные грамотрицательные бактерии (облигатные анаэробы) – *Prevotella intermedia* и *Fusobacterium nucleatum*. Исследуя *in vitro* антимикробную активность изучаемых препаратов по отношению к отобраным тест-культурам бактерий с инфицированных корнеvых каналов установлены их различные по силе бактерицидные свойства (таблица).

Интерпретацию результатов степени чувствительности микроорганизмов к основным антибактериальным препаратам проводят в зависимости от зон задержки роста и подразделяют на: чувствительные, умеренно чувствительные (промежуточная чувствительность) и устойчивые. К группе чувствительных относятся микроорганизмы с зоной замедления роста от 23 до 37 мм вокруг диска – это большинство штаммов микроорганизмов, рост которых на питательных средах прекращается при использовании концентраций, соответствующих средним терапевтическим дозам антибактериальных препаратов. Если он угнетается при применении только максимальных доз

Таблица

Зоны задержки роста тест-штаммов микроорганизмов к медикаментозным препаратам

№ п/п	Названия микроорганизмов	Calasept, mm	Endogil-TC, mm	Jen-Metrohecor, mm	Perioclina, mm
1.	<i>Escherichia coli</i>	13	13	17	12
2.	<i>Staphylococcus aureus</i>	18	32	18	28
3.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	20	37	17	35
4.	<i>Enterococcus faecalis</i>	11	26	15	25
5.	<i>Peptostreptococcus anaerobius.</i>	16	36	20	35
6.	<i>Peptostreptococcus anaerobius.</i>	17	37	21	36
7.	<i>Porphyromonas Endodontalis</i>	11	32	11	27
8.	<i>Prevotella intermedia</i>	10	30	10	28
9.	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	11	33	10	28
10.	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	13	30	14	23
11.	<i>Enterococcus faecalis</i>	14	28	16	26



Рис. 1 Зоны задержки роста тест-штамма *Enterococcus faecalis*.



Рис. 2 Зоны задержки роста тест-штамма *Staphylococcus aureus*.



Рис. 3. Зоны задержки роста тест-штамма *Porphyromonas Endodontalis*.



Рис. 4. Зоны задержки роста тест-штамма *Porphyromonas gingivalis*.



Рис. 5. Зоны задержки роста тест-штамма *Peptostreptococcus anaerobius*.



Рис. 6. Зоны задержки роста тест-штамма *Prevotella intermedia*.

препаратов, то такие микроорганизмы умеренно чувствительны (промежуточная чувствительность) и зона замедления роста составляет от 14 до 20 мм. Если подавление роста достигается в опыте в лаборатории лишь при очень высоких концентрациях препарата, которые нельзя создать в организме, то такие возбудители инфекции относятся к устойчивым к антибактериальному препарату, а зона замедления роста соответственно составляет менее 14 мм.

Так, тест-штамм *Enterococcus faecalis* показал практически одинаковую высокую чувствительность к лечебному комплексу с тетрациклином и препарату Perioclina (активное вещество – миноциклин) – зона замедления роста составила 28 и 26 мм соответственно, а вот к лечебным комплексам с 2 % хлоргексидином и 10 % метронидазолом – промежуточную чувствительность (зона замедления роста составила 16 и 15 мм), как и к препарату с бактерицидной активностью – *Calasept* (зона замедления роста составила 4 мм) (рис. 1).

Тест-штамм *Staphylococcus aureus* оказался чувствительным к лечебному комплексу с тетрациклином и препарату Perioclina (активное вещество – миноциклина гидрохлорид) – зона замедления роста составила 32 и 28 мм соответственно, к лечебным комплексам с 2 % хлоргексидином и метронидазолом, показал промежуточную чувствительность (зона замедления роста составила 17–18 мм), как и к препарату *Calasept* (зона замедления роста составила 14 мм) (рис. 2).

Тест-штамм *Staphylococcus epidermidis*: чувствительный к лечебному комплексу с тетрациклином, препарату Perioclina, препарату *Calasept* – зона замедления роста составила 37, 35, 20 мм соответственно, хотя к лечебному комплексу с 2 % хлоргексидином и метронидазолом показал промежуточную чувствительность – зона замедления роста составила 17 мм.



Рис. 7. Зоны задержки роста тест-штамма *Fusobacterium nucleatum*.

Тест-штаммы *Porphyromonas Endodontalis* и *Porphyromonas gingivalis*: чувствительны к лечебному комплексу с тетрациклином, препарату Perioclina – зона замедления роста составила 32/33 и 27/28 мм соответственно, хотя к лечебному комплексу с 2 % хлоргексидином и метронидазолом, а также к препарату *Calasept* резистентны – зона замедления роста составила 11 мм (рис. 3 и рис. 4).

Тест-штамм *Peptostreptococcus anaerobius* оказался чувствительным к лечебному комплексу с тетрациклином и препарату Perioclina (активное вещество – миноциклин) – зона замедления роста составила 37 и 36 мм соответственно и к лечебному комплексу с 2 % хлоргексидином и метронидазолом – зона замедления роста составила 21 мм, хотя к препарату *Calasept* проявил промежуточную чувствительность – зона замедления роста составила 17 мм (рис. 5).

В отношении тест-штамма *Prevotella intermedia* наиболее выраженную антимикробную активность проявили лечебный комплекс с тетрациклином и препарат Perioclina – зона замедления роста составила 30 и 28 мм, но он резистентен к лечебным комплексам с 2 % хлоргексидином и метронидазолом и к препарату *Calasept* – зона замедления роста составила 10 мм (рис. 6).

Тест-штамм *Fusobacterium nucleatum* чувствителен к лечебному комплексу с тетрациклином и препарату Perioclina: зона замедления роста составила 30 и 23 мм, но резистентен к лечебным комплексам с 2 % хлоргексидином и метронидазолом – зона замедления роста составила 14 мм и к препарату *Calasept* – зона замедления роста составила 13 мм (рис. 7).

Таким образом, в опыте *in vitro* установлены различные по эффекту бактерицидные свойства комплексов с тетрациклином, с 2 % хлоргексидина диацетатом и 10 % метронидазола бензоатом, препаратов Perioclina и *Calasept* на штаммы условно-патогенных и пародонтопатогенных

бактерий, выделенных из инфицированных корневого канала у пациентов с диагнозом: хронический гранулематозный периодонтит. Учитывая данные микробиологического исследования *in vitro* и проведя интерпретацию результатов оценки чувствительности штаммов бактерий, можно прогнозировать результаты антибактериальной терапии в инфицированных корневых каналах. Предпочтительнее следует отдавать тетрациклин-содержащим комплексам, проявившим наивысшую активность в отношении

всего спектра микроорганизмов инфицированного корневого канала, а также хлоргексидин-метронидазол – содержащим препаратам. Применение на этапе механической обработки корневого канала лечебных комплексов с антибиотиком тетрациклинового ряда (в качестве хелата) с последующей ирригацией раствором гипохлорита натрия обеспечивает более полную очистку корневого канала от микроорганизмов и способствует сокращению сроков клинического выздоровления.

ЛИТЕРАТУРА

1. Данилевский Н.Ф. Терапевтическая стоматология: учебник в 4 т. / Н.Ф. Данилевский, А.В. Борисенко, А.М. Политун, Л.Ф. Сидельникова, А.Ф. Несин – К.: Медицина, 2009. – 400 с.
2. Современные аспекты клинической пародонтологии / Под ред. Л.А. Дмитриевой. – М.: МЕДпресс, 2001 – 128 с.
3. Дидик Н.М. Ендодонтичне лікування та поширеність верхівкового періодонтиту у дорослого населення м. Львова / Н.М. Дидик, Я.Б. Заблоцький // Новини стоматології. – 2006. – №1. – С. 14-20.
4. Косенко Костянтин Миколайович. Епідеміологія основних стоматологічних захворювань у населення України і пути їх профілактики: дис. ... д-ра мед. наук: 14.01.22 / Косенко Костянтин Миколайович. – Одеса, 1994. – 372 с.
5. Микробные ассоциации пародонтального кармана у больных генерализованным пародонтитом / К.Н. Косенко, Ю.Г. Чумакова, Э.А. Городенко, С.П. Басова // Вісник стоматології. – 2000. – № 3. – С. 10–13.
6. Куцевляк В.Ф., Любченко О.В. Чувствительность к антибактериальным препаратам микробной флоры пародонтальных карманов больных генерализованным пародонтитом по результатам бактериологических исследований // Современная стоматология. – 2005. – № 1. – С. 58–60.
7. Лабунець В.А. Фактори, що визначають потребу населення в повному знімному протезуванні / В.А. Лабунець, Т.В. Дієва, Є.В. Дієв // Одеський медичний журнал : Наук.-практ. Журн. – 2002. – №6. – С. 107–110. – Библиогр.: с.109–110
8. Николишин А.К. Современная эндодонтия практического врача / А.К. Николишин – 4-е издание, переработанное и дополненное. – Полтава: Дивосвіт, 2007. – 235 с.
9. Политун А.М. Повторное эндодонтическое лечение: причины, показания, современная стратегия / А.М. Политун // Эндодонтист. – 2010. – N 2 (4) / – С. 21–22.
10. Медицинская микробиология / Гл. ред. В.И. Покровский, О.К. Поздеев. – М.: ГЭОТАР Медицина, 1999. – 1200 с. – ил.
11. Горбачева И.А., Кирсанов А.И., 2001; Шелковским В.Н. и соавт., 2001; Робустова Т.Г., Митронин А.В., 2007; Таиров В.В. и соавт., 2007; Dorfer C.E. et al., 2001; Wu M.K., Wesselink P.R., 2005; Caplan D.J. et al., 2006.
12. Соломонов М. Современная концепция биопленки и ее роль в эндодонтических инфекциях // Эндодонтия today. – 2007, № 2. – С.5–7
13. Чумакова Ю.Г., Перекрыт В.В. Обґрунтування вибору сучасних антибіотиків для раціональної антимікробної терапії генералізованого пародонтиту // Медичні перспективи. – Дніпропетровськ, 2003. – Т. VIII, № 3. – С. 46–52.
14. Царев В.Н., Ушаков Р.В. Антимикробная терапия в стоматологии: Руководство. – М.: Медицинское информационное агенство. – 2004. – 144 с.
15. Bystrom A, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60

- cases of endodontic therapy. Int Endod J 1985; 18: 35–40.
16. Haffajee A.D., Socransky S.S. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases // Periodontol. 2000. – 1994. – Vol. 5. – P. 78–111.
17. Loesche W.J. The diagnosis and treatment of anaerobic periodontal infections // Infect. Med. – 1998. – Vol. 15, N. 11. – P. 788–790, 792–797.
18. Mehrdad Lotfi, DMD, MSc, Sepideh Vosoughhosseini, DMD, MSc, Mohammad Ali Saghiri, BSc, MSc, PhD, Vahid Zand, DMD, MSc, Bahram Ranjesh, DMD, and Negin Ghasemi, DMD (2012, 38: 1391–1394).
19. Mombelli A. Periodontitis as an infectious disease: specific features and their implications // Oral Dis. – 2003. – Vol. 9, Suppl. 1. – P. 6–10.
20. Orstavik D., Haapasalo M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. Endod Dent Traumatol 1990; 6: 142–9.
21. Sen B.H., Wesselink P.R., Turkun M. The smear layer: a phenomenon in root canal therapy. Int Endod J 1995; 28: 141–8.
22. S.S. Socransky, A.D. Haffajee, M.A. Cugini et al. / Microbial complexes in subgingival plaque // J. Clin. Periodontol. – 1998. – Vol. 25, N. 2. – P. 134–144.
23. Socransky S.S., Haffajee A.D. Periodontal microbial ecology // Periodontol. 2000. – 2005. – Vol. 38. – P. 135–187.
24. Torabinejad M., Handysides R., Khademi A., Bakland L.K. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. 2002; 94: 658–66.
25. Sato I., Ando-Kurihara N., Kota K., Iwaku M., Hoshino E. Sterilization of infected root-canal dentine by topical application of a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline in situ. Int Endod J 1996 Mar; 29 (2): 118–124.
26. Gilbert B.O., Rice R.T. Retreatment in endodontics / Oral Surg. – 1987. – Vol. 64 – P. 333–338.
27. Sundqvist G., Figdor D, Persson S, Sjogren U Microbiologic analasis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re- treatment. Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology 85, 86–93, 1993.
28. Rotstein I. Diagnosis, prognosis and decision-making in the treatment of combined periodontal-endodontic lesions / I. Rotstein, J.H.S. Simon // Periodontology 2000. – 2004. –Vol. 34. – P. 165–203.
29. Siquera J.F. Jr., Rocas I.N. Bacterial pathogenesis and mediators in apical periodontitis. Braz Dent J., 2007, 18 (4): 267–80.
30. Siquera J.F. Jr., Alves F.R., Rocas I.N. Pyrosequencing analysis of the apical root canal microbiota. J Endododol. 2011 Nov; 37(11): 1499–503.
31. Хольсманн Михаль (Hülsmann M.) «Проблеми ендодонтиї, профілактика, виявлення і усунення» – М. «Азбука» – 2009 – 384 с.

Порівняльна оцінка чутливості бактерій інфікованого кореневого каналу до медикаментозних препаратів

С.В. Хлебас

**Резюме.** В роботі приведені результати мікробіологічного дослідження мікрофлори інфікованих корневих каналів та її чутливість до препаратів, що містять антибіотик тетрациклінового ряду, хлоргексидин та метронідазол. Досліджувані препарати пригнічують ріст бактерій, які викликають деструкцію в періапикальній ділянці, що сприяє прискоренню процесу репарації та призводить до скорочення терміну лікування.  
**Ключові слова:** періодонтит, мікробні асоціації, тетрациклін, хлоргексидин, метронідазол, міноциклін, гідроксид кальцію.

Comparative evaluation of the sensitivity of bacteria of an infected root channel to medicines (drugs)

S. Khlyebas

**Summary.** This study states the results of microbiological investigations of microflora of infected root channels and its sensitivity to medicines (preparations) containing tetracycline antibiotics, chlorhexidine and metronidazole. The studied medicines (drugs) suppress the growth of bacteria that cause destruction in the periapical area which helps to speed up the repair process and leads to reduction of treatment time.  
**Key words:** periodontitis, microbial associations, tetracycline, chlorhexidine, metronidazole, minocycline, calcium hydroxide.

Хлебас Светлана Васильевна – врач-стоматолог высшей квалификационной категории. Преподаватель НМАПО имени П. Л. Шупика; практика – СНКЦ «Стамил».