



УКРАЇНА

(19) UA (11) 37874 (13) A

(51) 6 G01N33/50

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ РІВНЯ АНТИКОЛОНІЗАЦІЙНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ПОРОЖНИНИ РОТА

(21) 2000042396

(22) 26.04.2000

(24) 15.05.2001

(33) UA

(46) 15.05.2001, Бюл. № 4, 2001 р.

(72) Никифорчин Уляна Ростиславівна, Рожко Микола Михайлович, Куцик Роман Володимирович, Никифорчин Ростислав Миколайович, Палійчук Іван Васильович, Ожоган Зеновій Романович, Орнат Галина Степанівна, Бугерчук Олександр Вікторович

(73) Никифорчин Уляна Ростиславівна, Рожко Микола Михайлович, Куцик Роман Володимирович, Никифорчин Ростислав Миколайович, Палійчук Іван Васильович, Ожоган Зеновій Романович, Орнат Галина Степанівна, Бугерчук Олександр Вікторович

(57) Спосіб визначення рівня антиколонізаційної резистентності слизової оболонки порожнини рота шляхом оцінки ступеня реакції адсорбції мікроорганізмів за підрахунком адсорбованих на епітеліоцитах мікроорганізмів і розподілом епітеліоцитів на групи, який **відрізняється** тим, що перед зняттям мазка-відбитка слизової оболонки порожнини рота проводять старанне полоскання порожнини рота

теплою водою, розподіл епітеліоцитів здійснюють на 4 групи, а рівень антиколонізаційної резистентності оцінюють за середнім антиколонізаційним коефіцієнтом (CAK), який визначають за формулою:

$$CAK = \frac{4a + 3b + 2c + 1d}{X},$$

де a, b, c, d - кількість епітеліоцитів в кожній групі;

4 - антиколонізаційний коефіцієнт групи "а", до якої входять епітеліоцити з адсорбованими на них до 20 мікроорганізмів;

3 - антиколонізаційний коефіцієнт групи "b", до якої входять епітеліоцити з адсорбованими на них від 21 до 50 мікроорганізмів;

2 - антиколонізаційний коефіцієнт групи "с", до якої входять епітеліоцити з адсорбованими на них від 51 до 100 мікроорганізмів;

1 - антиколонізаційний коефіцієнт групи "d", до якої входять епітеліоцити з адсорбованими на них більше 100 мікроорганізмів;

X - загальна кількість епітеліоцитів,

при значенні CAK ≥ 3 рівень буде високий, при 2 ≤ CAK < 3 - задовільний, при CAK ≤ 2 - низький.

Винахід відноситься до медицини, а саме до імунологічних методів дослідження, і може бути використаний для оцінки стану місцевого імунітету ротової порожнини.

Існує спосіб, який ґрунтується на визначенні середнього адгезивного числа - відношенні числа прикріплених до епітеліальних клітин мікроорганізмів до числа підрахованих епітеліальних клітин (Воскун С.Е., Смирнов С.Г., Базеров М.А. та ін. - Влияние томицида на естественную колонизацию буккального эпителия / Колонизационная резистентность и химиотерапевтические антибактериальные препараты, - М., 1988. - Ч. II. - С. 38-39).

Спосіб трудомісткий, підрахунок адгезованих мікроорганізмів вимагає великої затрати часу. Спосіб малоінформативний, так як поодинокі епітеліоцити з особливо великою кількістю (200-300 і більше) мікроорганізмів можуть нівелювати результати підрахунку більшості епітеліальних клітин з порівняно невеликою кількістю адгезованих мік-

робів. Не враховані наявність і ступінь колонізації, що зумовлює розбіжності в трактуванні одержаних результатів.

Найближчим по суті до винаходу є спосіб, що ґрунтується на визначенні ступеня реакції адсорбції мікроорганізмів (РАМ) (Данилевський М.Ф., Чернышев В.П., Беленчук Т.А., Самойлов Ю.В. - Оцінка місцевого імунітету за показниками адсорбції мікроорганізмів клітинами епітелію порожнини рота // Педіатрія, акушерство і гінекологія. - 1991. - № 2. - С. 25-26.).

Епітеліальні клітини в мазках із слизової оболонки ротової порожнини залежно від кількості прикріплених до них мікроорганізмів поділяються на РАМ-негативні - до 25 адсорбованих мікроорганізмів, і РАМ-позитивні - більше 25 адсорбованих мікробів. За процентним вмістом РАМ-позитивних і РАМ-негативних клітин оцінюється стан місцевого імунітету.

(13) A

(11) 37874

(19) UA

При застосуванні цього методу об'єктом дослідження є як клітини, тісно зв'язані з епітеліальною вистилкою, багатою на антиадгезивні та антиколонізаційні речовини, так і злучені епітеліоцити. На останніх, значно позбавлених антиколонізаційних властивостей внаслідок втрати зв'язку із слизовою оболонкою, спостерігається інтенсивна адсорбція мікроорганізмів, якими багата ротова порожнина. Крім того, при розділенні епітеліальних клітин на РАМ-негативні і РАМ-позитивні не враховується ступінь їх колонізації мікроорганізмами, що істотно знижує інформативність одержаних результатів.

В основу винаходу покладено завдання створити спосіб визначення рівня антиколонізаційної резистентності слизової оболонки ротової порожнини, в якому за рахунок введення нових дій досягається зменшення негативного впливу нефіксованих епітеліальних клітин на показник рівня адсорбції мікроорганізмів, збільшення точності та інформативності способу.

Суть винаходу полягає в тому, що в способі визначення рівня антиколонізаційної резистентності слизової оболонки порожнини рота шляхом оцінки ступеня реакції адсорбції мікроорганізмів за підрахунком адсорбованих на епітеліоцитах мікроорганізмів і розподілом епітеліоцитів на групи попередньо перед зняттям мазка-відбитка слизової оболонки порожнини рота проводять старання полоскання порожнини рота теплою водою, розподіл епітеліоцитів здійснюється на 4 групи, а рівень антиколонізаційної резистентності оцінюють за середнім антиколонізаційним коефіцієнтом (САК), який визначають за формулою:

$$САК = \frac{4a + 3b + 2c + 1d}{X}$$

де а, b, с, d - кількість епітеліоцитів в кожній групі;

4 - антиколонізаційний коефіцієнт групи "а", до якої входять епітеліоцити з адсорбованими на них до 20 мікроорганізмів;

3 - антиколонізаційний коефіцієнт групи "b", до якої входять епітеліоцити з адсорбованими на них від 21 до 50 мікроорганізмів;

2 - антиколонізаційний коефіцієнт групи "с", до якої входять епітеліоцити з адсорбованими на них від 51 до 100 мікроорганізмів;

1 - антиколонізаційний коефіцієнт групи "d", до якої входять епітеліоцити з адсорбованими на них більше 100 мікроорганізмів;

X - загальна кількість епітеліоцитів,

а оцінку рівня антиколонізаційної резистентності здійснюють таким чином: при значенні $САК \geq 3$ - високий, при $2 \leq САК < 3$ - задовільний, при $САК \leq 2$ - низький.

Суттєвими відмінними ознаками винаходу є те, що в способі визначення рівня антиколонізаційної резистентності слизової оболонки порожнини рота перед зняттям мазка-відбитка слизової оболонки порожнини рота проводять старання полоскання порожнини рота теплою водою, розподіл епітеліоцитів здійснюється на 4 групи, а рівень антиколонізаційної резистентності оцінюють за середнім антиколонізаційним коефіцієнтом (САК), який визначають за формулою:

$$САК = \frac{4a + 3b + 2c + 1d}{X}$$

де а, b, с, d - кількість епітеліоцитів в кожній групі;

4 - антиколонізаційний коефіцієнт групи "а", до якої входять епітеліоцити з адсорбованими на них до 20 мікроорганізмів;

3 - антиколонізаційний коефіцієнт групи "b", до якої входять епітеліоцити з адсорбованими на них від 21 до 50 мікроорганізмів;

А - антиколонізаційний коефіцієнт групи "с", до якої входять епітеліоцити з адсорбованими на них від 51 до 100 мікроорганізмів;

1 - антиколонізаційний коефіцієнт групи "d", до якої входять епітеліоцити з адсорбованими на них більше 100 мікроорганізмів;

X - загальна кількість епітеліоцитів,

а оцінку рівня антиколонізаційної резистентності здійснюють таким чином: при значенні $САК \geq 3$ - високий, при $2 \leq САК < 3$ - задовільний, при $САК \leq 2$ - низький.

Спосіб здійснюється наступним чином.

Попередньо для звільнення слизової оболонки ротової порожнини від нефіксованих епітеліоцитів і мікроорганізмів проводиться старання полоскання рота теплою водою, після чого готується мазок-відбиток слизової оболонки (ясна, губи, щоки, піднебіння). Для цього знежирене, оброблене хромово-сірчаною сумішшю (біхромат калію 20 г, сірчана кислота 20 г, вода 200 мл) предметне скельце з відшліфованими краями тісно притискається до поверхні слизової оболонки на 10-15 сек. Свіжовисушені мазки-відбитки фіксуються (метанол, етиловий спирт, суміш Никифорова) і зафарбовуються за методами Романовського-Гімзи або Лейшмана. У випадку зафарбування за Май Грюнвальдом попередня фіксація не проводиться. Під іммерсійним мікроскопом у мазку проглядаються 100 епітеліальних клітин, які поділяються на 4 групи з присвоєнням кожній із груп залежно від наявності і ступеня колонізації певного антиколонізаційного коефіцієнта.

До першої групи (група "а") віднесені епітеліоцити, до котрих адгезовано не більше 20 мікроорганізмів, розміщених, як правило, хаотично, що свідчить про відсутність колонізації. Для цієї групи присвоюється найвищий антиколонізаційний коефіцієнт - 4.

До другої групи (група "b") віднесені епітеліальні клітини, на поверхні котрих є від 21 до 50 мікроорганізмів, які подекуди розміщені компактно, що свідчить про незначну їх колонізацію. Антиколонізаційний коефіцієнт для цієї групи - 3.

В третю групу (група "с") віднесені епітеліоцити з числом прикріплених мікробів від 51 до 100, розміщених переважно компактно, що свідчить про значну колонізацію. Для цієї групи присвоюється антиколонізаційний коефіцієнт - 2.

До четвертої групи (група "d") віднесені епітеліальні клітини, повністю покриті мікроорганізмами (більше 100 особин, тотальна колонізація). Для цієї групи встановлений найнижчий антиколонізаційний коефіцієнт - 1.

Середній антиколонізаційний коефіцієнт (САК) визначається за формулою:

$$CAK = \frac{4a + 3b + 2c + 1d}{X}$$

де в чисельнику - коефіцієнти і числові значення груп епітеліальних клітин,
X - число підрахованих епітеліальних клітин.

При значенні $CAK \geq 3$ рівень антиколонізаційної резистентності слизової оболонки ротової порожнини оцінюється як високий, при $2 \leq CAK \leq 3$ - задовільний, при $CAK \leq 2$ - низький.

Критерії оцінки розроблені на підставі результатів дослідження 143 осіб - 98 стоматологічних хворих, що перебували на амбулаторному лікуванні в клініці кафедри стоматології факультету післядипломної освіти лікарів Івано-Франківської державної медичної академії, і 45 осіб без стоматологічної патології. Узагальнені результати вивчення рівня антиколонізаційної резистентності слизової оболонки ротової порожнини обстежених людей наведені нижче див. табл.

Таким чином, застосування способу дає можливість досягнути технічного результату винаходу: уникнути негативного впливу нефіксованих епітеліальних клітин на показник рівня адсорбції мікроорганізмів, підвищення точності та інформативності способу.

Спосіб дозволяє протягом короткого часу провести підрахунок великої кількості епітеліальних клітин, доступний для виконання у клінічних, наукових і учбових лабораторіях, де є мікроскопи з імерсійною системою і можливе фарбування мікропрепаратів.

Спосіб може бути використаний як один з методів оцінки стану місцевого імунітету ротової порожнини при діагностиці захворювань, виборі тактики лікування і контролю за його ефективністю в стоматології, педіатрії, клінічній імунології, а також при екоімунологічному моніторинзі.

Таблиця.

Середні показники рівня антиколонізаційної резистентності слизової оболонки ротової порожнини у осіб з різною стоматологічною патологією і без неї

Категорія обстежених людей	Число обстежених людей	Антиколонізаційні коефіцієнти (%)				CAK
		4 група "а"	3 група "b"	2 група "с"	1 група "d"	
Незначні дефекти зубних рядів, користування коронками і мостовидними протезами	27	24,33±0,85	40,05±1,52	21,61±1,20	11,40±0,63	2,74±0,09
Значні дефекти зубних рядів, потреба в зйомних зубних протезах	21	26,71±1,03	18,20±0,90	25,01±1,10	28,82±1,65	2,41±0,10
Значні дефекти зубних рядів, користування протягом року і більше зйомними зубними протезами	18	16,15±0,80	29,1±0,90	16,42±1,45	28,33±1,40	2,42±0,12
Пародонтити, гінгівіти, стоматити	32	8,31±0,42	12,27±0,30	43,78±1,16	40,08±1,33	1,96±0,18
Без стоматологічної патології	45	25,41±0,70	58,42±1,25	12,47±0,70	4,10±0,42	3,07±0,15

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26
(044) 295-81-42, 295-61-97

Підписано до друку _____ 2001 р. Формат 60x84 1/8.
Обсяг _____ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. _____

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.
(044) 268-25-22