



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **78096** (13) **U**
(51) МПК (2013.01)
A61B 10/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2012 09762	(72) Винахідник(и): Бодня Катерина Ігорівна (UA), Савельєва Наталія Миколаївна (UA)
(22) Дата подання заявки: 13.08.2012	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 11.03.2013	(73) Власник(и): ХАРКІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ, вул. Корчагінців, 58, м. Харків, 61176 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 11.03.2013, Бюл.№ 5	

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ЛЯМБЛІОЗУ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГЕНЕРАЛІЗОВАНИЙ ПАРОДОНТИТ

(57) Реферат:

Спосіб діагностики лямбліозу у хворих на генералізований пародонтит, що включає дослідження біологічного матеріалу, причому проводять мікробіологічне дослідження вмісту порожнини рота і, при виявленні *E. Faecalis*, додатково проводять триразове мікроскопічне дослідження фекалій, на виявлення цист найпростіших.

UA 78096 U

Корисна модель належить до медицини, а саме до стоматології та паразитології і може бути використана для діагностики лямбліозу у хворих на генералізований пародонтит (ГП) та для корекції порушень мікробіоценозу ротової порожнини у при цьому паразитарному захворюванні.

Лямбліоз - широко розповсюджене паразитарне захворювання людини, що викликається представником сімейства *Protozoe Giardia lamblia* (синоніми: *Giardia intestinalis*, *Giardia duodenalis*, *Lamblia intestinalis*), належить до роду найпростіших, що мешкають в просвіті тонкої кишки людини. В результаті тривалої персистенції лямблій в організмі, накопиченні їх продуктів метаболізму, особливо при недостатньо ефективному імунному захисті, здатному відокремити їх розмноження, формується синдром хронічної ендогенної інтоксикації, що призводить до ураження усіх органів і систем організму людини, у тому числі і органів ротової порожнини (слизова порожнини рота, тканини пародонта, які є складовою травного каналу).

Різноманітність клінічних проявів лямбліозу і відсутність патогномічних клінічних симптомів цього захворювання потребує обов'язкового лабораторного підтвердження діагнозу. Ураження організму людини лямбліями чи іншими гельмінтами зустрічаються самостійно чи при супутній соматичній патології, часто провокують їх, проте при ГП не описані.

Відомі різні лабораторні способи діагностики лямбліозу: за виявленням специфічних антигенів в фекаліях, специфічних антитіл в сироватці крові методом імуноферментного аналізу (ІФА) (Faubert G. Immune Response to *Giardia duodenalis* / G.Faubert //Clin. Microbiol. Rev.-2000. - № 1. - С. 35-54.); молекулярно-генетичної діагностики методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) (Авдюхина Т.И. Лямблиоз (учебное пособие)/ Т.И. Авдюхина, Т.Н. Константинова, Т.В. Кучеря. - М.: 2003. - С. 16-17). Проте, вони складні, потребують спеціального обладнання, не завжди точні у зв'язку з перехресними реакціями антигенів лямблій з іншими паразитарними і соматичними антигенами, не входять в стандарт офіційної діагностики і тому потребують підтвердження діагнозу за мікробіологічним аналізом калу. Дані дослідження не використовують при генералізованому пародонтиті.

Найбільш близьким до запропонованого способу є спосіб діагностики лямбліозу (Современные аспекты диагностики лямблиоза у человека / Е.В. Агафонова, Д.А. Долбин, С.Н. Куликов и др.// Рус. мед. журн.-2008. - №16 (17). - С. 146-149.), який включає виявлення цист або трофозоїтів в фекаліях або дуоденальному вмісті при мікроскопічному дослідженні.

Проте відомий спосіб має недостатню ефективність (до 50 %), обумовлену тим, що цистовиділення має уривчастий характер (тривалість "німих" проміжків складає 8-12 днів), що пов'язано з особливостями розмноження трофозоїтів лямблій, якість аналізу залежить від компетентності лаборанта, якості і вірності проведення всіх етапів дослідження (дослідження слід проводити на свіжих, ще "тепліх" зразках матеріалу, що не завжди можливо на практиці), метод дозволяє виявляти лише паразитів з нормальною морфологією, діагностика лямбліозу у хворих на ГП раніше зовсім не проводилась. Складність діагностики лямбліозу представляє також ідентифікація атипичних цист, для виявлення яких потрібне триразове, а інколи і більше разів мікробіологічне дослідження.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалення способу діагностики лямбліозу у хворих на хронічний генералізований пародонтит, в якому за рахунок додаткового дослідження, досягається визначення ознаки паразитарного захворювання, а саме, лямбліозу у хворих на ГП.

Поставлена задача вирішується в способі діагностики лямбліозу у хворих на генералізований пародонтит, що включає дослідження біологічного матеріалу, згідно з корисною моделлю, проводять мікробіологічне дослідження вмісту порожнини рота і при виявленні *E. Faecalis*, додатково проводять триразове мікроскопічне дослідження фекалій на виявлення цист найпростіших.

Для підтвердження того, що *E. Faecalis* є непрямою ознакою паразитарного захворювання, було проведено дослідження 90 хворих з ГП I-II ст. тяжкості, що знаходились на лікуванні з приводу паразитарних інвазій. Встановлені відмінності в частоті виділення різних умовно-патогенних мікроорганізмів залежно від типу паразитозу: *E. Faecalis*, виділені в найбільшій кількості від хворих на ГП на тлі лямбліозу. Саме тому наявність цього мікроорганізму в ротовій порожнині може бути непрямою ознакою паразитарного захворювання і слугувати додатковим методом для його виявлення.

Спосіб здійснюють таким чином: пацієнтам, що страждають на ГП в комплексне дослідження обов'язково включають мікробіологічне дослідження вмісту порожнини рота і при виявленні *E. Faecalis* додатково (обов'язково) проводять мікроскопічне дослідження фекалій на виявлення цист найпростіших.

Приклад: хворий Б., 25 років, звернувся в стоматологічну поліклініку зі скаргами на підвищену кровоточивість ясен, що виникає при чищенні зубів. Подібні симптоми відмічає

протягом останніх 3 років, за кваліфікованою стоматологічною допомогою не звертався. При об'єктивному обстеженні: ясна набряклі, спостерігаються явища застійної гіперемії і кровоточивості при доторкуванні зондом, визначаються пародонтальні кармани глибиною 3,5-4,0, над- і під'ясенні зубні нашарування, шийки зубів оголені на 2,0-2,5 мм, рухомість окремих зубів 1-2 ступеня. Індекс гігієни за Федоровим-Володкіною - 2,0 бали, індекс РМА за Парма - 35 %, проба Кулаженко - 30 с, проба Шилера-Писарева ++. Під час рентгенологічного обстеження виявлена резорбція міжальвеолярних перегородок на 1/3 їх висоти. При мікробіологічному дослідженні вмісту порожнини рота виявлені *E. faecalis*, *S. epidermidis*, *Lactobacillus* spp., *Lactobacillus* spp., *N. subflava*, *H. influenza*, *Corynebacterium* spp., *C. albicans*, *S. mitis*.

Додатково проведено триразове дослідження фекалій на наявність цист та найпростіших. Виявлені цисти лямблій в фекаліях. Проведено лікування хворого на лямбліоз і ГП. Стан хворого через 3 місяці після лікування задовільний. В результаті клінічного дослідження крові, сечі, мікробіологічних досліджень змиву порожнини рота та триразової світлової мікроскопії калу відхилень не виявлено.

Запропонованим способом було обстежено 90 хворих. За типом ураження пацієнти були розподілені на три групи. У першу групу входили 30 хворих із лямбліозом (протозойний паразитоз), в другу - 30 хворих з ентеробіозом (просвітний глистяний паразитоз), в третю групу - 30 хворих з токсокарозом (тканевий паразитоз). Наявність протозойної або глистяної інвазії було підтверджено за допомогою вивчення дуоденального вмісту (у разі лямбліозу) і світлової мікроскопії фекалій (у перших двох групах).

Також для підтвердження діагнозу у всіх групах хворих досліджували сироватку крові з метою виявлення специфічних антитіл класу IgM та IgG до збудників захворювань за допомогою імуноферментного аналізу.

Для усунення контамінації матеріалу мікрофлорою з харчових продуктів, матеріал із ротової порожнини забирали натще серце або через 3-4 години після їжі. У день взяття матеріалу для дослідження рекомендували утриматися від чищення зубів, а також застосування лікарських препаратів і полоскання порожнини рота. Збір матеріалу проводили за допомогою стерильного тампона в такій послідовності: слизова щік, кореня язика, зовнішня поверхня ясен.

Виділення аеробних, факультативно-анаеробних бактерій та грибів проводили за загальноприйнятою методикою [Приказ № 535 МЗ СРСР от 22.04.1985 г. "Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений". - М: Мин. здрав. СССР, 1985.-123 с.].

Для цього робили посіви на 5 % кров'яний агар, цукровий бульйон, середовище Ендо та Сабуро. Інкубація матеріалу проводилась при температурі 37 °С, а матеріал середовища Сабуро витримували протягом 24 годин при кімнатній температурі. При появі росту на твердих поживних середовищах проводили підрахунок колоній різної морфології, беручи до уваги їхнє співвідношення. При помутнінні бульйону робили мазки, фарбували їх за Грамом й відповідно до результатів мікроскопії робили подальші посіви на щільні поживні середовища (кров'яний агар, жовточно-сольовий агар, середовище Ендо тощо). Потім проводили ідентифікацію мікроорганізмів за морфологічними, культуральними та біохімічними властивостями до виду, а в деяких випадках у разі неможливості видової ідентифікації - до роду.

Культивування анаеробних бактерій здійснювали з використанням анаеростатів і газорегенераторних пакетів "Anaerocult-A mini" згідно з відповідними рекомендаціями [Лабораторна діагностика гнійно-запальних захворювань, обумовлених аспорогенними анаеробними мікроорганізмами: методичні рекомендації / [В.Ф. Дяченко, С.В. Бірюкова, З.Г. Старобінець та ін.]. - Харків, 2000.-35 с.].

Від 90 хворих було виділено 395 штами мікроорганізмів, тобто в середньому від одного хворого було виділено 4,4 мікроорганізми. Переважна більшість мікроорганізмів належала до бактерій - 395 штами (89,6 %), також було виділено 46 штамів (10,4 %) грибів *Candida albicans*.

Серед усіх виділених мікроорганізмів переважали грам-позитивні коки, які склали більше половини штамів 226 штамів, що складає - 51,2 % від загальної кількості виділених мікроорганізмів, а саме: *Streptococcus* spp.-134 штамів - (30,4 %), *Staphylococcus* spp. 92 штами - (20,8 %) - а *Enterococcus* spp.-12 штамів - (2,8 %). Під *Staphylococcus* був представлений *S. epidermidis* 56 штами (12,8 %) і *S. Aureus*-33 штамів - (7,6 %), а також був виділений 2 штам *S. haemolyticus*. Стрептококи були представлені переважно *S. pyogenes* 62 штамів - (14 %) і *S. mitis*-48 штамів (10,8 %)- із паличкоподібних бактерій найчастіше були виділені *Lactobacillus* spp.-67 штами (15,2 %), а також представники родини *Enterobacteriaceae*-84 штамів (7,6 %), а

same: *Escherichia coli*-21 штамів (4,8 %), *Klebsiella pneumoniae*-7 штамів (1,6 %) та *Enterobacter aerogenes*-5 штами (1,2 %).

Серед виділених мікроорганізмів переважали *Lactobacillus* spp. -(74,51 % хворих) (рис. 1), *S. pyogenes* - (68,63 % хворих), *S. epidermidis* (62,75 % хворих) та *S. mitis* (52,94 % хворих). Гриби *C. albicans* були виділені у 50,98 % пацієнтів, тобто у половини обстежених хворих. У 37,25 % хворих був присутній *S. aureus* та у 23,53 % - *E. coli*. У 21,57 % були виділені *Neisseria subflava*, у 19,61 % хворих - *Corynebacterium* spp.

Наявність змивів з порожнини рота умовно-патогенних бактерій, таких як золотистий стафілокок, кишкова паличка, клебсієла, ентерококи, а також грибів свідчить про порушення нормобіоценозу ротової порожнини, яке потребує більш пильної уваги. Тому на наступному етапі дослідження було проаналізовано детально склад мікрофлори залежно від типу наявного паразитозу - лямблійоз (протозойний паразитоз), ентеробіоз просвітний глистяний паразитоз) та токсокароз (тканевий паразитоз). Дані наведені в таблиці.

Таблиця

Мікроорганізми, виділені з ротової порожнини у хворих на різні паразитози

Мікроорганізм	Тип паразитозу			P
	Лямблійоз	Ентеробіоз	Токсокароз	
<i>E. faecalis</i>	10(35,29 %)	0	1(3,3 %)	0,006
<i>S. epidermidis</i>	23(76,47 %)	16(52,94 %)	18(58,82 %)	0,336
<i>S. aureus</i>	12(41,18 %)	14(47,06 %)	7(23,53 %)	0,336
<i>Lactobacillus</i> spp.	21(70,59 %)	19(64,71 %)	26(88,24 %)	0,261
<i>N. subflava</i>	10(35,29 %)	7(23,53 %)	2(5,88)	0,111
<i>Corynebacterium</i> spp.	7(23,53 %)	3(11,76 %)	7(23,53 %)	0,608
<i>C. albicans</i>	16(52,94 %)	10(35,29 %)	20(67,71 %)	0,225
<i>E. coli</i>	9(29,41 %)	5(17,65 %)	7(23,53 %)	0,721
<i>S. pyogenes</i>	23(76,47 %)	21(70,59 %)	18(58,82 %)	0,529
<i>S. mitis</i>	21(70,59 %)	10(35,29 %)	16(52,94 %)	0,119

Дані таблиці свідчать, що при лямблійозі у 10 хворих (35,29 % випадків) був висіяний *E. faecalis*, в той же час, як при ентеробіозі цей вид мікроорганізмів був відсутній, а при токсокарозі - був виявлений лише у 1 хворого (3,3 % випадків) ($p=0,006$).

Тобто, стійкі зміни складу і властивостей мікрофлори порожнини рота при ГП на тлі лямблійозу та поява певного мікроорганізму - *E. faecalis*, нехарактерного для даного біотопу, виявилися вирішальними для ще одного метода об'єктивної діагностики цього паразитарного захворювання.

Таким чином, запропонований спосіб діагностики лямблійозу у хворого на генералізований пародонтит простий у виконанні, підвищує діагностику і сприяє покращенню лікування хворих генералізованим пародонтитом на тлі зазначеного паразитозу.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб діагностики лямблійозу у хворих на генералізований пародонтит, що включає дослідження біологічного матеріалу, який **відрізняється** тим, що проводять мікробіологічне дослідження вмісту порожнини рота і, при виявленні *E. Faecalis*, додатково проводять триразове мікроскопічне дослідження фекалій на виявлення цист найпростіших.

Комп'ютерна верстка Л.Литвиненко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601