

**Т. Л. Шевела, И. О. Походенько-Чудакова**

*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь*

### **ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИТЕЛ К *HELICOBACTER PYLORI* В РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ ПАЦИЕНТОВ С ПЕРИИМПЛАНТИТОМ**

Изучена эффективность иммунохроматографического теста для определения антител к *Helicobacter pylori* в ротовой жидкости у 274 пациентов с периимплантитом. Все пациенты были разделены на две группы. Первая группа включала 248 лиц с остеоинтегрированными имплантатами, вторая группа – 26 пациентов, у которых на основании клинической картины и по данным лучевых методов исследования верифицирован диагноз периимплантит. По результатам исследования цельной крови положительный тест на *Helicobacter pylori* был у 8 % лиц первой группы и у 85 % пациентов второй группы. В то же время при исследовании ротовой жидкости тест был положителен у 15 % лиц первой группы и у 100 % пациентов второй группы. Следовательно, носительство *Helicobacter pylori* является одним из факторов развития периимплантита и должно расцениваться как относительное противопоказание к проведению операции дентальной имплантации. Представленный материал убедительно свидетельствует об эффективности иммунохроматографического теста для определения антител к *Helicobacter pylori* в ротовой жидкости у пациентов с периимплантитом.

*Ключевые слова:* периимплантит, *Helicobacter pylori*, иммунохроматографический тест, ротовая жидкость.

**T. L. Shevela, I. O. Pohodenko-Chudakova**

*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

### **IMMUNOASSAY EFFECTIVENESS FOR DETERMINING OF ANTIBODIES TO *HELICOBACTER PYLORI* IN THE ORAL FLUID OF PATIENTS WITH PERIIMPLANTITIS**

The aim is to determine the immunoassay effectiveness for determination of antibodies to *Helicobacter pylori* in the oral fluid of patients with periimplantitis.

We examined 274 patients. The first group included 248 patients with osteointegrated implants. The second group of 26 patients had the diagnosis of the periimplantitis on the basis of clinical data and the radiological methods. A positive test for *Helicobacter pylori* according to whole blood was determined in 8 % of patients of the 1st group and in 85 % of the 2nd group. While according to the oral fluid, the test results were positive in 15 % of patients of the 1st group and 100 % patients of the 2nd group. Consequently, the *Helicobacter pylori* is one of the factors in the development of periimplantitis and should be considered as a relative contraindication to the operation of dental implantation. The presented material confirms the immunoassay effectiveness for determination of antibodies to *Helicobacter pylori* in the oral fluid of patients with periimplantitis.

*Keywords:* periimplantitis, *Helicobacter pylori*, immunoassay, oral fluid.

**Введение.** Эффективное комплексное лечение пациентов после операции дентальной имплантации предполагает назначение лекарственных противомикробных средств. Развитие же периимплантита после проведенного лечения связано с резистентностью микрофлоры как к антибиотикам, так и к ее видовым составам [1]. Поскольку известно, что одним из ведущих этиологических факторов в развитии периимплантита являются микроорганизмы [2], важным представляется определение состава микрофлоры в очагах воспаления для выбора оптимального противомикробного лечения [3].

На современном этапе применяют методы диагностики, позволяющие установить качественный и количественный состав микрофлоры. Для последующего целенаправленного назначения антибактериальной терапии представляется целесообразным определение видового состава микрофлоры до проведения операции.

К методам микробиологического исследования относят полимеразную цепную реакцию (ПЦР) и масс-спектрометрию [4]. ПЦР-диагностика дает возможность обнаружить ДНК микроорганизмов, которые не всегда удается культивировать. Данное исследование предполагает трех-

этапный циклический процесс, в результате которого многократно увеличивается количество специфического фрагмента ДНК. Методика осуществляется с применением набора праймеров для определения микрофлоры и характеризуется как качественная, но дорогостоящая [5].

Масс-спектрометрия – высокоточная методика, позволяющая установить видовую принадлежность всех жизнеспособных и культивируемых бактериальных форм. Этот физический метод измерения выполняется с помощью прибора, способного в условиях вакуума разделять находящееся в газовой фазе заряженные частицы вещества согласно соотношению их массы и заряда.

В то же время в ряде публикаций полость рта рассматривается как естественный резервуар *Helicobacter pylori* (НР) [6]. При этом указанный микроорганизм представляет собой основную причину реинфицирования слизистой оболочки желудка [7]. В других работах подчеркивается осложненное течение заболеваний пародонта у НР-инфицированных пациентов [6].

Каждый из методов выявления НР имеет свои преимущества и недостатки, а также отличается чувствительностью и специфичностью. Многочисленные сравнительные исследования показали, что результаты, полученные с применением различных методов, не всегда идентичны. На основании этого пришли к выводу о необходимости одновременного использования двух, а иногда и трех методов с целью исключения ложнонегативных или ложнопозитивных показателей [8]. При этом результат следует считать положительным или отрицательным при совпадении показателей всех примененных методов исследования.

При диагностике инфицирования НР у пациентов применяют как инвазивные, так и неинвазивные методы. Инвазивный метод связан с забором образца ткани (биопсией) желудка или двенадцатиперстной кишки и последующим определением уреазы, культивированием или гистологическим окрашиванием взятого материала. Неинвазивные методы включают тест на мочевины в выдыхаемом воздухе, что требует применения дорогостоящего лабораторного оборудования и умеренного воздействия радиоактивными изотопами. Кроме того, существуют серологические методы, основанные на образовании антител к НР, что строго коррелирует с гистологически подтвержденной инфекцией [9]. Недостатком данных методик является отсутствие селективности в отношении штаммов НР и, как следствие, увеличение вероятности получения ложноположительных результатов.

В амбулаторной практике применяется диагностический мембранный метод тест-кассеты, который является иммунохроматографическим тестом и предназначен для быстрого и качественного определения антител к НР (цельная кровь/сыворотка/плазма). Метод тест-кассеты является простым, легко воспроизводимым тестом, в котором используется сочетание частиц, покрытых антигеном НР, и антител к человеческому IgG для качественного и селективного определения антител к НР в цельной крови, сыворотке и плазме.

Согласно данной методике, цельная кровь, забранная из пальца, вступает в реакцию с частицами, покрытыми антигеном НР. Далее забранная кровь с этими частицами взаимодействует с реагентами, нанесенными на тест-кассету, вызывая капиллярное увлажнение мембраны.

Полученные данные интерпретируют в соответствии с окрашиванием линий на кассете. Положительный результат (образец содержит антитела к НР) характеризуется двумя окрашенными линиями: одной – на участке полоски контроля, другой – на участке тестовой полоски. При этом интенсивность окрашенной тестовой полоски может варьироваться в зависимости от концентрации антител к НР, присутствующих в пробе. Отрицательный результат определяется, если образец не содержит антител к НР, на что указывает наличие одной окрашенной полоски – линии контроля. При этом следует подчеркнуть, что, как и при применении других диагностических тестов, все результаты рассматриваются совместно с остальной клинической информацией.

В ротовой жидкости до настоящего времени идентифицировано 23 вируса. Они выделены в образцах указанного биологического субстрата по степени реактивности антител, обнаружению антигена или выделению нуклеиновой кислоты методом ПЦР-анализа. Это вирусы герпеса, гепатита А, В и С, ВИЧ-инфекции, папилломы человека, гриппа и полиомиелита. Помимо вирусов в ротовой жидкости определяется 14 бактериальных штаммов, а именно *Escherichia coli*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Helicobacter pylori*, *Treponema pallidum* и множество разновидностей стрептококковых [10].

Цель работы – определить эффективность иммунохроматографического метода выявления антител к *Helicobacter pylori* в ротовой жидкости пациентов с периимплантитом.

**Материалы и методы исследования.** Материалом исследования на предмет носительства НР служила цельная кровь, забранная из пальца, и ротовая жидкость 274 пациентов с остеоинтегрированными имплантатами и лиц с периимплантитом.

Все пациенты были рандомизированно разделены на две группы, сопоставимые по демографическим, нозологическим показателям. Первая группа включала 248 пациентов с остеоинтегрированными имплантатами, вторая – 26 лиц, у которых на основании клинической картины и по результатам лучевых методов исследования верифицирован диагноз периимплантит. Лица, принадлежавшие ко второй клинической группе, предъявляли жалобы на боли при жевании в области установленных имплантатов, подвижность последних. При осмотре полости рта в зоне развития воспалительно-деструктивного осложнения отмечали отек, кровоточивость при зондировании десневой манжетки, присутствие отделяемого из кармана, наличие свища на слизистой оболочке десны, подвижность имплантата. Результаты лучевых методов исследования указывали на снижение горизонтального уровня костной ткани в области имплантата, наличие вертикальных дефектов кости.

После верификации диагноза все дезинтегрированные дентальные имплантаты удаляли.

Для определения антител к НР в ротовой жидкости пациентов обеих групп использовали диагностический иммунохроматографический мембранный метод тест-кассеты в соответствии с предложенным авторами способом. Для этого утром, натощак, не ранее чем через 30 мин после чистки зубов осуществляли забор ротовой жидкости (путем ее сплевывания) в стерильные пробирки. Затем исследуемый биологический материал наносили на тест-кассету при помощи пипетки, после чего происходило капиллярное увлажнение мембраны. Результат оценивали через 10 мин. Наличие антител к НР, определяемое по окрашиванию двух линий на кассете, указывало на положительный результат. Если в исследуемом материале антитела к НР отсутствовали (наличие одной окрашенной полоски), результат считали отрицательным.

**Результаты и их обсуждение.** При сравнении полученных результатов анализа цельной крови у пациентов двух групп констатировали следующее. Положительный результат (образец содержал антитела к НР) в первой группе констатировали у 19 (8 %) пациентов, во второй группе – у 22 (85 %). При этом интенсивность окрашенной тестовой полоски варьировалась в зависимости от концентрации антител к НР, присутствующих в пробе. Отрицательный результат в первой группе был констатирован в 92 % наблюдений, а во второй группе – только в 8 %.

Анализ результатов ротовой жидкости выявил содержание антител к НР у 37 (15 %) пациентов первой группы и у 26 (100 %) лиц второй группы.

Полученные результаты дают основание считать, что определенную роль в развитии периимплантита в организме пациентов играет присутствие НР.

Известно, что развитие инфекционного процесса в костной ткани, непосредственно прилежащей к дентальному имплантату, является одной из основных причин дезинтеграции, а затем и удаления последнего. При этом важной задачей является установление причины развития воспалительно-деструктивных изменений в тканях, непосредственно прилежащих к дентальному имплантату. Успешное решение данной задачи способствует не только своевременному купированию воспалительно-деструктивного процесса, но во многом определяет возможность дальнейшего функционирования дентального имплантата в заинтересованной зоне. В то же время существует точка зрения, что периимплантит вызывает определенная микрофлора, в том числе присутствующая в полости рта в норме [11]. Однако в специальной отечественной и зарубежной литературе работы, посвященные исследованиям данной направленности, единичны, а их данные весьма противоречивы. В связи с этим полученные новые данные имеют не только фундаментальное, но и выраженное прикладное значение и определенным образом восполняют существующий пробел в знаниях по данному вопросу. Кроме того, они могут представлять один из ключевых моментов для успешного решения задач по прогнозированию, профилактике и лечению воспалительно-деструктивных осложнений после дентальной имплантации.

Следовательно, носительство НР является одним из факторов развития периимплантита и должно расцениваться как относительное противопоказание к проведению операции денталь-

ной имплантации. Указанная клиническая ситуация может быть скорректирована при помощи этиотропной противомикробной терапии, что позволит предупредить развитие осложнений в послеоперационном периоде.

**Заключение.** Представленный материал убедительно свидетельствует об эффективности иммунохроматографического теста для определения антител к *Helicobacter pylori* в ротовой жидкости у пациентов с периимплантитом.

### Список использованных источников

1. Гударьян, А. А. Роль аэробной и анаэробной микрофлоры в развитии дентального мукозита и дентального периимплантита / А. А. Гударьян // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Т. 1, № 2. – С. 132–135.
2. Clinical, microbiological and immunological findings in peri-implants patients with bar-retained removable partial dentures, compared to a healthy control group (12-month-follow-up) / C. Mesmer [et al.] // *Fogorv. Sz.* – 2012. – N 105. – P. 59–64.
3. Вавилова, Т. П. Слюна. Аналитические возможности и перспективы / Т. П. Вавилова, О. О. Янушевич, И. Г. Островская. – М.: БИНОМ, 2014. – 312 с.
4. Гажва, С. И. Комплексное лечение заболеваний слизистой оболочки полости рта у пациентов с патологией желудочно-кишечного тракта / С. И. Гажва, О. В. Шкаредная // *Пародонтология.* – 2012. – № 4 (65). – С. 62–65.
5. Косюга, С. Ю. Клинический случай десквамативного глоссита у пациента со слабой степенью обсемененности желудка *Helicobacter pylori* / С. Ю. Косюга, Л. М. Лукиных, С. Э. Варванина // *Клин. стоматология.* – 2015. – № 2. – С. 10–13.
6. Нейзберг, Д. М. Роль эктопических очагов *Helicobacter pylori* при хроническом генерализованном пародонтите / Д. М. Нейзберг, И. Ю. Стюф // *Пародонтология.* – 2011. – № 2 (59). – С. 9–13.
7. Wirth, H. P. Dyspepsia. Ulcer disease – *Helicobacter pylori*. Gastroesophageal reflux disease / H. P. Wirth // *Praxis.* – 2016. Vol. 105, N 12. – P. 693–700.
8. Шварц, Ф. Периимплантит: этиология, диагностика и лечение / Ф. Шварц, Ю. Бекер. – Львов: ГалДент, 2014. – 282 с.
9. A controlled, cross-sectional exploratory study on markers for the plasminogen system and inflammation in crevicular fluid samples from healthy, mucositis and periimplantitis sites / J. Hall [et al.] // *Eur. J. Oral Implantol.* – 2015. – Vol. 8, N 2. – P. 153–166.
10. Diagnosis and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection / X. Calvet [et al.] // *Helicobacter.* – 2013. – N 18. – P. 5–11.
11. Burrows, R. S. Risk factors in implant treatment planning / R. S. Burrows // *Eur. J. for Dental Implantologists.* – 2013. – Vol. 9, N 1. – P. 74–79.

### References

1. Gudar'yan A. A. "The role of aerobic and anaerobic microflora in the development of dental mucositis and peri-implantitis dental", *Visnik problem biologii i meditsini* [Bulletin problems of biology and medicine], 2014, vol. 1, no. 2, pp. 132–135.
2. Mesmer C., Forster A., Antal M., Nagy K. "Clinical, microbiological and immunological findings in peri-implants patients with bar-retained removable partial dentures, compared to a healthy control group (12-month-follow-up)", *Fogorvosi Szemle*, 2012, no. 105, pp. 59–64.
3. Vavilova T. P., Yanushevich O. O., Ostrovskaya I. G. *Slyuna. Analiticheskie vozmozhnosti i perspektivy* [Saliva. Analytical possibilities and perspectives], Izdatel'stvo BINOM, Moscow, RU, 2014.
4. Gzhva S. I., Shkarednaya O. V. "Multimodality treatment of diseases of oral mucosa of patients with the digestive tract pathology", *Parodontologiya* [Periodontology], 2012, no. 4 (65), pp. 62–65.
5. Kosyuga S. Yu., Lukinykh L. M., Varvanina S. E. "Case desquamative glossitis in a patient with a low degree of contamination of the stomach *Helicobacter pylori*", *Klinicheskaya stomatologiya* [Clinical Dentistry], 2015, no. 2, pp. 10–13.
6. Neizberg D. M., Styuf I. Yu. "Role of ectopic foci of *Helicobacter pylori* at chronic generalized periodontitis", *Parodontologiya* [Periodontology], 2011, no. 2 (59), pp. 9–13.
7. Wirth H. P. "Dyspepsia. Ulcer disease – *Helicobacter pylori*. Gastroesophageal reflux disease", *Praxis*, 2016, vol. 105, no. 12, pp. 693–700.
8. Shvarts F., Beker Yu. *Periimplantit: etiologiya, diagnostika i lechenie* [Periimplantitis: etiology, diagnosis and treatment], Izd. GalDent, L'vov, UA, 2014.
9. Hall J., Pehrson N., Ekestubbe A., Jemt T., Friberg B. "A controlled, cross-sectional exploratory study on markers for the plasminogen system and inflammation in crevicular fluid samples from healthy, mucositis and periimplantitis sites", *European Journal of Oral Implantology*, 2015, vol. 8, no. 2, pp. 153–166.
10. Calvet X., Ramirez Lazaro M. J., Lehours P., Megraud F. "Diagnosis and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection", *Helicobacter*, 2013, no. 18, pp. 5–11.
11. Burrows R. S. "Risk factors in implant treatment planning. Case study of a patient with two missing lower incisors", *European Journal for Dental Implantologists*, 2013, vol. 9, no. 1, pp. 74–79.

### Информация об авторах

*Шевела Татьяна Леонидовна* – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: shevelatatyana@mail.ru

*Походенько-Чудакова Ирина Олеговна* – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: ip-c@yandex.ru

### Для цитирования

Шевела, Т. Л. Эффективность иммунохроматографического определения антител к *Helicobacter pylori* в ротовой жидкости пациентов с периимплантитом / Т. Л. Шевела, И. О. Походенько-Чудакова // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2017. – № 1. – С. 118–122.

### Information about the authors

*Shevela Tat'yana Leonidovna* – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: patfiz@bsmu.by

*Pohodenko-Chudakova Irina Olegovna* – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: patfiz@bsmu.by

### For citation

Shevela T. L., Pohodenko-Chudakova I. O. “The effectiveness of immunoassay for determining of antibodies to *Helicobacter pylori* in the oral fluid of patients with peri-implantitis”. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk* [Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, medical series], 2017, no. 1, pp. 118–122.