

МОДИФИКАЦИЯ ТЕСТА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ПАРОДОНТИТА

Л.А. Дейнека
А.А. Копытов
М.Ю. Игишева
В.А. Борозенцева

*Белгородский
государственный
национальный
исследовательский
университет*

*Россия, 308015 Белгород,
ул. Победы, 85*

E-mail: deineka@bsu.edu.ru

В работе предложена новая модификация проведения тестирования для выявления пародонтита, для этого использована качественная реакция с нингидрином. Проведение тестирования в стоматологическом кабинете показало высокую распространенность этого заболевания.

Ключевые слова: пародонтит, нингидрин, десневая жидкость, тестирование, тест-полоски, аминокислоты белков.

Введение

Одной из наиболее распространенных патологий среди стоматологических заболеваний является воспаление тканей пародонта [1]. Распространенность пародонтита в различных странах мира варьирует от 40% до 75% и во многом зависит от возраста, уровня жизни населения и гигиены полости рта [2]. Высокий уровень заболеваемости пародонтитом (ВОЗ, 1990), тяжесть течения некоторых форм патологии пародонта, потеря зубов и как результат значительные изменения в зубочелюстной системе, уменьшение работоспособности, снижение качества жизни населения – все это позволяет считать заболевания пародонта не только серьезной медицинской, но и важной социальной проблемой [3]. Раннюю диагностику состояния пародонта можно проводить по количеству и составу в десневой жидкости аминокислот белков. Для установления белковой природы веществ, применяются цветные реакции идентификации белков и определения их аминокислотного состава в различных биологических жидкостях. Распространенность данного заболевания среди населения всех возрастов требует ранней диагностики этого заболевания простыми и доступными методами. Чаще всего для диагностики состояния пародонта определяют количество десневой жидкости, а именно наличие в десневой жидкости аминокислот белков. Использование десневой жидкости с целью ранней диагностики болезней пародонта впервые было обосновано в работах Г.М. Барера и его сотрудников [4, 5]. В стоматологии чаще всего для этих целей используют качественную реакцию с нингидрином. Этот метод диагностики прост в исполнении и не требует специальных навыков в работе, но главным недостатком этого метода является интенсивная окраска реагента. Поэтому разработка модифицированной технологии проведения тестирования, позволяющей проводить диагностику «не испачкав рук и инструментов» является весьма актуальной.

Экспериментальная часть

Для проведения тестирования нами была предложена следующая технология: тест-полоски пропитывали модельными растворами (далее десневой жидкостью), подсушивали, помещали на предметное стекло и обрабатывали раствором нингидрина с помощью кисточки. В качестве материала для изготовления тест-полосок были выбраны фильтровальная и хроматографическая бумаги; размер тест – полосок 2.0×0.6 см. Сначала методика была отработана на модельных растворах отдельных аминокислот, адсорбированных на тест – полосках, изготовленных из фильтровальной или хроматографической бумаги. Для этого были приготовлены модельные растворы 18 аминокислот.

Отработанная технология была проверена на тест-полосках, пропитанных десневой жидкостью, которая наносилась на тест-полоски в стоматологическом кабинете врачом стоматологом. С целью ранней диагностики состояния пародонта определяют количество десневой жидкости [6]. Десневую жидкость для количественных исследо-



ваний получали по так называемому внутрибороздковому методу N. Brill и V. Krasse с помощью полосок фильтровальной или хроматографической. Перед исследованием зубы и прилегающую к ним десну тщательно очищали от зубного налета, изолировали от слюны ватными валиками и высушивали. В устье десневого желобка (кармана) вводили заостренный конец бумажной полоски так, чтобы он не доходил до дна, для предупреждения механической стимуляции тканей и последующего увеличения тока жидкости. Бумажные полоски вводили в желобок в области межзубных десневых сосочков. Время получения десневой жидкости установлено 3 минуты. Для выявления зоны пропитывания применяли окраску полосок 0.2%-ным спиртовым раствором нингидрина. Чем больше площадь окрашивания на тест-полосках, тем выше уровень поражения пародонтозом у пациента [7, 8].

Результаты и их обсуждение

При изучении скорости протекания качественной реакции аминокислот (концентрация 1 моль/л) с нингидрином на тест-полосках, изготовленных из фильтровальной бумаги было установлено, что в пределах 1 минуты протекает реакция нингидрина со всеми аминокислотами кроме тирозина, а в пределах двух минут – и с тирозином (рис. 1).

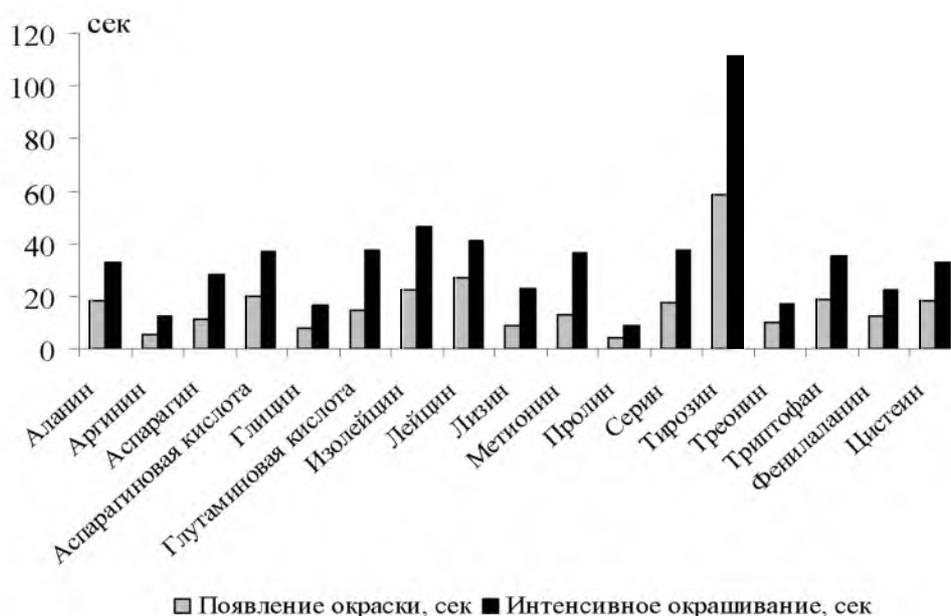


Рис. 1. Время появления окраски при взаимодействии растворов аминокислот (1 моль/л) с нингидрином на тест-полосках из фильтровальной бумаги

Важную роль при диагностике пародонтита может играть концентрация белков в десневой жидкости, поэтому на модельных растворах было изучено, как изменяется скорость протекания качественной реакции аминокислот с нингидрином при разных концентрациях аминокислот от 1 моль/л до 0.00001 моль/л. (табл. 1) и рис. 2.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в большом интервале концентраций аминокислот (от 1 моль/л до 0.00001 моль/л) качественная реакция с нингидрином до появления интенсивного окрашивания протекает менее чем за 3 минуты, причем чем выше концентрация аминокислоты, тем быстрее появляется интенсивное окрашивание на тест-полосках.

Сравнение экспериментальных данных полученных с использованием в качестве материала для тест-полосок фильтровальной и хроматографической бумаги показало, что результаты полученные с использованием хроматографической бумаги являются более воспроизводимыми и тест-полоски изготовленные из хроматографической бумаги являются более удобными для практической работы, как в условиях лаборатории, так и в стоматологическом кабинете.

Таблица 1

Влияние концентрации аминокислот на скорость протекания качественной реакции с нингидрином (в секундах) на тест-полосках из хроматографической бумаги

| Аминокислота | Концентрация, моль/л | | | | |
|-----------------------|----------------------|-------|--------|---------|----------|
| | 1 М | 0,1 М | 0,01 М | 0,001 М | 0,0001 М |
| Аланин | 18 | 20 | 23 | 55 | 71 |
| Аргинин | 5 | 15 | 31 | 33 | 66 |
| Аспарагин | 11 | 20 | 29 | 45 | 71 |
| Аспарагиновая кислота | 20 | 37 | 49 | 61 | 83 |
| Валин | 18 | 26 | 37 | 92 | 155 |
| Глицин | 7 | 28 | 33 | 36 | 57 |
| Глутаминовая кислота | 14 | 22 | 34 | 44 | 52 |
| Изолейцин | 22 | 35 | 61 | 90 | 143 |
| Лейцин | 17 | 27 | 35 | 45 | 59 |
| Лизин | 9 | 20 | 35 | 39 | 85 |
| Метионин | 13 | 18 | 26 | 31 | 48 |
| Пролин | 4 | 7 | 26 | 34 | 65 |
| Серин | 17 | 25 | 41 | 64 | 84 |
| Тирозин | 58 | 74 | 86 | 98 | 111 |
| Треонин | 10 | 17 | 24 | 29 | 48 |
| Триптофан | 18 | 32 | 46 | 65 | 87 |
| Фенилаланин | 12 | 26 | 35 | 44 | 50 |
| Цистеин | 18 | 24 | 32 | 63 | 87 |

На рисунке 2 представлены экспериментальные данные, полученные для разных концентраций валина за время – 1 мин.



Рис. 2. Интенсивность окраски тест – полосок, которая появляется за 1 мин протекания реакции между растворами валина (разных концентраций) и нингидрина

Методика, отработанная в лабораторных условиях на модельных растворах аминокислот, была опробована на тест – полосках из фильтровальной и хроматографической бумаги, полученных из стоматологического кабинета от доктора-стоматолога А.А. Копытова. Полоски были пропитаны десневой жидкостью, подсушены и использованы для диагностики пародонтита.

Опыт 1. Каждый опыт проведен в двух параллелях. Все тест полоски использовались для диагностики заболевания различных зубов от одного пациента. В данном опыте тест – полоски изготовлены из фильтровальной бумаги. Полученные результаты представлены в таблице 2.

Необходимо отметить, что практически на всех тест-полосках окрашенными оказались уголки, а время появления интенсивной окраски для первого образца, например, достигает 6 минут. Полученные результаты свидетельствуют о том, что данный пациент не страдает пародонтозом и состояние зубов у него вполне хорошее.



Таблица 2
Тест-полоски из фильтровальной бумаги, пропитанные десневой жидкостью одного пациента (опыт 1)

| № образца (зуба) | Время, сек | |
|------------------|-------------------|-------------------------|
| | Появление окраски | Интенсивное окрашивание |
| 1 | 240 | 360 |
| 2 | 98 | 240 |
| 3 | 48 | 165 |
| 4 | 56 | 147 |
| 5 | 21 | 100 |
| 6 | 94 | 220 |
| 7 | 67 | 206 |
| 8 | 180 | 285 |
| 9 | 146 | 266 |

Опыт 2. В проведении второго опыта участвовало 9 человек. Каждое измерение проводили по 2 раза (а и б). Для пациентов 1-3 использовались тест – полоски из фильтровальной бумаги. Для пациентов 4-6 использовали тест – полоски из хроматографической бумаги, причем время выдерживания полос было коротким (1 минута), для пациентов 7-9 использовали также тест – полоски из хроматографической бумаги, но время выдерживания полос было более длительным (3 минуты). Полученные результаты представлены на рис. 3-4. Диагностика показывает, что состояние зубов у всех исследованных пациентов не удовлетворительное, об этом свидетельствует площадь окрашенной части тест-полоски.



Рис. 2. Полоски, пропитанные десневой жидкостью и обработанные нингидрином (пациенты 1-3)



Рис. 3. Полоски, пропитанные десневой жидкостью и обработанные нингидрином (пациенты 4-6)

Опыт 3. В проведении третьего опыта участвовал 1 человек, но тест-полоски пропитывали десневой жидкостью у разных зубов и с фиксацией времени (1, 2 и 3 минуты). Каждое измерение проводили по 2 раза (на тест – полосках из хроматографической и фильтровальной бумаги). Полученные результаты представлены в таблице 3 и на рисунке 5.

Таблица 3
Диагностика с помощью тест-полосок (опыт 3)

| Время фиксации мин | Время, сек | | | |
|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------------|-------------------|
| | Появление окраски | | Интенсивное окрашивание | |
| | Фильтр. бумага | Хроматогр. бумага | Фильтр. бумага | Хроматогр. бумага |
| 1 | 70 | 90 | 132 | 169 |
| 2 | 90 | 125 | 163 | 206 |
| 3 | 110 | 149 | 223 | 255 |
| 1 | 69 | 76 | 102 | 176 |
| 2 | 85 | 99 | 154 | 182 |
| 3 | 108 | 117 | 194 | 214 |

Из последнего эксперимента можно сделать вывод: состояние разных зубов у пациента находится в разной степени поражения пародонтозом.

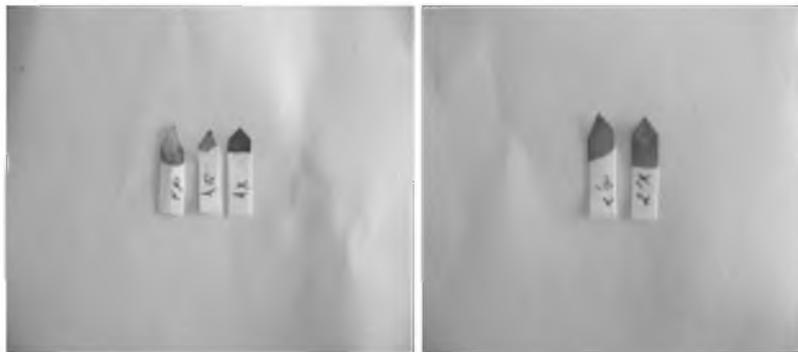


Рис. 5. Полоски, пропитанные десневой жидкостью и обработанные нингидрином (опыт 4)

Заключение

Предложена новая модификация проведения теста с использованием качественной реакции с нингидрином. Выбран интервал чувствительности реакции в зависимости от концентрации аминокислот и установлено, что фиксирование времени качественной реакции по появлению интенсивного окрашивания для всех случаев является более воспроизводимым и надежным. Определено, что лучшим материалом для изготовления тест – полосок является хроматографическая бумага.

Отработанная технология проверена на пациентах стоматологического кабинета доктора стоматолога Копылова Александра Александровича. Проведено 3 опыта. Исследования показали, что количество практически здоровых пациентов с интактным пародонтом (характеристика - площадь на тест – полосках, пропитанных десневой жидкостью), невелико (1 человек из 11, участвовавших в эксперименте).

Список литературы

1. Канкян А.П., Леонтьев В.К. Болезни пародонта: Изучение взаимосвязи пародонта с общим состоянием организма // Пародонтология. – 1996. – С. 294 – 300
2. Иванов В.С. Заболевания пародонта. Раздел: Терапевтическая стоматология. – М.: 1998. – 296 с.
3. Bartold P.M., Marshall R.I., Georgiou T., Mercado F.V. Заболевания пародонта и здоровье // Пародонтология. – 2003. – № 3(28). – С. 3-9.
4. Барер Г.М., Кочержинский В.В., Халитова Э.С., Лукиных Л.М. // Стоматология – 1986. – №5. – С. 24-26.
5. Барер Г.М., Кочержинский В.В., Халитова Э.С., Лукиных Л.М. // Стоматология. – 1987. – №1. – С. 28-30.
6. Беленький Б.Г. Тонкослойная хроматография. – М.: Наука, 2002. – 200 с.
7. Белоусов Н.Н., Буланов В.И. Проблемы обследования и диагностики при заболеваниях пародонта // Стоматология. – 2004. – Т. 83. – № 2. – С. 19-20.
8. Березов Т.Т. Биологическая химия. – М.: Медицина, 2002. – 752 с.

MODIFICATION OF PARODONTITIS REVEALING TEST

LA. Deineka
AA. Kopytov
M.Yu. Ighisheva
V.A. Borzenkova

Belgorod State National Research University
Pobedy St., 85, Belgorod, 308015, Russia
E-mail: deineka@bsu.edu.ru

In the paper a new modification of periodontitis revealing test has been proposed based upon qualitative ninhydrin reaction. The exploration of the test in dental clinics has revealed the high prevalence of the disease.

Key words: parodontitis, ninhydrin, gum discharge, testing, test-strips, protein amino acids.