

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи

Мяндиев Морис Садикович

**Клинико-лабораторные критерии эффективности противовоспалительной
терапии при лечении пациентов с воспалительными
заболеваниями пародонта**

14.01.14 - Стоматология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Член - корреспондент РАН,
доктор медицинских наук
Иванов С.Ю.

Научный консультант:
доктор медицинских наук
Нелюбин В.Н.

Москва – 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	10
1.1 Роль пародонтопатогенной микрофлоры в патогенезе воспалительных заболеваний пародонта.....	10
1.2 Современные методы диагностики воспалительных заболеваний пародонта.....	17
1.3 Возможности применения иммуномодуляторов в комплексном лечении пародонтитов.....	20
ГЛАВА 2. ПАЦИЕНТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ...	30
2.1 Этапы проведенных исследований и характеристика обследованных пациентов.....	30
2.2 Клинические и инструментальные методы обследования пациентов.....	32
2.3 Методы микробиологического исследования биологического материала.	36
2.3.1 Идентификация бактериальных культур, выделенных от пациентов.....	37
2.3.2 Определение чувствительности к антибиотикам у бактериальных культур, выделенных от пациентов.....	38
2.3.3 Определение микрофлоры и наличия генов резистентности к антибиотикам методом ПЦР в реальном времени в биологическом материале, полученном от пациентов.....	39
2.4 Методы статистической обработки полученных данных.....	41
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИКРОФЛОРЫ У БОЛЬНЫХ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПАРОДОНТА.....	43
3.1 Видовой состав аэробных микроорганизмов, выявленных при пародонтите и гены резистентности к антимикробным препаратам.....	43

3.2 Результаты количественного определения представителей пародонтопатогенной микрофлоры при пародонтитах.....	46
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ВНЕДРЕНИЯ КЛИНИКО – ЛАБОРАТОРНЫХ КРИТЕРИЕВ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА НА ПРИМЕРЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИММУНОТРОПНОГО ПРЕПАРАТА «РЕБОН. ГЕЛЬ ДЛЯ ДЕСЕН».....	50
4.1 Сопоставление данных клинического и инструментального обследования пациентов с результатами количественного определения пародонтопатогенной микрофлоры и наличия генов резистентности к антибиотикам	51
4.2 Внедрение клинико – лабораторных критериев оценки эффективности терапии заболеваний пародонта на примере использования иммунотропного препарата «Рибон. Гель для дёсен».....	53
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	67
ВЫВОДЫ.....	78
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	80
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	81

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

«Воспалительные заболевания пародонта представляют собой наиболее сложную проблему в практической стоматологии. Пародонтиты занимают второе место после кариозного поражения зубов. По данным научной группы ВОЗ, распространение заболеваний пародонта в мире имеет достаточно высокий уровень. Эта патология встречается в 55–89% случаев уже у лиц молодого возраста (15–19 лет). В более старших возрастных группах заболевания пародонта регистрируется у 65–98% популяции» [11].

Пародонтит имеет мультифакторную этиологию, в которой наличие агрессивной десневой микробиоты и ослабленное состояние иммунной системы приводит к заболеванию и его прогрессированию [8,49,77,115,135]. Известно, что в патогенезе заболеваний пародонта принимает непосредственное участие так называемая пародонтопатогенная микрофлора. Из многочисленных литературных данных следует, что наибольшей агрессивностью обладают *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. endodontalis*, *P. intermedia*, *T. denticola*, *T. forsythia*, *F. nucleatum* [18, 104, 108, 136, 151 и др.].

В последнее время дискутируется вопрос о роли вирусных инфекций в прогрессировании деструктивных процессов в пародонте [16, 47, 85, 92, 146 и др.]. Тем не менее, исследований по вирусному спектру при заболеваниях пародонта явно недостаточно. Особенно это касается вирусов группы герпеса и возможной их связи с пародонтитами. Поскольку герпесвирусы очень широко распространены среди населения земного шара, вполне есть вероятность, что они могут принимать участие в патогенезе воспалительных заболеваний пародонта [17, 122, 141,142,145 и др.].

Другим аспектом диагностики и лечения пародонтитов является разработка критериев эффективности лечения при этих заболеваниях. Ранее в большинстве

случаев эффективность применяемого лечения основывалась в основном на клинических критериях, таких как индексы здоровья пародонта: пародонтальный индекс (ПИ) по A.Russel (1956), индекс гигиены (ИГ) по Green-Vermillion (1964), папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс (ПМА) по С. Parma (1960), другим индексам оценки здоровья пародонта, а также по субъективным ощущениям пациента. На современном этапе все больше появляется работ по поиску лабораторных критериев, которые могут свидетельствовать об улучшении состояния тканей пародонта после лечения.

Проводятся микробиологические исследования аэробной и анаэробной флоры полости рта, определение различных представителей микробиоты молекулярно – генетическими методами, оценка биохимических показателей слюны и десневой жидкости [5, 27, 30, 46 и др.]. Большой практический интерес представляет изучение динамики изменения пародонтопатогенной микрофлоры в количественном отношении. Рядом авторов предлагается количественное определение представителей пародонтопатогенной микрофлоры для оценки эффекта применяемых для лечения препаратов [28, 42, 57]. Однако, использование только лабораторных критериев не может являться полноценной системой оценки эффективности лечения. Важнейшей составляющей в комплексе критериев несомненно будут объективные клинические данные. Таким образом, сочетание объективных клинических критериев и данных лабораторного исследования помогут наиболее точно определить эффективность применяемого лечения.

Цель исследования:

Разработать и внедрить клинико-лабораторные критерии эффективности терапии воспалительных заболеваний пародонта для оптимизации и совершенствования оказания стоматологической помощи пациентам.

Задачи исследования

1. Оценить состав аэробной части микробиоты и выявить наличие генов резистентности к антибиотикам у пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта.
2. Провести количественную оценку анаэробной составляющей пародонтопатогенной микрофлоры у пациентов с различными формами заболеваний пародонта и условно здоровых лиц.
3. Определить количественные показатели основных представителей пародонтопатогенной микрофлоры в процессе лечения с использованием иммуномодулирующих препаратов.
4. Сопоставить полученные количественные показатели в процессе лечения с индексами здоровья пародонта и предложить комплекс объективных критериев оценки эффективности лечения пародонтитов.

Научная новизна

1. Впервые проведено количественное исследование анаэробной пародонтопатогенной микрофлоры по показателям ПЦР с использованием в терапии иммуномодулирующего препарата.
2. Впервые проведено сопоставление количественных данных определения *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. endodontalis*, *P. intermedia*, *T. denticola*, *T. forsythia*, *F. nucleatum* с объективными клиническими данными.
3. Впервые на основании сопоставления клинических и лабораторных результатов исследований предложен комплекс критериев оценки эффективности иммунотерапии на примере применения препарата «Рибон. Гель для дёсен».

Практическая и теоретическая значимость

Количественная оценка представителей пародонтопатогенной микрофлоры (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. endodontalis*, *P. intermedia*, *T. denticola*, *T. forsythia*, *F. nucleatum*), определение генов резистентности к антимикробным препаратам, и сопоставление их с клиническими данными позволили предложить комплекс клинико -лабораторных критериев для оценки эффективности лечения заболеваний пародонта, в том числе с применением иммунотропных препаратов.

Положения, выносимые на защиту

1. Патогенетической основой неэффективности лечения заболеваний пародонта является большое количество основных представителей пародонтопатогенной микрофлоры и наличие генов резистентности к антибиотикам у представителей микробиоты пародонта.
2. Количественные показатели основных пародонтопатогенных микроорганизмов (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. endodontalis*, *P. intermedia*, *T. denticola*, *T. forsythia*, *F. nucleatum*) находятся в прямой корреляционной связи со степенью поражения пародонтальных тканей и клинических показателей здоровья пародонта.
3. В клинико – лабораторные критерии оценки эффективности лечения воспалительных заболеваний пародонта необходимо включать количественное определение *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. endodontalis*, *P. intermedia*, *T. denticola*, *T. forsythia*, *F. nucleatum*, а также наличие генов резистентности у представителей микробиоты пародонта в сопоставлении с индексами здоровья пародонта. Это позволит обоснованно

назначать этиотропную терапию, своевременно включать иммунокорректирующую терапию и определять необходимость и объем хирургического лечения.

Объем и структура диссертации

Диссертация состоит из обзора литературы, главы «Материалы и методы исследования», двух глав результатов собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций. Список литературы включает 158 источников, в том числе - 87 отечественных и 71 - зарубежных изданий.

Текст диссертации включает 99 страниц машинописного текста, иллюстрирован 12 таблицами, 28 рисунками и фотографиями.

Апробация работы

Результаты исследований апробированы на форуме «Национальные дни лабораторной медицины России – 2016», (14-16 сент. 2016, г. Москва), на IX Ежегодном Всероссийском конгрессе по инфекционным болезням с международным участием (27 – 29 марта 2017, Москва), Международном форуме Clinical Chemistry and Laboratory Medicine IFCC WorldLab 2017 – Durban, South Africa, 22-25 October 2017, III Российском конгрессе лабораторной медицины (11 – 13 октября 2017, г. Москва), на Международной конференции «Молекулярная диагностика 2018» (27 – 28 сентября 2018, Минск), на IV Российском конгрессе лабораторной медицины (3 – 5 октября 2018, г. Москва), на V Российском конгрессе лабораторной медицины (11 – 13 сентября 2019, г. Москва), на заседании кафедры челюстно-лицевой хирургии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, протокол № 9 от 10.01.2020 г.

Внедрение результатов исследования

Результаты работы внедрены в программу преподавания на кафедре челюстно-лицевой хирургии ФГБОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова», в стоматологическом отделении Центрального клинического военного госпиталя и в стоматологическом отделении ООО "ОН - клиник".

Публикации

По теме диссертации опубликовано 10 печатных работ, в том числе 5 в изданиях, рекомендованных ВАК, для публикации материалов кандидатских и докторских диссертаций. Из них 2 издания, индексирующихся в Scopus и Web of Science и 1 в зарубежных изданиях.

Личный вклад автора

Автор полностью осуществлял подбор пациентов по критериям включения и распределение их по группам. Провел клиническое обследование пациентов, участвовал в рентгенологическом и лабораторных исследованиях. Самостоятельно оценил результаты полученных данных и провел их статистическую обработку.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Роль пародонтопатогенной микрофлоры в патогенезе воспалительных заболеваний пародонта

«По последним данным научной группы ВОЗ, в мире имеет место очень высокий уровень распространения заболеваний пародонта. С возрастом частота этой патологии возрастает. У лиц в возрасте 15–19 лет это заболевание составляет 55–89%, в возрасте 35–44 лет – 65–98%. Распространённость болезней пародонта у лиц старших возрастных групп достигает 98%» [8, 11, 86].

«Микрофлора полости рта крайне разнообразна и включает бактерии (спирохеты, риккетсии, кокки и др.), грибы (в том числе актиномицеты), а также простейшие и вирусы» [8, 14, 20, 41, 56, 82 и др.]. Известно, что микроорганизмы играют исключительно важную роль, как в формировании патологии самой ротовой полости, так и в возникновении ряда соматических заболеваний [52, 66, 71]. По мнению некоторых авторов, микроорганизмы ротовой полости недостаточно изучены. Есть предположение, что нам известно не более 5% нормальной микробиоты ротовой полости [66, 77, 78, 102]. Принято, «что до настоящего времени идентифицированы от 5% до 30% микроорганизмов нормальной микрофлоры человека, что предполагает открытие новых или уже известных микроорганизмов причастных к различным заболеваниям организма» [3, 86].

И.С. Бондаренко и И.В. Маланьин в своей работе сообщают, «что несмотря на большое разнообразие резидентов полости рта, количественно в ней преобладают микробы трех групп: более 50% являются факультативно- и облигатно-анаэробными стрептококками, менее 25% вейлонеллы и менее 25% дифтеройды» [11].

Изучение микрофлоры ротовой полости ведётся не одно десятилетие, однако существует мнение, что она слабо изучена [4, 68, 71, 78]. В число

малоизученных и практически неизвестных входят некоторые виды бактерий, архей, грибов, вирусов. Их присутствие обнаруживается при изучении ДНК оральной микробиоты [56, 60, 109, 112, 113].

Исследование, проведенное Тец Г.В. с соавторами, показало, что в тканях ротовой полости обнаружен целый ряд возбудителей оппортунистических инфекций хорошо известных родов и видов, но малоизученных как представители микрофлоры ротовой полости человека это грамположительные микроорганизмы: *Aerococcus viridans*, *Staphylococcus epidermidis*, *St.hominis*, *St.waginery*, *St.lugdunensis* и грамотрицательные: *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas putida*. Любой из этих микроорганизмов может вызвать гнойно-воспалительные процессы в пародонте и пульпе зуба [45, 97].

В патогенезе развития заболеваний пародонта принимают участие различные представители микробиоты полости рта. Ранее было показано, что «к числу наиболее часто выявляемых в ротовой полости пародонтопатогенов относят 3 микроаэрофильных (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*) и 7 анаэробных видов (*Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Eubacterium*, *Spirochetes*)» [114]. В настоящее время исследователи существенно расширяют спектр таких микроорганизмов.

В 70–90-х годах прошлого века Socransky S.S. и соавторами [148, 149, 150] была предложена концепция, согласно которой микроорганизмы ротовой полости, участвующими в патогенезе воспалительных заболеваниях пародонта, можно разделить на несколько групп. Авторы распределили бактерии на 5 различных цветовых кластеров в зависимости от степени выраженности влияния на развитие заболеваний: «зеленый», «желтый», «пурпурный», «оранжевый» и «красный».

Считается, что бактерии «зеленого» кластера («различные виды *Capnocytophaga* — *C. ochracea*, *C. gingivalis*, *C. sputigena*; *Campylobacter concisus*, *Eubacteria nodatum* и *Streptococcus constellatus*» [112]), а так же и «желтого»

(хнесколько видов *Streptococcus*: *S. sanguis*, *S. oralis*, *S. intermedius*, *S. gordonii* и *S. mitis*) [118]) практически не связаны с развитием периодонтальных заболеваний и относятся к резидентным представителям оральной микробиоты. «Напротив, наличие «пурпурного» кластера (*Veillonella parvula*, *Actinomyces odontolyticus*, *Selenomonas noxia*, *Actinomyces naeslundii*, *Actinomyces viscosus*) связывают с развитием кровоточивости десен, которая выявляется при пальпации или зондировании» [118]. На основании генетических исследований была установлена родственность последнего кластера с «оранжевым» и «красным» кластерами. Кроме того отмечено, что «появление в биопленке на поверхности зубов представителей первых трех кластеров является предвестником колонизации бактериями «оранжевого» или «красного» кластеров» [119]. «Наличие «оранжевого» (различные подвиды *Fusobacterium periodonticum*, *Prevotella intermedia*, *P. nigrescens*, *Peptostreptococcus micros*, *C. rectus*, *C. gracilis*, *C. showae*, *Eubacterium nodatum* и *S. constellatus*) и «красного» (3 близкородственных вида - *T. forsythia*, *P. gingivalis* и *T. denticola*) кластеров тесно связано с выраженными признаками развития клинической картины поражения тканей пародонта» [124]. При парадонтите средней и тяжелой степени всегда определяют *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *P. intermedia*, *P. micra*, *C. rectum*, *F. nucleatum*, *E. corrodens*, *Capnocytophaga* spp, *Campylobacter* spp. [112, 118, 119, 124, 131].

Socransky S.S. и соавторами «показывают, что наиболее яркие клинические проявления воспалительных заболеваний обусловлены появлением пародонтопатогенных бактерий последних двух кластеров» [148].

На первом Всероссийском съезде пародонтологов (Москва, 2005 г.) была предложена отечественная рабочая классификация, согласно которой к пародонтопатогенам первой группы, наиболее значимых в патологии пародонта следует относить *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia* и *P. gingivalis*, что соответствует «красному» кластеру по классификации S.S. Socransky [31]. Способность микроорганизмов к внутриклеточному паразитированию, секреции

целого ряда факторов патогенности и передачи от больного человека к здоровому, по мнению В.Н. Царева, как раз и обуславливают пародонтопатогенное действие и развитие воспалительного процесса [77].

Отечественными исследователями (Царев В.Н., Ушаков Р.В.) было высказано мнение, что в этиологической роли микроорганизмов в большей степени имеет значение не только их видовой состав, но и количественное содержание в тканях. Неким «критическим» количественным уровнем, дающим начало инфекционному процессу, было предложено считать 10^5 микроорганизмов на 1 см^3 ткани. Однако, в то же время, было отмечено, «что определение какого-либо фиксированного критического уровня не учитывает характера межмикробных взаимодействий, особенностей отдельных представителей ассоциации, локализации процесса и резистентности тканей и организма в целом» [71]. Правильнее будет говорить о «клинически значимой концентрации» [71,78,79].

Таким образом, для проведения полной микробиологической диагностики следует проводить видовую идентификацию микробов, определять доминирующий микроорганизм в ассоциациях, а также осуществлять количественный анализ и учитывать состояние защитных сил макроорганизма [14,58, 87].

Существует мнение, что антропогенная трансформация среды обитания человека привела к появлению более 30 патогенов возбудителей новых болезней человека. Для многих болезней считавшихся традиционно соматическими установлена инфекционная природа [83].

«Носительство условно-патогенных бактерий в ротовой полости считается важным фактором возникновения и прогрессирования различных соматических заболеваний. Имеются убедительные литературные данные, свидетельствующие о том, что бактерии десневой борозды даже у лиц с практически здоровой ротовой полостью могут вызвать повреждения органов и систем» [80,81].

Уровень стоматологического здоровья «существенно влияет на качество жизни и медико-социальный прогноз. Показано что наличие тяжелого и среднетяжелого пародонтита увеличивает риск сердечно-сосудистых заболеваний. Выявляемая у больных генерализованным пародонтитом разнообразная патология внутренних органов свидетельствует о тесной связи между состоянием тканей ротовой полости и общим состоянием организма» [4].

Существует все большее число данных, свидетельствующих о клинически важной связи между бактериальной инфекцией и болезнью периферических артерий (PAD). Бактерии, которые могут участвовать в патогенезе PAD, это: пародонтальные бактерии, кишечная микробиота, *Helicobacter pylori* и *Chlamydia pneumoniae*. Инфекционные агенты могут быть вовлечены в патогенез атеросклероза посредством активации системного или локального иммунологического ответа хозяина на контаминацию внесосудистых тканей или сосудистой стенки соответственно. Системная иммунологическая реакция может повредить сосудистые стенки в ходе аутоиммунологических перекрестных реакций между антителами против инфектов и сосудистыми антигенами хозяина (иммунологическая мимикрия). Помимо активации воспалительного пути бактериальная инфекция может спровоцировать прогрессию или обострение PAD путем повышения реактивности тромбоцитов, стимулирующего действия на факторное связывание Виллебранда, фактора VIII, фибриногена, активации Р-селектина, нарушений липидов плазмы, увеличения окислительного стресса, и резистентность к инсулину [151].

С каждым годом увеличивается число публикаций, в которых исследуется взаимосвязь всего организма и состояния тканей ротовой полости, которая подразумевается для таких серьезных патологий, как «сахарный диабет, атеросклероз, сердечно-сосудистые заболевания, желудочно-кишечные, ревматоидный артрит, системная красная волчанка, заболевания дыхательной системы, хронические болезни почек, когнитивные расстройства, ожирение, метаболический синдром, заболевания щитовидной железы, лейкоз, иммунные

нарушения» [81]. Высказано предположение о потенциальной роли пародонтального воспаления в развитии болезни Альцгеймера [52,76, 89, 91, 153, 154 и др.].

В последние годы неуклонно растет количество антибиотикоустойчивых штаммов. Спектр резистентных микроорганизмов к антимикробным препаратам (АМП) постоянно расширяется. Более того, наряду с монорезистентными бактериями появляются микроорганизмы, обладающие устойчивостью к нескольким препаратам и даже так называемые панрезистентные представители микромира. Рост устойчивости к АМП отмечен как среди возбудителей нозокомиальных, так и среди возбудителей внебольничных инфекций. Резистентность к антибиотикам имеет большое социально-экономическое значение и в развитых странах рассматривается как угроза национальной безопасности [36].

В настоящее время все больше исследований по антибиотикорезистентности появляется в отношении представителей микробиоценоза ротовой полости. Не являются исключением и пародонтопатогенные микроорганизмы.

В недавней работе коллектива авторов исследовалось семь серотипов *A. actinomycetemcomitans* на устойчивость к антибиотикам. Было получено, что из 56 изолятов, полученных от пациентов, 100% были устойчивы к пенициллину и метронидазолу, 87,5% - к клиндамицину, 83,9% - к амоксициллину и 76,8% - к цефтазидиму. Наблюдались низкие показатели резистентности к тетрациклину (устойчивостью 8,9%) и амоксициллин / клавулановая кислота (14,3%), тогда как изоляты не были устойчивы к ципрофлоксацину [88].

Другими исследователями была обнаружена связь между скоростью образования биопленки с устойчивостью к антибиотикам. В частности, к ванкомицину, эритромицину, ципрофлоксацину, тикопланину, амоксициллину и гентамицину. Биопленка, содержащая патогенные микроорганизмы, обладающих резистентностью к ним, формировалась быстрее [94].

Обсуждается значение устойчивости микроорганизмов ротовой полости к метронидазолу, которая была выявлена с небольшой частотой - 0,9%. В той же работе авторы отметили наличие резистентных микроорганизмов для ампициллина / сульбактама процент которых составил 4,9, а для эртапенема и меропенема - 5,3% и 4,9% соответственно. Были обнаружены микроорганизмы, резистентные к моксифлоксацину. Присутствие резистентных к этому антибиотику различных видов бактероидов колебалось от 10 до 22%. При этом, 59% изолятов *Bacteroides vulgatus* показали высокую устойчивость к нему же. Эти же изоляты показали устойчивость к клиндамицину – 56 % [116].

В одной из последних работ отечественных авторов [31] показано, что среди представителей резидентной микрофлоры полости рта удалось обнаружить генетические маркеры устойчивости к антибиотикам. К ним относились гены CTX – M, Mec A, обуславливающих устойчивость к цефалоспорином, гены VIM, NDM - к карбопенемам, Van A, Van B – к гликопептидам, Efm – к макролидам, Tet – к тетрациклинам, а так же плазмиды Qnr (A,B) – к фторхинолонам.

Принимая во внимание, что количество антибиотикоустойчивых штаммов с каждым годом возрастает [147, 156, 158], необходимо учитывать возможность наличия таких микроорганизмов среди представителей оральной микробиоты.

Исходя из выше указанного, следует, что проблема устойчивости к антимикробным препаратам не миновала и стоматологию. Достаточно высокий процент встречаемости устойчивых к ряду антибиотиков микроорганизмов при патологии полости рта требует повышенного внимания к этому явлению.

Таким образом, детальное изучение микрофлоры ротовой полости является актуальной общемедицинской проблемой и имеет большое значение не только для стоматологов, но и для врачей других специальностей.

1.2. Современные методы диагностики воспалительных заболеваний пародонта

На сегодня особое значение «приобретает степень объективности, сопоставимость и разрешающие способности применяемых методов диагностики и обследования при воспалительных заболеваниях пародонта» [10,19,49,74, 84,157]. «В силу актуальности проблемы динамические наблюдения за течением патологического процесса в пародонте и оценки эффективности лечебных вмешательств приобретают особую остроту» [10].

В настоящее время наиболее распространены и применяются в клинической практике, так называемые индексы оценки здоровья пародонта. «Различают индексы обратимые, необратимые и сложные. Обратимые индексы дают возможность оценить динамику заболевания пародонта и эффективность лечебных мероприятий. Эти индексы характеризуют выраженность таких симптомов, как воспаление и кровоточивость десен, подвижность зубов, глубина десневых и пародонтальных карманов. Папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс (ПМА) позволяет судить о протяженности и тяжести гингивита. Индекс может быть выражен в абсолютных цифрах или в процентах. Пародонтальный индекс (ПИ) дает возможность учесть наличие гингивита и других симптомов патологии пародонта: подвижность зубов, глубина десневого кармана и др.» [19] Показательными индексами при заболеваниях тканей пародонта являются также индексы кровоточивости (РВІ, GВІ), комплексный пародонтальный индекс (КПИ). Отдельного внимания заслуживает исследование подвижности зубов, как динамического показателя в изучении эффективности применяемой терапии [20,37,51,63, 72, 73 и др.]

Наряду с традиционными методами клинической диагностики воспаления пародонтальных тканей (индексы здоровья пародонта, глубина пародонтальных карманов, рентгенография) предлагаются некоторые новые методики диагностики заболеваний пародонта.

Например, исследование микроциркуляторного русла тканей пародонта методом компьютерной дермографии [55], методом лазерной доплеровской

флоуметрии (ЛДФ) [39], методом сканирующей электронной микроскопии и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии для оценки микроструктур тканей пародонта, а так же оценки этапов образования биопленки, в том числе с использованием наночастиц серебра [31, 107].

Кроме того, используются новейшие методы инструментального исследования, например трехмерная оптическая когерентная томография с качающимся источником (SS-OCT) [155].

В настоящее время все более широко используются лабораторные методы для диагностики заболеваний тканей пародонта. В лабораторной практике существуют определенные подходы к диагностике пародонтитов. Известно, что пародонтиты – это инфекционно – воспалительные заболевания. Поэтому в лабораторной диагностике используются методы, направленные на оценку, как инфекционной составляющей, так и на определение параметров иммунологической защиты макроорганизма, в том числе местного иммунитета. Для оценки состояния местного иммунитета используются методы определения цитокинов, таких как интерлейкины (ИЛ) – 5, 6, 10, 12, 18, ФНО α , ИНФ γ и некоторые другие, а так же маркер пролиферативной активности клеток – Ki – 67 и маркер апоптоза клеток - Bcl-2 . С диагностической целью определяют уровни секреторного иммуноглобулина А (sIgA) и лизоцима. Предлагаются неинвазивные методы диагностики с определением показателей свободнорадикального окисления и перекисного окисления липидов [5,25, 46, 64,93].

Для специфической диагностики используются методы, направленные на выявление антител класса А и G (sIgA, IgG) к парадонтопатогенам, таким как *A. Actinomycetemcomitans* как в слюне, так и сыворотке крови [105].

«Сложность своевременного выявления возбудителей воспалительных заболеваний пародонта и слизистой полости рта определяется тем, что часть из них трудно культивируется или вообще не культивируется» [105]. Это предполагает использование при изучении микробиоты ротовой полости

современных диагностических подходов и методов. Поэтому совершенствование методов микробиологической диагностики является актуальной задачей стоматологии и позволит подбирать эффективную терапию и повысить эффективность лечения.

Улучшение техники микробиологического культивирования, внедрение анаэробного культивирования, позволяет выявить новые штаммы и охарактеризовать ранее не определяемые микроорганизмы, участвующие в патологии ротовой полости [102,111]. Однако, бактериологические методы выявления условно – патогенных и патогенных микроорганизмов, связаны с проблемой культивирования анаэробных бактерий. Для определения анаэробной составляющей микробиоты ротовой полости необходимо иметь соответствующее оборудование, питательные среды для культивирования, обученный персонал и т.д.

На современном этапе широкое распространение получил метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). Использование ПЦР в реальном времени позволяет анализировать состав микрофлоры в любых жидкостях ротовой полости, выявляя ДНК искомым организмов. Это позволяет контролировать количество микроорганизмов и обеспечивает возможность динамического наблюдения за состоянием микробиоценоза ротовой полости [21,27, 28, 50, 61 и др.].

Используя ПЦР диагностику, ряд авторов показали, что в средах, полученных из разных отделов ротовой полости здоровых людей, патогенные микроорганизмы определяются в единичных случаях и их встречаемость не превышает 6,6%. У больных пародонтитом выявляли пародонтопатогенные бактерии: *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *T. forsuthia*, *T. denticola*. В то же время *A. actinomycetemcomitans* выявлялся в единичных случаях. Количество микроорганизмов менялось в зависимости от степени выраженности пародонтита [23, 27, 87, 96]. Особое значение ПЦР приобретает для количественной оценки бактерий и вирусной составляющей микрофлоры [33,99,109].

Методы выявления антибиотикорезистентности у микроорганизмов требуют временных и материальных затрат. Традиционный микробиологический диско – диффузионный метод не всегда приемлем в клинической практике. Он требует наличие специализированной бактериологической лаборатории с соответствующим оборудованием. Кроме того, время получения результатов затягивается до 7 – 10 суток, а в случае оценки анаэробных микроорганизмов еще дольше.

Более перспективным методом является метод ПЦР. Время проведения исследования занимает от 4 до 6 часов. Наличие отечественных приборов и реактивов повышает ценность этого метода.

1.3. Возможности применения иммуотропных препаратов в комплексном лечении пародонтитов

Разнообразные микроорганизмы постоянно присутствуют в определенном составе и количестве в пародонтальной области. Регуляция оральной микробиоты осуществляется с помощью бактерицидных компонентов слюны, нейтрофилов, макрофагов, тучных и других клеток. Защитная воспалительная реакция происходит постоянно. Однако ее эффективность «проявляется до определенного уровня и не выявляется клинически, при этом, ткани десны имеют нормальный вид. После того, как количество микроорганизмов превышает некое критическое значение или в составе оральной микробиоты появляются пародонтопатогенные виды, развивается клинически видимая воспалительная реакция. Ее назначение состоит в нейтрализации микроорганизмов» [20], а также выделяемых ими ферментов и токсинов, разрушающих ткани [17, 24,75].

«В последние десятилетия в повседневной стоматологической практике широкое распространение получили антибактериальные препараты в различных лекарственных формах.

При выборе наиболее эффективного антибактериального препарата прежде всего нужно знать типичный состав микрофлоры пародонтальных карманов (ПК), учитывать присутствие в них и влияние спирохет, подвижных форм кокков, особенно – анаэробных микроорганизмов. Именно по действию на перечисленные микроорганизмы в первую очередь следует определять эффективность антибиотиков.

В отношении анаэробной флоры наиболее эффективными являются препараты следующих групп :

- 1) группа линкомицина;
- 2) бета-лактамы;
- 3) антибиотики широкого спектра действия (группа тетрациклина);
- 4) химиопрепараты группы имидазола;
- 5) макролиды» [20] (см. также [1,7, 15, 17, 40,79, 90] и др.).

Таблица 1 – Антибактериальные препараты, наиболее эффективными в отношении анаэробной флоры

Группа	Характеристика
1. Группа линкомицина, или линкозамидов	Представлена далацином, клиндамицином, линкомицином. Препараты группы линкомицина (линкомицин) в терапевтических дозах оказывают бактериостатическое, а в высоких концентрациях – бактерицидное действие, подавляя синтез белка в микробной клетке. Эффективны в отношении аэробных грамположительных и анаэробных бактерий – клостридий и бактероидов. Препарат клиндамицин обладает аналогичным действием. Он нарушает внутри микробных клеток синтез белка на ранних стадиях. Кроме аэробных, препарат активен в отношении анаэробных грамположительных (<i>Eubacterium</i> , <i>Propionobacterium</i> , <i>Peptococcus</i> , <i>Peptostreptococcus</i>) и грамотрицательных бактерий (<i>Fusobacterium</i> spp, <i>Veillonella</i>). Кроме того, к клиндамицину чувствительны некоторые штаммы <i>Actinomyces</i> spp. и <i>Nocardia</i> spp. [69]
2. Бета-лактамы антибиотики	К бета-лактамам относятся 4 группы антибиотиков: 1) пенициллины (оксациллин, ампициллин); 2) цефалоспорины (максипим, офрамакс, клафоран, кейтен); 3) монобактамы (азтреонам); 4) карбапенемы (тиенам, меропенем). Основным механизмом действия антибиотиков группы пенициллинов является подавление процессов синтеза во внешней оболочке, или стенке, микробной клетки. Препараты активны в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, анаэробных спорообразующих палочек, некоторых штаммов актиномицетов. Современные цефалоспорины IV поколения (максипим и др.) обладают широким спектром действия в отношении грамположительных и грамотрицательных аэробных бактерий, а также анаэробных: <i>Bacteroides</i> spp., <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Fusobacterium</i> spp., <i>Veillonella</i> spp. В то же время к препарату устойчивы некоторые штаммы анаэробов, в частности <i>Bacteroides fragilis</i> , <i>Clostridium difficile</i> . Антибиотики групп монобактамов и карбапенемов применяют, в основном, при лечении госпитальных инфекций. Следует помнить, что все бета-лактамы антибиотики отличаются перекрестными аллергическими реакциями. То есть при наличии аллергии к любому препарату из группы бета-лактамов больному нельзя назначать какой-либо антибиотик из указанных выше групп
3. Антибиотики широкого спектра действия (группа тетрациклина)	К антибиотикам широкого спектра действия (группа тетрациклина) относятся тетрациклин, доксициклин. Часто применяемые тетрациклины эффективны в отношении <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> . Однако при смешанных инфекциях эти препараты могут не обеспечить необходимого результата. Доксициклин, кроме того, эффективен в отношении <i>Clostridium</i> spp. При приеме внутрь все тетрациклины всасываются достаточно хорошо, хотя и в разной степени. Доксициклин всасывается лучше, чем тетрациклин. Особенно эта разница очевидна при приеме пищи: всасываемость доксициклина при этом не изменяется, а всасывание тетрациклина уменьшается в 2 раза

Продолжение таблицы *

Группа	Характеристика
4. Химиопрепараты группы имидазола	Производные имидазола и нитроимидазола. Тинидазол – противопроtoзойное (против простейших) средство, производное нитроимидазола. Также обладает бактерицидным действием в отношении анаэробных микроорганизмов (<i>Bacteroides spp.</i> , в том числе <i>Bacteroides fragilis</i> и <i>Bacteroides melaninogenicus</i> ; <i>Clostridium spp.</i> , <i>Eubacterium spp.</i> , <i>Fusobacterium spp.</i> , <i>Peptococcus spp.</i> , <i>Peptostreptococcus spp.</i> , <i>Veillonella spp.</i>). Механизм действия этого препарата обусловлен угнетением синтеза и повреждением структуры ДНК возбудителей. Препарат назначают как самостоятельное средство или комбинируют с антибиотиками. Метронидазол – химиопрепарат группы имидазола, также обладает и антипротозойным, и антибактериальным действием. Он поступает во многие ткани и биологические жидкости организма (желчь, слюна, плевральная жидкость, перитонеальная жидкость, секрет влагалища, спинномозговая жидкость, костная ткань, печень, эритроциты, ткани пародонта и т.д.). Метронидазол эффективен в отношении многих пародонтопатогенных анаэробных микроорганизмов, в особенности <i>Porphyrimonas gingivalis</i> и/или <i>Prevotella intermedia</i> , поэтому обеспечивает клинический эффект при лечении воспалительных заболеваний, причиной которых являются именно эти патогены. Основной механизм действия препарата заключается в нарушении синтеза ДНК чувствительных к нему микроорганизмов [156]
5. Макролиды	Макролиды (рулид, сумамед, макропен, эритромицин, олеандомицин). При лечении воспалительных заболеваний пародонта предпочтение чаще всего отдается бета-лактамным антибиотикам. Однако поскольку в последние годы резко выросла частота аллергических реакций к бета-лактамам и одновременно повысилась устойчивость микрофлоры к ним, в качестве альтернативы стали использовать макролиды. Препараты этой группы эффективны в отношении ряда грамположительных и грамотрицательных аэробных микроорганизмов, а также анаэробов – <i>Bacteroides bivius</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Peptostreptococcus spp.</i> Для этой группы антибиотиков характерно синергетическое взаимодействие с клетками, которые осуществляют фагоцитоз. Препараты концентрируются в фагоцитах и повышают их эффективность за счет снижения устойчивости бактерий к веществам, которые содержатся внутри фагоцитов и осуществляют их переваривание. Относительно низкая токсичность позволяет назначать эти препараты в случае крайней необходимости беременным, в период кормления грудью и даже новорожденным. Современные макролиды имеют лучшие физико-химические и биологические параметры, более устойчивы к разрушению в кислой среде желудка (гидролизу) по сравнению с эритромицином. Именно поэтому при пероральном применении макролидов достигается более высокая их концентрация в сыворотке крови и тканях

«Системное применение антибиотиков снижает риск повторной колонизации пародонтальных карманов и прогрессирования заболевания, поскольку рост патогенной микрофлоры подавляется повсеместно, даже в скрытых очагах инфекции. К недостаткам системного назначения антибиотиков по сравнению с местным применением является невозможность достижения высокой концентрации препаратов в пародонтальной жидкости, наличие побочных эффектов, формирование полирезистентных штаммов микроорганизмов» [1,26,38,65,117].

Комплексное лечение пародонтитов является актуальной проблемой современной стоматологии. Существует, по крайней мере, два подхода в проведении терапии данной патологии.

Первый – это использование в терапии антибиотиков и антимикробных препаратов как местно, так и при назначении внутрь. При втором антибиотики не используются, а применяется комплексная терапия с использованием механических методов очистки тканей пародонта, антисептических растворов и иммуностропных препаратов.

Использование иммуностропных препаратов в комплексной терапии заболеваний пародонта широко применяется. В качестве таких средств отмечены пластины "ЦМ" и "Тонзилнала", разработанные на основе природных биологически активных веществ. Было показано, что их использование способствует повышению уровня секреторного и сывороточного IgA, при этом нормализуется неспецифическая резистентность тканей ротовой полости за счет увеличения уровня активности лизоцима. Увеличивалась стойкость капилляров десны за счет снижения проницаемости стенок капилляров [29].

В другой работе отмечена целесообразность включения в комплексную терапию иммуностропных средств «Имудон», «Полиоксидоний», «Беталейкин». При использовании этих препаратов автор указал на четкую тенденцию к увеличению CD3+CD8+лимфоцитов периферической крови. В то же время уровень в крови CD16+ лимфоцитов снижался. Значения IgA превышали показатели в группе сравнения. Отмечено повышение уровня ЦИК,

«отражающего активность воспалительного процесса. Исследование содержания цитокинов в слюне подтверждало активность воспалительного процесса. У всех пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом средней и тяжелой степени до лечения было отмечено характерное для хронического течения повышение уровня цитокинов (ИЛ-10, ФНО-а) по сравнению со здоровыми лицами ($p < 0,001$). При этом имела место прямая корреляционная зависимость ($r = 0,61$; $p < 0,01$) между степенью тяжести и изменениями иммунологических показателей» [9].

Показана эффективность включения препаратов «Имудон», «Остеогенон» и «Циклоферон», а так же индукторов интерферона в комплексную терапию генерализованного пародонтита, что повышало устойчивость к вирусной составляющей микробиоты полости рта [32].

В настоящее время исследования в области применения иммуотропных препаратов в лечении заболеваний пародонта успешно продолжаются.

Известно, что в ротовой полости имеются бактерии антагонисты. Исследование антагонистических связей не теряют своей актуальности в настоящее время. Показано, что в ротовой полости добровольцев можно выделить 26 штаммов лактобацилл, 28 штаммов стрептококков, 32 штамма стафилококков. Авторы обнаружили, что все выделенные из ротовой полости лактобациллы высоко антагонистичны к энтерококкам, патогенным стафилококкам и стрептококкам в то же время 90% стафилококков и стрептококков ротовой полости не угнетали рост лактобацилл. Только около 10% стрептококков и стафилококков в большей или меньшей степени проявляли антагонизм лактобациллам. Было отмечено, что полученные результаты вселяют оптимизм по поводу создания эффективных пробиотиков способных скорректировать нарушенный микробиоциноз полости рта при гнойно – воспалительных заболеваниях тканей пародонта, причем перспективно создавать препараты лактобацилл из микробиоты ротовой полости а не кишечника [43].

Публикуются результаты использования препаратов, содержащих антитела к провоспалительным цитокинам, например к ФНО α . Данные препараты снижают интенсивность воспалительной реакции тканей пародонта [120].

Перспективным направлением в лечении воспалительных заболеваний пародонта является местное применение различных гелей, содержащих компоненты, активирующие регенеративные процессы.

Показана эффективность инъектируемого альгинат-пептидного композитного гидрогеля в качестве основы для регенерации костной ткани. Испытания на биосовместимость геля *in vitro*, проведенные с клетками преостеобластов MC3T3-E1, продемонстрировали хорошую жизнеспособность этих клеток и адгезию к гидрогелевым волокнам [127].

Коллективом Российских ученых разработан новый отечественный препарат в форме геля – «Ребон. Гель для дёсен», содержащий фактор роста эндотелия сосудов (Vascular endothelial growth factor, VEGF) и показана его эффективность при лечении пародонтитов [54]. Препарат представляет собой комплекс из рекомбинантного фактора роста эндотелия сосудов VEGF и биорезорбируемых карбогидратов на основе карбоксиметилцеллюлозы, способной формировать клеточную основу аналогичную природному экстраклеточному матриксу.

Механизм действия геля обусловлен составляющими препарата. Основным действующим началом является фактор роста эндотелия сосудов (VEGF). Фактор роста эндотелия сосудов является мощным фактором ангиогенеза и способствует увеличению проницаемости микрососудов. Образование новых капилляров обеспечивает улучшение микроциркуляции в очаге воспаления. Кроме того, VEGF вызывает усиленную миграцию моноцитов и макрофагов в очаг воспаления, тем самым способствует элиминации микроорганизмов и усилению регенерации тканей. Для обеспечения баланса pH, содержит соли натрия, калия и фосфора.

Определенный интерес представляет использование нанотехнологий в разработке новых биологически активных препаратов. Так, наночастицы серебра – AgNP были синтезированы с использованием эпигаллокатехин галлата (EGCG) в качестве восстановителя. Их цитотоксичность оценивали с использованием половины максимальной ингибирующей концентрации (IC50) в отношении фибробластов десны человека (HGF-1) и стволовых клеток из отслоившихся молочных зубов человека (SHED). Антибактериальные свойства оценивали по минимальной ингибирующей концентрацией (MIC) и минимальной бактерицидной концентрацией (MBC) против *S. mutans*. Было показано, что разработанные сферические наночастицы AgNP диаметром 17-7 нм существенно улучшают состояние пародонта и замедляют образование биопленки [107].

В лечении пародонтитов используются препараты, содержащие гиалуроновую кислоту и ее соединения. Показана их эффективность в комплексной терапии пародонтитов, за счет активации факторов местного иммунитета [125, 134].

Разработанный метод технологии «Full-mouth scaling and root planing» (FM-SRP) – удаления зубного налета и камня выше и ниже линии десны, обеспечивающий чистку до самого дна кармана, можно так же отнести к методам стимуляции факторов местного иммунитета. Коллективом исследователей было показано, что по сравнению с исходными значениями применение технологии FM-SRP через 6 недель после лечения привело к значительному улучшению клинических показателей ($p < 0,05$), снижению количества пародонтопатогенных бактерий ($p < 0,01$) и значительному снижению титров IgG против *Porphyromonas gingivalis* ($p < 0,001$). Авторы связывают такой эффект с развитием умеренного системного острофазового ответа организма. При сравнении исходных параметров с параметрами на 1й день после лечения, наблюдалось статистически значимое повышение температуры тела ($P = 0,007$). Кроме того, было отмечено 5-кратное увеличение высокочувствительного С – реактивного белка (hs-CRP) ($P < 0,001$), значительное увеличение интерферона- γ ($P < 0,001$) и небольшое

увеличение интерлейкина (ИЛ) -12p70 ($P = 0,001$). В десневой жидкости отмечали повышенные уровни hs-CRP ($P < 0,001$), ИЛ-5 ($P = 0,001$), ИЛ-6, ИЛ-12p70 и ФНО- α ($P < 0,001$ для последних 3 маркеров). Уровни эндотоксина были ниже измеримых пределов для большинства временных точек [126].

Необходимость разработки новых подходов в применении иммуотропной терапии заболеваний полости рта является побудительным моментом в проведении экспериментов на животных. Так применение иммуноглобулинов яичного желтка птиц (IgY) в экспериментальной модели периодонтита на крысах, обусловленного *P. gingivalis*, показало ингибирующее влияние на развитие процесса. В ходе эксперимента клинические показатели улучшились; уровни ИЛ-6 и ФНО- α были значительно ($p < 0,05$) снижены; рентгенография и гистоморфологические наблюдения показали, что интенсивность воспаления пародонта и периодонтит были уменьшены по сравнению с контролем [110].

В другой экспериментальной работе авторы продемонстрировали, что местное введение toll-подобного рецептора 9 (TLR9) - агониста цитидин-фосфат-гуанозин-олигодезоксинуклеотида (CpG ODNs) и лиганда CD40 (CD40L) может уменьшить лигатурное воспаление пародонта и потерю костной массы у мышей. TLR9 KO CpG значительно индуцировал пролиферацию В-клеток, повышал экспрессию мРНК ИЛ-10 и секрецию белка ИЛ-10, но уменьшал популяцию CD1dhiCD5 + В-клеток. Местное введение смеси CpG + CD40L значительно уменьшало потерю альвеолярной кости и количество TRAP-позитивных клеток, прилегающих к поверхности альвеолярной кости, и значительно увеличивало экспрессию мРНК в деснах ИЛ-10 и уменьшало экспрессию мРНК RANKL и IFN- γ [101].

Таким образом, применение иммуотропных препаратов в комплексной терапии воспалительных заболеваний пародонта представляет определенный интерес, все более широко используется и имеет дальнейшие перспективы.

ГЛАВА 2. ПАЦИЕНТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Этапы проведенных исследований и характеристика обследованных пациентов

Обследование пациентов с заболеваниями пародонта и экспериментальную работу проводили в два этапа. Всего обследован 91 пациент, прошедшие критерии включения в настоящее исследование. От всех пациентов получено письменное информированное добровольное согласие на участие в исследовании.

Критериями включения являлись: пациенты в возрасте от 30 до 75 лет, обоих полов (мужчины и женщины), имеющие заболевания пародонта с диагнозом по МКБ 10 – K05.30, K05.31, K05.38, K05.39 (хронический локальный и генерализованный пародонтит: легкая и средняя степень тяжести).

За критерии исключения принимали: наличие других воспалительных и дегенеративных заболеваний полости рта, беременность, наличие острых воспалительных или обострения хронических сопутствующих соматических заболеваний, соматических заболеваний в стадии декомпенсации, наличие вирусных гепатитов и онкологической патологии.

На первом этапе для определения значимости микробиологических данных у 55 пациентов оценивали анамнестические и клинические данные и определяли: наличие аэробной микрофлоры, ее чувствительность к антибиотикам бактериологическим методом и наличие генов резистентности у представителей выделенных культур методом ПЦР. Оценивали совпадение данных бактериологии и ПЦР.

Для количественной оценки основных представителей пародонтопатогенной микрофлоры исследовали образцы периодонтальной жидкости из пародонтальных карманов, полученной от 55 пациентов в возрасте от 45 до 71 лет. На основании клинических и рентгенологических данных были выделены следующие группы пациентов: 16 пациентов - генерализованный

пародонтит (ГП), 18 – локальный пародонтит (ЛП), 21 пациент - со здоровым состоянием пародонта (условно здоровые лица – УЗЛ) (Таблица 2).

Таблица 2 - Распределение пациентов по возрасту в зависимости от диагноза

Группа пациентов	Количество	Медиана возраста
Генерализованный пародонтит	16	Me=65; [LQ=61; UQ=71]
Локальный пародонтит	18	Me=58; [LQ=45; UQ=67]
Условно здоровые лица	21	Me=37; [LQ=29; UQ=59]

Биологический материал от пациентов забирали при помощи зондов из полимерного материала и с помощью шприца с обрезанным кончиком иглы.

На втором этапе оценивали эффективность лечения по традиционной схеме и с применением иммуностропного препарата «Ребон. Гель для дёсен».

Препарат «Ребон. Гель для дёсен» (ООО «ДжиЭф Групп», Россия) представляет собой комплекс из рекомбинантного фактора роста эндотелия сосудов (Vascular endothelial growth factor, VEGF) и биорезорбируемых карбогидратов на основе карбоксиметилцеллюлозы, способной формировать клеточную основу аналогичную природному экстраклеточному матриксу. Содержит соли натрия, калия и фосфора для обеспечения баланса pH тканей. Продукция изготовлена в соответствии с Техническими условиями ТУ 20.42.18-001- 04525952-2017 и соответствует требованиям Технического регламента Таможенного союза «О безопасности парфюмерно – косметической продукции» (ТР ТС 009/2011).

Препарат вводили однократно в первый, второй и на седьмой день лечения.

Для выполнения поставленной цели пациенты были разделены на 2 группы (Таблица 3).

В группу 1 вошли 17 пациентов с диагнозом пародонтит легкой (м-5, ж-5) и 7 средней степени тяжести (м-4, ж-5). Им проводили традиционную терапию, включающую вскрытие подслизистого или поднадкостничного очага воспаления, закрытый кюретаж, удаление над- и поддесневых зубных отложений, при необходимости – снятие несъемных ортопедических конструкций.

Исследуемую группу (группа 2) составили 19 человек с диагнозом пародонтит легкой и средней степени тяжести в количестве 9 (м-5, ж-4) и 10 (м-5, ж-5) – соответственно. Данным пациентам проведена комплексная терапия пародонтита с применением геля VEGF. Терапевтический эффект оценивался на основании сравнительного анализа клинических и лабораторных данных, полученных до и после лечения.

Таблица 3 - Количество и возрастные данные пациентов в исследуемых группах

Группа пациентов	Количество	Медиана возраста
Традиционная терапия (группа 1)	17	Me=64; [LQ=57:UQ=70]
С применением геля (группа 2)	19	Me=63; [LQ=61:UQ=70]

Препарат при помощи 2 мл шприца с обрезанным кончиком иглы вводили в пародонтальный карман на $\frac{3}{4}$ глубины.

Пациенты приходили на контрольный осмотр спустя 1,2,7, 14 и 30 суток. Пробы из пародонтального кармана для лабораторного исследования брали по вышеописанной методике до лечения и на 14 сутки после его проведения.

2.2. Клинические методы обследования пациентов

Оценку состояния парадонта обследуемых пациентов проводили по общепринятой схеме:

- оценивали состояния десен;
- определяли степень потери прикрепления (подвижности) зубов;
- определяли тяжесть поражений пародонта на участке фуркации корней;
- проводили оценку состояния гигиены рта пациента и степени воспаления пародонта;
- обследовали слизистую оболочку полости рта;
- проводили рентгенологическое обследование;

Клиническое обследование больных начинали с анализа жалоб. При опросе пациентов выявляли: сухость во рту, чувство стянутости, зуд, жжение, пощипывание, покалывание, ощущение саднения, неприятный постоянный привкус во рту, снижение вкусовой чувствительности или ее изменение, болезненность.

В анамнезе жизни больного обращали внимание на наличие профессиональной вредности, вредные привычки, сопутствующие и перенесенные заболевания, лекарственные препараты, применяемые для лечения той или иной патологии.

Анамнез заболевания позволял судить о течении процесса в динамике. Отмечалось время появления первых симптомов, по мнению самого больного причины возникновения заболевания, характер его течения, частота обострений. Оценивали тактику проведенного ранее лечения, его эффективность.

Далее проводили внешний осмотр кожи лица, красной каймы губ, пальпировались околоушные слюнные железы.

При осмотре полости рта отмечалось его гигиеническое состояние, очаги одонтогенной инфекции (наличие кариозных полостей, корней, зубов, признаков пародонтита). Оценивалось состояние протезов (наличие коррозии, вид сплава), выявлялись элементы поражения, характерные для других заболеваний слизистой оболочки полости рта. В случае наличия видимых очагов воспаления определяли

локализацию налета, его цвет, как легко соскабливался, что под ним обнаруживали. О распространенности процесса судили по количеству пораженных анатомических областей.

Папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс (ПМА) по С. Parma (1960) определяли по формуле:

$$\text{ПМА} = \text{сумма показателей в баллах} / 3 \times \text{число зубов} \times 100\%$$

Для получения оценки состояния десны в баллах анализировали выраженность воспалительной реакции:

0 – признаки воспалительной реакции отсутствуют,

П-1 – воспаление десневого сосочка,

М-2 – воспаление маргинальной десны,

А-3 – воспаление альвеолярного края десны.

Индекс кровоточивости (ИК, SBI) определяли на основании анализа анамнестических данных в баллах:

1-я степень (0-1) – кровоточивость отсутствует или наблюдается редко,

2-я степень (3-4 балла) – кровоточивость наблюдается во время чистки зубов,

3-я степень (5-8 баллов) – кровоточивость наблюдается во время еды или самопроизвольно.

Пародонтальный индекс (ПИ) по A. Russel (1956) определяли на основании анализа состояния тканей пародонта каждого зуба – степени выраженности воспаления десны, подвижности зуба, глубины пародонтального кармана с помощью пуговчатого зонда (в пределах от 0 до 8 баллов). ПИ рассчитывали как частное от деления суммы баллов для всех зубов на число зубов у обследуемого пациента. В результате оценивали степень тяжести пародонтита:

от 0,1 до 1,0 – начальная и лёгкая степень патологии пародонта,

от 1,1 до 4,0 – средняя степень патологии пародонта,

от 4,1 до 8,0 – тяжёлая степень патологии пародонта.

Глубину пародонтального кармана (ПК) определяли при помощи градуированного зонда. Подвижность зубов определяли с помощью прибора «Periotest S» (Medizintechnik Gulden, Германия), согласно прилагаемой инструкции.

Для рентгенологического контроля развития патологического процесса в тканях пародонта и альвеолярного отростка использовали ортопантограммы до начала курса лечения и через 1 - 2 месяца после его завершения, а также внутриротовые рентгенограммы, в частности, интерпроксимальную рентгенографию по Раперу, которая позволяет получить более полную информацию о вершинах костных перегородок, их резорбции и межкорневом пространстве. Данное исследование позволяло также выявить наличие костного кармана. Исследования проводили на аппаратах: ортопантомограф «GDRX -700» и визиографе «Gendex Expert DC», производитель США.



Рисунок 1 - Ортопантомограф «GDRX -700»

Все пациенты, помимо традиционного клинического обследования с целью выявления осложнений воспалительного или иного характера, проходили микробиологическое, молекулярно-генетическое обследование.



Рисунок 2 - Визиограф «Gendex Expert DC»

2.3. Методы микробиологического исследования биологического материала

После проведения осмотра и оценки состояния пародонта бралась проба зубодесневой жидкости бумажным пародонтальным штифтом. Время экспозиции штифта в пародонтальном кармане составляло 5 минут. После чего штифт помещался в 1 мл 0,9% изотонического раствора NaCl. Проба до исследования хранилась при -70°C .

На всех этапах биологический материал, полученный от пациентов инокулировали в специальные транспортные среды: Кери Блейр, Эймса и глицериновую смесь. При необходимости, биологический материал засевали в среду обогащения – сахарный или селенитовый бульоны. В дальнейшем бактериальные культуры выращивали на рабочих питательных средах: агары Эндо и Плоскирева, кровяной агар с основой из Колумбийского агара, висмут – сульфит агар, готовые среды Пизу и Блаурокка.

2.3.1. Идентификация бактериальных культур, выделенных от пациентов

Идентификацию бактериальных культур проводили на дифференциальных средах «пестрого ряда», на бактериологическом анализаторе «Vitek 2 Compact», фирмы «Biomérieux», США – Франция и методом матрично-активированной лазерной десорбции / ионизации (MALDI TOF) на приборе «Autoflex», компании «Bruker», Германия.



Рисунок 3 - Анализатор «Vitek 2 Compact»



Рисунок 4 - Анализатор «Autoflex»

2.3.2. Определение чувствительности к антибиотикам у бактериальных культур, выделенных от пациентов

У выделенных бактериальных культур оценивали чувствительность к антибиотикам диско-диффузионным методом.

Для проведения исследования взвесь чистой культуры в концентрации 1 млн. кл./мл наносили на поверхность плотных питательных сред и равномерно распределяли шпателем по его поверхности. Затем с помощью автоматического диспенсера наносили диски с антимикробными препаратами. Учёт результатов исследования проводили после инкубации в течение 24 часов при 37 С. При этом измеряли диаметр зон торможения роста культуры в мм и определяли степень её чувствительности.

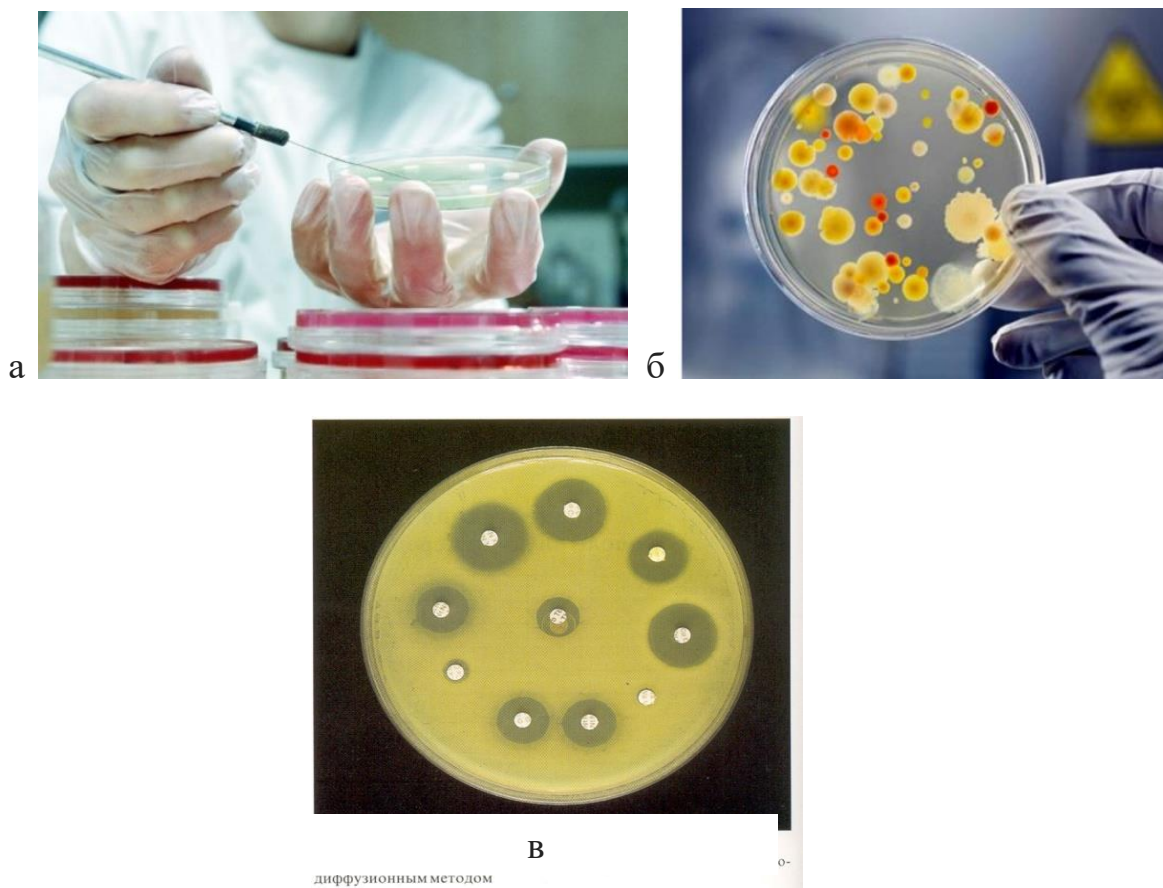


Рисунок 5 - Этапы бактериологического исследования на чувствительность к антибиотикам: а.- посев биоматериала; б. - результат посева; в - задержка роста микроорганизмов в чистой культуре вокруг бумажных дисков с различными антибиотиками

2.3.3. Определение микрофлоры и наличия генов резистентности к антибиотикам методом ПЦР в реальном времени в биологическом материале, полученном от пациентов

Наличие микрофлоры определяли методом ПЦР в реальном времени в качественном и количественном вариантах на приборах «CFX – 96», фирмы «Bio-Rad», США и «Rotor Gene3000», производства «Corbett Research», Германия.

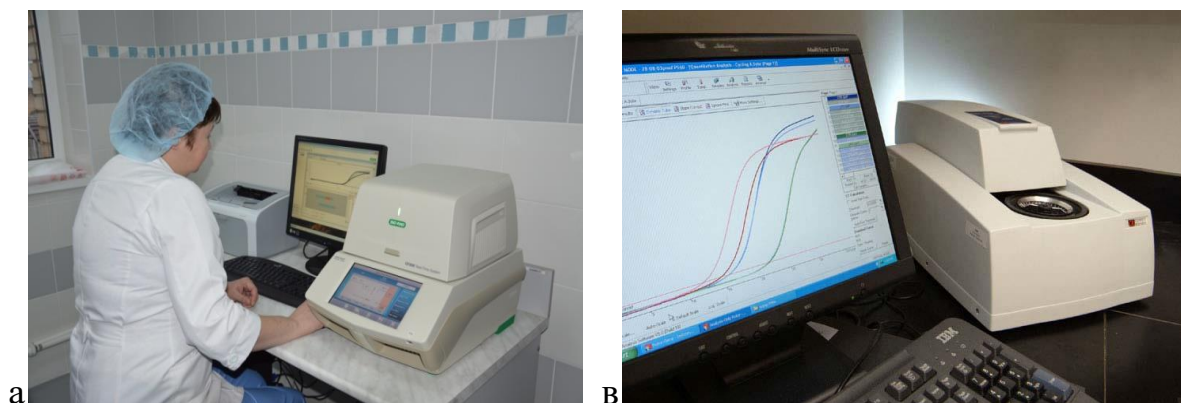


Рисунок 6 - А- работа на амплификаторе «CFX – 96», фирмы «Bio-Rad», США; В – амплификатор «Rotor Gene3000», производства «Corbett Research», Германия

У пациентов указанных выше групп количественным методом ПЦР в реальном времени определяли наличие *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. endodontalis*, *T. denticola*, *T. forsythia*, *P. intermedia*, *F. nucleatum*, а так же представителей *Herpesviridae*.

Вирусы группы герпеса: *Herpes Simplex Virus-1/2* (HSV), *Human alpha-herpesvirus-3* (*Varicella-Zoster virus - VZV*), *Human gamma-herpesvirus-4* (*Epstein-Barr virus-EBV*), *Human beta-herpesvirus-5* (*Cytomegalovirus-CMV*), *Human beta-herpesvirus-6*, *Human gamma-herpesvirus-8* определяли качественным методом ПЦР.

У этих же пациентов параллельно определяли наличие генов, обуславливающих резистентность к антимикробным препаратам (АМП), методом ПЦР в реальном времени. Для этого использовали указанные приборы для ПЦР и коммерческие ПЦР тест-системы производства НПФ «Литех» и «Ампли Сенс», Россия. Перечень определяемых генов представлен в Таблице 4.

Таблица 4 - Гены резистентности, определяемые в биологическом материале, полученном от пациентов

Наименование гена	Обуславливает устойчивость к:	Микроорганизм - носитель гена
VIM	карбапенемам	Enterobacteriaceae
NDM	карбапенемам	Enterobacteriaceae
OXA – 48	карбапенемам	Enterobacteriaceae
KPC	карбапенемам	Enterobacteriaceae
CTX-M	цефалоспорином	Enterobacteriaceae
Mec A	цефалоспорином	Staphylococcus aureus
Van A	гликопептидам	Enterobacteriaceae
Van B	гликопептидам	Enterobacteriaceae
TEM	пенициллинам, цефалоспорином	Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa
ErmB	макролидам, линкозамидам, стрептограминам	Streptococcus spp., Staphylococcus spp.
Mef	макролидам	Streptococcus spp.

2.4. Методы статистической обработки полученных данных

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных программ STATISTICA (StatSoft, США) версия 12.0. с расчетом средних арифметических величин, предельных отклонений и среднеквадратичной ошибки. Соответствие данных нормальному распределению проверяли по критерию Колмогорова-Смирнова. При отсутствии нормального распределения данных использовали непараметрические критерии. В качестве критерия достоверности использовали статистический критерий Вилкоксона-Манна-Уитни для двух несвязанных групп и Краскелла-Уоллиса ANOVA для

трех и более несвязанных групп. При анализе взаимосвязей внутри пары количественных или порядковых качественных признаков использовали корреляционный анализ по методу Спирмена. Достоверными принимались значения при $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИКРОФЛОРЫ У БОЛЬНЫХ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПАРОДОНТА

3.1. Видовой состав аэробных микроорганизмов, выявленных при пародонтите и гены резистентности к антимикробным препаратам

На первом этапе исследование чувствительности к антибиотикам бактериологическим методом и сравнение этих данных с данными определения генов резистентности методом ПЦР у 34 пациентов с заболеваниями пародонта (ЛП, ГП) и условно здоровых лиц (УЗЛ) показало следующие результаты, представленных в Таблицах 5 и 56

С высокой частотой и в высокой концентрации высевались *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus pyogenes*. Однако, статистически значимых различий между группами выявлено не было.

С учетом того, что у *Acinetobacter baumani*, по литературным данным [95], резистентность к антимикробным препаратам обуславливают другие гены, которые не определяются использованными тест-системами, совпадение результатов бактериологического и молекулярно-биологического исследований составило 85, 2 %. При этом, выявленная устойчивость к антибиотикам бактериологическим методом совпала с наличием генов резистентности у культур в 40,7 % случаев, а отсутствие таковых, определенная тем и другим методами – в 44,5 % случаев. Данный факт свидетельствует о том, что оценка антибиотикорезистентности бактериальных культур молекулярно-биологическим методом имеет достаточно высокую степень точности.

Таблица 5 - Результаты бактериального посева биологического материала из кармана пародонта

Результат посева	ГП n=16	ЛП n = 18	УЗЛ n =21
<i>Acinetobacter baumani</i>	0%	5,3%	0%
<i>Candida albicans</i>	15,9%	18,1%	9,5%
<i>Enterobacter cloacae</i>	2,3%	0%	0%
<i>Escherichia coli</i>	2,5%	3,3%	4,8%
<i>Lactobacillus fermentum</i>	0%	2,5%	0%
<i>Neisseria flavescens</i>	0%	1,6%	0%
<i>Staphylococcus aureus</i>	2,5%	4,3%	0%
<i>Staphylococcus capitis</i>	2,3%	2,3%	0%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	18,5%	21,6%	24,3%
<i>Staphylococcus hominis</i>	2,3%	0%	0%
<i>Staphylococcus warneri</i>	2,3%	1,3%	0%
<i>Streptococcus mitis</i>	17,8%	7,9%	9,5%
<i>Streptococcus pyogenes</i>	22,5%	7,9%	4,8%
<i>Streptococcus salivarius</i>	2,3%	8,5%	12,5%
<i>Streptococcus viridans</i>	2,3%	2,3%	4,8%
<i>Streptococcus vestibularis</i>	4,8%	2,3%	0%
Прочие (не идентифицированы)	4,2%	10,80%	28,8%

Таблица 6 - Обнаруженные гены резистентности к антибиотикам и их носители

Выделенная культура (бактериологический метод)	Количество пациентов	Устойчивость к антибиотикам, определенная бактериологическим методом	Обнаруженные гены резистентности
<i>Acinetobacter baumani</i>	7	цефалоспорины карбопенемы гликопептиды пенициллины	не обнаружено
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4	цефалоспорины	CTX-M, MecA
<i>Escherichia coli</i>	2	цефалоспорины	CTX-M
<i>Escherichia coli</i>	1	цефалоспорины пенициллины	Mec A
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	цефалоспорины гликопептиды пенициллины	Mec A
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	не обнаружено	VIM

<i>Staphylococcus aureus</i>	8	пенициллины	ТЕМ
<i>Klebsiella pneum.</i>	1	цефалоспорины пенициллины	СТХ-М
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	пенициллины	ТЕМ
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	пенициллины	Мес А
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	цефалоспорины пенициллины	ТЕМ

Поскольку разработка ПЦР тест – систем для определения генов резистентности проводится с нарастающими темпами, данный метод имеет большие перспективы в клинической практике.

Изучение вирусного пейзажа содержимого пародонта выявило наличие вируса Эпштейна-Барр с высокой кумулятивной частотой в группах с заболеваниями пародонта (ГП, ХП) > 25%. Вирус Эпштейна-Барр обнаруживали в различных сочетаниях с *Streptococcus pyogenes*, *Candida albicans*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mitis*, а так же с *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*. Другие представители *Herpesviridae* были выявлены в единичных случаях.

3.2. Результаты количественного определения представителей пародонтопатогенной микрофлоры при пародонтитах

Большой интерес представляет количественное определение основных пародонтопатогенных микроорганизмов, относящихся к «оранжевому» и

«красному» цветовым кластерам по С. Сокрански. На настоящий момент такие данные противоречивы и их явно недостаточно. С другой стороны, количественные показатели по возбудителям заболеваний пародонта крайне необходимы для объективной оценки течения изучаемой патологии и эффективности проводимой терапии.

В связи с этим мы провели количественное определение *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. endodontalis*, *T. denticola*, *T. forsythia*, *P. intermedia*, *F. nucleatum* в очагах воспаления с целью выявления наиболее значимых патогенов.

Результаты тестирования биологического материала, полученного от пациентов с различным состоянием пародонта на анаэробную пародонтопатогенную микрофлору (среднее значение по группам - коп./мл) представлены в таблице 7.

Поскольку гены, обуславливающие устойчивость к терапии антимикробными препаратами, несомненно, должны играть определенную роль в патогенезе воспалительных заболеваний пародонта, наши усилия также были направлены на определение этих показателей.

Гены антибиотикорезистентности были выявлены с относительно невысокой частотой. В группе с генерализованным пародонтитом: МесА - 11,4%, NDM - 6,9 %. В группе с локальным пародонтитом: МесА – 10,5%, NDM - 2,6%, VIM- 2,6%, OXA-48- 2,6%. Причем ген резистентности МесА *S. aureus* выявлялся в культуре *Staphylococcus epidermidis* - 7,4%. В группе условно здоровых лиц гены, обуславливающие резистентность к антибиотикам, обнаружены не были.

Таблица 7 - Данные количественного определения пародонтопатогенной микрофлоры у лиц с генерализованным (ГП), локальным (ЛП) пародонтитом и у условно здоровых лиц (УЗЛ)

Микроорганизм	ГП n=16	ЛП n =18	УЗЛ n =21	Достоверность отличий от УЗЛ
<i>A. actinomycetomcomitans</i>	553,9	405,8	6,8	* - $p \leq 0,05$
<i>P.gingivalis</i>	402,9 · 10 ⁶	565,4 · 10 ⁶	152,4 · 10 ⁶	* - $p \leq 0,05$
<i>P.endodontalis</i>	436,2 · 10 ⁶	834,0 · 10 ⁶	1,0 · 10 ⁶	* - $p \leq 0,05$
<i>T.denticola</i>	195,1 · 10 ⁴	35,3 · 10 ⁴	1,0 · 10 ⁴	* - $p \leq 0,05$
<i>T.forsintia</i>	102,1 · 10 ⁴	6,8 · 10 ⁴	0,05 · 10 ⁴	* - $p \leq 0,05$
<i>P.intermedia</i>	99,9 · 10 ⁶	124,5 · 10 ⁶	0,03 · 10 ⁶	* - $p \leq 0,05$
<i>F.nucleatum</i>	39,2 · 10 ⁵	17,7 · 10 ⁵	5,2 · 10 ⁵	* - $p \leq 0,05$

Таким образом, было обнаружено, что количество наиболее значимых пародонтопатогенных микроорганизмов достоверно различается в группах с патологией пародонта и в группе условно здоровых лиц. При патологии пародонта количество исследуемых микроорганизмов увеличивается в десятки, а в некоторых случаях – сотни раз. Наиболее показательны различия у здоровых лиц и при патологии в количестве *A. actinomycetomcomitans*, *P.endodontalis*, *T.forsintia* (сотни раз) и, особенно, *P.intermedia* (тысячи раз).

Определение наличия генов резистентности микробов к АМП в пародонтальных тканях показало относительно невысокую частоту встречаемости у пациентов с патологией пародонта. Однако, данное явление также может обуславливать и свидетельствовать о тяжести патологического процесса.

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ВНЕДРЕНИЯ КЛИНИКО – ЛАБОРАТОРНЫХ КРИТЕРИЕВ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА НА ПРИМЕРЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИММУНОТРОПНОГО ПРЕПАРАТА «РЕБОН. ГЕЛЬ ДЛЯ ДЕСЕН»

В опубликованных работах различных авторов есть рекомендации по использованию отдельных показателей как критериев оценки эффективности терапии воспалительных заболеваний пародонта.

Предложено использовать CD3+CD8+лимфоцитов периферической крови, ИЛ-1 β , ФНО- α в качестве показателей эффективности терапии [9,13]. Однако, комплексной оценки, включающей в себя клинические данные (индексы здоровья пародонта, глубина пародонтального кармана, подвижность зубов), а также данные микробиологического и молекулярно – биологического исследований в доступной литературе мы не встретили.

Следует отметить, что показатели активности общего и местного иммунитета отражают только реакцию макроорганизма. Количественное определение представителей пародонтопатогенной микрофлоры и сопоставление с клиническими данными, на наш взгляд, позволяют более объективно оценить результаты терапии данной патологии.

В связи с этим, было проведено сравнение показателей, полученных до и после лечения традиционной терапией и с применением иммуностропного препарата «Рибон. Гель для десен».

4.1. Сопоставление данных клинического и инструментального обследования пациентов с результатами количественного определения пародонтопатогенной микрофлоры и наличия генов резистентности к антибиотикам

Большой интерес представляет сопоставление результатов клинического и инструментального исследований с данными, полученными микробиологическим и молекулярно – биологическим методами. Нами предполагалось выявить наиболее значимые критерии для оценки состояния тканей пародонта для дальнейшей оценки эффективности терапии указанной патологии.

Сопоставление клинических, инструментальных и лабораторных показателей у пациентов первого этапа исследований представлено в Таблице 8.

Следует отметить, что все показатели в группе условно здоровых лиц (УЗЛ) имели достоверные отличия от таковых в группах с генерализованным (ГП) и локальным (ЛП) пародонтитом ($p \leq 0,05$). Достоверные различия между группами ГП и ЛП были выявлены только по пародонтальному индексу (ПИ по А. Russel) и по количественным показателям *T.denticola* и *T.forsintia* ($p \leq 0,05$).

Немаловажным критерием в различиях между рассматриваемыми группами является наличие генов резистентности к АМП. В группах с ГП и ХП они определялись практически с одинаковой частотой – 18,3 %.

Таким образом, на первом этапе исследований было получено, что среди лабораторных показателей существенную диагностическую ценность имеют данные молекулярно – биологических исследований по основным пародонтопатогенным микроорганизмам. В частности их количественное определение.

Таблица 8 - Клинические и лабораторные показатели в исследуемых группах (средние значения)

Группа Показатель	Г П (n=16)	Л П (n=18)	У 3 Л (n=21)
ПМА (С. Parma)	51,3	62,3	0,05
ПИ (А. Russel)	1,2	3,6 *	0,03
ИК ((SBI))	3,3	3,8	1,2
ПК	3,1	4,8	1,1
КПИ	2,8	3,5	0,2
Подвижность зубов	1,8	2,4	0,02
<i>A. actinomycetomcomitans</i> (коп./мл)	553,3	405,8	6,8
<i>P.gingivalis</i> (коп./мл)	$40,29 \cdot 10^7$	$56,54 \cdot 10^7$	$15,24 \cdot 10^7$
<i>P.endodontalis</i> (коп./мл)	$43,6 \cdot 10^7$	$83,4 \cdot 10^7$	$0,1 \cdot 10^7$
<i>T.denticola</i> (коп./мл)	$19,51 \cdot 10^4$	$3,5 \cdot 10^4$ *	$0,098 \cdot 10^4$
<i>T.forsintia</i> (коп./мл)	$102,1 \cdot 10^4$	$6,8 \cdot 10^4$ *	$0,05 \cdot 10^4$
<i>P.intermedia</i> (коп./мл)	$998,9 \cdot 10^5$	$1244,6 \cdot 10^5$	$0,3 \cdot 10^5$
<i>F.nucleatum</i> (коп./мл)	$39,2 \cdot 10^3$	$17,7 \cdot 10^3$	$5,2 \cdot 10^3$
Гены резистентности к АМП	МecA - 11,4%, NDM - 6,9 %.	МecA – 10,5%, NDM - 2,6%, VIM- 2,6%, OXA-48- 2,6%.	Не обнаружено

ПМА – папилляро-маргинальный индекс, ПК – пародонтальный индекс по Расселу, ИК ((ISB) – индекс кровоточивости, ПК –глубина пародонтального кармана, КПИ – комплексный пародонтальный индекс. * - достоверность отличий между группами ГП и ХП ($p \leq 0,05$).

4.2. Внедрение клинико-лабораторных критериев оценки эффективности терапии заболеваний пародонта на примере использования иммуностропного препарата «Рибон. Гель для дёсен»

Исследования на первом этапе показали, что, как пародонтальные индексы, так и лабораторные данные в группах с ГП и ЛП существенно не отличались. Поэтому в дальнейшей работе были сформированы группы пациентов с легкой и средней степенью тяжести течения изучаемой патологии, но, не разделяя их на группы с ГП и ЛП.

Тестирование биологического материала проводили методом ПЦР на те же микроорганизмы, что и на первом этапе. Поскольку бактериологические исследования занимали достаточно продолжительное время и не показали необходимой информативности, на втором этапе бактериологический метод мы не использовали.

При исследовании количества пародонтопатогенных микроорганизмов у пациентов до и после лечения без применения препарата «Рибон. Гель для дёсен» показало, что различия достоверны по *A. actinomycetomcomitans*, *P.endodontalis*, *T.denticola*, *P.intermedia* и *F.nucleatum*. Не достоверными различия оказались по результатам определения *P.gingivalis*, *T.forsintia*. Результаты представлены в таблице 9.

Наиболее наглядными получились данные количественного определения исследуемых микроорганизмов в процессе терапии с использованием препарата «Рибон. Гель для дёсен».

Результаты тестирования биологического материала на наличие парадонтопатогенной анаэробной микрофлоры и ее количества до и после лечения с применением препарата «Рибон. Гель для дёсен» представлены в таблице 10.

Гены, обуславливающие устойчивость к АМП (СТХ-М, МесА, ТЕМ) до лечения были обнаружены у 3 пациентов. После лечения традиционным методом

ген МесА выявлен у 1 пациента со средней степенью тяжести. В группе, где применялась терапия с иммуностропным препаратом «Рибон. Гель для десен» генов резистентности к АМП после проведенного лечения не выявлено.

Таблица 9 - Результаты количественного определения представителей пародонтопатогенной микрофлоры (коп./мл) 17 пациентов (группа 1) до и после лечения без препарата «Рибон. Гель для десен»

Микроорганизм	Лечение	М	Me	LQ	UQ	P
<i>A. a.</i>	До	215479,6	13,0	0	2855,0	0,008
	После	38156,7	0	0	165,0	
<i>P. g.</i>	До	$18,4 \cdot 10^5$	$0,15 \cdot 10^5$	$0,04 \cdot 10^5$	$10,5 \cdot 10^5$	0,58*
	После	$38,15 \cdot 10^5$	$0,13 \cdot 10^5$	$0,05 \cdot 10^5$	$1,0 \cdot 10^5$	
<i>P. e.</i>	До	$637,5 \cdot 10^5$	$2,0 \cdot 10^5$	$0,17 \cdot 10^5$	$314,6 \cdot 10^5$	0,01
	После	$25,7 \cdot 10^5$	$0,7 \cdot 10^5$	$0,014 \cdot 10^5$	$65,3 \cdot 10^5$	
<i>T. d.</i>	До	$121,5 \cdot 10^5$	$38,1 \cdot 10^5$	$1,0 \cdot 10^5$	$142,1 \cdot 10^5$	0,04
	После	$83,1 \cdot 10^5$	$11,0 \cdot 10^5$	$1,3 \cdot 10^5$	$25,3 \cdot 10^5$	
<i>T. f.</i>	До	$17,3 \cdot 10^5$	$6,0 \cdot 10^5$	$0,44 \cdot 10^5$	$14,6 \cdot 10^5$	0,05
	После	$3,9 \cdot 10^5$	$1,7 \cdot 10^5$	$0,05 \cdot 10^5$	$7,1 \cdot 10^5$	
<i>P. i.</i>	До	$27,7 \cdot 10^5$	$1,9 \cdot 10^5$	$0,21 \cdot 10^5$	$33,8 \cdot 10^5$	0,001
	После	$5,9 \cdot 10^5$	$0,25 \cdot 10^5$	$0,01 \cdot 10^5$	$1,5 \cdot 10^5$	
<i>F. n.</i>	До	$28,5 \cdot 10^5$	$2,7 \cdot 10^5$	$0,18 \cdot 10^5$	$2,2 \cdot 10^5$	0,001
	После	$8,6 \cdot 10^5$	$0,3 \cdot 10^5$	$0,02 \cdot 10^5$	$0,3 \cdot 10^5$	

Примечание: *A. a.*- *A. actinomycetemcomitans*; *P. g.*- *P. gingivalis*; *P. e.*- *P. endodontalis*; *T. d.*- *T. denticola*; *T. f.* - *T. forsythia*; *P. i.*- *P. intermedia*; *F. n.* - *F. nucleatum* . М – среднее значение; Me – медиана; LQ – нижний квартиль; UQ – верхний квартиль; P – достоверность различий по Манну – Уитни; * - различия недостоверны.

Таблица 10 - Результаты количественного определения представителей пародонтопатогенной микрофлоры (коп./мл) 19 пациентов (группа 2) до и после лечения с применением препарата «Рибон. Гель для дёсен»

Микроорганизм	Лечение	М	Me	LQ	UQ	P
<i>A. a.</i>	До	227703,5	15,0	0	26664,0	0,009
	После	3619,8	0	0	15,0	
<i>P. g.</i>	До	$12,7 \cdot 10^5$	$0,03 \cdot 10^5$	$0,02 \cdot 10^5$	$9,7 \cdot 10^5$	0,42*
	После	$7,0 \cdot 10^5$	$0,12 \cdot 10^5$	$0,02 \cdot 10^5$	$0,9 \cdot 10^5$	
<i>P. e.</i>	До	$158,2 \cdot 10^5$	$1,6 \cdot 10^5$	$0,12 \cdot 10^5$	$66,6 \cdot 10^5$	0,005
	После	$5,3 \cdot 10^5$	$0,2 \cdot 10^5$	$0,007 \cdot 10^5$	$0,2 \cdot 10^5$	
<i>T. d.</i>	До	$161,5 \cdot 10^5$	$43,4 \cdot 10^5$	$1,98 \cdot 10^5$	$142,0 \cdot 10^5$	0,016
	После	$19,6 \cdot 10^5$	$6,6 \cdot 10^5$	$0,05 \cdot 10^5$	$15,6 \cdot 10^5$	
<i>T. f.</i>	До	$15,2 \cdot 10^5$	$6,5 \cdot 10^5$	$0,32 \cdot 10^5$	$12,1 \cdot 10^5$	0,03
	После	$3,6 \cdot 10^5$	$1,2 \cdot 10^5$	$0,02 \cdot 10^5$	$4,5 \cdot 10^5$	
<i>P. i.</i>	До	$33,8 \cdot 10^5$	$2,1 \cdot 10^5$	$0,15 \cdot 10^5$	$45,2 \cdot 10^5$	0,0009
	После	$3,0 \cdot 10^5$	$0,13 \cdot 10^5$	$0,009 \cdot 10^5$	$0,9 \cdot 10^5$	
<i>F. n.</i>	До	$23,8 \cdot 10^5$	$2,5 \cdot 10^5$	$0,15 \cdot 10^5$	$1,2 \cdot 10^5$	0,0007
	После	$1,7 \cdot 10^5$	$0,1 \cdot 10^5$	$0,008 \cdot 10^5$	$0,2 \cdot 10^5$	

Примечание: *A. a.*- *A. actinomycetomcomitans*; *P. g.*- *P. gingivalis*; *P. e.*- *P. endodontalis*; *T. d.*- *T. denticola*; *T. f.* - *T. forsythia*; *P. i.*- *P. intermedia*; *F. n.* - *F. nucleatum* . М – среднее значение; Me – медиана; LQ – нижний квартиль; UQ – верхний квартиль; P – достоверность различий по Манну – Уитни; * - различия недостоверны.

Таким образом, было обнаружено, что лечение с применением геля оказывает не прямое бактериостатическое действие на пародонтопатогенную микрофлору в большей степени, чем без него. Достоверность различий по критерию Вилкоксона оказалась достаточно высокой в отношении всех исследуемых микроорганизмов, за исключением *P. gingivalis*.

Таблица 11 - Сравнительные данные по индексам здоровья пародонта до и после лечения в группах 1 и 2 на 14 сутки после лечения (Ме)

Показатель Группа		ПМА (С. Parma) %	ПИ (А. Russel)	ИК (SBI) %	ПК	КПИ	Подвижность зубов
Традиционная терапия (группа 1) n=17	До лечения	51,29	3,6	40,26	3,2	2,89	20,0
	После лечения	40,2	1,5	25,5	2,0	0,78	13,5
С применением геля (группа 2) n=19	До лечения	63,72	3,22	42,1	3,0	3,14	18,0
	После лечения	18,94	0,72	18,4	1,5	0,25	9,0

Клинический пример 1.

Пациентка А. 49 лет, обратилась в поликлинику с жалобами на подвижность нижних резцов, кровоточивость десен после чистки зубов, оголение шеек верхней трети зубов.

Из анамнеза: детские инфекции, простудные заболевания. Аллергических реакции не выявлено, наследственные заболевания отрицает, вредные привычки отрицает.

Объективно: глотание безболезненное, открывание рта в полном объеме. Поднижнечелюстные, подъязычные, шейные лимфатические узлы не увеличены, при пальпации безболезненные. Язык чистый. Слизистая оболочка рта бледно-розового цвета, без видимых патологических изменений.

Предварительный диагноз: пародонтит легкой степени тяжести.

План лечения: после сбора анамнеза и осмотра, выполнены дополнительные методы обследования: рентгеновское обследование зубов 31,32,41,42, определение глубины пародонтальных карманов с помощью градуированного зонда, определен индекс здоровья пародонта.



Рисунок 7 - Панорамный снимок

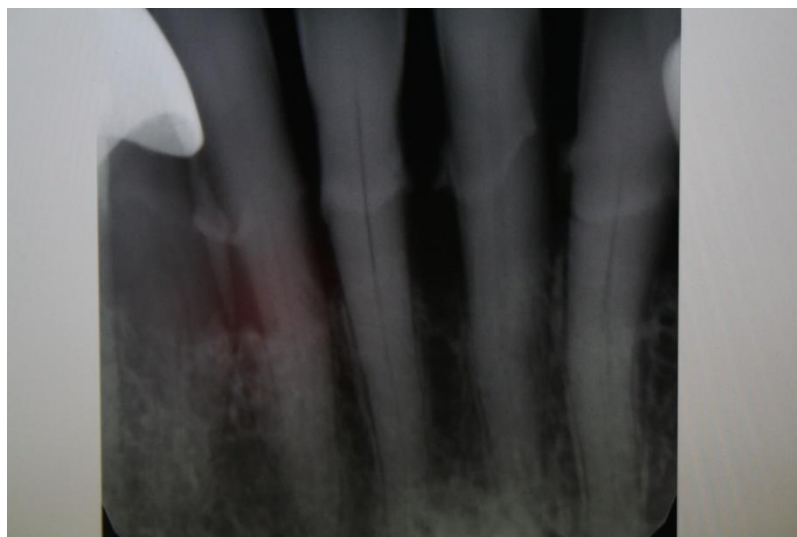


Рисунок 8 - Прицельный снимок нижних резцов

Назначена профессиональная гигиена полости рта, закрытый кюретаж пародонтальных карманов, обработка ротовой полости хлоргексидином. Проведено введение геля “Ребон” в пародонтальный карман. Наблюдение пациента.

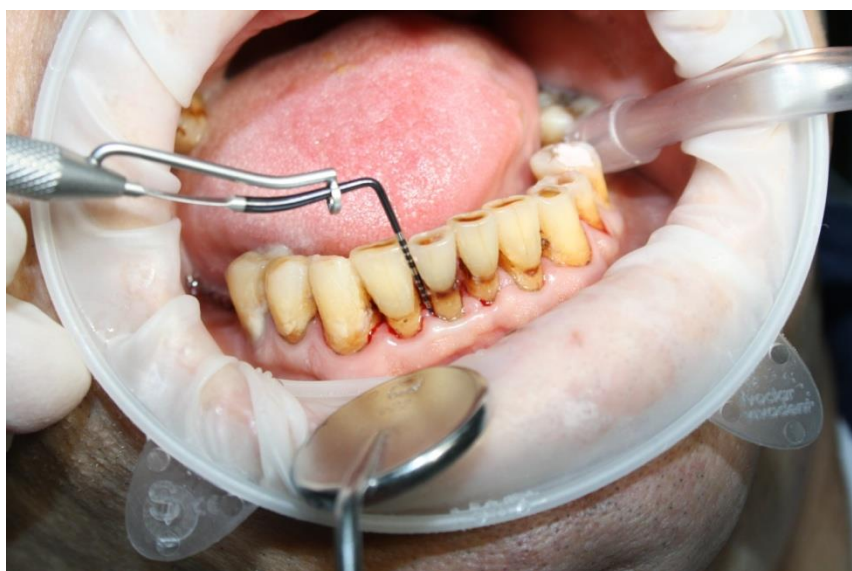


Рисунок 9 - Определение глубины зубоденсегового кармана градуированным зондом

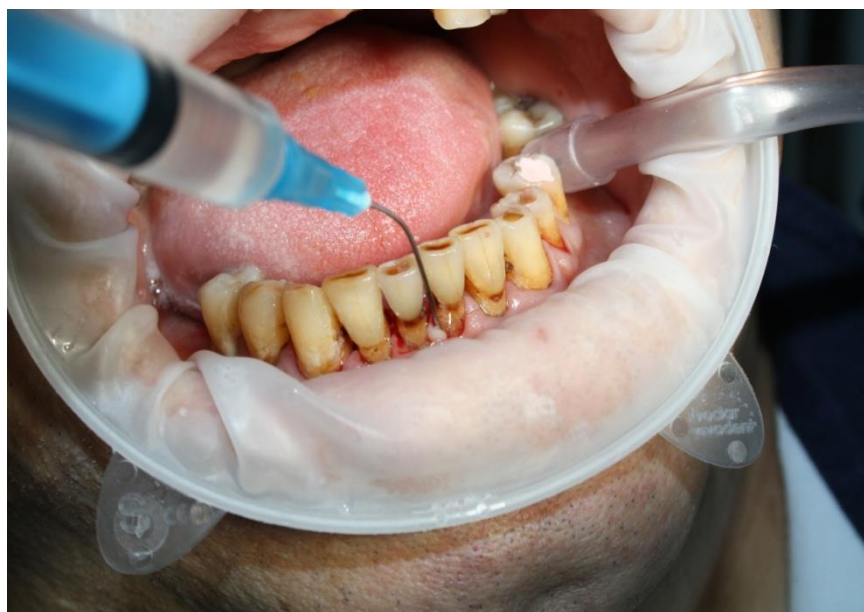


Рисунок 10 - Введение геля «Ребон»

Индексы гигиены и пародонтологические индексы: ПМА - 35,8% , ПИ - 2,5; ИК - 3, ПК – 5 мм; КПИ - 3; подвижность зубов – 20,5.

Количество обнаруженной парадонтопатогенной микрофлоры составило: *A. actinomycetemcomitans* – 20 573 ; *P. endodontalis* - 129000000; *T. denticola*- 10000000; *T. forsythia* - 8450000; *P. intermedia* - 1140000 ; *F. nucleatum* -10600000.

Через 14 дней после начала лечения, пациент отмечает снижение кровоточивости и незначительное уменьшение подвижности зубов.

Индексы гигиены и пародонтологические индексы: ПМА - 25,6% , ПИ - 1,5; ИК - 2, ПК – 3 мм; КПИ - 2 ; подвижность зубов – 2,0.

Количество обнаруженной парадонтопатогенной микрофлоры составило: *A. actinomycetemcomitans* - 70 ; *P. endodontalis* - 1129714 ; *T. denticola*- 744000; *T. forsythia* - 179000; *P. intermedia* - 210 ; *F. nucleatum* – 11600.

Таблица 12 - Кратность снижения количества микроорганизмов после применения геля на 14 сутки у пациентки А

Микроорганизм	<i>A. actinomycetemcomitans</i>	<i>P. endodontalis</i>	<i>T. denticola</i>	<i>T. forsythia</i>	<i>P. intermedia</i>	<i>F. nucleatum</i>
Кратность снижения количества после лечения	293,9	114,2	13,44	47,2	5428,6	913,8

Клинический пример 2.

Пациент Б. обратился за стоматологической помощью с жалобами на кровоточивость десен, неприятный запах изо рта, подвижность и смещение зубов, периодическую боль при приеме пищи.

Из анамнеза: детские инфекции, простудные заболевания. Аллергических реакции не выявлено, наследственные заболевания отрицает, вредные привычки отрицает.

Объективно: глотание безболезненное, открывание рта в полном объеме. Поднижнечелюстные, подъязычные, шейные лимфатические узлы не увеличены, при пальпации безболезненные. Язык чистый. Слизистая оболочка рта умеренно увлажнена, имеются признаки хронического воспаления десен: гиперемия, кровоточивость, имеются над- и поддесневые зубные отложения.

Предварительный диагноз: хронический пародонтит средней степени тяжести.

Индексы гигиены и пародонтологические индексы: ПМА - 56,8%, ПИ - 3,7; ИК - 3, ПК – 6 мм; КПИ - 3,5.

Подвижность в области нижних фронтальных зубов II-III степени. Глубина пародонтальных карманов у зуба 31 = 6 мм, у зуба 43 = 6 мм.

Количество обнаруженной парадонтопатогенной микрофлоры составило: *A. actinomycetemcomitans* - 4270000 ; *P. endodontalis* - 129000000 ; *T. denticola* - 23100000; *T. forsythia* - 1210000; *P. intermedia* - 244359 ; *F. nucleatum* – 252000. Обнаружены микробные гены: МесА, обуславливающий устойчивость к цефалоспорином, и ОХА – 48, обуславливающий устойчивость к карбопенемам.

Назначена профессиональная гигиена полости рта, закрытый кюретаж пародонтальных карманов, обработка ротовой полости хлоргексидином. Проведено введение геля “Рибон” в пародонтальный карман. Наблюдение пациента.



Рисунок 11 - Исходное состояние пародонта



Рисунок 12 - Панорамный снимок пациента Б

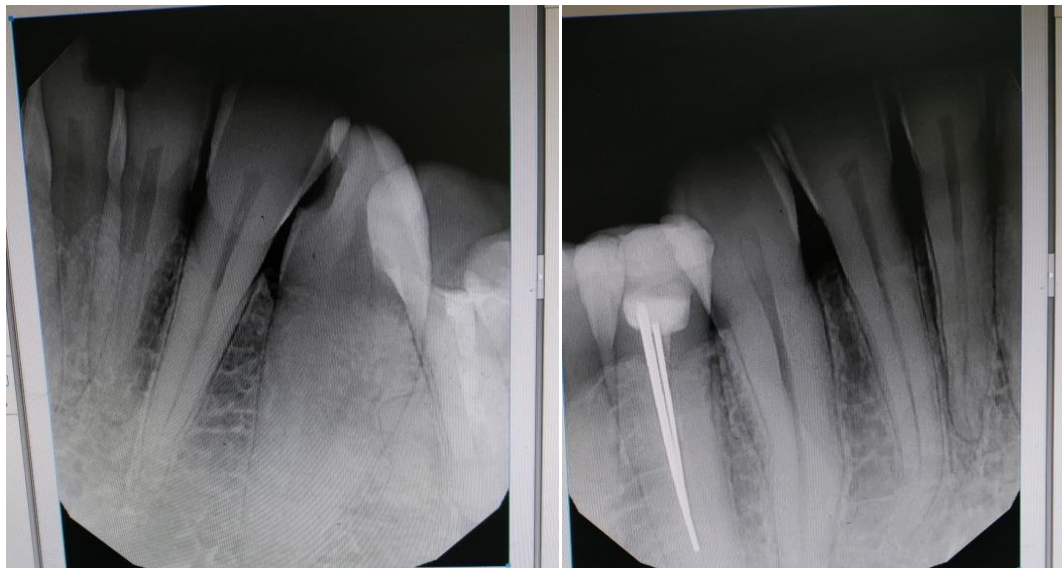


Рисунок 13 - Прицельные снимки фронтальной группы зубов пациента Б



Рисунок 14 - Измерение глубины пародонтальных карманов



Рисунок 15 - Снятие зубных отложений с помощью ультразвука



Рисунок 16 - Закрытый кюретаж пародонтальных карманов с антисептической обработкой хлоргексидин 0,05%



Рисунок 17 - Введение геля “Рибон” в пародонтальный карман

Через 14 дней после начала лечения, пациент отмечает уменьшение кровоточивости и незначительное уменьшение подвижности зубов.

Индексы гигиены и пародонтологические индексы: ПМА - 25,9% , ПИ - 3,0; ИК – 2,6, ПК – 3 мм; КПИ - 3,0.

Глубина пародонтальных карманов у зуба 31 = 3мм, у зуба 43 = 4 мм.

Подвижность в области нижних фронтальных зубов II степени.

Количество обнаруженной парадонтопатогенной микрофлоры составило: *A. actinomycetemcomitans* - 68600 ; *P. endodontalis* – 1210000; *T. denticola*- 38000; ; *T. forsythia*- 1120 ; *P. intermedia* - 1841 ; *F. nucleatum* – 655. Бактериальные гены МесА и ОХА - 48, обуславливающие устойчивость к антибиотикам не обнаружены.

Таблица 13 - Кратность снижения количества микроорганизмов после применения геля на 14 сутки у пациента Б

Микроорганизм	<i>A. actinomycetemcomitans</i>	<i>P. endodontalis</i>	<i>T. denticola</i>	<i>T. forsythia</i>	<i>P. intermedia</i>	<i>F. nucleatum</i>
Кратность снижения количества после лечения	62,2	106,6	607,9	1080,4	132,7	384,7

Из приведенных клинических примеров видно, что уже через 14 суток после начала лечения с использованием препарата «Ребон. Гель для десен» наблюдается существенное улучшение, как клинических показателей, так и значительное снижение количества представителей парадонтопатогенной микрофлоры.

Индексы гигиены полости рта, подвижность зубов, глубина пародонтальных карманов, так же как и кровоточивость снижались уже к 14 суткам после начала лечения.

Данные клинические примеры показывают, что существуют некоторые индивидуальные особенности у пациентов в количестве и кратности снижения пародонтопатогенных микроорганизмов в процессе лечения. Если в клиническом **примере 1** наибольшая кратность снижения наблюдалась в отношении *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia* и *F. nucleatum*, то в **примере 2** значительная кратность снижения была в отношении *T. denticola*, *T. forsythia* и *F. nucleatum*. Тем не менее, все указанные в таблицах 11 и 12 количество микробных патогенов в процессе лечения снижались как минимум в десятки раз.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценка эффективности терапии пародонтитов не теряет актуальности и в настоящее время. Для этих целей необходимо использовать уже существующие методы, которые позволяют проводить сопоставление формализованных показателей и разрабатывать новые, позволяющие более полно и объективно оценивать клиническое состояние пародонта, характер выраженности патологических изменений тканей и, как нам кажется, некие объективные показатели. В то же время чрезвычайно актуальна и разработка новых методов лечения, направленно воздействующих на основные патогенетические механизмы заболевания, эффективность которых объективизируется именно высокоспецифическими диагностическими методами [6, 12, 22, 48, 67].

В работах различных авторов указывается на необходимость определения клинически значимой концентрации Грам-отрицательных анаэробных бактерий, при определении которых классическими методами бактериологии существуют определенные трудности [142, 143]. Эти трудности связаны с культивированием микроорганизмов. В проведенной нами работе мы столкнулись с аналогичными затруднениями при культивировании анаэробной микрофлоры. Поэтому наш выбор остановился на методе ПЦР в реальном времени, позволяющем получать количественные данные. При этом полученная концентрация копий ДНК *Porphyromonas gingivalis*, измеряемая миллиардами копий, была неожиданностью для нас. В литературе мы не встретили аналогичных данных.

Влияние анаэробных микроорганизмов на состояние тканей пародонта происходит на клеточном и молекулярном уровнях. Так было показано, что *T. denticola* вызывает апоптоз клеток эпителия и макрофагов вследствие выделения фермента, подобного хемотрипсину (chymotrypsin-like proteinase, CTLP). При этом активируется экспрессия клеточных маркеров воспаления и повышается синтез провоспалительных цитокинов [103, 128.].

В другой работе было показано, что оральные патогены (*T. denticola*, *P. gingivalis*, and *T. forsythia*) индуцировали высвобождение клеточных АТФ, обуславливающие, в свою очередь, активацию каспаз (caspase-1 and caspase-4), белка теплового шока HSP60 и фибронектина [129].

Также проведенная работа выявила важную связь между клинически значимой концентрацией ДНК анаэробных микроорганизмов и В-лимфотропным вирусом Эпштейна-Барр. Наши данные согласуются с литературными, в которых указывается на роль вирусов групп герпеса в развитии воспалительных процессов в пародонте [85, 92, 121, 122, 141, 144 и др.].

Сложные сочетания устойчивости к антимикробным препаратам наблюдаются в полимикробных биопленках [41, 44, 53, 59, 62, 130], в которых возможна межвидовая передача генов лекарственной устойчивости, в том числе от метициллинрезистентных *S. aureus*. Передача генетического материала от одного микроорганизма другому еще более усложняет проблему и приобретает угрожающий характер [2, 36, 123, 132 и др.]. Поэтому определение генов устойчивости к АМП имеет важное значение.

В результате молекулярно-биологического исследования патогенных бактерий ротовой полости в клинически значимых концентрациях при заболеваниях пародонта были выявлены *A. actinomycetemcomitans*; *P. endodontalis*; *T. denticola*; *T. forsythia*; *P. intermedia* ; *F. nucleatum*. Причем, статистически значимые различия до и после лечения были обнаружены при традиционной терапии и при терапии с использованием иммуномодулятора в составе препарата «Рибон. Гель для десен».

Количественное определение пародонтопатогенных микроорганизмов является объективным показателем эффективности нехирургической терапии пародонтитов [137, 140, 152]. В работе Eick S, Mathey A, Vollroth K с соавт. [138] это было показано в отношении *Porphyromonas gingivalis*. В наших исследованиях были получены другие результаты. Именно количественные показатели этого

микроорганизма не имели достоверных различий от изначальных и после лечения.

Наличие *A. actinomycetemcomitans* у пациентов обеих групп определяли не у всех пациентов, причем его количество по сравнению с другими патогенами было невелико и не превышало 20 000 коп./мл и только в единственном случае его количество было $4,27 \cdot 10^6$ коп./мл. В первой группе частота выявления этого микроорганизма составила - 50%, во второй – 52,6 %. Результаты количественного определения изучаемых микроорганизмов представлены на рисунках 18 - 24.

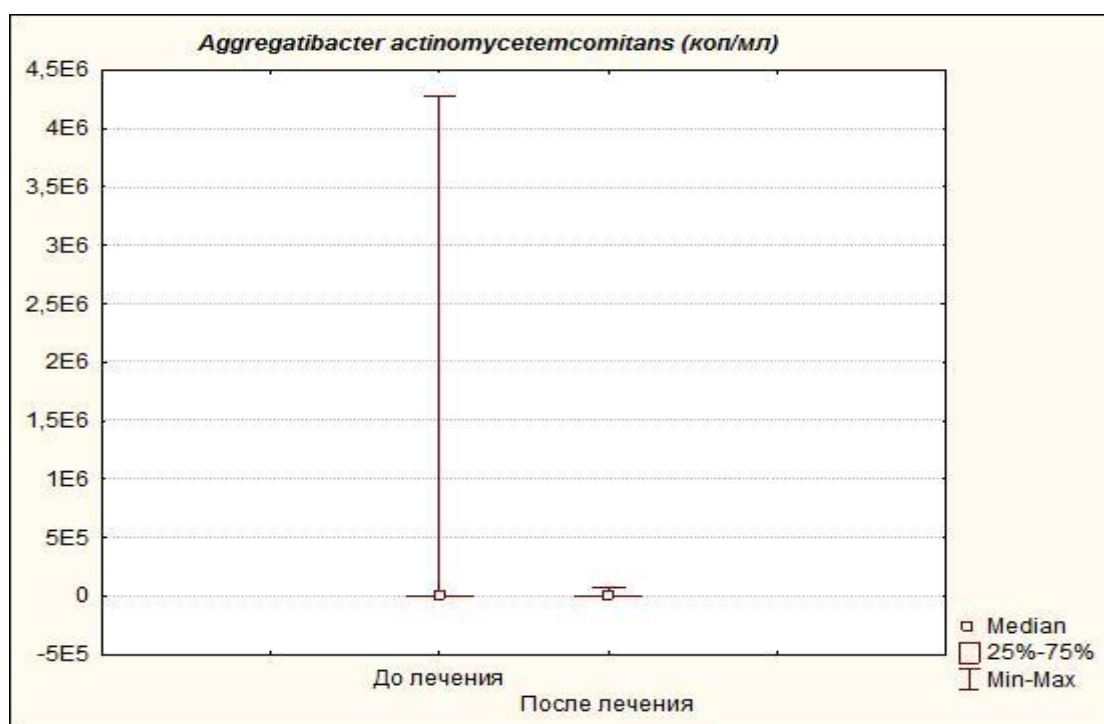


Рисунок 18 - Результаты определения *A. actinomycetemcomitans*

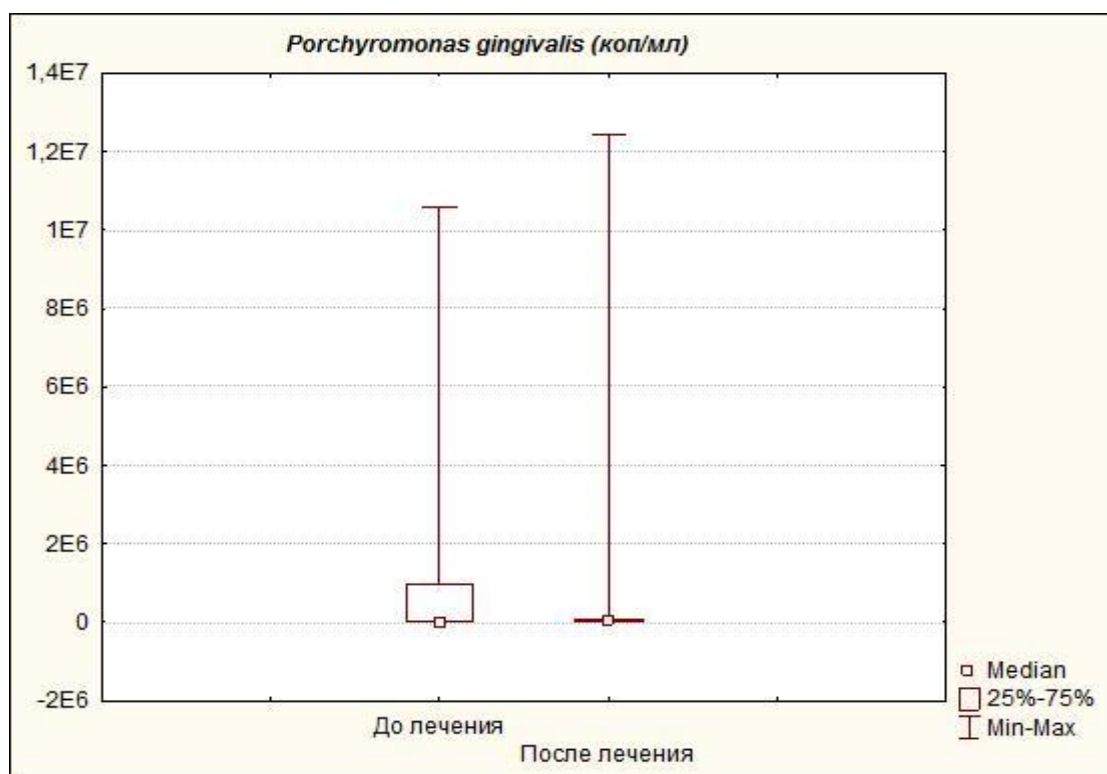


Рисунок 19 - Результаты определения *P. gingivalis*

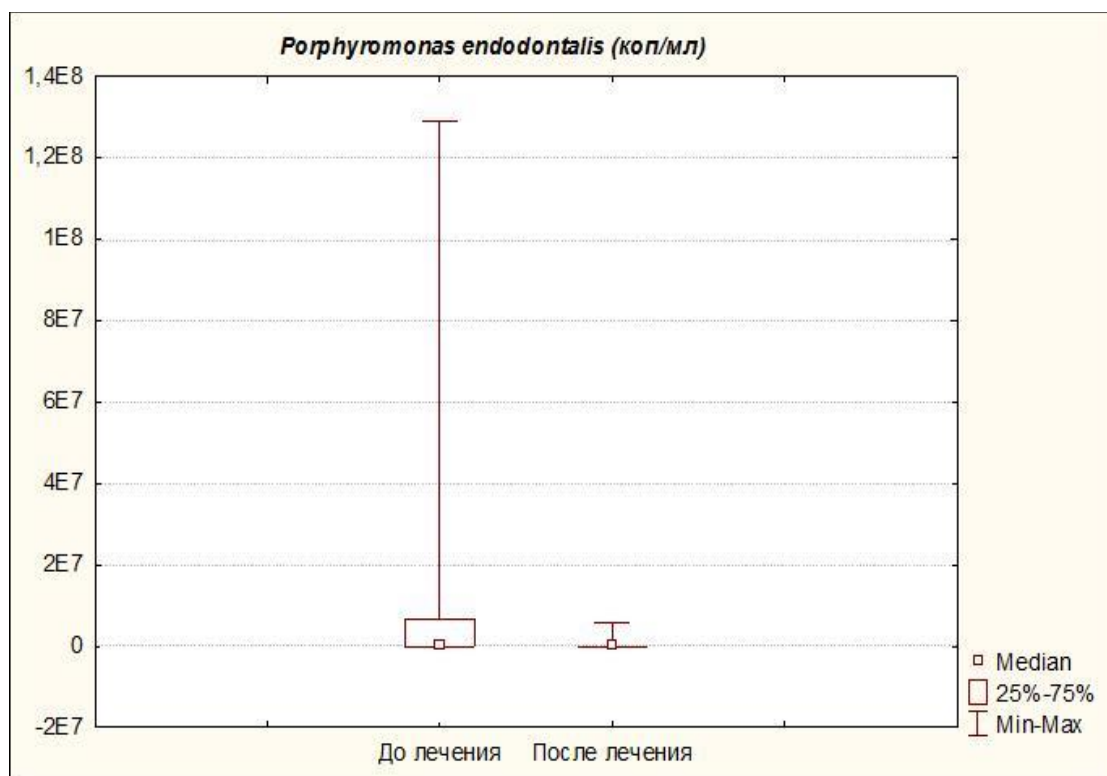


Рисунок 20 - Результаты определения *P. endodontalis*

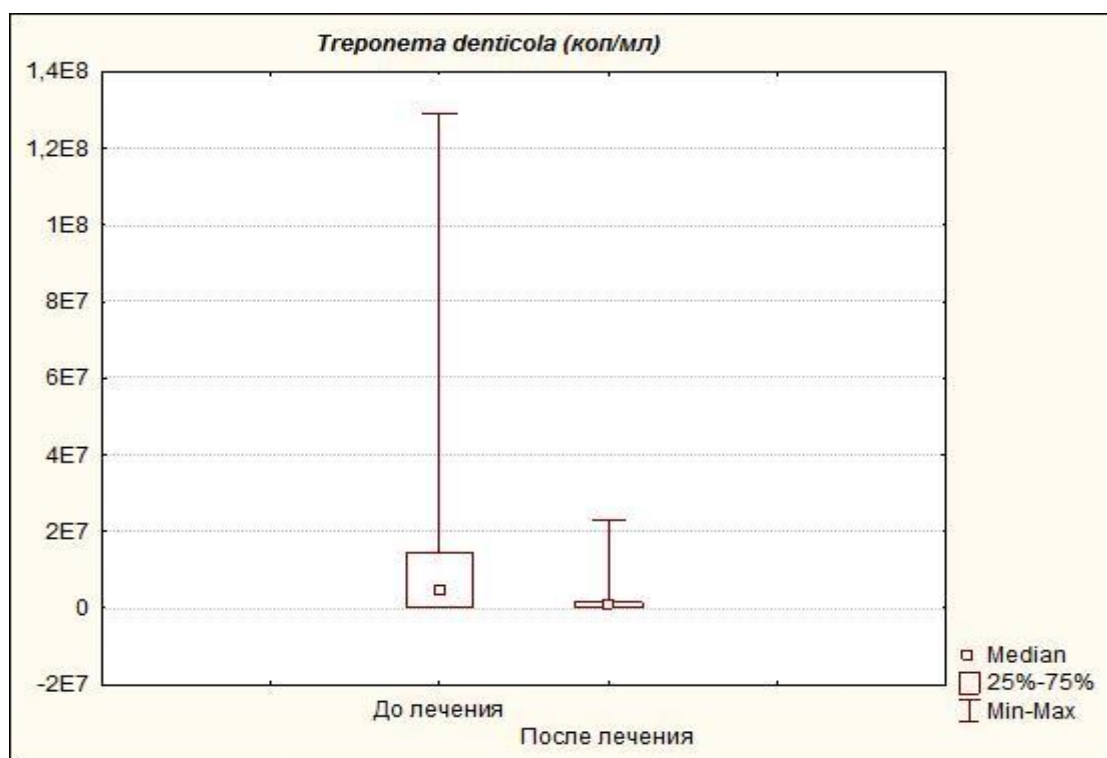


Рисунок 21 - Результаты определения *T. denticola*

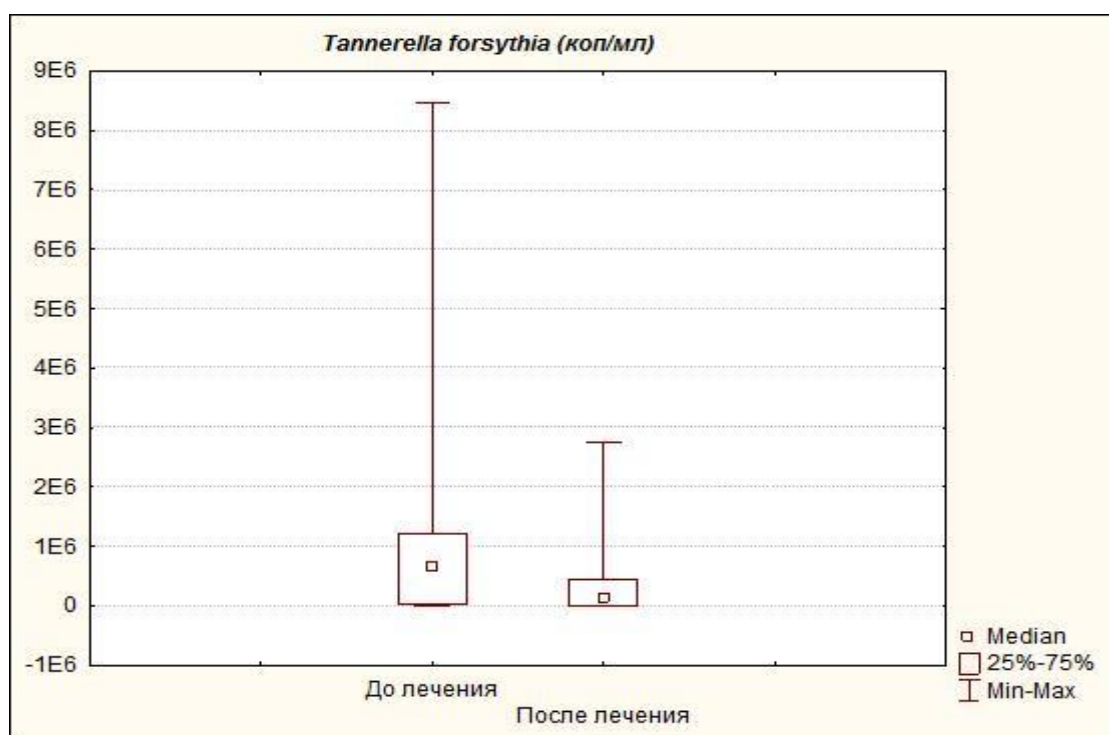


Рисунок 22 - Результаты определения *T. forsythia*

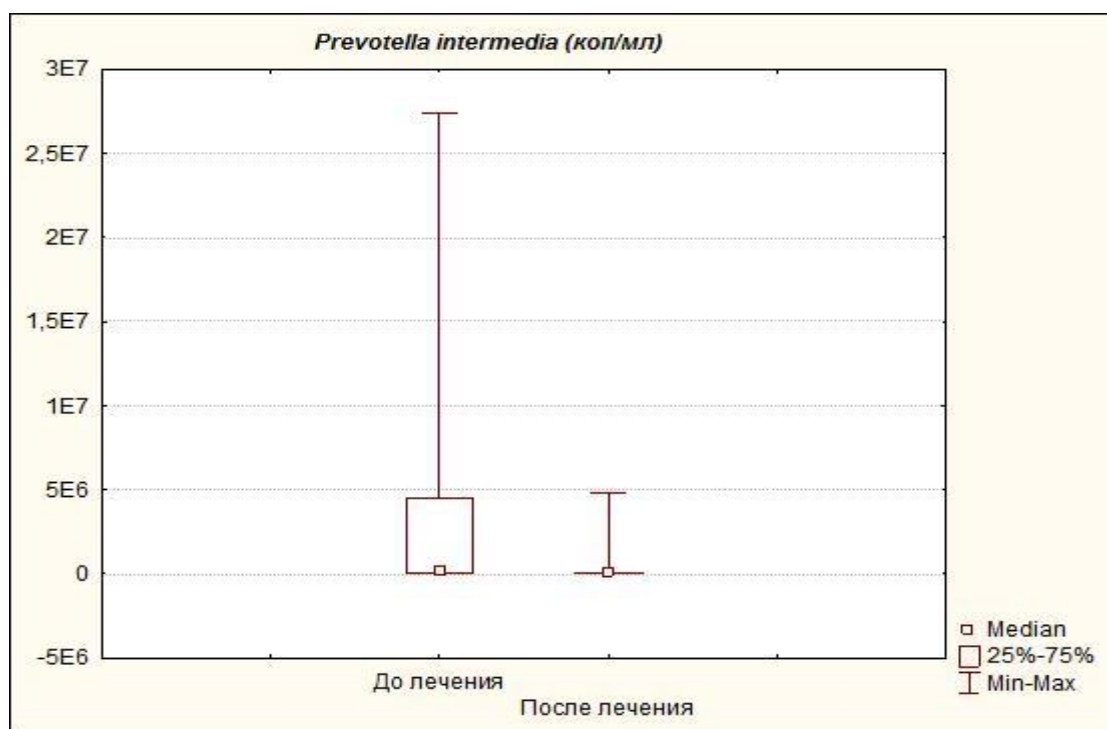


Рисунок 23 - Результаты определения *P. intermedia*

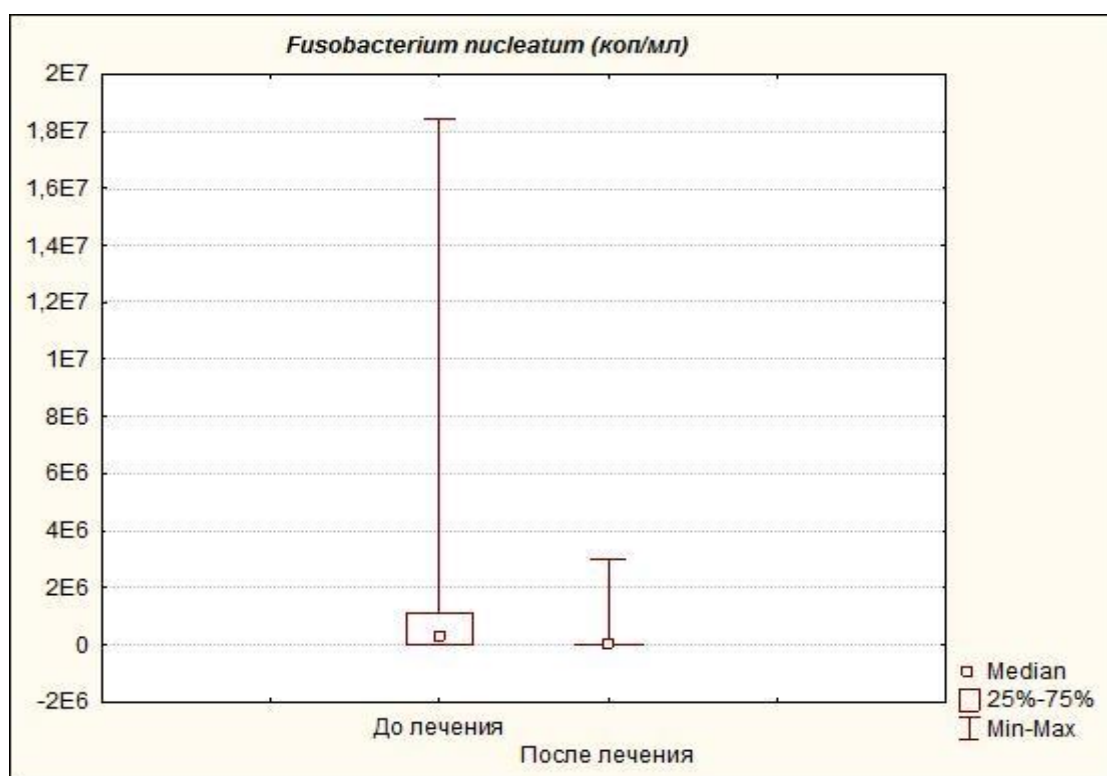


Рисунок 24 - Результаты определения *F. nucleatum*

Большое значение в оценке эффективности терапии пародонтитов имеет определение глубины пародонтального кармана и подвижности зубов. Образование пародонтальных карманов, увеличение подвижности зубов свидетельствуют о степени деструкции мягких тканей пародонта и резорбции костной ткани. Данные показатели являются решающими, как для определения степени выраженности патологии, так и для прогноза течения воспалительного процесса. Определение показателей, характеризующих интенсивность зубных отложений, в меньшей степени отражают степень воспалительной реакции при пародонтитах [34, 35, 70, 100, 139 и др.].

Особенно примечательно, что гены, обуславливающие устойчивость к АМП после лечения не обнаруживали. Это можно объяснить тем, что микрофлора, имеющая эти гены, была элиминирована.

Основываясь на литературных данных, было проведено динамическое наблюдение за пациентами обеих групп с измерением глубины пародонтальных карманов и подвижности зубов. По результатам исследований была выявлена характерная динамика изменения глубины пародонтального кармана и подвижности зубов, согласующаяся с литературными данными (Рисунки 25 – 28).

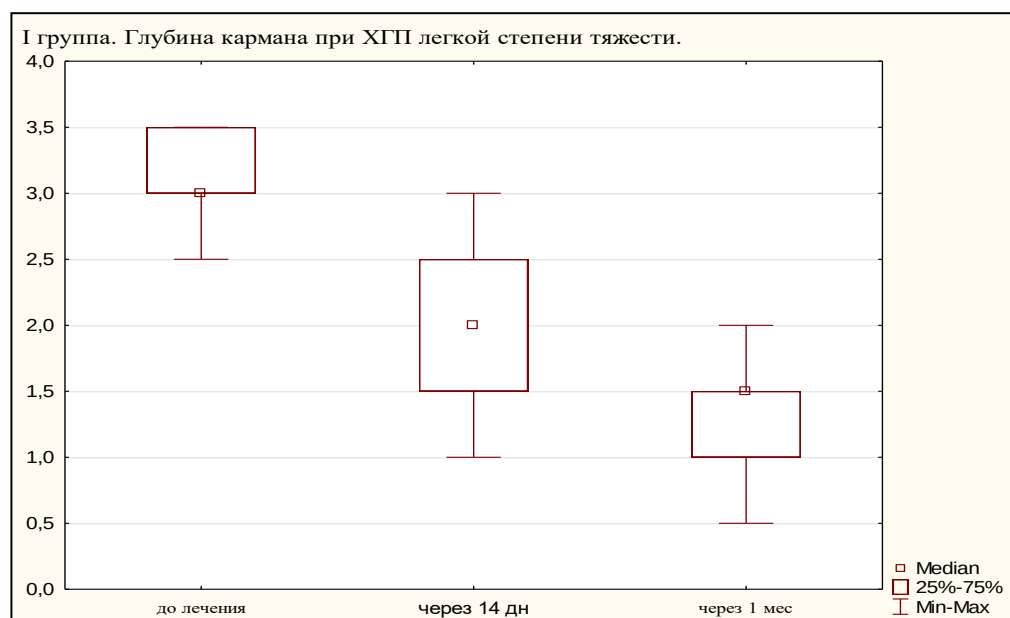


Рисунок 25 - Динамика изменения глубины пародонтального кармана в группе 1 (лечение без применения геля)

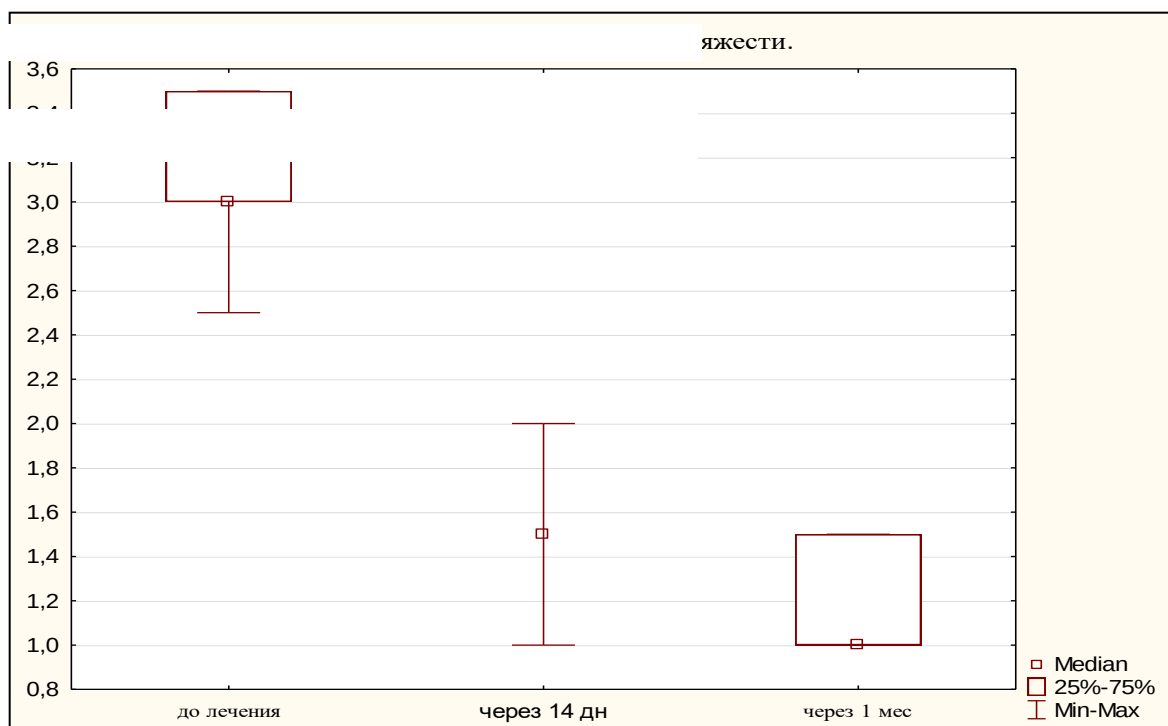


Рисунок 26 - Динамика изменения глубины пародонтального кармана в группе 2 (лечение с применением геля)

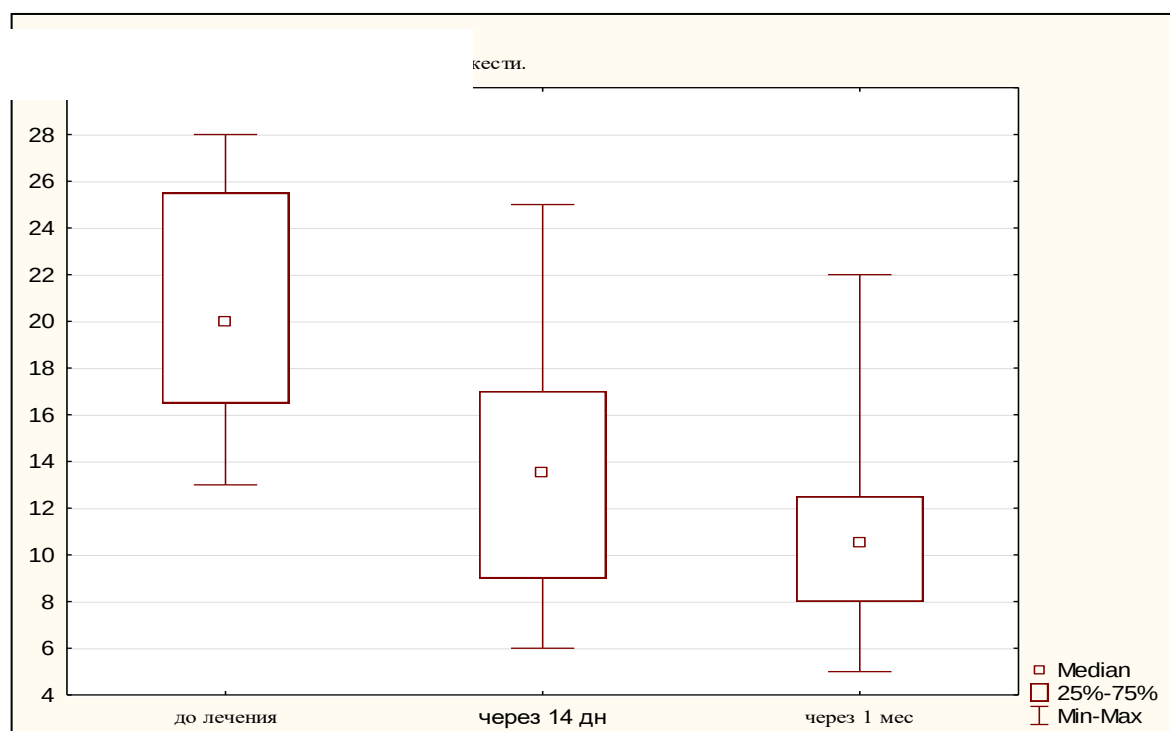


Рисунок 27 - Динамика изменения подвижности зубов в группе 1 (лечение без применения геля)

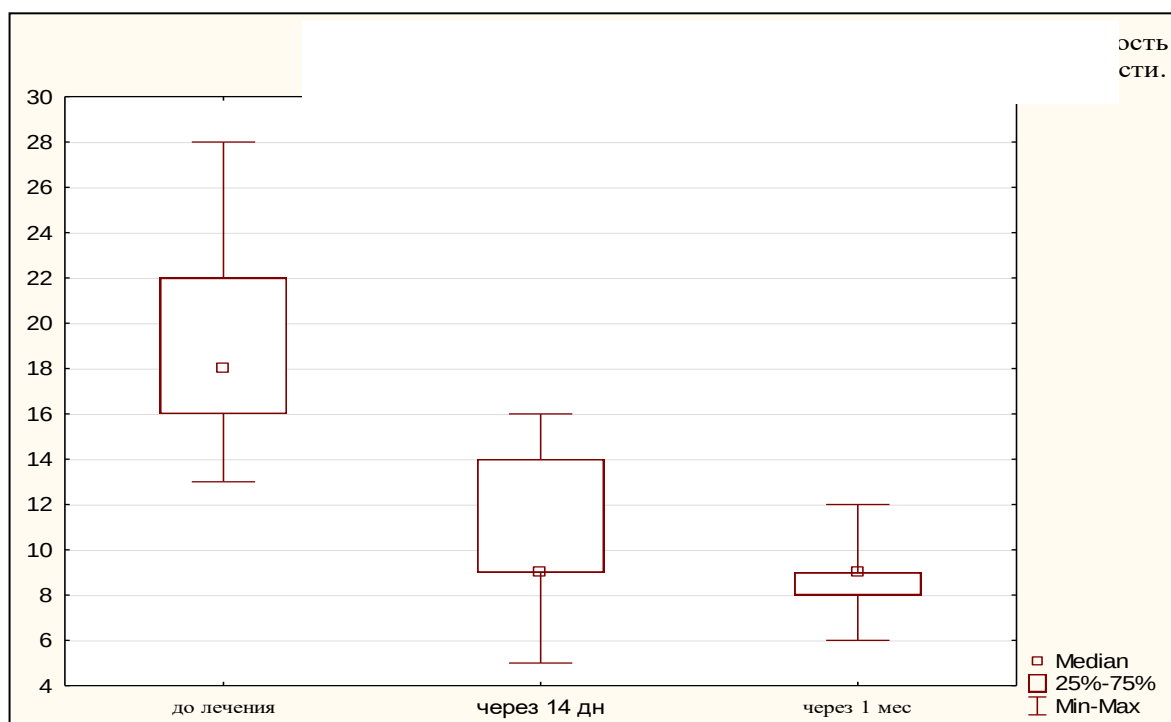


Рисунок 28 - Динамика изменения подвижности зубов в группе 2 (лечение с применением геля)

Динамика изменения глубины пародонтального кармана в процессе лечения имеет одинаковую тенденцию при терапии без применения геля и с его применением. Однако, несколько различается по степени снижения показателей и размаху (min – max) полученных значений в группах 1 и 2. Улучшение показателей наблюдали уже к 14 суткам после начала лечения. Через месяц показатели практически приближались к нормальным. К 14 суткам в группе 2 различия с изначальными данными были более существенными ($p < 0,0001$) по сравнению с группой 1 ($p < 0,01$). Через месяц после начала лечения значения медианы в группах составляло: в группе 1 – 1,5 мм, а в группе 2 – 1,0 мм.

Аналогичная динамика была обнаружена в показателях подвижности зубов. Тенденцию снижения показателей наблюдали в обеих группах. Тем не менее, размах значений (min – max) в первой группе был достаточно широк даже после истечения месяца. Тогда как, во второй группе значения (min – max) имели более

узкий интервал через 14 суток и через месяц после лечения. Значения медианы в группе 1 были: на 14 сутки – 13,5 и 10,6 – через месяц. В группе 2: 9,0 и 8,7 - соответственно.

Применение препарата «Ребон. Гель для десен» в лечении пародонтитов оказало благоприятное влияние на течение воспалительного процесса. Несмотря на то, что данный препарат зарегистрирован как косметическое средство, его использование в схеме лечения положительным образом влияло на процессы восстановления тканей пародонта. Мы наблюдали положительную динамику не только на процессы регенерации, но и на количественное содержание патогенной микрофлоры. Такое действие, вероятнее всего, обуславливается как раз улучшением местной микроциркуляции и миграцией в очаг воспаления иммунокомпетентных клеток моноклеарного ряда.

Таким образом, наши исследования показали, что измерение глубины пародонтальных карманов и подвижности зубов в процессе лечения может служить объективными показателями эффективности терапии. Тем более, что они носят объективный характер, поскольку глубину карманов измеряют градуированным зондом, а подвижность зубов - прибором «Periotest S».

Сочетанное использование пародонтальных индексов, показателей, касающихся кровоточивости десен, глубины пародонтального кармана и подвижности зубов с определением количества основных пародонтопатогенных бактерий позволит более объективно оценивать эффективность терапии, что особенно важно при внедрении новых препаратов и методов лечения данной патологии.

Тем не менее, на наш взгляд, в комплексную оценку эффективности терапии пародонтитов следует включить:

1. Количественную оценку паропатогенной микрофлоры (*P. endodontalis*; *T. denticola*; *T. forsythia*; *P. intermedia*; *F. nucleatum*.) у каждого конкретного пациента до начала лечения и не ранее 14 суток после начала лечения. Возможно ограничиться определением количества трех

из указанных микроорганизмов. Наиболее показательными, на наш взгляд, являются *P. endodontalis*; *P. intermedia*; *F. nucleatum*. Показателем эффективности лечения считать снижение количества микроорганизмов в 100 и более раз.

2. Определение глубины пародонтального кармана и подвижности зубов. Эти клинические показатели в большей степени отражают объективное состояние тканей пародонта.
3. Вспомогательными показателями следует считать индексы здоровья полости рта (ПМА по С. Parma, ПИ по А. Russel; ИК – SBI), наличие генов резистентности к АМП и наличие вирусной составляющей, определяемых до начала лечения и не ранее 14 суток после его начала.

ВЫВОДЫ

1. Состав аэробной части микробиоты представлен в широких пределах, в зависимости от степени тяжести поражения пародонта. Наличие генов резистентности к антибиотикам у оральной микробиоты пациентов свидетельствует о тяжести поражения тканей пародонта и возможной устойчивости к терапии АМП.
2. Количественные показатели анаэробной составляющей пародонтопатогенной микрофлоры у пациентов с различными формами пародонтита коррелирует со степенью тяжести заболевания. У условно здоровых лиц представители «красного» и «оранжевого» комплексов определяются в значительно меньших количествах, чем при патологии.
3. К основным патогенам оральной микробиоты, свидетельствующих о тяжести патологического процесса, следует отнести: *A. actinomycetemcomitans*; *P. endodontalis*; *T. denticola*; *T. forsythia*; *P. intermedia*; *F. nucleatum*, а так же наличие вирусов группы герпеса.
4. Сопоставление клинических и лабораторных данных позволило предложить комплекс критериев оценки эффективности терапии пародонтитов. А именно: глубину пародонтального кармана и подвижность зубов, поскольку данные показатели имеют прямую корреляционную связь с количеством основных патогенов при пародонтитах и количественное определение пародонтопатогенных микроорганизмов. Индексы гигиены и здоровья пародонта (ПМА по С. Parma, ПИ по А. Russel; ИК - SBI), наличие генов резистентности (СТХ-М, МесА, ОХА – 48, TEM) у представителей оральной микробиоты а так же вирусов

группы герпеса, носят вспомогательный характер, поскольку встречаются не более чем в 10 -12 %.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Для практической работы врачей рекомендуем использовать следующие критерии оценки эффективности терапии пародонтитов.

1. Определение подвижности зубов и глубины пародонтального кармана. Данные клинические показатели являются динамичными, обратимыми и отражают состояние пародонтальных тканей. Инструментальное и аппаратное измерение делают эти показатели объективными.
2. Количественную оценку основных представителей пародонтопатогенной микрофлоры (*P. endodontalis*; *T. denticola*; *T. forsythia*; *P. intermedia*; *F. nucleatum*.). Наиболее значимыми на наш взгляд являются: *P. endodontalis*; *P. intermedia*; *F. nucleatum*
3. Определение глубины пародонтального кармана, подвижности зубов и количества указанных микроорганизмов необходимо проводить до лечения и начиная с 14 суток от начала лечения. Сравнение количественных показателей необходимо проводить конкретно для каждого пациента, поскольку имеются индивидуальные особенности в каждом конкретном случае, как в клинических показателях, так и в количественном содержании патогенных микроорганизмов.
4. Считать терапию эффективной при снижении количественных показателей не менее чем у трех микроорганизмов в 100 и более раз.
5. По возможности, необходимо так же определять гены СТХ-М, МесА, ОХА – 48, ТЕМ, кодирующих устойчивость микробиоты к пенициллинам и цефалоспорином и использовать их в оценке эффективности нехирургической терапии, как наиболее часто встречающимся при заболеваниях пародонта.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антимикробная и противовоспалительная терапия в пародонтологии / А.И. Грудянов, В.В. Овчинникова, Н.А. Дмитриева и др.// М.: Медицинское информационное агентство, 2004. - 80 с.
2. Антибиотикорезистентность *Streptococcus pyogenes* в России: результаты проспективного исследования ПеГас I /Р.С Козлов, О.В. Сивоя, К.В. Шпынев и др.//Клин. микробиол. антимикроб. химиотер.. - 2005. - № 2. - С. 154 - 166.
3. Арьева, Г.Т. Стоматологический континуум/ Г.Т. Арьева, А.Л. Арьев // Пародонтология. - 2011. - №4 (61). - С.28-31.
4. Арьева, Г.Т. Стоматологический статус, стоматологическое здоровье и качество жизни пациентов пожилого и старческого возраста/ Г.Т. Арьева// Пародонтология. - 2013. - №2 (67). - С.63-68.
5. Балмасова, И.П. Современные методы лабораторной диагностики и биомаркеры инфекционно – воспалительных заболеваний полости рта на примере хронического пародонтита/ И.П. Балмасова, И.В. Шестакова, Н.Д. Ющук // Российская стоматология. - 2013. - №6 (2). - С.35 – 41.
6. Барусова, С.А. Оценка эффективности антисептического препарата «Октенисепт» в комплексном лечении воспалительных заболеваний пародонта/ С.А. Барусова, Ф.Ю. Даурова //Электронный научно-образовательный вестник «Здоровье и образование в XXI веке». – 2008. - № 3. - С.150 – 151.
7. Белоусов, Ю.Б. Антибактериальная химиотерапия справочник/Ю.Б. Белоусов, С.М. Шатунов. - М.: Р-ВРАЧ, 2001. - 473 с.
8. Белоусов, Н.Н. Причины широкого распространения тяжелых форм воспалительных заболеваний пародонта/ Н.Н. Белоусов // Пародонтология. – 2005. - №3 (36). – С. 10 – 13.

9. Блашкова, С.Л. Разработка критериев качества патогенетической терапии хронического генерализованного пародонтита: дисс. ... докт.мед.наук: 14.01.14/Светлана Львовна Блашкова. - Казань, 2010. - 242 с.
10. Боднева, С.Л. Использование комплексной оценки неспецифических факторов риска при генерализованном пародонтите: дисс. ... канд.мед.наук: 14.00.21/Светлана Леопольдовна Боднева. – М., 2003. - 123 с.
11. Бондаренко, И.С. Свойство пародонтопатогенной микрофлоры влиять на снижение интенсивности развития кариозных процессов/ И.С. Бондаренко, И.В. Маланьин // Успехи современного естествознания. – 2007. – № 12-1. – С. 154-156.
12. Боровский, Е.В. Проблемы и достижения в консервативной стоматологии/Е.В. Боровский // Медицинский алфавит. Стоматология. – 2005. - № 1 (39). - С. 10 – 12.
13. Ведяева, А.П. Оптимизация комплексного лечения больных бстропрогрессирующим пародонтитом с применением иммуномодулирующей терапии: автореф. дис. ... канд.мед.наук: 14.01.14/Анна Петровна Ведяева. - Саратов, 2011. - 26 с.
14. Видовой составанаэробной мирокфлоры пародонтального кармана в зависимости от стадии пародонтита/ Н.В. Зырянова, А.С. Григорьян, А.И. Грудянов, О.А. Фролова и др. // Стоматология. – 2009.- № 4. - С. 43-47.
15. Гажва, С.И. Медикаментозные схемы консервативного лечения хронических форм/ С.И.Гажва, А.И.Воронина, Д.А. Кулькова // Фундаментальные исследования. – 2013. –№ 5 (часть 1). – С. 55-57.
16. Гранитов, В.М. Герпесвирусная инфекция/В.М. Гранитов. – М.: Медкнига; Н.Новгород: Из-во НГМА, 2001. – 81 с.
17. Грудянов, А.И. Антимикробная и противовоспалительная терапия в пародонтологии/ А.И. Грудянов, В.В. Овчинникова, Н.А. Дмитриева. - М.: Медицинское информационное агентство, 2004. - 80 с.

18. Грудянов, А.И. Состав пародонтопатогенной микрофлоры при пародонтите разных степеней тяжести по данным полимеразной цепной реакции/ А.И. Грудянов, В.В. Овчиникова // Стоматология. – 2008. - №3. - С.20-23.
19. Грудянов, А.И. Методы диагностики воспалительных заболеваний пародонта: руководство для врачей/ А.И. Грудянов, О.А. Зорина. - М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2009. - 112 с.
20. Грудянов, А.И. Заболевания пародонта/А.И. Грудянов. - М.: МИА, 2009. – 336 с.
21. Грудянов, А.И. Количественная оценка микробиоценоза полости рта при заболеваниях пародонта/ А.И. Грудянов, О.А. Зорина, А.А. Кулаков //Пародонтология. – 2011. - Т.16, №2. - С. 18-22.
22. Диагностические критерии хронического гингивита и пародонтита у лиц молодого возраста/ И.Н. Усманова, Л.П. Герасимова, М.Ф. Кабирова и др.// Пародонтология. - 2014. - №4. - С. 44-49.
23. Дмитриева, Л.А. Пародонтология: национальное руководство/Л.А. Дмитриева. - М.: Наука, 2013. – 704 с.
24. Заболевания пародонта. Современный взгляд на клинико-диагностические и лечебные аспекты/ О.О. Янушевич, В.М.Гринин, В.А. Почтаренко и др. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 160 с.
25. Захаркин, А.Г. Роль антиоксидантного компонента в терапии хронического генерализованного пародонтита/ А.Г.Захаркин, В.А.Прытков, С.Ю.Брагина // Кубанский научный медицинский вестник. – 2009.- № 2 (107). - С.76 – 80.
26. Зорина, О.А. Антимикробная эффективность системного применения антибиотиков разных групп в комплексном лечении пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом/ О.А. Зорина, И.С.Беркутова, А.А. Басова // Стоматология. – 2014.- № 5. - С. 13-17.
27. Иванюшко, Т.П. Исследование условно-патогенных микроорганизмов методом ПЦР в реальном времени у больных пародонтитом/ Т.П.Иванюшко, Л.В.Тумбинская, А.Е.Донников // Стоматология. – 2011. - № 5. - С. 22-26.

28. Иванюшко, Т.П. Оценка качественного и количественного состава микробиоты ротовой полости у больных с медикаментозным остеонекрозом челюсти/ Т.П. Иванюшко, К.А. Поляков, М.А. Кунижева// Журнал микробиол. эпидемиол. иммунобиол. - 2019. - №2. - С.82 – 86.
- 29.Ипатова, Е.В. Клинико-физиологические показатели состояния тканей пародонта при применении препаратов на основе биологически активных веществ в комплексном лечении пародонтита: дисс. ... канд.мед.наук: 14.00.21 /Елена Валентиновна Ипатова. –СПб., 2004. – 115 с.
30. Изучение содержание дефензинов у больных с гнойно-воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области./ Т.П. Иванюшко, Л.В. Ганковская, С.В. Шаманаев, О.А. Свитич и др.// Стоматология. – 2014. - №2 - С. 23-26.
31. Ипполитов Е.В. Моноиторинг формирования микробной биопленки и оптимизация диагностики воспалительных заболеваний пародонта: дисс. ... докт.мед.наук: 03.02.03, 14.03.09/ Евгений Валерьевич Ипполитов. – М., 2016. - 337с.
32. Исмоилов, А.А. Частота распространения основных стоматологических заболеваний у больных с неблагоприятной общесоматической патологией и разработка путей повышения адаптационных возможностей органов полости рта: дисс ... докт.мед.наук:14.01.14 / Абдурахим Абдулатифович Исмоилов. – Омск, 2012. - 217 с.
33. Исследование микробиоценоза в тканях парадонта при парадонтите и периодонтите/ В.Н. Мудров, В.Н. Нелюбин, М.С. Мяндиев, И.С. Фоменков и др.//Медицинский алфавит. Современная лаборатория. - 2017. - №1. - С.46-49.
34. Кабанова, Е.В. Показания к лечению заболеваний пародонта в зависимости от степени подвижности зубов и площади периодонта: автореф. дисс. ... канд. мед. наук: 14.01.14/Екатерина Владимировна Кабанова. – М., 2010. - 26 с.

35. Клинические рекомендации (протоколы лечения) при диагнозе пародонтит [Электронный ресурс]/Утверждены Решением Совета Ассоциации общественных объединений «Стоматологическая Ассоциация России» 23 апреля 2013 года с изменениями и дополнениями на основании Постановления №15 Совета Ассоциации общественных объединений «Стоматологическая Ассоциация России» от 30 сентября 2014. – 124 с.
Режим доступа:
<http://www.amelident.ru/assets/downloads/standarty/parodontit.pdf>
36. Козлов, Р.С. Устойчивость к антибиотикам как одна из основных проблем современного здравоохранения/ Р.С. Козлов// Вестник Росздравнадзора. – 2017. - №4. - С.28-33.
37. Ковалевский, А.М. Морфофункциональное обоснование профилактики и лечения стоматологических заболеваний у военнослужащих, подвергающихся воздействию общей вибрации (клинико-экспериментальное исследование): дисс. ...докт. мед.наук: 14.01.14, 14.03.01 / Александр Мечиславович Ковалевский. – СПб., 2016. - 285 с.
38. Комлева, А.С. Оптимизация консервативного лечения больных хроническим генерализованным пародонтитом, ассоциированным с кандид-флорой: автореф. дисс. ... канд.мед.наук: 14.01.14/Анна Сергеевна Комлева. - Омск, 2010. - 22 с.
39. Коровкина, А.Н. Проблемы современной диагностики заболеваний пародонта у детей: сб. научных трудов по итогам международной научно-практической конференции «Проблемы медицины в современных условиях»/А.Н. Коровкина, В.В. Коровкин. - Казань, 2014. - 362 с.
40. Мазур, И. П. Системные антибактериальные препараты в пародонтологии/ И.П. Мазур, М.В. Слободяник // Современная стоматология. – 2016. - № 1. - С.38 – 42.
41. Матисова, Е.В. Колонизация условно-патогенными микроорганизмами слизистой оболочки полости рта при хроническом пародонтите: дисс. ...

- канд.мед.наук: 03.00.07, 14.01.14/Елена Владимировна Матисова. – Волгоград, 2010. - 168 с.
42. Метод ПЦР «в реальном времени» для анализа количественного и качественного соотношений микробиоценоза пародонтального кармана/ О.А. Зорина, А.А. Кулаков, О.А. Борискина и др.// Стоматология. – 2011. - № 3. – С. 31-33.
43. Микробиоценоз основных биотопов полости рта у пациентов с карциномой языка на этапах комплексного лечения/ С.Н. Лебедев, В.В. Богатов, В.М. Червинец, Ю.В. Червинец и др. // Стоматология. – 2015. - №1. – С. 34.
44. Некоторые аспекты этиологии и патогенеза хронических воспалительных генерализованных заболеваний пародонта/ Л.М. Цепов, Л.Ю. Орехова, А.И. Николаев, Е.А. Михеева // Пародонтология. - 2005. - №2. - С. 3-6.
45. Новые подходы к изучению условно-патогенных бактерий микрофлоры ротовой полости человека/ Г.В. Тец, Д.С. Викина, М.Ф. Вечерковская, А.А. Доморад и др. // Стоматология. - 2013. - №1. - С. 14-16.
46. Особенности неинвазивной диагностики сбалансированности факторов местного иммунитета при хронических воспалительных заболеваниях пародонта у лиц молодого возраста, проживающих в регионе с неблагоприятными факторами окружающей среды / И.Н. Усманова, Л.П. Герасимова, М.Ф. Кабирова, Р.Ф. Хуснаризанова и др.// Вестник РУДН, серия Медицина. - 2014. - № 2. - С.89 – 94.
47. Овчинникова, В.В. Роль герпетиформных вирусов в этиологии воспалительных заболеваний пародонта/В.В. Овчинникова // Стоматология. – 2005. - № 5 (84). - С. 77-79.
48. Олейник, О.И. Разработка методов и оценка эффективности результатов индивидуальной профилактики воспалительных заболеваний пародонта: автореф. дисс. ... докт мед.наук: 14.01.14/Ольга Игоревна Олейник. - Воронеж, 2014. – 46 с.

49. Орехова, Л.Ю. Заболевания пародонта/Л.Ю. Орехова. - М.: Поли Медиа Пресс, 2004. - 432 с.
50. Орехова, Л.Ю. Современные технологии бактериологического исследования пародонтальных пространств/ Л.Ю. Орехова, М.Д. Жаворонкова, Т.Н. Суборова // Пародонтология. - 2013. - №2 (67). - С. 9-13.
51. Орехова, Л.Ю. Проблемы стоматологического здоровья у лиц молодого возраста/ Л.Ю. Орехова, Т.В. Кудрявцева, Н.Р. Чеминава // Пародонтология. - 2014. - №2 (71). - С.3-5.
52. Патология пародонта при заболеваниях желудочно-кишечного тракта/ А.В. Лепилин, О.В. Еремин, Л.Ю. Островская, А.В. Еремин // Пародонтология. - №4(49). - 2008. - С. 10-15.
53. Применение адгезивных плёнок «Диплен Дента» в комплексном лечении пародонтита/ В.Н. Царев, Р.В. Ушаков, Л.Я. Плахтий, Г.А. Чухаджан. - М.: УМО МЗ РФ, 2002. - 89 с.
54. Применение ростовых факторов в терапии пародонтита/ В.П. Мудров, Е.С. Воробьева, Е.Ю. Лисюк и др. //Медицинская иммунология. - 2018. - Т. 20, № 3. - С. 437 - 444.
55. Пушкарь, В.В. Современный метод диагностики хронических воспалительных заболеваний пародонта/ В.В. Пушкарь, В.А. Воробьев //Сибирский медицинский журнал. - 2008. - № 2. - С. 36 – 37.
56. Распространенность грибковой флоры и особенности микробиоценоза у лиц с интактным пародонтом и с хроническими воспалительными заболеваниями пародонта/ В.Б.Недосенко, М.Г.Чеснокова, О.А.Чепуркова и др.// Пародонтология. – 2009. - №1. - С. 60-65.
57. Рахвიაшвили, Б. А. Оценка качественного и количественного состава микробиоценоза пародонтального кармана у пациентов с агрессивным пародонтитом: дисс. ... канд.мед.наук: 14.01.14/Бела Амирановна Рахвиашвили. – М., 2013. - 155 с.

58. Робустова, Т.Г. Различия в иммунном статусе у больных с хроническими процессами челюстно-лицевой области/ Т.Г. Робустова, И.Д.Костишин // Стоматология. – 1986. – Т.65. - №4. – С.31-33.
59. Роль профилактических средств гигиены у пациентов с дентальными имплантатами в предупреждении воспалительных заболеваний пародонта/ С.Б.Улитовский, А.А. Леонтьев, Е.С. Алексеева, Д.Ш. Алескеров // Пародонтология. – 2014. - №1 (70). - С. 58-61.
60. Роль условно-патогенной микрофлоры полости рта в развитии воспалительных заболеваний пародонта и слизистой полости рта/ И.Н.Усманова, М.М.Туйгунов, Л.П. Герасимова, К.М.Фабирова и др. // Вестник ЮУрГУ. Серия «Образование, здравоохранение, физическая культура». - 2015. - Т. 15, №2. - С. 37-44.
61. Состояние микробиоценоза и антибиотикорезистентность *Enterobacteriaceae* в тканях пародонта при пародонтите и периодонтите / В.П. Мудров, М.В. Стамм, М.С. Мяндиев и др.//Медицинский алфавит. – 2016. – Т. 3, №19. - С.52.
62. Сравнительный анализ адгезии микробной флоры рта к базисным материалам зубных протезов на основе полиуретана и акриловых пластмасс/ А.С.Арутюнов, В.Н.Царев, А.Н.Седрамян, Р.Х.Сулемова и др. // Пародонтология. – 2009.- №4 (49). – С. 3-8.
63. Сравнительное исследование лечебно – профилактической эффективности зубных паст на основе натуральных экстрактов у пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта / Л.Р. Сарап, О.Г. Жиленко, Е.А. Подзорова, И.В. Лесных // Современная стоматология. – 2010. - № 4. - С. 24 – 26.
64. Современные иммуноморфологические аспекты диагностики заболеваний пародонта / Л.Ю. Островская, Г.Д. Бейбулатов, А.И. анина и др.// Саратовский научно-медицинский журнал. – 2013.- Т.9.- № 3. - С. 453 – 456.

65. Терапевтическая стоматология: национальное руководство/под ред. Л.А. Дмитриевской, Ю.М. Максимовского. - М.: ГЭОТАР – Медиа, 2009. - 912 с.
66. Тец, В.В. Роль микрофлоры полости рта в развитии заболеваний человека: Обзор/ В.В. Тец// Стоматология. - 2008. - № 3 (87). - С. 76-80.
67. Улитовский, С.Б. Проблемы пародонтологии и современные пути их решения/ С.Б.Улитовский, Е.С.Алексеева, А.А.Васянина // Пародонтология. – 2015. - №3 (76). - С. 33-35.
68. Усманова, И.Н. Особенности микробиоценоза полости рта у лиц молодого возраста, проживающих в регионе с неблагоприятными факторами окружающей среды/ И.Н. Усманова// Клиническая стоматология. – 2011. - №3. - С. 94-96.
69. Уолтон, Р. Антибиотики в стоматологии: благо или зло?/ Р.Уолтон, М.Зерр, Д.Петерсон [Электронный ресурс] // Новости МСРПА. – 2000. - № 3. – Режим доступа: <http://www.antibiotic.ru/index.php?article=836>
70. Усова, Н.Ф. Воспалительные заболевания пародонта: патогенез, принципы комплексного лечения/ Н.Ф. Усова//Сибирский медицинский журнал. - 2013. - № 1. - С. 141 – 144.
71. Ушаков, Р.В. Микрофлора полости рта и ее значение в развитии стоматологических заболеваний/ Р.В. Ушаков, В.Н. Царёв // Стоматология для всех. - 1998. - №3 (4). - С. 22-24.
72. Федорова, И.Н. Дифференцированный подход к индексам кровоточивости в практике врача стоматолога / И.Н Федорова, М.С. Федоров//Современная стоматология. – 2011. - № 1. - С. 99 – 103.
73. Флейшер, Г.М. Индексная оценка в пародонтологии. Руководство для врачей/Г.М. Флейшер. - Екатеринбург: Издательские решения, 2019. - 490 с.
74. Фролова, О.А. Новые подходы к диагностике заболеваний пародонта в свете современной концепции их патогенеза: дисс. ... докт.мед.наук: 14.00.21/Ольга Александровна Фролова. - М., 2006. – 424 с.

75. Халиуллина, Г.Р. Принципы патогенетической терапии больных хроническим генерализованным пародонтитом средней степени/ Г.Р. Халиуллина, С.Л. Блашкова, Н.А. Макаарова //Практическая медицина. - 2013. - №4(72). - С. 78 – 81.
76. Характеристика микробиоценоза поддесневой биопленки и содержимого кишечника при хроническом генерализованном пародонтите у пациентов с метаболическим синдромом / Н.Б. Петрухина, О.А. Зорина, Е.В. Ших и др. // Стоматология.- 2017. - №4. - С. 11-19.
77. Царев, В.Н. Воспалительные заболевания пародонта / В.Н.Царев, Е.В. Ипполитов Руководство по медицинской микробиологии/ Под ред. А.С. Лабинской, Е.Г. Волиной, Е.П.Ковалевой. – М: БИНОМ, 2014. - С. 224 – 230.
78. Царев, В.Н. Лекции по клинической микробиологии для стоматологических факультетов/ В.Н. Царев, Р.В. Ушаков, М.М. Давыдова. - Иркутск, 1996. - 80с.
79. Царев, В.Н. Антимикробная терапия в стоматологии/ В.Н. Царев, Р.В. Ушаков. - М.: “МИА”, 2004. - 143 с.
80. Цепов, Л.М. Роль микрофлоры в возникновении воспалительных заболеваний пародонта/ Л.М. Цепов, Н.А. Голева//Пародонтология. – 2009. - №1. - С.7-11.
81. Цепов, Л.М. Пародонтит: локальный очаг серьезных проблем/ Л.М. Цепов, Е.Л. Цепова, А.Л. Цепов // Пародонтология. – 2014. - №3(72). - С. 3-6.
82. Чепуркова, О.А. Кандида-ассоциированный пародонтит. Диагностика. Лечение: автореф. дисс. ... докт.мед.наук: 14.01.14, 03.02.03 /Ольга Александровна Чепуркова. – Омск, 2010. - 37 с.
83. Шевченко, Ю.Л. Микроорганизмы и человек. Некоторые особенности взаимосуществования на современном этапе/ Ю. Л. Шевченко, Г.Г. Онищенко// Журнал микробиол. – 2001. - №2. – С. 94 –104.

84. Щербакова, Т.А. Обзор современных методов лечения генерализованного агрессивного пародонтита/Т.А. Щербакова// Бюллетень медицинских интернет конференций. – 2017. - № 1. - С. 415 – 419.
85. Шульженко, А. Герпетические инфекции человека. Перспективы диагностики и противовирусной терапии/А. Шульженко, Г. Викулов // Стоматолог. – 2004. – № 7. – С. 41 – 55.
86. Эпидемиологическое исследование распространенности пародонтопатогенной микрофлоры полости рта у населения России/ А.М. Соловьева, С.К. Матело, А.А. Тотолян и др. // Стоматология. – 2005. - №5. - С. 14-20.
87. Этиология воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области и оценка эффективности антибактериальных препаратов / Олейник И.И., Пономарёва А.Г., Царёв В.Н., Ушаков Р.В. // Антибиотики и химиотерапия. – 1992. - №11. – С.37-39.
88. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* serotype prevalence and antibiotic resistance in a UK population with periodontitis. / C. Akrivopoulou, I.M. Green, N. Donos, S.P. Nair et al.// J Glob Antimicrob Resist. – 2017. – Vol. 10. – P. 54-58.
89. A Potential Role of Periodontal Inflammation in Alzheimer's Disease: A Review/ P. Ganesh, R. Karthikeyan, A. Muthukumaraswamy, J. Anand// Oral Health Prev Dent. – 2017. – Vol.15, №1. – P. 7-12.
90. Aral, K. Six-month clinical outcomes of non-surgical periodontal treatment with antibiotics on apoptosis markers in aggressive periodontitis/ K. Aral, CA. Aral, Y. Kapila// Oral Dis. – 2019. – Vol. 25, №3. – P. 839-847.
91. Association between Bacterial Infection and Peripheral Vascular Disease: A Review/ J.Budzyński, J. Wiśniewska, M. Ciecierski, A. Kędzia // Int. J. Angiol. – 2016. – Vol. 25, №1. – P. 3-13.
92. Association between Herpesviruses and Chronic Periodontitis: A Meta-

- Analysis Based on Case-Control Studies/ C. Zhu, F. Li, MC. Wong, XP. Feng et al. // PLoS One. – 2015. – Vol. 10, №12.
93. Berker, E. Effect of neutrophil apoptosis on monocytic cytokine response to *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide/ E.Berker, A.Kantarci, H.Hasturk, van T.E. Dake // J. Periodontol. – 2005. – Vol. 76. – P. 964 – 971.
 94. Biofilm Formation by Drug Resistant Enterococci Isolates Obtained from Chronic Periodontitis Patients // SB. Bhardwaj, M. Mehta, S. Sood, J. Sharma// J Clin Diagn Res. – 2017. – Vol. 11, №1.
 95. Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, Antibiotic Resistance Mechanisms, and Prospective Treatment Options /CR. Lee, J.H. Lee, M. Park et al. // Front Cell Infect Microbiol. – 2017. – Vol. 7.
 96. Bowen, W.H. Biology of *Streptococcus mutans*-Derived Glucosyltransferases: Role in Extracellular Matrix Formation of Cariogenic Biofilms/ W.H. Bowen, H. Koo // Caries Res. – 2011. – Vol. 45, №1. – P. 69–86.
 97. Buduneli, N. Host-derived diagnostic markers related to soft tissue destruction and bone degradation in periodontitis/ N.Buduneli, D.F. Kinane // J. Clin. Periodontol. - 2011. – Vol. 38. – P. 85-105.
 98. Chi, B. Role of dentilisin in *Treponema denticola* epithelial cell layer penetration/ B. Chi, M. Qi, H. K. Kuramitsu // Res. Microbiol. - 2003.-Vol. 154. - P. 637 – 643.
 99. Colombo, A.V. Identification of oral bacteria associated with crevicular epithelial cells from chronic periodontitis lesions/ A.V. Colombo // J. Med. Microbiol. – 2006. – Vol.55, №5. – P. 609 –615.
 100. Correlation of tooth mobility with systemic bone mineral density andperiodontal status in Indian women / A. Singh, RK. Sharma, S. Tewari, SC. Narula// J Oral Sci. – 2012. – Vol.54, №2. – P. 177-82.
 101. Cytidine-phosphate-guanosine oligodeoxynucleotides in combination with CD40 ligand decrease periodontal inflammation and alveolar bone loss in a

- TLR9-independent manner/ Q. Zhao, Y. Hu, S. Deng et al.// J Appl Oral Sci. – 2018. – Vol. 26.
102. Dahlen, G. Microbiological diagnostics in oral disease/ G.Dahlen // Acta. Odont. Scand. - 2006. - Vol. 64, №3. - P.164-168.
 103. De Leo, F. R. Modulation of phagocyte apoptosis by bacterial pathogens / F. R. De Leo //Apoptosis. – 2004. – Vol. 9 – P. 399 – 413.
 104. Detection of Porphyromonas gingivalis and Treponema denticola in chronic and aggressive periodontitis patients: A comparative polymerase chain reaction study/ R.M. Kumawat, S.M. Ganvir V.K Hazarey et al. // Contemp Clin Dent. – 2016. – Vol. 7, №4. – P. 481-486.
 105. Detection of antibodies against Aggregatibacter actinomycetemcomitans in serum and saliva through ELISA in periodontally healthy individuals and individuals with chronic periodontitis / NB. Gadekar, JV. Hosmani, KG. Bhat et al.// Microb Pathog. – 2018. – Vol.125. – P. 438-442.
 106. Developing biocompatible silver nanoparticles using epigallocatechin gallate for dental use/ IX. Yin, OY. Yu, IS. Zhao, ML Mei et al.// Arch Oral Biol. – 2019. – Vol. 102. – P. 106-112.
 107. Designing biomaterials for *in situ* periodontal tissue regeneration /HH. Sun, TJ. Qu, XH. Zhang et al.//Biotechnol Prog. – 2012. – Vol. 28. – P. 3-20.
 108. Differences in bacterial saliva profile between periodontitis patients and a control cohort/D. Belstrom, N.E. Fiehn, C.N. Nielsen et al. //J. Clin. Periodontol. – 2014. – Vol. 41. – P.104–112.
 109. Duncan, M.J. Genomics of oral bacteria/ M.J. Duncan // Crit Rev Oral Biol Med. – 2003. – Vol. 14, № 3. - P.175-187.
 110. Egg yolk immunoglobulins' impact on experimental periodontitis caused by Porphyromonas gingivalis / F.Wang, W. Qiao, X. Xu, S. Wang et al. // Technol Health Care. – 2018. – Vol. 26, №5. - P. 805-814.
 111. Eick, S. Comparison of microbial cultivation and a commercial nucleic acid based method for detection of periodontopathogenic species in subgingival

- plaque samples/ S.Eick, W.Pfister // J. Clin. Periodontol. – 2002. - Vol. 29. – P. 638–644.
112. Ellen, R. P. Spirochetes at the forefront of periodontal infections/ R. P. Ellen, V. B. Galimanas // Periodontol. 2000. - 2005. – Vol. 38. – P. 13 – 32.
 113. Epstein S.S. General model of microbial uncultivability in uncultivated microorganisms (Ed. S.S. Epstein): Series: Microbiology Monographs (Series Ed. Alexander Steinbuchel); Springer Berlin/Heidelberg. - 2009. – Vol. 10. - P.131-150.
 114. Feng, Z. Role of bacteria in health and disease of periodontal tissues / Z. Feng, A. Weinberg //Periodontology 2000. –2006. - Vol. 40, № 1. - P. 50-76.
 115. Genetic dysbiosis: the role of microbial insults in chronic inflammatory diseases/ L. Nibali, B. Henderson, ST. Sadiq, N. Donos// J Oral Microbiol. – 2014. – Vol. 6.
 116. German multicentre survey of the antibiotic susceptibility of *Bacteroides fragilis* group and *Prevotella* species isolated from intra-abdominal infections: results from the PRISMA study/ H.Seifert, A. Dalhoff; PRISMA Study Group.Collaborators (36)// J Antimicrob Chemother. – 2010. – Vol.65, №11. - P. 2405-10.
 117. Haffajee, A. D. Systemic antibiotics: to use or not to use in the treatment of periodontal infections. That is the question the treatment of periodontal infections / A. D. Haffajee //J. Clinical Periodontol. - 2006. – Vol. 33 (5). – P. 359-361.
 118. Haffajee, A. D. Introduction to microbial aspects of periodontal biofilm communities, development and treatment / A.D. Haffajee, S.S. Socransky //Periodontology 2000 – 2006. –Vol. 42, №1. – P.7 –12.
 119. Haffajee, A. D. The effect of periodontal therapy on the composition of the subgingival microbiota / A.D. Haffajee, R.P.Teles, S.S. Socransky //Periodontology 2000 – 2006. –Vol. 42, №1. – P. 219 – 258.

120. Healing of Apical Periodontitis in Patients with Inflammatory Bowel Diseases and under Anti-tumor Necrosis Factor Alpha Therapy/ E. Cotti, S. Mezzana, E. Schirru, O. Ottonello et al.// J Endod. – 2018. – Vol.44, №12. – P. 1777-1782.
121. Heitz-Mayfield, L.J.A. Disease progression: identification of high-risk groups and individuals for periodontitis/ L.J.A. Heitz-Mayfield // J. Clin. Periodontol. – 2005. – Vol. 32, № 6. – P. 196 – 209.
122. Herpesviruses in etiopathogenesis of aggressive periodontitis: A meta-analysis based on case-control studies / F. Li, C. Zhu, FY. Deng, MCM. Wong et al.// PLoS One. – 2017. – Vol. 12, № 10.
123. High-level vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates associated with a polymicrobial biofilm Antimicrob/ L.M. Weigel, R.M. Donlan, D.H. Shin et al. // Agents Chemother. – 2007. – Vol.51. – P. 513-552.
124. Holt, S.C. Porphyromonas gingivalis, Treponema denticola, and Tannerella forsythia: the “ red complex”, a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis/ S.C.Holt, J.L. Ebersson // Periodontol 2000 – 2005. – Vol. 38. – P.72 – 122.
125. Hyaluronic acid: Perspectives in dentistry. A systematic review/ M. Casale, A. Moffa, P. Vella, L. Sabatino et al. // Int J Immunopathol Pharmacol. – 2016. – Vol. 29, №4. – P. 572-582.
126. Increased systemic levels of inflammatory mediators following one-stage full-mouth scaling and root planing/T. Morozumi, A. Yashima, K. Gomi, Y. Ujiie et al.// J Periodontal Res. – 2018. - Vol. 53, №4. – P. 536-544.
127. Injectable Alginate-Peptide Composite Hydrogel as a Scaffold for Bone Tissue Regeneration/ M. Ghosh, M. Halperin-Sternfeld, I. Grinberg, L. Adler-Abramovich// Nanomaterials (Basel). – 2019. – Vol.9, №4. – P. 497.
128. Infection and apoptosis associated with inflammation in periodontitis: An immunohistologic study/ D. Listyarifah, A. Al-Samadi, A. Salem, A. Syaify et al.// Oral Dis. – 2017. - №7.

129. Jun, HK. *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Tannerella forsythia* induce cell death and release of endogenous danger signals/ HK. Jun, YJ. Jung, BK. Choi //Arch Oral Biol. – 2017. – Vol. 73. – P. 72-78.
130. Kinane, D.F. Environmental and other modifying factors of the perionontal diasease/ D.F. Kinane, M. Peterson, P.G. Stathopoulou // Periodontology 2000 – 2006. - Vol. 40, №. 1. - P. 107 – 119.
131. Microbial complexes in subgingival plaque/ S.S. Socransky, A.D. Haffajee, M.A. Cugini, C Smith et al.//J Clin Periodontol. – 1998.- Vol. 25, №2. – P. 134-144.
132. Molecular analysis of the subgingival microbiota in health and disease/ RG. Ledder, P. Gilbert, SA. Huws, L. Aarons et al.// Appl Environ Microbiol. – 2007. – Vol.73, №2. – P. 516-523.
133. Moller, B. Inhibition of IL-1, IL-6, and TNF-alpha in immune-mediated inflammatory diseases/ B. Moller, P.M. Villiger // Springer Semin Immunopathol. - 2006. - №27. - P. 391-408.
134. Neutrophil elastase levels in the gingival crevicular fluid following hyaluronan gel application in the treatment of chronic periodontitis: A randomized split-mouth study/ S. Mallikarjun, A. Neelakanti, HM. Babu, SB. Pai// Indian J Dent Res. – 2016. – Vol. 27(4). - P. 397-404.
135. Persistence of *Porphyromonas gingivalis* is a negative predictor in patients with moderate to severe periodontitis after nonsurgical periodontal therapy/ S. Eick, A. Mathey , K. Vollroth et al.//Clin Oral Investig. – 2017. – Vol. 21(2). – P. 665-674.
136. Prevalence of periodontal pathogens as predictor of the evolution of periodontal status/ M. Puig-Silla, JM. Montiel-Company, F. Dasí-Fernández, JM. Almerich-Silla // Odontology. – 2016. – Vol. 25.
137. Periodontal pathogens: a quantitative comparison of anaerobic culture and real-time PCR/Boutaga K., van Winkelhoff A. J., Vandenbroucke-Grauls C. M., Savelkoul P. H. //FEMS Immunol. Med. Microbiol. - 2005. – Vol. 45. -

P. 191–199.

138. Periodontal manifestations of systemic diseases and developmental and acquired conditions: Consensus report of workgroup 3 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions / S. Jepsen, J.G. Caton, J.M. Albandar et al. // J Periodontol. – 2018. – Vol.89, № 1 – P. 237-248.
139. Predictors for tooth loss in periodontitis patients: Systematic review and meta-analysis/ O. Helal, G. Göstemeyer, J. Krois, F Schwendicke et al.// J Clin Periodontol. – 2019. – Vol. 46, №7. – P. 699-712.
140. Quantification of subgingival bacterial pathogens at different stages of periodontal diseases/ H.J. Lee, J.K. Kim, J.Y.Cho, J.M.Lee et al. // Curr Microbiol. – 2012. - №65 (1). - P. 22-7.
141. Quantification of Epstein-Barr Virus and Human Cytomegalovirus in Chronic Periodontal Patients/ H. Khosropanah, M. Karandish, M. Ziaeyan, M. Jamalidoust// Jundishapur J Microbiol. – 2015. – Vol.8, №6.
142. Quantitative detection of periodontopathogens by real-time PCR/ C. Nonnenmacher, A. Dalpke, R. Mutters, S.H. Heeg // Journal of Microbiological Methods. - 2004.-59. - 117-125.
143. Quantitative Molecular Detection of 19 Major Pathogens in the Interdental Biofilm of Periodontally Healthy Young Adults / S. Viennot, F. Carrouel, P. Veber, D. Bourgeois et al. // Front Microbial – 2016. – Vol. 7. – P. 840.
144. Real time detection and quantification of Epstein Barr virus in different grades of oral gingivitis and periodontitis patients/ AK. Srivastava, S. Shukla, P. Srivastava, TN. Dhole et al. // J Exp Ther Oncol. – 2019. – Vol. 13, №1. - P. 9 - 14.
145. Rucha, S. M Prevalence of herpesviruses in gingivitis and chronic periodontitis: relationship to clinical parameters and effect of treatment/ S. Rucha, S. Dhoom //J Indian Soc Periodontol. – 2016. – Vol. 20, №3. – P. 279–285.

146. Slots, J. Periodontal herpesviruses: prevalence, pathogenicity, systemic risk/ J. Slots // Periodontol 2000. – 2015. – Vol. 69, №1. – P. 28-45.
147. Spiramycin resistance in human periodontitis microbiota/ T.E. Rams, S. Dujardin, J.D. Sautter et al. // Anaerobe. – 2011. – Vol. 17. - P. 201-205.
148. Socransky, SS. Microbial agents and production of oral diseases/SS. Socransky //J Dent Res. – 1968. – Vol. 47, №6. - P. 923-4.
149. Socransky, S.S. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts/ S.S. Socransky, A.D. Haffajee // J. Periodontol. – 1992. – Vol. 63, №4. - P. 322–331.
150. Socransky, S.S. «Checkerboard» DNA-DNA hybridization/ S.S. Socransky, C. Smith, L. Martin et al. //Biotechniques. - 1994. – Vol. 17(4). – P. 788–792.
151. The Human Oral Microbiome / E. Floyd, F.E. Dewhirst, T. Chen, J. Izard et al. // J Bacteriol. – 2010. – Vol. 192, №19. – P. 5002–5017.
152. The Association of Periodontopathic Bacteria Levels in Saliva and Tongue Coating with Oral Malodor in Periodontitis Patients/ H. Takeuchi, M. Machigashira, N. Takeuchi, T. Nakamura et al.// Oral Health Prev Dent. – 2017. – Vol. 15(3). – P. 285-291.
153. The microbiome-systemic diseases connection/ Van der TA. Meulen, H. Harmsen, H. Bootsma, F. Spijkervet et al.// Oral Dis. – 2016. – Vol. 22, №8. – P. 719-734.
154. The oral microbiota - a mechanistic role for systemic diseases/ G. Jia, A. Zhi, PFH. Lai, G. Wang et al.// Br Dent J. -2018. – Vol. 224, №6. – P. 447-455.
155. Three-dimensional assessment of proximal contact enamel using optical coherence tomography/ TZ. Ei, Y. Shimada, A. Abdou, A. Sadr et al.// Dent Mater. – 2019. – Vol. 35, №4. – P. 74-82.
156. The ideal time of systemic metronidazole and amoxicillin administration in the treatment of severe periodontitis: study protocol for a randomized controlled

- trial/ M. Feres, B. Retamal-Valdes, MJ. Mestnik et al. //Trials. – 2018. – Vol. 19, №1. – P. 201.
157. The Association of Periodontopathic Bacteria Levels in Saliva and Tongue Coating with Oral Malodor in Periodontitis Patients/ H. Takeuchi, M. Machigashira, N. Takeuchi, T. Nakamura et al.// Oral Health Prev Dent. – 2017. – Vol. 15, №3. – P. 285-291.
158. Weigel, L.M. High-level vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates associated with a polymicrobial biofilm Antimicrob/ L.M.Weigel, R.M.Donlan, D.H. Shin // Agents Chemother. – 2007. – Vol.51. – P. 513-552.