

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*

ТАМАРОВА ЭЛЬМИРА РИФОВНА

РАЗРАБОТКА СПОСОБА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ  
ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИМИКРОБНЫХ  
ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ МЕРОПРИЯТИЙ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ

14.01.14 - стоматология

03.02.03 - микробиология

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:

д.м.н., профессор А.И. Булгакова,

д.м.н., профессор А.Р. Мавзютов

Уфа – 2017

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	4
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	
1.1. Современные представления об этиологии и патогенезе пародонтита.....	11
1.2. Состояние микробиоценоза полости рта у больных пародонтитом . . . . .	17
1.3. Современные методы антибактериального лечения больных с пародонтитом . . . . .	25
1.4. Способы оценки эффективности антибактериальной терапии в стоматологии . . . . .	33
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	
2.1. Общая характеристика обследованных больных с пародонтитом.....	38
2.2. Клинические методы исследования тканей пародонта . . . . .	41
2.3. Молекулярно-генетические методы исследования у пациентов с пародонтитом . . . . .	46
2.3.1. Метод выделения геномной ДНК микроорганизмов . . . . .	46
2.3.2. Метод ПЦР . . . . .	48
2.3.3. Электрофоретический анализ продуктов полимеразной цепной реакции . . . . .	49
2.3.4. Проведение ПЦР-анализа в реальном времени . . . . .	50
2.4. Рентгенологический метод исследования . . . . .	54
2.5. Методы статистической обработки . . . . .	56
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	
3.1. Клиническая характеристика больных пародонтитом . . . . .	57
3.2. Особенности стоматологического статуса у пациентов с пародонтитом.....	61

ГЛАВА 4 АНАЛИЗ ЭТИОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ . . . . .	66
4.1. Особенности микрофлоры полости рта у больных пародонтитом в зависимости от тяжести заболевания . . . . .	68
4.2. Особенности микрофлоры полости рта у больных пародонтитом в зависимости от сопутствующей соматической патологии . . . . .	79
ГЛАВА 5 РЕЗУЛЬТАТЫ КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ ПАРОДОНТИТОМ . . . . .	82
5.1. Клиническая оценка эффективности лечения больных пародонтитом. . . . .	83
5.2. Динамика изменения микрофлоры полости рта у больных пародонтитом в зависимости от проводимого лечения . . . . .	87
5.3. Количественный анализ микробиоты пародонтальных карманов и ротовой жидкости методом ПЦР в режиме реального времени. . . . .	101
5.3.1. Определение объема жидкости, впитываемого бумажным эндодонтическим штифтом . . . . .	101
5.3.2. Количественная оценка содержания пародонтопатогенных микроорганизмов в клинических образцах . . . . .	103
Заключение . . . . .	107
Выводы . . . . .	116
Практические рекомендации . . . . .	117
Список сокращений . . . . .	118
Библиографический список . . . . .	119

## Введение

**Актуальность исследования.** Воспалительные заболевания пародонта занимают второе место в мире среди стоматологических заболеваний по распространенности, представляя собой одну из серьезных проблем современной стоматологии (Гилева О.С. и др., 2012; Орехова Л.Ю., Кудрявцева Т.В., 2014; Булгакова А.И. и др., 2016; Costa F.O. et al., 2012; Marsh P.D. et al., 2014). По данным многих авторов, распространенность заболеваний пародонта среди взрослого населения Российской Федерации достигает 95-100% и не имеет тенденции к снижению (Гажва С.И., Гулуев Р.С., 2012; Булгакова А.И. и др., 2014; Янушевич О.О., 2016).

Современный уровень научных знаний об этиопатогенезе пародонтита определяет пародонтальную микрофлору в качестве доминирующего фактора, поскольку особенности метаболизма и патогенность составляющих её микроорганизмов могут оказывать существенно влияние на течение воспалительного процесса (Атрушкевич В.Г., Школьная К.Д., 2015; Царев В.Н., Давыдова М.М., 2016; Genco R.J., Borgnakke W.S., 2013; Aljehani Y.A., 2014). Бактериальные ассоциации в пародонтальном кармане способствуют разрушению зубодесневого аппарата, резорбции альвеолярной кости и сенсбилизации макроорганизма (Дмитриева Л.А., 2014; Червинец В.М., 2015; Ebersole J.L. et al., 2013; Ram V.S. et al., 2015).

Основная трудность выявления данных патогенов связана с проблемой культивирования анаэробных микроорганизмов и количественной оценкой результатов, поэтому сведения о соотношениях бактерий в настоящее время практически отсутствуют. В этой связи представляется целесообразным использование молекулярно-генетических методов, не требующих выделения чистой культуры. Использование полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени позволяет точно анализировать состав микрофлоры в ротовой полости, выявляя ДНК искомым микроорганизмов, что помогает адекватному выбору этиотропной терапии и оценке ее эффективности.

Одной из основополагающих задач пародонтологического лечения является минимализация воспалительных реакций путем тщательного удаления микробной биоплёнки, являющейся основным источником инфекции. Профессиональная гигиена ротовой полости является основой профилактики и комплексного лечения воспалительных заболеваний пародонта (Вольф Г.Ф., Хэссел Т.М., 2014; Цепов Л.М. и др., 2015; Улитовский С.Б. и др., 2015). Однако многолетние наблюдения за больными выявили ряд негативных явлений, осложняющих конечные результаты лечения, таких как посттравматическая воспалительная реакция, ретракция десны, оголение шеек зубов, несовершенная техника проведения дезэпителизации внутренней поверхности пародонтального кармана (Николаев А.И., Цепов Л.М., 2013; Graetz C. et al, 2017). В ряде исследований показана клиническая эффективность использования Vector-методики в лечении пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта (Лукиных Л.М., Круглова Н.В., 2011; Олейник О.И. и др., 2013; Латышева С.В., Брундукова О.Н., 2014; Paramashivaiah R., Prabhuji M.L., 2013; Ramich T. et al., 2015; Graetz C. et al., 2016). Вместе с тем, в литературе отсутствуют сведения о молекулярно-генетической оценке комплексного лечения пародонтита с учетом влияния Vector-терапии на распространенность ассоциированных с пародонтитом микроорганизмов.

### **Цель исследования**

Разработка нового способа молекулярно-генетической оценки эффективности комплексного лечения хронического пародонтита.

### **Задачи исследования**

1. Исследовать клиническое состояние полости рта и микробный пейзаж у больных с пародонтитом с учётом степени тяжести.

2. Оценить характер взаимосвязей между частотой встречаемости ассоциированных с пародонтитом условно-патогенных микроорганизмов и сопутствующей соматической патологией при пародонтите.

3. Провести подбор праймеров к генам этиологически значимых при пародонтите микроорганизмов для молекулярно-генетической качественной детекции и разработать метод получения клинических образцов определенного объема содержимого пародонтального кармана, позволяющий установить точную концентрацию микроорганизмов при диагностике пародонтита.

4. Разработать диагностическую тест-систему с использованием способа количественного определения видового состава микробиоты пародонтальных карманов для определения количественной молекулярно-генетической характеристики микрофлоры при пародонтите.

5. Обосновать и применить способ молекулярно-генетического исследования микробиоты тканей пародонта для оценки эффективности проводимого комплексного лечения.

### **Научная новизна исследования**

На основании комплексного изучения показателей клинической оценки состояния пародонта, микробного пейзажа в ротовой полости и в пародонтальном кармане у больных пародонтитом установлена взаимосвязь выявления с высокой частотой условно-патогенных видов бактерий (*Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus macacae*, *Streptococcus sobrinus*) и их ассоциаций с тяжестью пародонтитита, позволяющие уточнить данные о этиопатогенезе хронического пародонтита.

На фоне ведущей сопутствующей соматической патологии (желудочно-кишечного тракта – 61,2%, сердечно-сосудистой системы – 34,1%, эндокринной системы - 28,2%) определена высокая распространенность вышеуказанных пародонтопатогенов из общего видового состава.

Впервые разработан и внедрен новый метод получения прециозных количественных данных о концентрации пародонтопатогенов в пародонтальном кармане при использовании полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР «Real-time»), что позволило расширить представление о видовом составе микрофлоры в ротовой жидкости и пародонтальном кармане и определить молекулярно-генетические маркеры факторов патогенности и антибиотикорезистентности микроорганизмов, обнаруживаемых при пародонтите.

Разработан и внедрён метод получения клинических образцов определенного объема, позволяющий получить достоверные данные о концентрации пародонтопатогенов в пародонтальном кармане в ходе проведения методики ПЦР «Real-time».

Впервые проведена оценка эффективности антимикробных терапевтических мероприятий при пародонтите с использованием качественной и количественной молекулярно-генетической детекции условно-патогенных видов бактерий (*Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus macacae*, *Streptococcus sobrinus*).

Обоснована и подтверждена клиническая и молекулярно-генетическая эффективность сочетанного применения ультразвука с антибиотикотерапией в лечении пародонтита средней и тяжелой степеней.

### **Практическая значимость**

Установленные взаимосвязи показателей молекулярно-генетических исследований пародонтопатогенной микрофлоры ротовой полости с тяжестью пародонтита позволяют использовать ПЦР-детекцию *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus macacae* и *Streptococcus sobrinus* в качестве диагностических тестов оценки тяжести течения заболевания и контроля за эффективностью проводимой терапии.

Использование разработанного способа получения клинических образцов жидкого содержимого пародонтального кармана определенного объема позволяет оптимизировать условия проведения анализа ПЦР в реальном времени при диагностике пародонтита.

Результаты исследования подтверждают целесообразность включения в комплексную схему лечения больных с пародонтитом средней и тяжелой степени ультразвуковую обработку зубодесневых карманов и поверхности корня с использованием аппарата Vector.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. В формировании клинического течения пародонтита средней и тяжелой степеней тяжести важная роль принадлежит увеличению представленности в содержимом пародонтального кармана и ротовой жидкости: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus macacae*, а также сообщества *Treponema denticola* и *Porphyromonas gingivalis*.

2. Использование разработанного метода получения клинических образцов определенного объема содержимого пародонтального кармана позволяет выявить труднокультивируемые пародонтопатогены и установить точную концентрацию микроорганизмов при диагностике и оценке эффективности лечения средней и тяжелой степеней пародонтита в динамике.

3. Использование сочетанного применения ультразвука с местной антибиотикотерапией у больных с пародонтитом средней и тяжелой степеней в комплексном лечении способствует элиминации воспалительных реакций в пародонте и снижению обсемененности тканей ротовой полости пародонтопатогенными микроорганизмами *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus macacae*, а также ассоциаций *Treponema denticola* и *Porphyromonas gingivalis*.

## **Личный вклад автора в выполнение работы**

Автором самостоятельно составлен протокол обследования и проведено клиническое наблюдение 170 больных пародонтитом и 66 лиц с санированной полостью рта, разработан и проведен комплекс мероприятий по лечению пациентов с пародонтитом. Автором проведен подбор праймеров к генам этиологически значимых при пародонтите микроорганизмов, разработан метод получения клинических образцов определенного объема для проведения анализа ПЦР в реальном времени. Автором выполнялась аналитическая и статистическая обработка, научное обоснование и обобщение полученных результатов, подготовка текстовой и иллюстративной части работы.

**Реализация и внедрение результатов работы.** Результаты исследования внедрены в учебный процесс кафедр: пропедевтики и физиотерапии стоматологических заболеваний; фундаментальной и прикладной микробиологии; общей практики и челюстно-лицевой хирургии ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ; в практику работы ГБУЗ стоматологической поликлиники №4 г. Уфа; ГБУЗ стоматологической поликлиники №6 г. Уфа; АУЗ РСП; ГКУЗ РБ РКБ №2 г. Уфа и стоматологической клиники «САНОДЕНТ» г. Уфа.

**Апробация результатов исследования и публикации.** Основные положения работы доложены на заседаниях кафедры фундаментальной и прикладной микробиологии (г. Уфа, 2014-2016 гг.), на VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2014» (г. Москва, 18-19 марта 2014 г.) на Второй Всероссийской молодежной научной школе-конференции «Микробные симбиозы в природных и экспериментальных экосистемах» (г. Оренбург, 2014 г.); на научно-практической конференции «Актуальные вопросы бактериологической диагностики инфекционных заболеваний» (г. Уфа, 4 марта 2015г.), на заседаниях кафедры пропедевтики и физиотерапии стоматологических заболеваний ФГБОУ ВО БГМУ (г. Уфа, 2016-2017 гг.), на 81-ой Всероссийской

итоговой молодежной научной конференции с международным участием «Вопросы теоретической и практической медицины», (г. Уфа, 18-20 апреля 2016 г.), на Республиканской научно-практической конференции стоматологов «Актуальные проблемы стоматологии», (г. Уфа, 12-14 октября 2016 г.), на заседании секции РБ Российской Пародонтологической Ассоциации (г. Уфа, 21 февраля 2017 г.), на XXXVII Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы стоматологии», (г. Москва, 2017 г.); на IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2017», (г. Москва, 18-20 апреля 2017 г.); на Проблемной комиссии по стоматологии и межкафедральном заседании ФГБОУ ВО БГМУ (г. Уфа, 30 мая 2017 г.).

По теме диссертации опубликовано 18 работ, в том числе из них 7 - в ведущих научных рецензируемых журналах, определенных Высшей аттестационной комиссией. Получен патент РФ № 2612023 от 01.03.2017.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация представлена рукописью на русском языке объемом 140 машинописных страниц состоит из введения, глав: «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты собственных исследований», «Анализ этиологически значимых микроорганизмов при пародонтите», «Результаты комплексного лечения больных пародонтитом», заключения, выводов, практических рекомендаций, библиографического списка, включающего 204 источника, из них 97 - отечественных и 107 - зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 17 рисунками и 25 таблицами.

## ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Современные представления об этиологии и патогенезе пародонтита

Пародонтит – воспаление тканей пародонта с прогрессирующей деструкцией пародонта и костной ткани альвеолярного отростка. По распространенности процесса различают локальный и генерализованный пародонтит. Локальный пародонтит может быть острым и хроническим, возникает у людей любого возраста. Генерализованный пародонтит протекает хронически, с обострением, встречается у людей старше 30-40 лет, хотя начало его развития приходится на более молодой возраст [2, 44, 67, 100, 132]. В зависимости от глубины сформированного пародонтального кармана выделяют легкую (до 3,5 мм), среднюю (до 5 мм) и тяжелую (более 5 мм) степень пародонтита.

До настоящего времени отсутствует единая точка зрения на этиологию и патогенез пародонтита. Однако общепризнанным является то, что пародонтит – мультифакториальное заболевание, инициируемое микробами зубной биопленки [14, 29, 143]. С другой стороны, существует мнение, что в развитии пародонтита определенную роль играют сенсibilизация аллергеном неинфекционной природы, нарушение липидного или других обменов, нарушение нейрогуморальных корреляций [21, 109].

Микробный налет (зубная бляшка) содержит микроорганизмы – пародонтопатогенную флору, характеризующиеся высокой патогенностью, способностью к адгезии к тканям зуба и выделению ферментов инвазивности (эндотоксинов) [38, 39]. Зубная бляшка создаёт благоприятную среду для роста, размножения и пролиферации микроорганизмов и, аккумулируя продукты их жизнедеятельности, провоцирует устойчивый ответ со стороны клеток макроорганизма. Агрессивные свойства бактерий проявляются двояко: во-первых, прямым токсическим воздействием, вызывающим воспаление и деструкцию в тканях пародонта; во-вторых, опосредованно, когда

микроорганизмы запускают целый комплекс иммунопатогенетических механизмов как ответ на их агрессию [8, 37, 43, 56].

В процессе инвазии бактерии вырабатывают соединения, снижающие или полностью блокирующие защитные системы организма. Пародонтопатогенные микроорганизмы выделяют эндотоксины, способные активно повреждать клетки, соединительно-тканые образования, основное вещество [90, 139]. Важнейшим фактором вирулентности пародонтопатогенов является липополисахаридный эндотоксин, расположенный на внешней мембране бактерий, который взаимодействует с иммуноглобулинами А, G, М и различными компонентами системы комплемента, активирует лейкоциты, выделяющие простагландины, лейкотриены, свободные радикалы и другие продукты, направленные на разрушение бактериальных патогенов и, одновременно приводящие к воспалительным и деструктивным поражениям пародонта [53, 60]. Липополисахаридный эндотоксин, также является иммунологическим адъювантом, участвует в резорбции костной ткани [37, 152].

Пародонтопатогенная микрофлора способна вырабатывать и другие токсические вещества, разрушающие тканевые структуры: соединительную ткань (коллагеназа, протеиназы), эпителиальные структуры (кератиназа), жировую ткань (фосфолипазы), поверхностные структуры клеток (нейраминидаза) [113]. Показано, что в больших количествах ферменты при взаимодействии с тканевыми протеазами и протеазами из аккумулялированных лейкоцитов, могут вызывать значительную деструкцию тканей [101, 179].

О значении нарушений микробиоценоза полости рта в развитии пародонтита свидетельствуют и данные экспериментальных исследований. Так, D.T. Graves et al. (2008) показали, что у гнотобиотических крыс установка лигатуры вокруг зуба, способствующая накоплению бактерий и, тем самым, развитию воспаления, не приводила к патологическим изменениям в тканях пародонта [198].

Одним из ключевых предрасполагающих факторов к возникновению пародонтита является нарушение гемодинамики тканей пародонта,

возникающий в результате приема тщательно обработанной, мягкой пищи, не вызывающей необходимой нагрузки на челюсти [72, 105, 137]. Согласно сосудисто-биомеханической теории развития пародонтита, предложенной профессором В.Н. Копейкиным, при хронической однотипной нагрузке зоны давления и растяжения не совпадают с направлением сосудистой реакции, что приводит к функциональным нарушениям в сосудистой системе пародонта и ухудшению трофики тканей, а в последствии – к застойным явлениям, гиперемии и отеку [72]. Зстой крови создает хорошую питательную среду для пародонтопатогенной микрофлоры, с одной стороны, и способствует нарушению местных защитных механизмов полости рта.

К факторам полости рта, способным усиливать или ослаблять пародонтопатогенный потенциал микроорганизмов и продуктов их обмена, можно отнести также низкий уровень гигиены рта (местная травма тканей при жевании, травма их зубной щеткой, химическими составными частями пищи, резкая смена температур, брожение пищевых остатков с образованием продуктов распада белков, состав слюны); ошибки стоматологов при пломбировании и при протезировании (нерационально изготовленные пломбы и протезы), особенности строения зубочелюстной системы, неправильное смыкание зубов, ранняя «потеря» их. Эти неблагоприятные условия полости рта постоянно воздействуют на ткани пародонта, нарушая равновесие между пародонтальным комплексом и раздражающими агентами [16, 62]. Сравнительный анализ состояния пародонта, проведенный И.Н. Карпенко с соавторами (2009) при эпидемиологических исследованиях в разных возрастных группах, показал, что фактически в молодом и творческом возрасте (от 29 до 44 лет) лишь 4-5% людей имеют клинически здоровый пародонт и поддерживают адекватную гигиену полости рта [42].

Целостность тканей пародонта взаимосвязана как бактериальным симбиозом, так и резистентностью макроорганизма [40, 95, 100]. Поэтому существенное значение в этиологии и патогенезе болезней пародонта придается не только особенностям морфоструктурного комплекса тканей пародонта

(пародонтального комплекса), где развивается патологический процесс, но и состоянию внутренних органов и систем.

Известно, что патогенность микрофлоры во многом определяется их способностью к сопротивлению иммунной системе хозяина, что обеспечивается полисахаридной капсулой и ферментами, расщепляющими иммуноглобулины и фракции комплемента, а также способностью проявлять тканевую инвазивность за счет ферментов агрессии с гистолитическим действием (коллагеназа, гиалуронидаза, хондроитинсульфатаза, гепариназа, IgG- и IgM-протеазы) и эндотоксинов (липополисахаридные комплексы) [83, 145].

Длительная персистенция патогенных микроорганизмов неизбежно приводит к изменению иммунного статуса организма на общем уровне. Негативное влияние микрофлоры полости рта на общее состояние здоровья осуществляется за счёт бактериемии, системной диссимиляции местных медиаторов, стимуляции аутоиммунных процессов [7, 40, 51, 152, 170]. При этом иммунные реакции организма могут, как ограничить распространение воспаления в пародонте, так и способствовать деструктивным процессам в тканях пародонта. Всё многообразие процессов, развивающихся в ответ на повреждение, регулируется деятельностью четырёх основных модуляторов воспаления: цитокинов, медиаторов, гормонов и факторов роста [35, 92, 145].

Важную роль в антибактериальном механизме играют протеолитические ферменты, вырабатываемые моноцитами и полиморфноядерными лейкоцитами [84, 117]. Т-хелперы и макрофаги выделяют много биологически активных веществ (интерлейкины, медиаторы, ферменты, факторы роста), которые, усиливая деятельность защитных клеток организма хозяина (нейтрофилов, эозинофилов, Т- и В-лимфоцитов, фибробластов, тучных и эпителиальных клеток), могут привести к значительному разрушению тканей [7, 185]. Фибробласты пародонта обладают способностью к секреции простагландинов и интерлейкинов (ИЛ-1, ФНО- $\alpha$ , ИНФ- $\beta$ ), которые модулируют воспалительный процесс [51, 140].

В настоящее время большинство исследователей рассматривают пародонт как неотъемлемую составляющую целого организма и признают тесную патогенетическую связь между заболеваниями пародонта и соматической патологией [78, 86, 168]. Воспалительные процессы в пародонте, продолжающиеся в течение длительного периода времени, оказывают негативное влияние не только на вовлеченные ткани, но и на состояние организма в целом [21, 25, 67]. Воспалительные процессы в полости рта, нарушая акт жевания, приводят к ухудшению функционирования желудочно-кишечного тракта и обострению его хронических заболеваний [12, 102, 106]. Деструктивные процессы могут провоцировать развитие атеросклеротических изменений [169, 194], остеопороза [91, 135, 136], ревматоидного артрита [23, 172] и т.д.

С другой стороны, накоплено множество свидетельств того, что заболевания внутренних органов могут усугубить неблагоприятные эффекты пародонтогенных микроорганизмов. Так, анатомо-физиологическая и функциональная связь создают предпосылки вовлечения органов полости рта в патологический процесс при заболеваниях органов пищеварения. Пародонтит часто ассоциируется с хроническим гастритом, язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, хроническим панкреатитом, хроническим гепатитом и циррозом печени [21, 102, 108]. Гажва С.И. с соавторами сообщает, что поражение тканей пародонта выявляется у 100% пациентов с язвенной болезнью 12-перстной кишки выявлено [65]. На фоне заболеваний желудочно-кишечного тракта воспалительно-деструктивные изменения в пародонте имеют генерализованный характер и протекают значительно активнее [45, 75].

В последнее время появились сообщения об ассоциации между воспалительными процессами в пародонте и заболеваниями сердечно-сосудистой системы [12, 25, 183, 194]. Обнаружено сходство основных патогенетических механизмов развития пародонтита и сердечно-сосудистой патологии, заключающееся в способности микроорганизмов и их эндотоксинов

вызывать воспалительные реакции в интимае сосудов, дисфункцию эндотелия, прогрессирование атеросклеротических изменений сосудов [15, 32, 134].

Фактором риска развития заболеваний пародонта является эндокринная патология. По данным разных авторов, генерализованным пародонтитом страдают все больные сахарным диабетом [27, 64, 129, 173]. При сахарном диабете в результате накопления в тканях десны конечных продуктов гликолиза происходит активация клеточных мембран, что приводит к повышению концентрации цитотоксинов [129, 132, 151].

Нарушение функции щитовидной железы, играющей важную роль в регуляции всех видов метаболизма, особенно энергетических процессов, усугубляет течение хронического генерализованного пародонтита, причем более тяжелое течение характерно больным гипотиреозом [89, 116]. И.В. Городецкая, Н.А. Корневская (2010) отмечают, что гипотиреоз усугубляет вызываемые стрессом нарушения поддерживающего аппарата и твердых тканей зуба, тогда как близкие к физиологическим дозы тироксина существенно их ограничивают [24].

У женщин на состояние пародонта могут оказывать влияние гормональные флюстрации, наблюдающиеся в пубертантном периоде, в течение менструального цикла, беременности и в период менопаузы [128, 190]. Риск развития пародонтита возрастает у женщин, получающих заместительную гормональную терапию и оральные контрацептивы [149, 159].

Доказана роль стресса в развитии стоматологических заболеваний [74, 171]. Стресс ассоциируется с плохой гигиеной полости рта, повышенной секрецией глюкокортикоидов, обладающих способностью угнетать иммунную систему, с развитием инсулинорезистентности, тем самым, увеличивая риск развития пародонтита [107].

В литературе имеются сообщения о взаимосвязи с воспалительными заболеваниями пародонта ожирения [176, 195], курения [9, 193], приёма медикаментов для лечения системных заболеваний [100, 150]. В некоторых

случаях фактором, влияющим на возникновение пародонтита, является наследственная предрасположенность [35, 138].

Таким образом, представленные литературные данные свидетельствуют о том, что в развитии пародонтита важную роль играет пародонтопатогенная микрофлора полости рта. При этом патогенность микрофлоры во многом определяется состоянием функций различных органов и систем макроорганизма.

## **1.2. Состояние микробиоценоза полости рта у больных пародонтитом**

Микробиоценоз – эволюционно сложившаяся экологическая система, представляющая собой совокупность микроорганизмов, обитающих в определенном биотопе. Ротовая полость представляет собой уникальную бактериальную экосистему, обеспечивающую жизнеспособность, сохранение составляющих ее микроорганизмов и увеличение общей популяции [11, 93, 158, 203]. Этот биотоп подразделяется на ряд суббиотопов с учетом анатомического строения и других особенностей отделов полости рта: десневую бороздку, язык, пародонтальный карман.

У здорового человека количественный и видовой состав микрофлоры полости рта относительно стабилен, что обусловлено свойственным постоянной микрофлоре антагонизмом по отношению к патогенным и условно-патогенным микробам. При этом видовой состав микроорганизмов подвержен влиянию факторов внешней среды, характера питания, возраста, времени года, уровня гигиены [6, 85, 122, 178].

Накопленные за последние 30-40 лет знания свидетельствуют о том, что ведущая роль в формировании воспалительного процесса в полости рта принадлежит резистентной, облигатной, анаэробной и микроаэрофильной микрофлоре [5, 55, 60, 90]. В настоящее время в полости рта выделен генетический материал более 700 видов или флотипов микробов, из которых более 400 видов идентифицированы в пародонтальном кармане [100].

Нарушение соотношений между нормальной и условно-патогенной флорой характеризуется снижением количества лакто- и бифидобактерий и ростом условно-патогенных микроорганизмов, что приводит к развитию дисбиотических состояний. Современные концепции этиопатогенеза заболеваний пародонта предусматривают наличие главных, преобладающих бактериальных патогенов, с которыми связывают клинические формы и тяжесть течения заболевания [56].

Для идентификации возбудителей пародонтита были предложены критерии, основанные на постулатах Коха и модифицированные Socransky S.S. для инфекций полости рта:

1. связь заболевания с повышенным содержанием предполагаемого возбудителя в очаге поражения,
2. клиническое улучшение в результате элиминации или снижения численности возбудителя,
3. признаки гуморального иммунного ответа на антигены возбудителя,
4. наличие у возбудителя патогенного потенциала, выявляемого в экспериментальных моделях на животных,
5. наличие факторов вирулентности, которые могут участвовать в деструкции тканей пародонта.

Пародонтопатогены отличаются от других высокими адгезивными, инвазивными и токсическими свойствами по отношению к тканям пародонта. Специфические пародонтопатогены имеют большое разнообразие вирулентных свойств и способность к колонизации. В то же время в качестве этиологических факторов пародонтита доказана роль только небольшого числа бактерий [55, 111].

Одним из наиболее типичных представителей пародонтопатогенной микрофлоры является *Porphyromonas gingivalis* – грамотрицательный анаэроб, тесно связанный с хроническим пародонтитом [60, 146]. Обнаружение *P. gingivalis* сильно коррелирует с тяжестью поражения пародонта и указывает на

риск прогрессирования заболевания. *P. gingivalis* предпочитает поверхность формирующейся биопленки зубной бляшки. Биопленка защищает бактерии от неблагоприятных воздействий внешней среды, поэтому само существование в ней можно отнести к вирулентным свойствам. Он часто и в высоких концентрациях обнаруживается в участках выраженной деструкции пародонта, но редко или в небольших количествах в здоровых сайтах [175]. Прямая корреляция присутствия *P. gingivalis* с тяжелым воспалением пародонтальных карманов свидетельствует о том, что данный микроорганизм обладает свойствами, которые способствуют его адаптации к окислительному стрессу [162, 163].

Необходимым условием развития пародонтита является контакт бактерий зубной бляшки с тканями десны. *P. gingivalis* могут проникать в эпителиальные клетки и размножаться в них [115]. Прикрепление микроорганизма к эпителиальным клеткам и его проникновение в клетки хозяина обеспечивают фимбрии, которые являются важным фактором адгезии *P. gingivalis*. Проникновение в эпителиальные клетки является результатом взаимодействия главных фимбрий бактерий с интегринами на поверхности эпителия. Это взаимодействие активирует сигнальную систему, приводящую к перестройке цитоскелета эпителиальной клетки и внедрению в нее прилипшей бактерии. Фимбрии связываются и с другими объектами полости рта – компонентами слюны (пролиновыми белками и статерином), покрытым пленкой слюной гидроксиапатиту и другими бактериям полости рта, например, стрептококкам и актиномицетам [131].

Тяжелое воспаление пародонтальных карманов свидетельствует о том, что данный микроорганизм обладает свойствами, которые будут способствовать его реагированию и адаптации к окислительному стрессу [163].

Связь бактерий с рецепторами клеток хозяина и последующую колонизацию могут обеспечивать поверхностные гемагглютинины. У многих бактерий, включая *P. gingivalis*, их рассматривают в качестве факторов вирулентности. Гемагглютинирующая активность *P. gingivalis* связана с

фимбриями, липополисахаридами и липидами на поверхности клетки соответствующими доменами протеаз и такими белками, как HagA, HagB и HagC [55, 144].

*P. gingivalis* вырабатывают множество протеаз, основная функция которых заключается в обеспечении растущих клеток пептидами. С другой стороны, протеазы способны разрушать белки организма хозяина, тем самым, ослабляя его защитные механизмы. Поэтому протеазам приписывают роль основных факторов вирулентности. Лучше всего у *P. gingivalis* охарактеризованы аргинин- и лизинспецифические цистеиновые протеиназы гингипаин R и гингипаин K [204]. Другая группа цистеиновых протеиназ – стрептопаин-подобная протеаза и пародонтаин, расщепляющий и инактивирующий ингибитор  $\alpha$ 1-протеиназы. Цистеиновые протеиназы участвуют как в разрушении тканей пародонта и ослаблении защитных механизмов хозяина путем деградации иммуноглобулинов и факторов комплемента, приводя в конечном итоге к прогрессированию заболевания [187].

*P. gingivalis* обладает рядом факторов вирулентности, вызывающих дезрегуляцию иммунных и воспалительных реакций. Показано, что *P. gingivalis* может как активировать, так и подавлять неспецифический воспалительный ответ организма-хозяина [115, 166]. Кроме того, *P. gingivalis* способен «уклоняться» от воздействия иммунной системы хозяина без ингибирования общей воспалительной реакции, которая на самом деле выгодна пародонтальным бактериям. Действительно, воспалительный экссудат (жидкость десневой щели) является источником незаменимых питательных веществ, таких как пептиды и гемин-производные железа [141].

Бактериальные клетки и их компоненты могут индуцировать экспрессию различных цитокинов и хемокинов. На стимуляцию клетками *P. gingivalis* нейтрофилы, моноциты, макрофаги, фибробласты и эпителиальные клетки отвечают продукцией цитокинов. Такие цитокины, как ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6 и

ИЛ-8, способствуют воспалению и деструкции тканей, в том числе и костной [199, 202].

*P. gingivalis* может стимулировать резорбцию, вызывать деструкцию костной ткани и подавлять ее формирование [114]. В нарушении равновесия деятельности остеобластов (депонирование) и остеокластов (резорбция костной ткани), по-видимому, основную роль играют липополисахариды, фимбрии и компоненты наружной мембраны. Активированные липополисахаридами *P. gingivalis* остеокласты способствуют высвобождению из фибробластов, макрофагов и моноцитов медиаторов костной резорбции – ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ . Эти медиаторы могут также индуцировать выработку клетками организма-хозяина протеаз, которые разрушают костную и соединительную ткани и подавляют синтез коллагена остеобластами [56, 124]. Показано, что высокие концентрации в слюне *P. gingivalis*, ИЛ-1 $\beta$  и матриксных металлопротеиназ MMP-8 ассоциируются с глубиной пародонтальных карманов и потерей альвеолярной костной массы [184].

Развитие воспалительно-деструктивных процессов в пародонте многие исследователи связывают и с *Treponema denticola* - представителем спирохет полости рта, высокоподвижных спиралевидных грамотрицательных анаэробных микроорганизмов, способных к энвазии, синтезу экзотоксина и внутриклеточному паразитизму. У больных пародонтитом спирохеты могут составлять до 50% от общего количества бактерий, заселяющих полость рта, тогда как у здоровых лиц – менее 1% [60, 121]. Lee S.F. с соавторами в экспериментальных исследованиях на животных показали, что повторная интраоральная моновакцинация *T. denticola* приводит к колонизации ротовой полости животного, индукции специфического иммунного ответа и значительным потерям альвеолярной кости [147].

Трепонемы, в том числе *T. denticola*, располагаются на поверхности плотных поддесневых бактериальных биопленок, на границе биопленки и десневого эпителия. Ключевым фактором вирулентности спирохет считается их подвижность. Благодаря тому, что эти микроорганизмы подвижны в вязких

средах, например, в десневой жидкости, *T. denticola* присутствуют между клетками эпителия, в соединительной ткани и на поверхности альвеолярной кости [55].

Патогенные свойства *T. denticola* в большой мере обеспечиваются главным белком наружной мембраны – адгезином массой 53 кДа (Msp), обладающим порообразующей способностью и опосредующим связывание с различными поверхностными структурами и матриксными молекулами.

С белком Msp тесно связан дентилизин, подобный химотрипсину протеиназный комплекс наружной мембраны, способный расщеплять фенилаланил/аланиловые и пролил/аланиловые связи. Этот специфичный к пролилфенилаланину протеиназный комплекс обладает широким спектром активности. Продукт гена *prcA* – PrcA расщепляется белком PrtP на белки PrcA1 и PrcA2. Расщепление необходимо либо для формирования комплекса, либо для его стабилизации. Он участвует в прикреплении микробных клеток и проникновении в ткани организма с их деструкцией [56, 125, 200].

Предполагают, что дентилизин участвует в проникновении *T. denticola* в эпителиальные клетки путем разрушения белков межклеточного вещества. Большинство штаммов *T. denticola* связываются с внеклеточными белками, например с фибронектином, ламинином, коллагенами типов I и IV в базальной мембране, фибриногеном и желатином. Дентилизин может нарушать межклеточные связи, ослабляя барьерную функцию эпителия.

Кроме того, эти микроорганизмы могут связываться с клетками эндотелия на всем их протяжении, часто используя для этого микроворсинки клеток организма-хозяина.

*T. denticola* способны прикрепляться к десневым фибробластам человека за счет взаимодействия лектина бактерий с галактозо- и маннозосодержащими рецепторами фибробласта.

Установлено, что *T. denticola* могут подавлять пролиферативный ответ лимфоцитов на антигены и стимулировать образование провоспалительных цитокинов (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8), хемокинов, матриксных

металлопротеиназ [98]. Это действие бактерий зависит от моноцитов и не приводит к нарушению жизнеспособности лимфоцитов [55].

*T. denticola* образуют агрегаты с *P. gingivalis* и *Fusobacterium spp.*, что имеет значение для формирования зубной бляшки и питания бактерий и, тем самым, усиливает эффекты данных микроорганизмов [174]. R.К-Н. Orth с соавторами (2011) на экспериментальной модели пародонтита у мышей показали, что *P. gingivalis* и *T. denticola* действуют синергично для стимуляции иммунного ответа хозяина и индуцирования потери альвеолярной костной массы [191]. L. Kesavalu с соавторами (2007) в эксперименте *in vitro* установили, что полимикробная вакцинация клетками *P. gingivalis*, *T. denticola* и *Tannerella forsythia* в соотношении 1 : 1 : 1 вызывала значительно более высокие уровни костной резорбции, чем моновакцинация отдельными видами бактерий в том же самом объеме [180].

В связи с этим, определение содержания уровня *P. gingivalis* и *T. denticola* может использоваться при диагностике и оценке эффективности лечения у больных с воспалительными заболеваниями пародонта.

В настоящее время не вызывает сомнений, что в формировании и прогрессировании пародонтита играет роль не один микроорганизм, а ассоциация микробов, связанных с заболеваниями пародонта, поскольку они, действуя в составе биопленки, усиливают эффекты друг друга [156]. У больных пародонтитом микрофлора полости рта представлена существенно большим количеством видов, чем у здоровых лиц [111, 126]. Abusleme L. с соавторами (2013) сообщили о том, что сдвиги в структуре сообществ от здоровья к пародонту характеризуются возникновением новых доминирующих таксонов без замены первичных ассоциированных со здоровьем видов [197].

У больных пародонтитом в составе микробиоты присутствует облигатная микрофлора, которая представлена ассоциацией грамположительных кокков, в основном стрептококков. Род *Streptococcus* образуют грамположительные сферические или овоидные клетки размером 0,5-2,0 мкм. Факультативные анаэробы, хемоорганотрофы. Стрептококки, вегетирующие в ротовой полости,

составляют особую экологическую группу и получили название «оральных». К ним относятся следующие виды: *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. oralis* и др. Оральные стрептококки отличаются друг от друга по способности ферментировать углеводы и образовывать перекись водорода [55, 105].

Особое значение имеет *S. mutans*, так как эти микроорганизмы активно формируют зубной налет и бляшки на любых поверхностях. *S. mutans* снабжён рецепторами для прилипания к поверхности зубов. *S. mutans* играет главную роль в разрушении зубов, переводя сахарозу в молочную кислоту. Сахароза используется данным микроорганизмом, чтобы произвести липкий внеклеточный полисахарид на основе декстрана, который позволяет им связываться между собой, формируя зубной налёт. Особенностью метаболизма *S. mutans* является его способность вырабатывать большое количество молочной кислоты, тем самым, снижая рН среды обитания. Кислая среда, создаваемая во рту этим процессом, является причиной того, что высоко минерализованная зубная эмаль испещряется и становится уязвимой для разрушения.

По последним данным в формировании зубной бляшки участвуют также *S. sobrinus*. Так, в течение первых 8 часов количество клеток *S. sobrinus* в бляшках составляет 15-35% от общего числа микробов, а ко второму дню - 70%; и только потом их количество снижается. Довольно часто при пародонтитах обнаруживаются стрептококки *S. sanguis*, *S. salivarius* и др. [56, 196].

Последние достижения молекулярно-биологических технологий позволили углубить понимание распределение различных видов бактерий в полости рта, однако исследования, направленные на выявление возможных ассоциаций кокковой инфекции и известных пародонтопатогенов, в доступной литературе единичны. Так, Е. Miyamoto с соавторами (2009) при изучении бактериальных профилей оральных стрептококков (*S. sobrinus*, *S. mutans*, *S. sanguinis*, *S. oralis*) и пародонтопатогенов (*P. gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythensis*) в слюне пришли к выводу о том, что стрептококковая

инфекция и некоторые виды пародонтопатогенов способны сосуществовать, не оказывая влияния друг на друга [112]. В то же время Lee S.-H. (2015) сообщает о способности *S. sanguinis* ингибировать экспрессию цитокинов, индуцированную липополисахаридами пародонтопатогенов [153].

Таким образом, в основе развития воспалительно-деструктивных процессов в тканях пародонта лежат дисбиотические изменения в полости рта, обусловленные, в первую очередь, усиленным размножением микроорганизмов, обладающих патогенными свойствами, приводящими к деструкции пародонта. Особенности метаболизма и патогенность *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius* и *Streptococcus macacae* могут оказывать влияние на течение воспалительного процесса у больных пародонтитом, что позволяет их отнести к высокоинформативным «маркерным» микроорганизмам при данной патологии.

### **1.3. Современные методы антибактериального лечения больных с пародонтитом**

Современный уровень знаний этиологии и патогенеза пародонтита во многом определяет стратегию и тактику лечения и профилактики заболевания. Лечение хронического пародонтита должно быть комплексным и максимально индивидуализированным, учитывающим особенности клинического проявления заболевания у конкретного пациента, наличие фоновой патологии, показания и противопоказания к назначению медикаментозного и проведению хирургического лечения. Проводимое лечение должно быть адекватным тяжести воспалительных изменений в пародонте [56, 73, 69].

В настоящее время существует алгоритм действий при комплексном лечении воспалительных заболеваний пародонта, которого придерживается большинство врачей-стоматологов [1, 50]. Консервативные (терапевтические) мероприятия включают следующее:

- санация полости рта (пломбирование кариозных и некариозных полостей, восстановление контактных пунктов, устранение нависающих травмирующих факторов);
- профессиональная гигиена полости рта - удаление над- и частично поддесневых зубных отложений с полированием обработанных поверхностей и с последующим устранением факторов риска (короткие уздечки, мелкое преддверие, скученность зубов);
- обучение правилам рациональной индивидуальной гигиены, контроль гигиены полости рта;
- местная и системная антибактериальная, противовоспалительная терапия;
- шинирование подвижных зубов временными адгезивно-волоконными системами (по показаниям).

С развитием стоматологических технологий появляются новые прогрессивные консервативные методики, направленные на оптимизацию лечебного процесса, улучшение качества жизни пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта. В большинстве клинических случаев уменьшение воспалительных реакций наблюдается после проведения профессиональной гигиены полости рта. Так, С.П. Ярилкина изучила показатели гигиены полости рта и пародонтологический статус у молодых работников НИЦ «Курчатовский институт» и показала, что отсутствие профессиональной гигиены на фоне недостаточной индивидуальной гигиены полости рта при интактном пародонте ухудшает за год гигиенические показатели в среднем на 12,9 % [97].

Главной целью, которую преследует врач-стоматолог при проведении профессиональной гигиены полости рта, является борьба с микробной инфекцией - удаление «биопленок» и устранение факторов, способствующих их повторному возникновению [59, 74, 161]. Стандартом лечения пародонтита является Scaling & Root Planing (SRP) - инструментальное удаление скопления зубного камня и бляшки с поверхности корня, удаление остаточных отложений,

снятие слоя размягченного цемента корня и выравнивание обработанной поверхности [18, 26].

Для удаления над- и поддесневых зубных отложений и сглаживания поверхности корня применяются ручные инструменты, механические инструменты - пьезо- и ультразвуковые скейлеры, воздушно-абразивные системы, вращающиеся инструменты и различные полиры [59, 67]. В последние годы появились сообщения о возможности использования для профессиональной гигиены полости рта лазерной аппаратуры, однако эти исследования ограничены и в основном являются экспериментальными [104].

В настоящее время широкое распространение получили ультразвуковые аппараты ввиду незначительных физических и временных затрат, большей комфортности для пациента [52, 165]. Неоспоримым преимуществом ультразвука является возможность применения во время процедуры различных жидкостей (воды или растворов лекарственных препаратов), позволяющих орошать на всю глубину пародонтальный карман.

I. Ioannou с соавторами (2009) сравнивали эффективность ультразвуковой и ручной техник удаления зубных отложений у больных пародонтитом. Оба метода показали значимое улучшение клинических критериев (индексов гигиены и кровоточивости), а также снижение встречаемости *P. gingivalis*, *T. forsythia* and *T. denticola* через 3 и 6 месяцев после лечения [142]. Однако Ota-Tsuzuki С. с соавторами (2009) сообщили о более высокой адгезии адгезия *S. sanguinis* на дентине после удаления зубных отложений ручным методом [148].

Dahiya P. и Kamal R. (2013) в рандомизированном контролируемом клиническом исследовании не обнаружили существенных различий в клинической эффективности применения ротационных и ручных инструментов при нехирургическом лечении пародонтита [123].

В то же время Graetz С et al. (2015) в исследованиях, посвященных сравнительному анализу клинической эффективности различных типов инструментов во взаимосвязи с квалификацией стоматолога показали, что для удаления зубного налета более предпочтительными являются ультразвуковые

устройства. По их мнению, ручные инструменты более травматичны для поверхности корней, особенно в руках недостаточно опытных операторов [130, 188].

Важно отметить, что многолетние наблюдения за больными пародонтитом выявили ряд негативных явлений, осложняющих конечные результаты лечения. К ним относятся: посттравматическая воспалительная реакция с нарушением кровообращения, ретракция десны, оголение шеек зубов, несовершенная техника проведения дезпителлизации внутренней поверхности пародонтального кармана [13]. Кроме того, в рабочей зоне образуется инфицированное бактериальное облако диаметром до 1 метра, что не позволяет использовать ультразвук у лиц с заболеваниями, передающимися гематогенным (ВИЧ-инфекция, вирусные гепатиты) или воздушно-капельным путем (туберкулез, герпетическая инфекция и др.), а также с инфекционной патологией [130, 164].

В последние годы появились сообщения о положительных результатах использования ультразвуковой стоматологической системы «Vector» («Durr Dental» Германия), предназначенной для минимально инвазивного лечения воспалительных заболеваний пародонта, микроинвазивного препарирования твердых тканей зуба и финишной обработки реставраций. Аппарат «Vector» работает на частоте 25 кГц. В аппарате устранена главная проблема – хаотичность движений чистящего инструмента. Ультразвуковые колебания передаются в инструмент через резонансный контур; в результате чего создается направление импульсных колебаний в пределах 90 градусов и обеспечивается практически полное исключение поперечных колебаний. Благодаря этому инструменты работают строго вдоль очищаемой поверхности зуба, что снижает его повреждающее воздействие на обрабатываемые ткани [26, 66]. Широкий выбор сменных пародонтологических насадок дает возможность санировать самые сложные и глубокие пародонтальные карманы.

Важным элементом ультразвуковой системы «Vector» являются специальные суспензии – абразивная и полирующая, которые обеспечивают

непрямую передачу энергии на обрабатываемую поверхность. Упорядоченно вибрируя в ультразвуковом поле, эти частицы полностью удаляют из зубодесневого кармана поддесневые отложения, эндотоксины и полируют поверхность зуба. Отсутствие самоколебаний инструмента обеспечивает высокую тактильную чувствительность, позволяющую четко следовать обрабатываемой поверхности и обеспечивать инструменту максимальный контакт с возможными твердыми назубными отложениями. Кроме того, содержащийся в полирующей жидкости гидроксипатит способствует быстрому восстановлению десны. Благодаря не прямой передаче энергии, снижен риск повреждения мягких тканей и кости по сравнению с ручными, звуковыми или другими ультразвуковыми инструментами [17, 165].

М.В. Сарапульцева и И.А Шляхтова сообщают, что незначительные болевые ощущения вследствие опосредованной через наполненные жидкостью пародонтальные карманы передачи энергии прибора на соседние ткани способствуют повышению мотивации пациента к лечению и сотрудничеству с врачом, что является несомненным преимуществом Vector-терапии перед остальными методиками скейлинга [76].

С.А. Вострикова с соавторами (2008) при исследовании морфофункциональных особенностей тканей пародонта у больных хроническим генерализованным пародонтитом показали, что лечение с использованием аппарата «Vector» позволило повысить качество лечения и добиться стабильной клинко-морфологической ремиссии заболевания в течение 6 месяцев наблюдения у 91,2% пациентов [70]. С.А. Вострикова (2011) сообщает о более значимом уменьшении содержания *P. gingivalis* после аппаратного лечения, чем после применения ручных инструментов [19].

О предпочтительности ультразвукового скейлинга у пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта сообщают и другие авторы [49, 50, 181, 182, 201].

Даже после профессиональной гигиены полости рта в глубоких пародонтальных карманах, углублениях корня, бифуркациях и в мягких тканях

пародонта могут оставаться пародонтопатогенные микроорганизмы. В связи с этим широко используются антибиотики, ориентированные на подавление бактериальной составляющей поддесневой зубной бляшки и снижение концентраций продуктов жизнедеятельности бактерий, включая все виды токсинов [20, 50, 186, 189].

Дополнять механическое удаление зубного камня и мягкого зубного налета антибиотикотерапией необходимо в стадии обострения воспалительного процесса либо при слишком интенсивном воспалении; а также при упорном и быстром прогрессировании воспалительной деструкции опорных тканей зубов. Целями терапевтического лечения являются [26, 103, 192]:

- прекращение воспалительного процесса за счет сокращения количества пародонтопатогенной микрофлоры;
- создание условий для нормализации процесса регенерации тканевых структур пародонта;
- поддержание здорового состояния пародонта в течение последующего периода.

В настоящее время существуют два подхода к использованию антибактериальных и противовоспалительных медикаментозных средств: системный и местный. Преимуществом местной антибиотикотерапии пародонтита является возможность достижения высокой концентрации препарата непосредственно в очаге воспаления при минимализации негативных эффектов на организм в целом [77, 94, 157].

Необходимость системного введения антибактериальных средств возникает при недостаточной эффективности местной антибактериальной терапии. Причиной этого являются:

- феномен биопленки, защищающей возбудителей от действия антибиотика;
- слишком большое количество микроорганизмов, при котором концентрация антибиотика недостаточна для обеспечения подавляющего эффекта;

- персистенция микроорганизмов в труднодоступных для обработки участках пародонта;
- способность пародонтопатогенов инвазировать в ткани пародонта и заселять эпителиальные клетки десны [160, 177].

Системная антимикробная терапия позволяет значительно подавить или полностью элиминировать пародонтальные патогены на слизистой оболочке полости рта, тем самым, существенно снижая риск повторной колонизации пародонтальных карманов [88, 20, 77, 99, 167, 189]. К недостаткам системного назначения антибиотиков можно отнести невозможность достижения высокой концентрации препаратов в пародонтальной жидкости, наличие побочных эффектов, формирование полирезистентных штаммов микроорганизмов.

В последние десятилетия в повседневной стоматологической практике широкое распространение получили антибактериальные препараты в различных лекарственных формах. При выборе наиболее эффективного антибактериального препарата необходимо знать состав микрофлоры пародонтальных карманов, учитывать присутствие в них и влияние спирохет, подвижных форм кокков, особенно анаэробных микроорганизмов [34, 85, 118, 120].

В отношении анаэробной флоры наиболее эффективными являются препараты следующих групп [26, 41, 110, 154]:

- Группа линкомицина, или линкозамидов (Далацин, Клиндамицин, Линкомицин). Препараты 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 бактериоидов.

- Бета-лактамы антибиотики: пенициллины (Оксациллин, Ампициллин), цефалоспорины (Максипим, Клафоран, Кейтен), монобактамы (Азтреонам), карбапенемы (Тиенам, Меропенем). Основным механизмом действия 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. Однако в последние годы резко выросла частота аллергических реакций к бета-лактамам и одновременно повысилась устойчивость микрофлоры к ним.

– Группа тетрациклина (Тетрациклин, Доксициклин). Часто применяемые тетрациклины эффективны в отношении *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Однако при смешанных инфекциях эти препараты могут не обеспечить необходимого результата.

– Группа имидазола (Тинидазол, Метронидазол). Обладает антипротозойным и антибактериальным действием. Механизм действия обусловлен угнетением синтеза и повреждением структуры ДНК возбудителей. Метронидазол эффективен в отношении многих пародонтопатогенных анаэробных микроорганизмов, в особенности *Porphyromonas gingivalis* и/или *Prevotella intermedia*.

– Группа макролиды (Рулид, Сумамед, Макропен, Эритромицин, Олеандомицин). В пародонтологии используют в качестве альтернативы бета-лактамам антибиотикам. Они эффективны в отношении ряда грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов.

Чем более эффективным и стойким является снижение количества пародонтопатогенных микроорганизмов, тем благоприятнее протекает заживление в тканях пародонта. Для успеха антибактериальной терапии важно, чтобы микрофлора пародонтального кармана пациента была чувствительна к назначенному антибиотику. В связи с этим перед назначением антибиотиков целесообразно изучение качественного и количественного состава микрофлоры [79, 80]. Необходимо иметь в виду, что частое и нерациональное использование антибактериальных средств, способствует появлению резистентных штаммов, нечувствительных или слабочувствительных к лечению [94, 157]. Более того, некоторые микроорганизмы локализуются в мягких тканях, что исключает их элиминацию с помощью механического воздействия или антисептической

обработки, в последующем именно они служат причиной быстрой бактериальной реколонизации поверхности зуба [59, 186].

Таким образом, для успешного лечения воспалительных заболеваний пародонта необходима комплексная терапия, целью которой является борьба с микробной биопленкой — одним из основных этиологических факторов заболевания. Однако даже при наличии лекарственных препаратов, необходимых для эффективного лечения воспалительных заболеваний пародонта, добиться желаемого результата в полной мере удастся не всегда. Поэтому неотъемлемой составляющей комплексного лечения воспалительных заболеваний пародонта является проведение профессиональной гигиены полости рта. В ряде исследований показана высокая клиническая эффективность использования Vector-терапии в лечении пациентов с пародонтитом. Вместе с тем, в литературе практически отсутствуют данные о состоянии микробиоты полости рта у пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта, получавших лечение с использованием системы «Vector».

#### **1.4. Способы оценки эффективности антибактериальной терапии в стоматологии**

Значительные успехи, достигнутые в последние годы в диагностике и лечении воспалительных заболеваний пародонта, определяют высокие требования к оценке эффективности проводимой терапии у конкретного пациента. Клиническое обследование необходимо проводить с учетом выявления этиологического фактора воспалительного процесса, что позволяет назначить рациональную этиотропную терапию [10, 26, 68, 127, 155].

Немаловажное значение для определения тактики лечения и оценки ее результатов имеет корректная оценка степени деструктивных и воспалительных процессов в пародонте. Оценка клинической эффективности антибактериальной терапии позволяет сориентироваться в отношении выбора антибиотика и рекомендовать его замену в случае недостаточного

антибактериального эффекта. Анализ изменений в пародонте проводится с использованием различных методов: визуальных, мануальных, функциональных и рентгенологических [84].

В процессе осмотра полости рта происходит визуальная оценка. Ширина прикрепленной десны, глубина преддверия, уровень уздечек губы, языка, тяжести и толщина прикрепленной десны с учетом структуры альвеолярной кости позволяют прогнозировать атрофию пародонта [47, 58]. Опасность возникновения патологии пародонта уменьшается у пациентов с соотношением зоны прикрепленной и зоны свободной десны равным или больше 5 [47].

Тяжесть поражения пародонта позволяют оценить различные стандартизованные индексы: гигиены (Silness-Loe 1962), воспаления (PMA, Massler, 1967; Loe&Silness, 1963); налета (Greene&Vermillion, 1960, 1964); кровоточивости десневой борозды (SBI Muhlemann&Cowell, 1971); кровоточивости сосочков (PBI Saxer&Muhlemann, 1971); костный индекс Фукса; пародонтальный индекс (Russel, 1956, 1967) [34, 59]. Раннюю доклиническую диагностику воспалительных изменений краевого пародонта обеспечивают определение pH и объема десневой жидкости [33, 84]. Для оценки деструктивных процессов в костной ткани зубной альвеолы широко применяются рентгенологические исследования, включающие в себя панорамную томографию (ортопантомографию), телерентгенографию, рентгеновскую компьютерную томографию и магниторезонансную томографию [3, 4].

Для наиболее полной оценки эффективности антибактериальной терапии необходимо контролировать результаты бактериологического исследования. До разработки молекулярных методов характеристика бактериальной инфекции была основана на классических методах высевания микроорганизмов на специальных питательных средах с последующей их родовой и видовой идентификацией, определением чувствительности к антибиотикам. Однако данные методы диагностики заболеваний полости рта недостаточно информативны: большинство бактерий, ассоциированных с пародонтитом,

труднокультивируемы, следовательно, бактериологический метод, который используется чаще всего, не дает достоверных результатов. В полости рта выделен генетический материал более 700 видов или флотипов микробов, из которых более половины не поддаются культивированию [31, 100].

К тому же необходимо отметить долгосрочность исследования – до трех недель. Кроме того, для выделения, культивирования и идентификации изолированных колоний используются большое количество различных питательных сред. Так, выделение и культивирование большинства грамотрицательных неспорообразующих анаэробных бактерий проводят на Columbia agar Base с добавлением нанамицина и ванкомицина, гемина, витамина K<sub>3</sub> или K<sub>1</sub>, бараньих эритроцитов. Стрептококки выделяют на кровяном агаре с полимиксином и т.д.

Существенно осложняет проведение исследований необходимость создания специальных условий культивирования и транспортировки. Отмечается также субъективизм исследователей при проведении идентификации микроорганизмов. Иммунологические и биохимические методы также имеют свои недостатки.

Низкая чувствительность и специфичность этих методов диагностики в сочетании с длительным временем и высокой стоимостью исследования, делает эти методы недостаточно совершенными [30].

Большие надежды в плане диагностики воспалительных заболеваний пародонта возлагают на молекулярно-генетические методы, основанные на определении ДНК инфекционных агентов в клиническом материале. В середине 80-х годов XX столетия был разработан метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). Полимеразная цепная реакция имитирует естественную репликацию нуклеиновых кислот и позволяет получать фрагменты последовательности ДНК в количествах, достаточных для определения. Методика ПЦР позволяет обнаружить микроорганизмы в минимальных количествах, которые нельзя выявить другими методами. При этом используются универсальные праймеры, которые гибридизуются с генами

рРНК всех микроорганизмов. В настоящее время сформированы обширные базы данных, в которых систематизирована информация о нуклеотидных последовательностях и целых геномах бактерий, вирусов, грибов, простейших, в том числе обитающих в полости рта [56, 127].

ПЦР-анализ клинического образца включает в себя три основных этапа: выделение ДНК из клинического материала, амплификация (умножение фрагментов ДНК) и детекция в агарозном геле. Амплификация – это многократно повторяющиеся циклы синтеза специфической области нуклеиновой кислоты при помощи термостабильного фермента ДНК-полимеразы. Поскольку в каждом цикле удваивается число копий амплифицируемого участка, то за 30-40 циклов происходит накопление коротких специфических фрагментов в количестве, достаточном для их дальнейшего определения с помощью электрофореза в агарозном геле, путем гибридизации со специфическим олигонуклеотидным зондом или с использованием метода масс-спектрометрии. Отличительной особенностью ПЦР-диагностики является универсальность подхода для выявления различных инфекционных агентов [60, 127].

Перевод полимеразной цепной реакции в режим реального времени, когда детекция накопления ампликонов ведется в ходе самого процесса амплификации, значительно расширил возможности этого метода диагностики. Использование ПЦР «в реальном времени» позволяет точно анализировать состав микрофлоры в биотопе, выявляя ДНК искомым микроорганизмов в сложной смеси нуклеиновых кислот. Количественная оценка микроорганизмов дает возможность проведения динамических наблюдений, что помогает адекватному выбору этиотропной терапии и оценке ее эффективности [36, 39, 119].

Однако в отечественной научной литературе исследования, в которых этот метод применялся для диагностики микрофлоры у больных хроническим пародонтитом, недостаточны. Можно отметить работы Е.Н. Николаевой с соавт., в которых представлен подробный анализ частоты выявления типичных

представителей пародонтопатогенной микрофлоры у больных генерализованным пародонтитом [60, 61]. А.И. Грудянов с соавторами показали взаимосвязь состава микрофлоры пародонтального кармана со степенью тяжести пародонтита [28, 29]. В.Н. Царев с соавторами в своих исследованиях продемонстрировали существенно более высокую информативность в оценке микрофлоры пародонтальных карманов у больных хроническим генерализованным пародонтитом метода ПЦР в сравнении с культуральными методами [57, 81]. Анализу микрофлоры в различных биотопах у больных пародонтитом методом ПЦР в реальном времени посвящены работы О.А. Зориной с соавторами [36-38, 80] и Т.П. Иванюшко с соавторами [39].

Таким образом, внедрение молекулярно-генетических методов детекции патогенных и условно патогенных представителей микробиоценоза полости рта у больных пародонтитом позволяет обосновать этиологический диагноз заболевания, назначить адекватную антибактериальную терапию, направленную на освобождение пациента от возбудителей и оценить бактериостатический эффект проводимого лечения.

## ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Общая характеристика обследованных больных с пародонтитом

В основу работы положены результаты комплексного обследования 170 больных пародонтитом, находившихся на амбулаторном лечении в ГКУЗ РБ РКБ №2(г. Уфа) в период с 2012г. по 2016г. У 129 (75,9%) пациентов был диагностирован пародонтит средней степени тяжести, у 41 (24,1%) пациента – тяжелая степень пародонтита.

Контрольная группа была представлена 66 пациентами (26 мужчин и 40 женщин), средний возраст  $45,3 \pm 7,62$  лет, без патологии пародонта после санации полости рта.

Критерии включения пациентов в исследование:

- лица обоего пола в возрасте от 18 лет и старше,
- отсутствие выраженной сопутствующей соматической патологии и аллергических реакций;
- информированное согласие пациента на участие в исследовании,
- строгое соблюдение всех предписаний врача.

Критериями исключения из исследования явились:

- онкологические заболевания в анамнезе,
- беременность и лактация,
- острые инфекционные и вирусные заболевания,
- обострение хронических заболеваний,
- аллергическая реакция на какой-либо из компонентов используемых препаратов,
- проведение антибиотикотерапии,
- прием лекарственных препаратов, влияющих на уровень костной резорбции и гипертрофию десен,
- предполагаемая низкая комплаентность больного,
- отказ больного от обследования.

Диагноз заболевания устанавливали в соответствии с критериями классификации заболеваний пародонта, принятой на заседании Президиума секции пародонтологии Стоматологической Ассоциации России в 2001 году, на основе международной классификации болезней и проблем, связанных со здоровьем МКБ-10 [26, 34].

При обследовании гендерной принадлежности у пациентов с пародонтитом установлено, что 62 (36,5%) мужчины и 108 (63,5%) женщин. Возраст больных колебался от 29 до 70 лет и в среднем составил  $52,1 \pm 12,48$  лет. Из них более половины – 103 человека (60,6%), находились в возрасте старше 50 лет (рис.1).

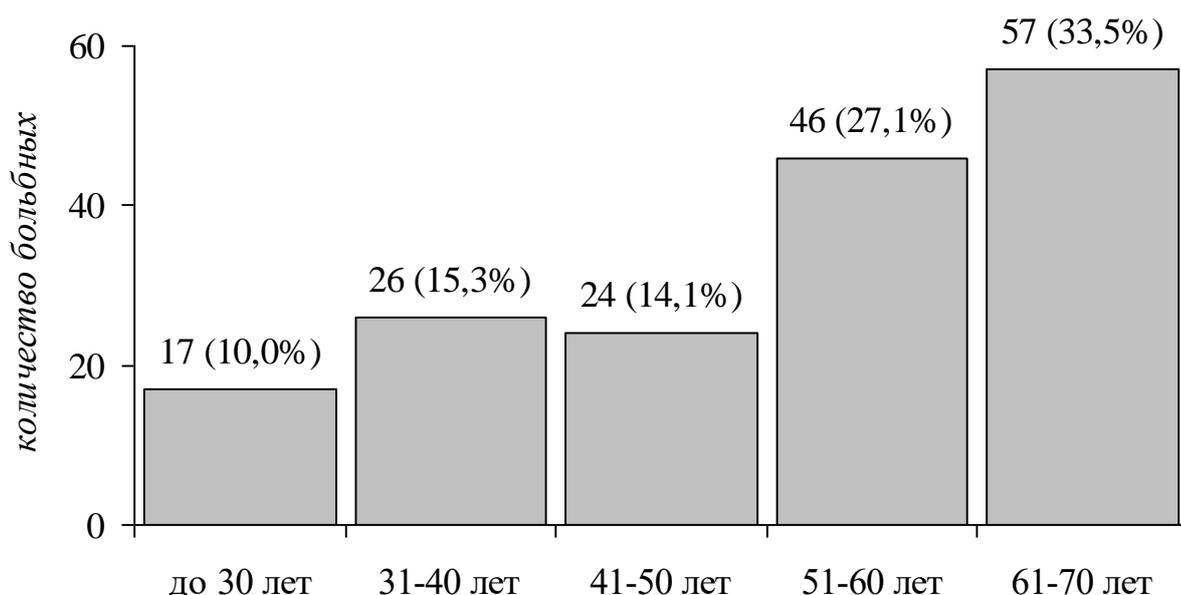


Рисунок 1 -Распределение больных пародонтитом по возрасту.

По характеру трудовой деятельности больные распределились следующим образом: лица умственного труда - 49 (28,8%) человек, физического труда – 33 (19,4%) человек, инвалиды и пенсионеры - 88 (51,8%) человека.

Среди обследованных пациентов обратились за помощью впервые 96 (56,5%) человек, а остальные 74 (43,5%) человека лечились ранее и 1 раз в год обращались за помощью. Длительность заболевания колебалась от нескольких месяцев до 15 лет и составила в среднем  $7,2 \pm 3,18$  лет.

Все обследуемые больные в зависимости от проводимого лечения были разделены на следующие группы: основная (I) – 86 человек, группа сравнения (II) – 84 человека.

На первом этапе комплексного лечения всем пациентам с пародонтитом была проведена профессиональная гигиена полости рта, обучение чистке зубов (или коррекции), с обратной связью, подбору индивидуальных средств гигиены полости рта.

На втором этапе была проведена антибактериальная терапия - однократно ежедневно 1 мл 30% р-ра линкомицина гидрохлорида с 0,2 мл 2% р-ра лидокаина гидрохлорида (ex tempore) по переходной складке полости рта один раз в день, по 0,6 мл с правой и левой стороны, поочередно на верхней и нижней челюсти, курс лечения - 14 дней.

В основной группе в первые сутки медикаментозного лечения была проведена ультразвуковая терапия с использованием аппарата Vector (фирма «Durr Dental», Германия) – обработка зубодесневых карманов и поверхности корня всех четырех квадрантов с помощью модифицированного ультразвука и гидроксипатита кальция в одно посещение.

Группы были сопоставимы по возрасту и характеристике состояния пародонта. Всем больным во всех группах проводили исследование видового состава микробиоты полости рта и индексную оценку состояния пародонта до и после лечения (через 14 дней).

Все проведенные исследования соответствовали этическим нормам Хельсинской декларации (2013г.) и Федеральному закону Российской Федерации от 21 ноября 2011 г. N 323-ФЗ об охране здоровья граждан. Протокол исследования был одобрен комитетом по этике Башкирского государственного медицинского университета. Каждый пациент получал

подробную информацию о проводимом исследовании и давал информированное согласие на участие в исследовании.

## **2.2. Клинические методы исследования тканей пародонта**

При обследовании больных с воспалительными заболеваниями пародонта применяли общепринятые клинические методы исследования: изучение анамнеза, определение общего статуса больного, исследование тканей пародонта.

При сборе анамнестических данных особое внимание уделяли сведениям о перенесенных и настоящих заболеваниях. Учитывали также наследственные факторы, наличие вредных привычек и профессиональных вредностей.

При опросе больного выясняли жалобы (болезненность и отечность десен, неприятный запах изо рта, кровоточивость десен, расшатывание и выпадение зубов), давность заболевания, проводившееся ранее лечение, его характер и результаты.

При осмотре полости рта обследовались зубы, их подвижность, обнажение шеек и корней, зубные отложения, вид прикуса, аномалии положения зубов. Отмечали наличие местных раздражающих факторов тканей пародонта: кариозные полости, неполноценные пломбы, нерационально изготовленные протезы, аномалии прикуса и дефекты зубных рядов. Особое внимание обращали на образование и интенсивность отложений зубного налета, зубного камня, наличие скученности зубов.

При осмотре слизистой оболочки десен определяли цвет (гиперемия, цианотичность), выявляли наличие отека, кровоточивости, десквамации, изъязвлений, форму десневого края, плотность прикрепления десневых сосочков, её истончение, глубину пародонтальных карманов.

Для объективной оценки пародонтологического статуса были использованы индексы - гигиенический, PDI, ПИ, SPITN, индекс кровоточивости, подвижность зубов, глубина пародонтального кармана,

рецессия десны, которые позволяют дать количественную характеристику клиническим проявлениям воспаления пародонта.

Анализ гигиенического состояния полости рта проводили с помощью индекса Silness-Loe (1962), в основе которого лежит оценка мягкого зубного налета в придесневой области. Количество налета определяли в области каждого зуба с помощью зонда, которым проводили вокруг шейки зуба, слегка погружая его в зубо-десневую борозду.

Для каждого зуба проводили оценку уровня гигиены следующим образом:

- 0 – на кончике зонда налета нет;
- 1 – на зонде небольшое количество налета;
- 2 – визуально определяется тонкий слой налета около шейки зуба, а его количество на зонде значительное;
- 3 – визуально в придесневой области определяется значительное количество налета и пищевых остатков.

Среднее значение индекса гигиены рассчитывали как частное от деления суммы показателей уровня гигиены для каждого зуба на общее число обследованных зубов. Гигиена полости рта у пациентов считалась хорошей при величине индекса Silness–Loe  $\leq 0,5$ .

Для оценки состояния десны и периодонта использовали индекс болезни периодонта — PDI (Ramfjord, 1959, 1967). С этой целью исследовали вестибулярные и оральные поверхности 16, 21, 24, 36, 41, 44 зубов, учитывали наличие зубного налета и зубного камня. Глубину зубо-десневого кармана измеряли градуированным зондом от эмалево-цементного соединения до дна кармана.

Индекс гингивита:

- 0 - отсутствие признаков воспаления
- 1 - легкое или умеренное воспаление десны, не распространяющееся вокруг зуба
- 2 - воспаление десны средней тяжести, распространяющееся вокруг зуба

3 - тяжелый гингивит, характеризующийся выраженным покраснением, отечностью, кровоточивостью и изъязвлением.

Индекс болезни пародонта:

0-3 - определяется десневой желобок не глубже цементно-эмалевого соединения

4 - глубина десневого кармана до 3 мм

5 - глубина десневого кармана от 3 мм до 6 мм

6 - глубина десневого кармана более 6 мм.

Оценка кровоточивости десневой борозды проводилась с использованием индекса Muhlleman в модификации Cowell (1975). Для этого кончиком пуговчатого зонда проводили по зубодесневой борозде вдоль поверхности зуба. Для каждого зуба определяли интенсивность кровоточивости по шкале:

0 – кровоточивость при зондировании отсутствует;

1 – кровоточивость появляется не ранее, чем через 30 секунд;

2 – кровоточивость возникает сразу после зондовой пробы или в течение 30 секунд;

3 – пациент отмечает кровоточивость десен при приеме пищи или чистке зубов.

Среднее значение индекса рассчитывали как частное от деления суммы показателей интенсивности кровоточивости для каждого зуба на количество обследованных зубов.

Для определения тяжести пародонтита применяли пародонтальный индекс, предложенный Rassel (1956). В области всех зубов оценивали состояние пародонта по шкале:

0 – пародонт интактный;

1 – воспаление распространяется не на всю десну, а захватывает лишь ее часть;

2 – десна воспалена вокруг всего зуба, но кармана нет, зубодесневое соединение сохранено;

4 – то же, но на рентгенограмме наблюдается резорбция костной ткани, зуб устойчив;

6 – воспаление десны, имеется пародонтальный карман, резорбция костной ткани на 1/3, но зуб устойчив, жевательная функция зуба нарушена;

8 – выраженная деструкция тканей пародонта, резорбция костной ткани на 50%, потеря жевательной функции зуба, зуб подвижен, может быть смещен.

Среднее значение индекса рассчитывали как частное от деления суммы полученных показателей для каждого зуба на количество зубов.

Степень заболевания устанавливали на основании значений пародонтального индекса по следующим критериям:

0,1-1,0 - начальная или легкая степень заболевания;

1,5-4,0 - наличие деструктивных изменений, что характерно для средней степени тяжести заболевания;

4,0-8,0 - тяжелая степень заболевания.

Нуждаемость в специализированном пародонтологическом лечении определяли на основании индекса CPITN (ВОЗ, 1982). Для этих целей весь ряд условно подразделяют на 6 частей (секстанты), включающих следующие зубы:

17–14	13–23	24–27
47–44	43–33	37–44

При оценке индекса CPITN у лиц старше 19 лет обследуют состояние пародонта в области всех зубов и выделяют самое тяжелое поражение в каждом секстанте. Исследование проводят с помощью специального пуговчатого зонда, диаметр шарика на конце которого равен 0,5 мм.

Коды и критерии индекса CPITN:

КОД X - в секстанте присутствует только один зуб или зубы отсутствуют (третьи моляры исключаются кроме тех случаев, когда они находятся на месте вторых моляров);

КОД 4 - патологический пародонтальный карман глубиной 6 мм или более (метка 5,5 мм или черная область зонда скрывается в пародонтальном кармане);

КОД 3 - патологический пародонтальный карман 4 или 5 мм (край десны находится в черной области зонда или метка 3,5 скрывается в пародонтальном кармане);

КОД 2 - зубной камень или другие факторы, задерживающие налет (нависающие края пломб и др.), видимы или ощущаются во время зондирования;

КОД 1 - кровоточивость, наблюдаемая во время или после зондирования;

КОД 0 - здоровые ткани.

При обследовании пациентов глубина пародонтальных карманов измерялась с четырех сторон зуба (медиальной, дистальной, оральной, вестибулярной) с помощью пародонтального зонда UNC 15 (Hu-Friedy) при давлении на инструмент, не превышающим 25 г.

Изучение пародонтологического статуса с определением вышеуказанных индексов проводилось до начала лечения и в динамике через 14 дней терапии.



Рисунок 2 - Обследование стоматологического статуса пациентов с пародонтитом.

## **2.3. Молекулярно-генетические методы исследования у пациентов с пародонтитом**

Всем пациентам с хроническим пародонтитом была проведена детекция *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus macacae*, которые в настоящее время рассматриваются в качестве одних из высокоинформативных «маркерных» микроорганизмов при пародонтите [28, 56, 60, 137, 158, 203].

В качестве клинического материала использовали ротовую жидкость и содержимое пародонтального кармана. Методика забора: первоначально пациенты проводили трехкратное полоскание физиологическим раствором натрия хлорида, затем ротовую жидкость собирали путём сплевывания в стерильную пробирку типа Эппендорфа. Содержимое пародонтального кармана отбирали из наиболее глубоких участков с помощью стерильных бумажных эндодонтических штифтов (размер № 25), которые затем помещали в пробирку с физиологическим раствором. Полученные образцы транспортировали в лабораторию в термоконтейнерах в охлажденном состоянии.

### **2.3.1. Метод выделения геномной ДНК микроорганизмов**

ДНК выделяли из клинического материала при помощи 0,5%-ного тритона X-100 следующим образом:

1. Готовили 0.5%-ный раствор тритона X-100 в высокоочищенной воде mQ с добавлением небольшого количества неионного детергента chelex («ДНК-Технология», Россия).

2. Отбирали 50 мкл биологического материала, помещали в эппендорф с 200 мкл лизирующего 0.5%-ного раствора тритона X-100 и тщательно ресуспендировали на вортексе (рис. 3, 4).

3. Инкубировали образцы при 95°C в течение 10 минут.

4. Ресуспендировали на вортексе.

5. Центрифугировали на микроцентрифуге при 16000 оборотах в минуту в течение 5 минут.

Надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК и готова к постановке ПЦР. Хранение выделенных ДНК осуществляли при 4°C.



Рисунок 3 - Стерильный ламинарный бокс и отдельный набор автоматических дозаторов переменного типа с наконечниками.



Рисунок 4 - Термошейкер для нагревания и встряхивания биопроб при выделении ДНК.

### 2.3.2. Метод ПЦР

Исследование ПЦР проводили следующим образом:

1. Одноразовые полипропиленовые пробирки расставляли в штативе и подписывали.

2. В каждую пробирку вносили по 11 мкл деионизованной воды, 2 мкл реакционного буфера, 2 мкл dNTP, по 1 мкл каждого праймера (Forward и Reverse), 0,6 мкл Taq ДНК-полимеразы и по 1 мкл выделенной бактериальной ДНК.

3. Во избежание испарения жидкости на поверхность каждой реакционной смеси наслаивали 1 каплю минерального масла.

4. Проводили амплификацию на термоциклере «Терцик МС-2» («ДНК-технология», Россия) (рис. 5).

Параметры режима амплификации:

начальная денатурация при 94°C в течение 3 мин.;

денатурация при 94°C – 20 сек.,

отжиг праймеров и синтез ДНК при 60°C – 20 сек.;

элонгация при 72°C – 30 сек;

хранение – 10°C.

} 30 циклов



Рисунок 5 - Проведение амплификации ДНК микроорганизмов.

5. После окончания процесса амплификаты окрашивали: в каждую пробирку под минеральное масло вносили по 1,5 мкл красителя (бромфеноловый синий) и перемешивали (без масла).

### **2.3.3. Электрофоретический анализ продуктов полимеразной цепной реакции**

Аmplифицированные фрагменты ДНК разделяли электрофоретически в 2,0%-ном горизонтальном агарозном геле в постоянном электрическом поле 20 V/см. Для этого готовили пластину агарозного геля, которая представляет собой застывшую после расплавления в ТАЕ-буфере агарозу в концентрации 2,0%. Застывшая агароза образует пространственную решетку. При заливке с помощью гребенок в геле формируются специальные лунки, в которые вносят ДНК-маркер (в 1-ю лунку) и окрашенные продукты амплификации (из-под слоя масла по 6 мкл проб). Пластины геля помещали в камеру для горизонтального электрофореза, куда заливали буфер (чтобы на 0,5 см покрывал гель) и подключали источник постоянного напряжения, соблюдая полярность - ДНК движется к положительному электроду (рис. 6).

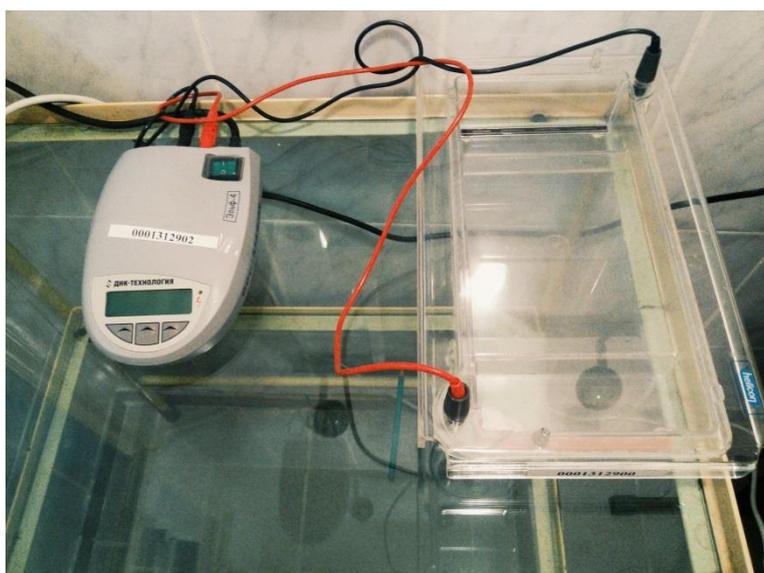


Рисунок 6 - Камера для горизонтального электрофореза и источник питания.

Время электрофореза – 27 минут.

Результаты электрофореза окрашивали бромистым этидием и визуализировали при освещении ультрафиолетом в фотодокументационной системе (рис. 7, 8).

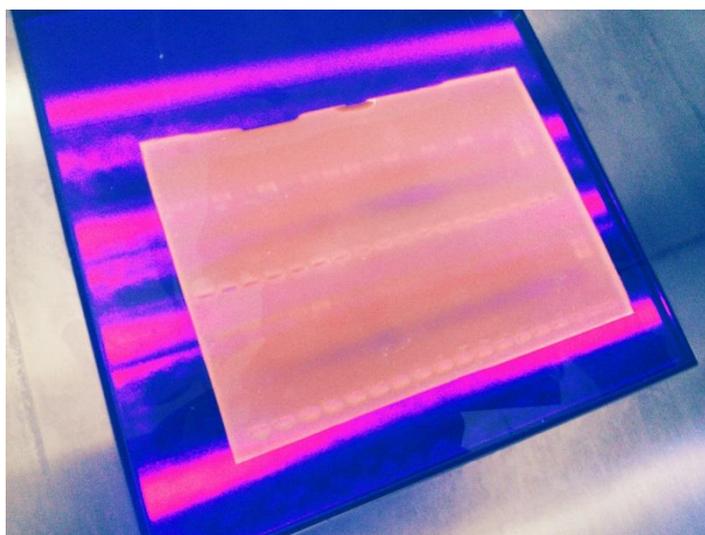


Рисунок 7 - Гель под ультрафиолетом после электрофореза.

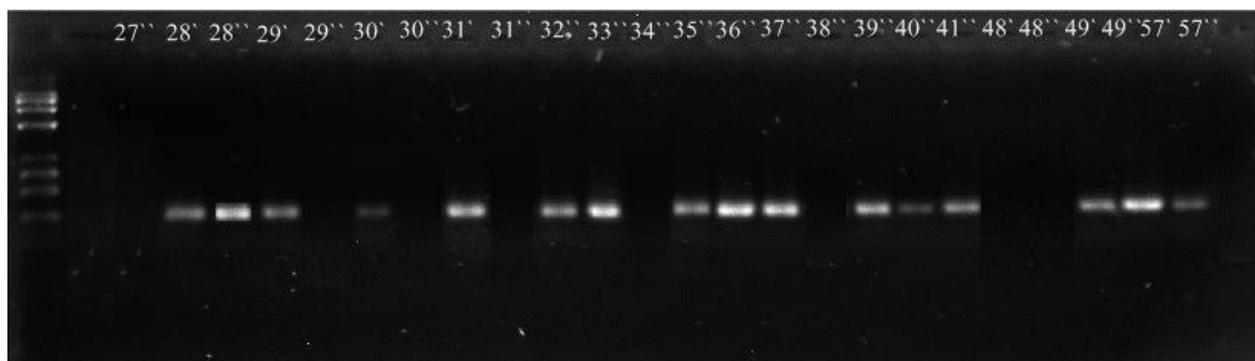


Рисунок 8 - Электрофореграмма амплификации.

#### 2.3.4. Проведение ПЦР-анализа в реальном времени

Для постановки ПЦР в реальном времени использовали подобранные нами пары видоспецифичных праймеров к фрагментам ДНК *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus sobrinus*,

*Treponema denticola* и реакционную смесь в присутствии SYBR Green I (ООО «СИНТОЛ», согласно инструкции производителя). ПЦР проводили с помощью детектирующего амплификатора CFX-96 «REAL TIME» (Bio-Rad, США). Учет результатов проводили с помощью программного обеспечения Bio-Rad CFX Manager.

Прибор калибровали тремя разведениями калибровочных образцов, приготовленных путем серийного разведения плазмиды pAL-TAStrSob16S известной концентрации (рис. 9).



Рисунок 9 - Амплификатор для проведения ПЦР в режиме реального времени и компьютер для обработки полученных результатов.

Ход работы:

1. Подготавливали и расставляли в штативе пробирки с тотальной ДНК, выделенной из клинического материала, 2,5х-ную реакционную смесь в присутствии SYBR Green I, mQ, растворы праймеров для разморозки; ресуспендировать на вортексе.

2. Отбирали пинцетом необходимое количество одноразовых стерильных полипропиленовых пробирок объемом 0,2 мл и расставляли в штатив соответствующим образом.

3. В подготовленные одноразовые стерильные полипропиленовые пробирки вносили по 9 мкл высокоочищенной бидистиллированной воды (mQ), после чего вносили по 10 мкл 2,5-кратной реакционной смеси, используя наконечники без фильтра.

4. Добавляли в каждую пробирку по 2 мкл растворов праймеров, предварительно разведенных до 1 оптических единиц.

5. В каждую пробирку вносили по 3 мкл ДНК исследуемого образца, используя для каждой пробы отдельный наконечник с фильтром.

6. Пробирки плотно закрывали, перемешивая содержимое встряхиванием, затем переносили пробирки в амплификатор и расставляли в соответствии с порядковым номером.

7. На приборе создавали эксперимент с соответствующими параметрами плашки: размер, тип, режим сканирования, флуорофор, названия проб; указывали объем реакционной смеси в одной пробирке. Затем запускали программу со следующими параметрами:

	Температура	Время	Кол-во циклов
Начальная денатурация	95 °С	5 мин	1
Денатурация	95 °С	10 сек	35
Отжиг	59 °С	25 сек	
Элонгация	72 °С	30 сек	
Достраивание цепей ДНК	72 С	30 сек	1

8. По окончании амплификации по показателю индикаторного цикла рассчитать относительное количество ДНК исследуемого инфекционного агента (рис.10, 11).

Дополнительно проводили электрофорез продуктов ПЦР в 1,7% агарозном геле в присутствии бромистого этидия.

Молекулярно-генетические исследования у пациентов проводилось дважды - до и через 14 дней лечения.

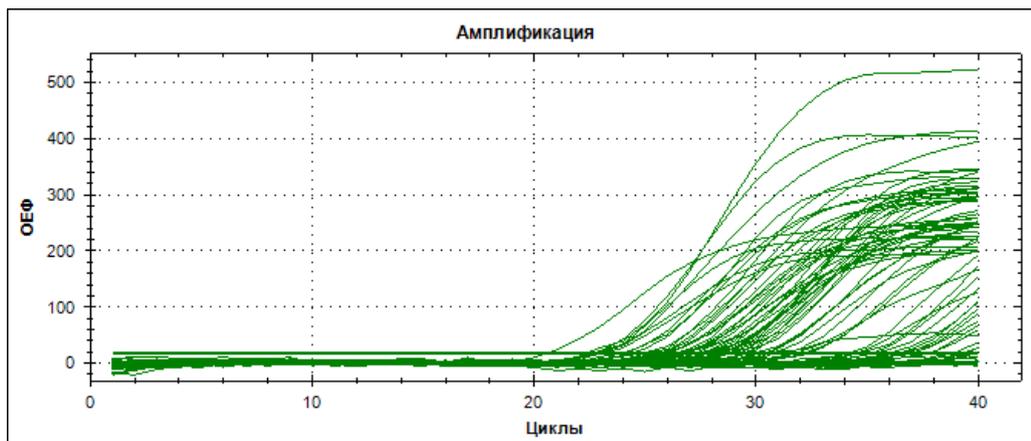


Рисунок 10 - График амплификации.

										0	1	2
	63/1	63/2	67/1	67/2	65/1	65/2	72/1	72/2	73/1	73/2	78/1	78/2
	77/1	77/2	80/1	80/2	87/1	87/2	82/1	82/2	83/1	83/2	89/1	89/2
	68/1	68/2	74/1	74/2	69/1	69/2	79/1	79/2	61/1	61/2	75/1	75/2
	63/1	63/2	67/1	67/2	64/1	64/2	66/1	66/2	65/1	65/2	72/1	72/2
	73/1	73/2	78/1	78/2	77/1	77/2	80/1	80/2	87/1	87/2	82/1	82/2
	83/1	83/2	89/1	89/2	68/1	68/2	74/1	74/2	69/1	69/2	79/1	79/2
	R 61/1	R 61/2	R 75/1	R 75/2	R 63/1	R 63/2	R 67/1	R 67/2	R 64/1	R 64/2	R 66/1	R 66/2
	R 65/1	R 65/2	R 72/1	R 72/2	R 73/1	R 73/2	R 78/1	R 78/2	R 77/1	R 77/2	R 80/1	R 80/2

Рисунок 11 - Таблица результатов с указанными названиями анализируемых проб.

## 2.4. Рентгенологический метод исследования

Для исследования состояния костной ткани челюстно-лицевой области, твердых тканей зуба и тканей пародонта в целях комплексного обследования пациентов, постановки полного диагноза и разработки плана лечения мы применяли рентгенологическое исследование с использованием ортопантомограмм (Рабухина Н.А., 1984), прицельных внутриротовых контактных рентгеновских снимков, радиовизиографии и КТ. Исследования проводились на базе Стоматологической поликлинике № 6 г. Уфа.

Ортопантомограф (ORTOPHOS 3, фирма Sirona), который имеет 4 программы: взрослая, детская, верхнечелюстной пазухи, височно – нижнечелюстного сустава в боковой проекции в 4-х плоскостях и в переднезадней проекции в 2-х плоскостях. Допустимое напряжение питания 230-240 В. Номинальная частота 50-60 Гц. Потребляемая мощность 2,1 кВт. ORTOPHOS 3 соответствует требованиям стандарта ЕИС 60601-1-2:2001. Аппарат содержит лазер класса 1. Световые визиры служат для правильной регулировки положения пациента. Автоматизированные датчики определяют дозировку рентгенологического излучения, обеспечивая оптимальные условия экспозиции. Эффективное излучение высокой энергии со сниженным количеством вредных мягких рентгеновских лучей дает более четкое изображение при низких дозах облучения пациента. Для позиционирования пациентов применяются световые лучи и зеркала. Угол расположения зеркал можно изменять, что позволяет рентген лаборанту проверить правильность положения.

Для дополнительного обследования пациентов, по показаниям использовали радиовизиограф (Trofy) – аппарата с цифровой обработкой рентгеновского изображения. Разрешающая способность визиографа 12,5 пар линий на 1 мм.

Программа, заложенная в радиовизиографе, позволяет по-разному преобразовывать полученное исходное изображение: делать изображение более четким, увеличивать и уменьшать, проводить угловые и линейные измерения,

изменять его яркость и контрастность, обращать негативное изображение в позитивное и цветное, вычислять относительную плотность. Полученное изображение сохраняется в базе данных компьютера, а при необходимости выводится на монитор, распечатывается на принтере и может переноситься на электронный носитель информации.

Преимуществами радиовизиографии по сравнению с традиционной рентгенографией является снижение лучевой нагрузки на пациента в 10-20 раз, или на 90-95%, применение радиовизиографа позволяет отказаться от фотолабораторного процесса, предусматривает обработку изображения, выполнение угловых и линейных измерений, увеличение и панорамирование, определение оптической плотности и построение гистограмм), обладает высокой скоростью получения радиовизиографического изображения. Данный метод радиовизиографии обладает высокой чувствительностью (чувствительность при съемке до 60кВ). Маленький размер датчика предоставляет большие возможности в установке и позиционировании его в полости рта пациента. Снижение радиационной нагрузки до 20% благодаря мультиимпульсной технике съемки является более безопасным для пациента.

Анализ снимка по произвольному срезу позволял оценивать изменения плотности костной структуры в любых участках и в любом направлении. Мы получали продольный и поперечный срезы костной ткани и определяли плотность тканей по шкале рентгенологических условных единиц. Для стандартизации полученных результатов использовали позиционеры для фронтальной, боковой и жевательной групп зубов. Время экспозиции составляло 0.05 сек. при силе анодного напряжения на трубке 70 кВ, работающие с цифровыми приемниками изображения. Рентгенологические методы исследования позволяли оценить и проанализировать следующие характеристики – структуру, форму и высоту межальвеолярных перегородок; тип резорбции (горизонтальная, вертикальная, смешанная); наличие костных карманов; вовлечение фуркаций; присутствие кортикального слоя; степень минерализации губчатого слоя. Для более точной диагностики использовали

3D-диагностику в виде компьютерно-конусно-лучевой томографии (КЛКД) на аппарате Planmeca ProMax 3D Plus. Данным способом возможно детально проводить анализ структуры, формы, высоту межальвеолярных перегородок, вид костной атрофии, глубину костных карманов, оценивать плотность тканей, степень минерализации губчатого слоя кости.

## **2.5. Методы статистической обработки**

Статистическая обработка полученных результатов выполнялась с помощью биометрических методов анализа [48]. Методы описательной статистики заключались в оценке среднего арифметического ( $M$ ), средней ошибки среднего значения ( $m$ ) – для признаков, имеющих непрерывное распределение, а также частоты встречаемости – для признаков с дискретным значением.

Для анализа признаков, подчиняющихся закону нормального распределения, применяли метод выявления различия признаков по средним величинам. Достоверность различий определяли с помощью t-критерия Стьюдента. Для анализа распределения частот признаков, не подчиняющихся закону нормального распределения, использовали критерий  $X^2$ . Для определения наличия взаимосвязи между двумя признаками применялся коэффициент корреляции  $r$ , который рассчитывался методом непараметрической статистики Спирмена. Результаты считались достоверными при  $p < 0,05$ .

Математические вычисления проводили на персональном компьютере с использованием стандартных пакетов статистических программ «Statistika for Windows» и «SPSS».

## ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1. Клиническая характеристика больных пародонтитом

Для решения поставленных задач было проведено обследование и лечение 170 больных пародонтитом. Из них в 129 (75,9%) случаях был диагностирован пародонтит средней степени тяжести, в 41 (24,1%) случае – тяжелая степень заболевания.

Возраст больных колебался от 29 до 70 лет и в среднем составил  $52,1 \pm 12,48$  лет. Возраст пациентов с тяжелой степенью пародонтита был равен  $64,5 \pm 9,72$  лет, а с более легкой формой заболевания –  $49,6 \pm 11,35$  лет (табл. 1).

Таблица 1 - Распределение больных пародонтитом средней и тяжелой степеней по возрасту, абс.(%)

Степень пародонтита	Возраст (годы)				
	до 30	31-40	41-50	51-60	61-70
Средняя (n = 129)	17 (13,2%)	26 (20,2%)	21 (16,3%)	34 (26,4%)	31(24,0%)
Тяжелая (n = 41)	-	-	3 (7,3%)	12 (29,3%)	26 (63,4%)

Тяжесть пародонтита достоверно положительно коррелировала с возрастом больных ( $r = 0,41$ ,  $p < 0,01$ ). Следует отметить, что тяжелая степень заболевания была выявлена только у лиц старше 45 лет. При этом среди 57 обследованных пациентов старше 60 лет тяжелая форма заболевания была диагностирована почти в половине случаев - 45,6%, что существенно чаще, чем у лиц более молодого возраста ( $\chi^2 = 21,6$ ,  $p = 0,0001$ ).

Доля больных мужского пола составила 36,5% (62 чел.), женского пола - 63,5% (108 чел.). Распределение пациентов с пародонтитом средней и тяжелой степеней по полу представлено в табл. 2.

Таблица 2 - Распределение больных пародонтитом средней и тяжелой степени по гендерной принадлежности

Степень пародонтита	Мужчины		Женщины	
	абс.	%	абс.	%
Средняя (n = 129)	36	27,9	93	72,1
Тяжелая (n = 41)	26	63,4	15	36,6

В результате исследования нами было установлено, что среди пациентов с тяжелым пародонтитом преобладают лица мужского пола, тогда как среди пациентов со средней тяжестью заболевания – наоборот, женского пола. Обращает на себя внимание тот факт, что в группе мужчин частота встречаемости тяжелой формы заболевания была существенно выше, чем в группе женщин – 41,9% против 13,9% ( $\chi^2 = 16,9$ ,  $p = 0,0001$ ).

В результате изучения некоторых факторов риска развития пародонтита, нами было установлено выявление у 67 (51,9%) пациентов с пародонтитом средней степени тяжести и у 24 (58,5%) пациентов с тяжелой степенью заболевания. Наличие такой вредной привычки, как курение, негативно воздействующей на стоматологическое здоровье, отмечали 32 (24,8%) пациента с пародонтитом средней степени тяжести и 16 (39,0%) – с пародонтитом тяжелой степени, как мужчины, так и женщины.

У большинства обследованных больных установлена общесоматическая патология (табл. 3).

Преобладали заболевания желудочно-кишечного тракта – 104 (61,2%) больных, среди которых наиболее часто встречались хронические гастриты различного генеза, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки. При этом частота встречаемости патологии органов пищеварения не зависела от тяжести заболевания и была существенно выше, чем в группе обследованных лиц без патологии пародонта (при средней степени заболевания – на 27,1% ( $\chi^2 = 12,8$ ,  $p = 0,001$ ); при тяжелой степени – на 36,5% ( $\chi^2 = 13,6$ ,  $p = 0,0001$ )).

Таблица 3 - Распространенность общесоматических заболеваний у больных пародонтитом

Заболевания	Степень пародонтита		Контроль ная группа (n = 66)
	средняя (n = 129)	тяжелая (n = 41)	
Желудочно-кишечного тракта	76 (58,9%) <sup>a</sup>	28 (68,3%) <sup>a</sup>	21 (31,8%)
Сердечно-сосудистой системы	34 (26,4%)	24 (58,5%) <sup>a б</sup>	16 (24,2%)
Эндокринной системы	32 (24,8%) <sup>a</sup>	16 (39,0%) <sup>a</sup>	2 (3,0%)
Отсутствуют	21 (16,3%) <sup>a</sup>	0 (0,0%) <sup>a б</sup>	35 (53,0%)

Примечание: <sup>a</sup> – различие со значением в группе сравнения, <sup>б</sup> – со значением у больных со средней степенью тяжести пародонтита достоверно ( $p < 0,05$ )

Сердечно-сосудистые заболевания в группе пациентов с пародонтитом имели место в 58 (34,1%) случаях. Наиболее часто отмечались гипертоническая болезнь - у 38 (22,4%) человек, и ишемическая болезнь сердца – у 21 (12,4%) человека. В контрольной группе частота патологии сердечной сосудистой системы соответствовала таковой у больных пародонтитом и была представлена в основном гипертонической болезнью (14 человек, 21,2%). Ишемическая болезнь сердца среди пациентов данной группы выявлена у 2 (3,0%) человек. Однако если у больных со средней степенью тяжести пародонтита частота сердечно-сосудистой патологии не отличалась значимо от показателей в контрольной группе, то у пациентов с тяжелым пародонтитом она была достоверно выше, чем у лиц без патологии пародонта – на 34,3% ( $\chi^2 = 12,7$ ,  $p = 0,0001$ ) и у больных с менее тяжелым течением заболевания – на 31,9% ( $\chi^2 = 14,3$ ,  $p = 0,0001$ ).

В общей структуре сопутствующей внутренней патологии при пародонтите эндокринные заболевания составили 28,2% (48 человек) и были

представлены, главным образом, сахарным диабетом – 39 (22,9%) пациентов. Заболевания щитовидной железы (гипотиреоз) были диагностированы у 12 (7,1%) больных данного профиля. В контрольной группе эндокринная патология – гипотиреоз, имела место только в 2 (3,0%) случаях, что значительно реже, чем в группе больных средней степени - на 21,8% ( $\chi^2 = 14,4$ ,  $p = 0,0001$ ) и тяжелым пародонтитом - на 36,0% ( $\chi^2 = 23,4$ ,  $p = 0,0001$ ).

В целом, общесоматическая заболеваемость среди больных пародонтитом составила 87,4% (149 человек), а у лиц без патологии пародонта и санированной полостью рта - 47,0% (31 человек), что существенно ниже (на 40,4%,  $\chi^2 = 43,5$ ,  $p = 0,0001$ ). Следует отметить, что у всех пациентов с тяжелым пародонтитом (100%) присутствовала та или иная соматическая патология, причем различия в частоте встречаемости оказались статистически значимыми с показателями как в контрольной группе – на 53,0% ( $\chi^2 = 32,3$ ,  $p = 0,0001$ ), так и в группе больных с пародонтитом средней степени – на 16,3% ( $\chi^2 = 7,6$ ,  $p = 0,006$ ). Среди пациентов без патологии пародонта общесоматическая заболеваемость была также достоверно ниже, чем у больных пародонтитом средней степени тяжести ( $\chi^2 = 28,8$ ,  $p = 0,0001$ ). Большинство пациентов с пародонтитом (137 человек, 80,6%), зная о своём заболевании, нерегулярно посещали профильного специалиста или не соблюдали полученные рекомендации.

Анализ корреляций между присутствием поражения пародонта и наличием соматической патологии показал сильную положительную корреляцию между указанными параметрами ( $r = 0,51$ ,  $p < 0,05$ ), в первую очередь, с заболеваниями желудочно-кишечного тракта ( $r = 0,32$ ,  $p < 0,05$ ).

Таким образом, патология пародонта у взрослых лиц нередко развивается на фоне патологии желудочно-кишечного тракта, эндокринных желёз, сердечно-сосудистой системы. Тяжесть течения заболевания сопряжена с мужским полом и возрастом больных старше 60 лет, а также наличием соматической патологии, в первую очередь, со стороны сердечно-сосудистой системы.

### **3.2. Особенности стоматологического статуса у пациентов с пародонтитом**

По результатам наших исследований установлено, что длительность заболевания при пародонтите средней степени тяжести составила в среднем  $6,7 \pm 2,18$  лет, при тяжелой форме заболевания -  $8,9 \pm 1,64$  лет; средняя продолжительность периодов ремиссии -  $8,4 \pm 0,51$  месяцев и  $4,2 \pm 0,28$  месяцев, соответственно.

Среди обследованных пациентов обратились за помощью впервые 96 (56,5%) человек, а остальные 74 (43,5%) человека лечились ранее и 1 раз в год обращались за помощью. Наиболее частой причиной обращения к стоматологу было обострение хронического процесса.

В периоды обострения заболевания пациенты отмечали усиление кровоточивости десен при чистке зубов и приеме пищи, появление гноетечения из десен, увеличение подвижности зубов и изменение их положения в зубном ряду, неприятный запах изо рта, боль при еде (табл. 4).

При этом больные пародонтитом средней степени тяжести значимо реже предъявляли жалобы на гноетечение из десен, неприятный запах, подвижность и чувствительность зубов и боль при еде.

При исследовании травматических и налётретенционных факторов полости рта у 148 (87,1%) пациентов было выявлено наличие кариеса и дефектов пломб. Большое количество наддесневых зубных отложений, преимущественно в области оральной поверхности нижних резцов, вестибулярной поверхности верхних моляров и язычной поверхности нижних моляров имели 116 (68,2%) больных.

Таблица 4 - Основные жалобы у больных пародонтитом средней и тяжелой степеней тяжести

Параметры	Степень пародонтита			
	средняя (n = 129)		тяжелая (n = 41)	
	абс.	%	абс.	%
Кровоточивость десен	112	86,8	37	90,2
	$\chi^2 = 0,3, p = 0,630$			
Гноетечение из десен	39	30,2	31	75,6
	$\chi^2 = 26,4, p = 0,0001$			
Галитоз	83	64,3	34	82,9
	$\chi^2 = 7,2, p = 0,014$			
Подвижность зубов	49	38,0	31	75,6
	$\chi^2 = 17,7, p = 0,0001$			
Гиперстезия	23	17,8	14	34,1
	$\chi^2 = 4,9, p = 0,038$			
Неудовлетворительное пережевывание пищи и стомалгии	11	8,5	10	24,4
	$\chi^2 = 7,2, p = 0,016$			

У большинства обследованных лиц были обнаружены нарушения прикуса и положения отдельных зубов в зубном ряду - 95 человек (55,9%), клиновидные дефекты твердых тканей зубов – 41 человек (24,1%), супраконтакты, способствующие перегрузке опорных тканей зубов и аккумуляции зубных отложений – 97 человек (57,1%). Несъемные и съемные протезы в полости рта имели место у 39 (22,9%) и 18 (10,6%) обследованных пациентов, соответственно. При тяжелой степени пародонтита частота выявления указанных факторов была существенно выше (табл. 5).

Таблица 5 - Травматические и налетретенционные факторы полости рта у больных пародонтитом средней и тяжелой степени тяжести

Параметры	Степень пародонтита			
	средняя (n = 129)		тяжелая (n = 41)	
	абс.	%	абс.	%
Кариес зубов, дефекты пломб	107	82,9	41	100,0
	$\chi^2 = 8,0, p = 0,006$			
Зубо-челюстные аномалии	69	53,5	26	63,4
	$\chi^2 = 1,2, p = 0,289$			
Клиновидные дефекты зубов	19	14,7	22	53,7
	$\chi^2 = 25,8, p = 0,0001$			
Множественные супраконтакты	67	51,9	30	73,2
	$\chi^2 = 5,7, p = 0,022$			
Несъемные протезы в полости рта	26	20,2	13	31,7
	$\chi^2 = 2,4, p = 0,129$			
Съемные протезы в полости рта	12	9,3	6	14,6
	$\chi^2 = 0,9, p = 0,384$			

При обследовании тканей пародонта у всех пациентов отмечались гиперемия и отек десневых сосочков, цианотичность маргинальной и альвеолярной части десны.

Для объективной оценки состояния тканей пародонта обычно используют индексные оценки (табл. 6).

Таблица 6 - Показатели индексной оценки состояния тканей пародонта у больных пародонтитом средней и тяжелой степени тяжести

Параметры	Степень пародонтита	
	средняя (n = 129)	тяжелая (n = 41)
Индекс гигиены Silness-Loe (усл. ед.)	1,64 ± 0,45	1,84 ± 0,36
PDI (усл. ед.)	4,43 ± 0,47	5,82 ± 0,23 <sup>a</sup>
Индекс кровоточивости (усл. ед.)	2,26 ± 0,18	2,78 ± 0,16 <sup>a</sup>
Глубина пародонтальных карманов (мм)	5,39 ± 0,41	8,04 ± 0,67 <sup>a</sup>
Пародонтальный индекс (усл. ед.)	4,87 ± 0,21	6,43 ± 0,07 <sup>a</sup>
СРITN (усл. ед.)	2,84 ± 0,47	3,83 ± 0,37 <sup>a</sup>

Примечание: <sup>a</sup> – различие со значением у больных со средней степенью тяжести пародонтита достоверно ( $p < 0,05$ )

У подавляющего большинства (98,8%) пациентов с пародонтитом величина индекса гигиены Silness-Loe превышала пороговый уровень 0,5, что указывает на неудовлетворительное гигиеническое состояние полости рта. Только у двоих больных со средней степенью пародонтита (1,2%) значения данного показателя не превысили 0,5. В целом, величина индекса Silness-Loe была равна  $1,69 \pm 0,47$ , что в 3,38 раза выше порогового уровня.

Уровень клинического индекса PDI у обследованных больных составил  $4,76 \pm 0,93$ , что свидетельствует о наличии воспалительных изменений в тканях пародонта, выраженность которых положительно коррелирует со степенью пародонтита ( $r = 0,57$ ,  $p < 0,01$ ). При средней степени пародонтита значения данного индекса были существенно – на 23,9%, ниже, чем при тяжелой форме заболевания ( $p < 0,01$ ).

При оценке интенсивности кровоточивости десен установлено существенное превышение нормальных показателей значения индекса Mühlemann – до  $2,37 \pm 0,44$ . Обнаружена значимая прямая корреляция его

величины со степенью пародонтита ( $r = 0,68, p < 0,01$ ). У пациентов со средней степенью пародонтита значения индекса кровоточивости были значимо ниже показателей у больных с тяжелым пародонтитом – на 18,7% ( $p < 0,01$ ).

Степень деструкции кости альвеолярных отростков чаще всего определяется на основании глубины пародонтальных карманов, которая у пациентов с пародонтитом составила  $6,02 \pm 2,38$ . В группе больных тяжелой степенью пародонтита глубина пародонтальных карманов существенно – на 49,1%, превысила уровни у больных с менее тяжелым течением заболевания.

Величина пародонтального индекса у обследованных больных была равна  $5,22 \pm 0,68$ , причем его показатели в сравниваемых группа достоверно отличались друг от друга. При средней степени пародонтита его значения были на 24,3% ниже, чем при тяжелой форме заболевания ( $p < 0,001$ ).

По результатам оценки индекса CPITN -  $3,08 \pm 0,76$ , у всех обследованных при первичном осмотре выявлена необходимость проведения профессиональной гигиены полости рта и специализированного пародонтологического лечения. Установлено, что величины данного критерия у лиц со средней степенью пародонтита была значимо – на 25,8%, снижена в сравнении с показателями у лиц с тяжелым пародонтитом ( $p < 0,01$ ). Корреляционный анализ подтвердил положительную взаимосвязь значений индекса CPITN с тяжестью заболевания ( $r = 0,68, p < 0,01$ ).

Таким образом, полученные результаты анализа стоматологического статуса у больных пародонтитом показывают, что при данной патологии происходит значимое увеличение значений всех индексов оценки состояния тканей пародонта, причем показатели индексов гигиены Silness-Loe, PDI, кровоточивости, CPITN и пародонтального индекса возрастали с тяжестью заболевания.

## ГЛАВА 4 АНАЛИЗ ЭТИОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ

По результатам нашего исследования мы провели анализ и установили, что высокоинформативными «маркерными» микроорганизмами при пародонтите являются *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius* и *Streptococcus macacae*.

Для достижения поставленной цели исследования нами был произведен подбор олигонуклеотидных праймеров к специфическим консервативным последовательностям ДНК указанных пародонтопатогенных микробов – генам 16sРНК, а также генам антибиотикоустойчивости, депонированных в международном банке нуклеотидных последовательностей GenBank ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)). Выравнивание сиквенированных последовательностей, подбор праймеров и оптимальных условий для ПЦР проводили при использовании компьютерных программ Megalain и PrimerSelect пакета программ DNASTar (Lasergene, США), предоставленных ФБУН «Институт биохимии и генетики» УНЦ РАН.

Были подобраны пары олигонуклеотидных праймеров, отвечающие следующим требованиям:

- неспособность образовывать между собой стабильные димеры и формировать шпилечные структуры;
- температура отжига 55-70°C;
- 3'-конец праймера размером 10 нуклеотидов абсолютно комплементарен цепи ДНК;
- минимальная разность температур отжига праймеров одной пары;
- длина праймера 18-30 нуклеотидов.

Был проведен компьютерный подбор условий амплификации, который в дальнейшем был откорректирован в эксперименте.

Последовательность использованных в работе праймеров представлена в таблице 7.

Таблица 7 - Последовательности праймеров, температуры отжига и размеры ожидаемых продуктов

Объект	Название праймера	5'-3' последовательность	Темп. отжига	Ожидаемый размер продукта (п.н.)
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Ging F_Pr1 Ging R_Pr2	F: aaggcgtgggtatcaaacag R: gggtaaggttcctcgcgtat	60°C	220
<i>Treponema denticola</i>	Dent F_Pr1 Dent R_Pr2	F: aatgaagaaggccgaaaggt R: tcaagcagtaccaatgcag	60°C	245
<i>Streptococcus oralis</i>	Oral F_Pr1 Oral R_Pr2	F: cagctcgtgtcgtgagatgt R: tccgaactgagactggcttt	60°C	240
<i>Streptococcus sanguis</i>	Sang F_Pr1 Sang R_Pr2	F: tggacctgcgttgattagc R: ccactctcacaccgttctt	60°C	239
<i>Streptococcus sobrinus</i>	Sobr F_Pr1 Sobr R_Pr2	F: caacgatacatagccgacctg R: ttagccgtccctttctggta	60°C	235
<i>Streptococcus mutans</i>	Mut F_Pr1 Mut R_Pr2	F: gcagcagtagggaatcttcg R: cgctcgggacctacgtatta	60°C	201
<i>Streptococcus salivarius</i>	Sal F_Pr1 Sal R_Pr2	F: tcagtgtccaactcccatc R: cgcttgtgtggtcccttat	60°C	251
<i>Streptococcus macacae</i>	Mac F_Pr1 Mac R_Pr2	F: gcattgagaaagaccctgtcc R: cagtagcgggattgttgca	60°C	219

Таким образом, подобранные нами праймеры позволяют выявлять методом ПЦР пародонтопатогенные бактерии видов *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus macacae*, *Streptococcus sobrinus*.

#### 4.1. Особенности микрофлоры полости рта у больных пародонтитом в зависимости от тяжести заболевания

С целью оценки состояния микробиоты полости рта при пародонтите был проведен анализ содержания «маркерных» микроорганизмов в содержимом пародонтального кармана и ротовой жидкости с использованием метода ПЦР. У больных хроническим пародонтитом в содержимом пародонтального кармана обнаружены все исследованные микроорганизмы (табл. 8).

Таблица 8 - Частота выделения условно-патогенных бактерий в содержимом пародонтального кармана методом ПЦР

Виды бактерий	Больные пародонтитом (n = 170)		Контрольная группа (n = 66)	
	абс	%	абс	%
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	41	24,1	9	13,6
<i>Treponema denticola</i>	32	18,8 <sup>a</sup>	5	7,6
<i>Streptococcus mutans</i>	118	69,4 <sup>a</sup>	19	28,8
<i>Streptococcus salivarius</i>	19	11,2	3	4,5
<i>Streptococcus sanguis</i>	98	57,6	39	59,1
<i>Streptococcus oralis</i>	92	54,1 <sup>a</sup>	15	22,7
<i>Streptococcus macacae</i>	19	11,2	6	9,1
<i>Streptococcus sobrinus</i>	87	51,2 <sup>a</sup>	8	12,1

Примечание: <sup>a</sup> – различие со значением в контрольной группе достоверно (p < 0,05)

Наиболее распространены были бактерии *S. mutans*, которые были выявлены у 118 (69,4%) из 170 обследованных больных. Следует отметить высокую представленность *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus oralis* и *Streptococcus sobrinus*, частота встречаемости которых превысила 50% - 57,6%,

54,1% и 51,2%, соответственно. Остальные микроорганизмы встречались заметно реже. Так, *Porphyromonas gingivalis* наблюдалась у 41 (24,1%) пациента, *Treponema denticola* – у 32 (18,8%) пациентов, *Streptococcus macacae* и *Streptococcus salivarius* – у 19 (11,2%) пациентов.

В результате наших исследований мы установили, что у больных пародонтитом микробиологический статус содержимого пародонтального кармана характеризовался существенно более высокой, чем в контрольной группе, распространенностью *Treponema denticola* (на 11,2%,  $\chi^2 = 4,55$ ,  $p = 0,047$ ), *Streptococcus mutans* (на 40,6%,  $\chi^2 = 32,2$ ,  $p = 0,0001$ ), *Streptococcus oralis* (на 31,4%,  $\chi^2 = 18,9$ ,  $p = 0,0001$ ) и *Streptococcus sobrinus* (на 39,1%,  $\chi^2 = 30,2$ ,  $p = 0,0001$ ).

В обеих включенных в исследование группах наблюдались ассоциации нескольких видов бактерий. У больных пародонтитом обращает на себя внимание достоверное возрастание встречаемости ассоциации *Treponema denticola* и *Porphyromonas gingivalis* – 9,4% (16 человек) в сравнении с 1,5% (1 человек) среди здоровых лиц ( $\chi^2 = 4,4$ ,  $p = 0,038$ ).

Анализ ассоциаций представителей облигатной микрофлоры рода *Streptococcus* показал, что в содержимом пародонтального кармана первое место заняли ассоциации *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus oralis* – 32 человека (18,8%). Вторым по частоте встречаемости были ассоциации *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sobrinus* – 24 человека (14,1%). Ассоциация бактерий *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* была выявлена у 16 (9,4%) больных, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis* – у 7 (4,1%) больных. Частота других ассоциаций микроорганизмов не превышала 3%.

В контрольной группе в содержимом пародонтального кармана наиболее часто наблюдались ассоциации микроорганизмов *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus oralis* – 21,2% (14 человек), тогда как в группе больных такие ассоциации были выявлены существенно реже - только в 4 (2,4%) случаях ( $\chi^2 = 24,0$ ,  $p = 0,0001$ ).

При оценке содержимого пародонтального кармана в зависимости от течения заболевания получены следующие результаты (табл. 9).

Таблица 9 - Частота выделения условно-патогенных бактерий в содержимом пародонтального кармана методом ПЦР у больных пародонтитом средней и тяжелой степени тяжести

Виды бактерий	Степень пародонтита			
	средняя (n = 129)		тяжелая (n = 41)	
	абс	%	абс	%
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	26	20,2 <sup>a</sup>	15	36,6
	$\chi^2 = 4,58, p = 0,043$			
<i>Treponema denticola</i>	19	14,7	13	31,7
	$\chi^2 = 6,87, p = 0,012$			
<i>Streptococcus mutans</i>	96	74,4	22	53,7
	$\chi^2 = 6,32, p = 0,020$			
<i>Streptococcus salivarius</i>	8	6,2 <sup>a</sup>	11	26,8
	$\chi^2 = 9,14, p = 0,008$			
<i>Streptococcus sanguis</i>	82	63,6 <sup>a</sup>	16	39,0
	$\chi^2 = 7,67, p = 0,011$			
<i>Streptococcus oralis</i>	77	59,7 <sup>a</sup>	15	36,6
	$\chi^2 = 6,69, p = 0,014$			
<i>Streptococcus macacae</i>	8	6,2 <sup>a</sup>	11	26,8
	$\chi^2 = 13,3, p = 0,004$			
<i>Streptococcus sobrinus</i>	71	55,0	16	39,0
	$\chi^2 = 3,19, p = 0,118$			

У больных тяжелым пародонтитом обнаружено значимое возрастание в сравнении с показателями у пациентов со средним пародонтитом частоты встречаемости *Porphyromonas gingivalis* - на 16,4%, *Treponema denticola* - на 17,0%, *Streptococcus salivarius* и *Streptococcus macacae* – на 20,6%. В то же

время при тяжелом пародонтите представленность *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* и *Streptococcus oralis* была достоверно ниже, чем при средней степени пародонтита – на 20,7%, 24,6% и 23,1%, соответственно.

По результатам исследований, у пациентов с пародонтитом средней степени тяжести статистически значимые различия в частоте встречаемости бактерий с контрольной группой выявлены только для *Streptococcus mutans* ( $\chi^2 = 37,6$ ,  $p = 0,0001$ ), *Streptococcus oralis* ( $\chi^2 = 23,9$ ,  $p = 0,0001$ ) и *Streptococcus sobrinus* ( $\chi^2 = 33,4$ ,  $p = 0,0001$ ).

У больных с тяжелой формой заболевания в содержимом пародонтального кармана обнаружено существенное возрастание, в сравнении с таковым у здоровых лиц, представленности *Treponema denticola* ( $\chi^2 = 7,7$ ,  $p = 0,011$ ), *Porphyromonas gingivalis* ( $\chi^2 = 10,5$ ,  $p = 0,0001$ ), *Streptococcus mutans* ( $\chi^2 = 6,6$ ,  $p = 0,014$ ), *Streptococcus salivarius* ( $\chi^2 = 7,9$ ,  $p = 0,010$ ), *Streptococcus macacae* ( $\chi^2 = 6,0$ ,  $p = 0,022$ ) и *Streptococcus sobrinus* ( $\chi^2 = 10,5$ ,  $p = 0,002$ ). В то же время, в отличие от показателей при пародонтите средней степени, у больных с тяжелым течением заболевания частота выявления *Streptococcus sanguis* была достоверно снижена ( $\chi^2 = 4,1$ ,  $p = 0,048$ ), а частота выявления *Streptococcus oralis* соответствовала уровням в контрольной группе (рис. 12).

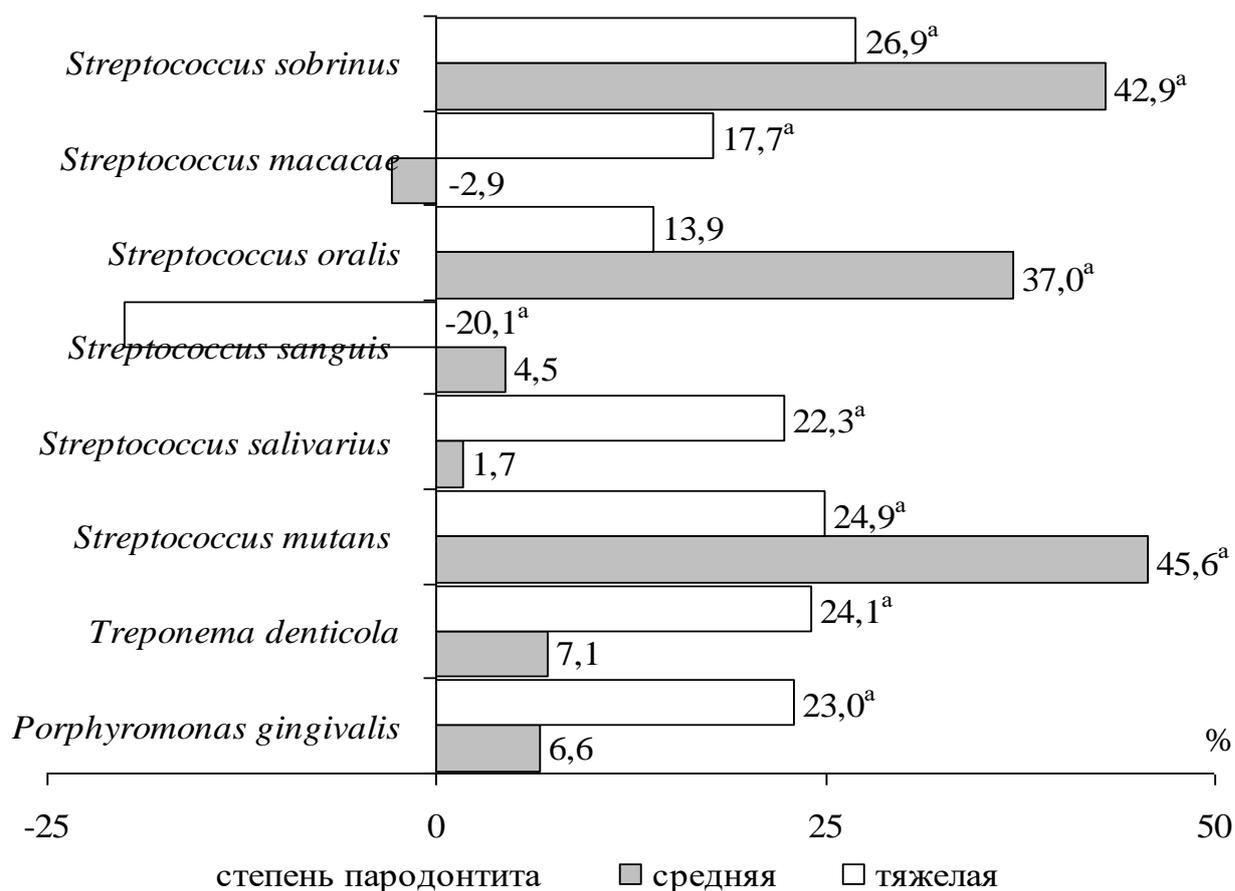


Рисунок 12 - Степень изменения частоты выделения микроорганизмов в содержимом пародонтального кармана у больных пародонтитом по сравнению с показателями у здоровых лиц (<sup>a</sup> – различие со значением в контрольной группе достоверно при  $p < 0,05$ ).

При анализе ассоциаций представителей микрофлоры в содержимом пародонтального кармана при пародонтите разной степени тяжести получены следующие результаты (табл. 10).

Таблица 10 - Частота выделения ассоциаций бактерий в содержимом пародонтального кармана методом ПЦР у больных пародонтитом средней и тяжелой степеней тяжести

Ассоциации	Степень пародонтита			
	средняя (n = 129)		тяжелая (n = 41)	
	абс	%	абс	%
<i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Treponema denticola</i>	8	6,2	8	19,5 <sup>a</sup>
<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus sanguis</i> , <i>Streptococcus oralis</i>	25	19,4	7	17,1
<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus sanguis</i> , <i>Streptococcus oralis</i> , <i>Streptococcus sobrinus</i>	21	16,3	3	7,3
<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus sanguis</i>	13	10,1	3	7,3
<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus oralis</i>	6	4,7	1	2,4

Примечание: <sup>a</sup> – различие со значением у больных со средней степенью тяжести пародонтита достоверно ( $p < 0,02$ )

У больных тяжелым пародонтитом наблюдалась значимо более высокая, чем у пациентов с пародонтитом средней степени и у здоровых лиц частота встречаемости ассоциаций *Treponema denticola* и *Porphyromonas gingivalis* – соответственно, на 13,3% ( $\chi^2 = 6,5$ ,  $p = 0,016$ ) и на 18,0% ( $\chi^2 = 10,6$ ,  $p = 0,001$ ). При этом у пациентов более легкой формой заболевания значения данного показателя не отличались от таковых в контрольной группе.

Подобная тенденция по содержанию микроорганизмов наблюдалась и в образцах ротовой жидкости больных пародонтитом (табл. 11).

Таблица 11 - Частота выделения условно-патогенных бактерий в ротовой жидкости методом ПЦР у больных пародонтитом и пациентов с интактным пародонтом

Виды бактерий	Больные пародонтитом (n = 170)		Контрольная группа (n = 66)	
	абс	%	абс	%
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	29	17,1	6	9,1
<i>Treponema denticola</i>	17	10,0	3	4,5
<i>Streptococcus mutans</i>	114	67,1 <sup>a</sup>	18	27,3
<i>Streptococcus salivarius</i>	9	5,3	2	3,0
<i>Streptococcus sanguis</i>	93	54,7	31	47,0
<i>Streptococcus oralis</i>	86	50,6	27	40,9
<i>Streptococcus macacae</i>	24	14,1	8	12,1
<i>Streptococcus sobrinus</i>	76	44,7 <sup>a</sup>	7	10,6

Примечание: <sup>a</sup> – различие со значением в контрольной группе достоверно (p < 0,05)

Максимальная представленность обнаружена для *Streptococcus mutans* (114 человек, 67,1%). Доля больных с *Streptococcus sanguis* составила 93 (54,7%) человека, с *Streptococcus oralis* - 86 (50,6%) человек, с *Streptococcus sobrinus* – 76 (44,7%) человек. Частота встречаемости в ротовой жидкости остальных бактерий также соответствовала таковой в материале пародонтального кармана зубов. При этом, если у больных хроническим пародонтитом в сравнении с показателями у здоровых лиц в содержимом пародонтального кармана установлено существенное увеличение частоты выявления *Treponema denticola*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis* и *Streptococcus sobrinus*, то в ротовой жидкости подобные различия наблюдались только для *Streptococcus mutans* (на 39,8%,  $\chi^2 = 30,5$ , p = 0,0001) и *Streptococcus sobrinus* (на 34,1%,  $\chi^2 = 24,2$ , p = 0,0001).

В контрольной группе обращает на себя внимание достоверно более высокая, чем в содержимом пародонтального кармана, представленность в ротовой жидкости *Streptococcus oralis* (на 18,2%,  $\chi^2 = 5,0$ ,  $p = 0,038$ ).

Во включенных в исследование группах обнаружены существенные различия в частоте выявления ассоциаций *Treponema denticola* и *Porphyromonas gingivalis* – 8,8% (15 человек) у больных пародонтитом при его отсутствии в контрольной группе ( $\chi^2 = 6,2$ ,  $p = 0,017$ ).

Среди представителей облигатной микрофлоры рода *Streptococcus* наиболее часто встречающийся в ротовой жидкости состав ассоциаций включал *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus oralis* – у 32 (18,8%) человек. Вторыми по частоте выявления были ассоциации *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis* и *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sobrinus* – по 16 (9,4%) человек. Ассоциации *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* установлено у 11 (6,5%) человек. Частота других ассоциаций бактерий не превышала 5%.

В контрольной группе в ротовой жидкости наиболее часто наблюдалось ассоциации микроорганизмов *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus oralis* – у 18 (27,3%) человек, тогда как у больных пародонтитом данные ассоциации выявлялись существенно реже – у 5 (2,9%) человек (на 24,4%,  $\chi^2 = 32,0$ ,  $p = 0,0001$ ). Ассоциация бактерий *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus oralis* была установлена у 11 (16,7%) здоровых лиц, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sobrinus* – у 5 (7,6%) человек, причем частота их встречаемости в контрольной группе не отличалась от таковой в группе больных.

При исследовании микробиоты ротовой жидкости в зависимости от течения заболевания получены следующие результаты (табл. 12).

Таблица 12 - Частота выделения условно-патогенных бактерий в ротовой жидкости методом ПЦР у больных пародонтитом средней и тяжелой степеней тяжести

Виды бактерий	Степень пародонтита			
	средняя (n = 129)		тяжелая (n = 41)	
	абс	%	абс	%
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	21	16,3	8	19,5
	$\chi^2 = 0,23, p = 0,641$			
<i>Treponema denticola</i>	6	4,7	11	26,8 <sup>a</sup>
	$\chi^2 = 17,0, p = 0,0003$			
<i>Streptococcus mutans</i>	91	70,5	23	56,1
	$\chi^2 = 2,94, p = 0,118$			
<i>Streptococcus salivarius</i>	4	3,1	5	12,2 <sup>a</sup>
	$\chi^2 = 5,13, p = 0,042$			
<i>Streptococcus sanguis</i>	77	59,7	16	39,0 <sup>a</sup>
	$\chi^2 = 5,36, p = 0,029$			
<i>Streptococcus oralis</i>	72	55,8	14	34,1 <sup>a</sup>
	$\chi^2 = 5,84, p = 0,021$			
<i>Streptococcus macacae</i>	17	13,2	7	17,1
	$\chi^2 = 0,39, p = 0,626$			
<i>Streptococcus sobrinus</i>	58	45,0	18	43,9
	$\chi^2 = 0,01, p = 0,999$			

Примечание: <sup>a</sup> – различие со значением у больных со средней степенью пародонтита достоверно ( $p < 0,05$ )

У больных тяжелым пародонтитом установлена достоверно более высокая, чем у пациентов со средней степенью пародонтита, представленность *Treponema denticola* (на 22,1%) и *Streptococcus salivarius* (на 9,1%). Кроме того,

при тяжелой форме пародонтита наблюдалось существенное снижение представленности *Streptococcus oralis* (на 21,7%) и *Streptococcus sanguis* (на 20,7%).

Анализ представленности в ротовой жидкости условно-патогенных бактерий в сравнении с таковым у здоровых лиц показал, что у пациентов с пародонтитом средней степени значимо более высокая частота выделения *Streptococcus mutans* ( $\chi^2 = 33,2$ ,  $p = 0,0001$ ) и *Streptococcus sobrinus* ( $\chi^2 = 23,2$ ,  $p = 0,0001$ ), тогда как частота выявления остальных микроорганизмов соответствовала уровням у здоровых лиц (рис. 13).

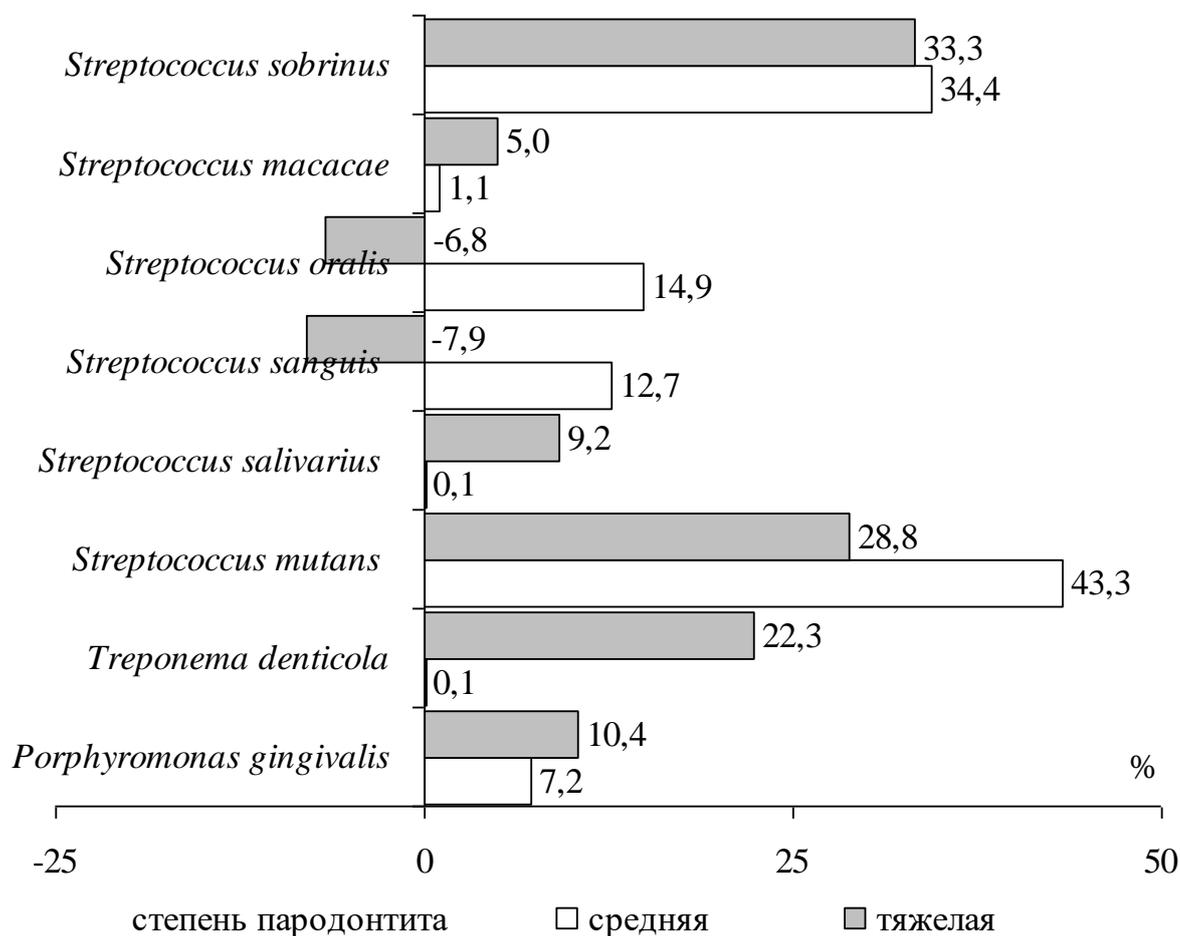


Рисунок 13 - Степень изменения частоты выделения микроорганизмов в ротовой жидкости у больных пародонтитом по сравнению с показателями у здоровых лиц.

У больных тяжелым пародонтитом в ротовой жидкости обнаружена достоверно более высокая, чем в контрольной группе представленность *Treponema denticola* ( $\chi^2 = 11,0$ ,  $p = 0,002$ ), *Streptococcus mutans* ( $\chi^2 = 8,9$ ,  $p = 0,006$ ) и *Streptococcus sobrinus* ( $\chi^2 = 15,7$ ,  $p = 0,0001$ ).

Среди пациентов с пародонтитом средней и тяжелой степени различия в частоте выявления в ротовой жидкости ассоциаций представителей микрофлоры обнаружены не были (табл. 13).

Таблица 13 - Частота выделения ассоциаций бактерий в ротовой жидкости методом ПЦР у больных пародонтитом средней и тяжелой степеней тяжести

Ассоциации	Степень пародонтита			
	средняя (n = 129)		тяжелая (n = 41)	
	абс	%	абс	%
<i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Treponema denticola</i>	11	8,5	4	9,8
<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus sanguis</i> , <i>Streptococcus oralis</i>	27	20,9	5	12,2
<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus sanguis</i> , <i>Streptococcus oralis</i> , <i>Streptococcus sobrinus</i>	14	10,9	2	4,9
<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus oralis</i>	11	8,5	5	12,2
<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus sanguis</i>	7	5,4	4	9,8

Как и в группе больных пародонтитом в целом, у больных со средней и тяжелой формой заболевания наблюдалась значимо более высокая, чем в контрольной группе частота встречаемости ассоциаций *Treponema denticola* и *Porphyromonas gingivalis* – соответственно, на 8,5% ( $\chi^2 = 5,96$ ,  $p = 0,023$ ) и на

9,8% ( $\chi^2 = 6,69$ ,  $p = 0,018$ ), а также достоверно более низкая представленность ассоциаций *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus oralis* – соответственно, на 25,0% ( $\chi^2 = 28,3$ ,  $p = 0,0001$ ) и на 22,4% ( $\chi^2 = 8,34$ ,  $p = 0,003$ ).

Таким образом, подобранные нами праймеры позволяют выявлять методом ПЦР пародонтопатогенные бактерии видов *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus macacae*, *Streptococcus sobrinus*. У больных пародонтитом в содержимом пародонтального кармана зубов и ротовой жидкости имеет место ассоциация нескольких видов бактерий. При этом качественные изменения микробиоценоза в ротовой полости сопряжены с тяжестью пародонтита.

#### **4.2. Особенности микрофлоры полости рта у больных пародонтитом в зависимости от сопутствующей соматической патологии**

Для того чтобы оценить сопряженность состояния микрофлоры полости рта с общесоматической патологией, больные хроническим пародонтитом были разделены на две группы. Первую группу составили 149 пациентов с сопутствующими заболеваниями внутренних органов, вторую группу – 21 пациент с изолированным пародонтитом. Поскольку у всех пациентов с тяжелым пародонтитом присутствовала та или иная соматическая патология, мы не учитывали характер течения данного заболевания. В качестве контрольной группы были обследованы 35 человек из 66 включенных в исследование лиц с санированной полостью рта без патологии внутренних органов.

По результатам наших исследований, микробиологический статус содержимого пародонтального кармана у больных пародонтитом первой группы характеризовался существенно более высокой, чем в контрольной группе, распространенностью *Streptococcus mutans* (на 48,1%,  $\chi^2 = 28,7$ ,  $p = 0,0001$ ), *Streptococcus oralis* (на 34,8%,  $\chi^2 = 13,9$ ,  $p = 0,0004$ ) и *Streptococcus sobrinus* (на 43,6%,  $\chi^2 = 21,6$ ,  $p = 0,0001$ ) (табл. 14).

Таблица 14 - Микробиота больных пародонтитом и сопутствующей общесоматической патологией

Виды бактерий	Контрольная группа (n = 35)		Больные пародонтитом			
			Группа 1 (n = 149)		Группа 2 (n = 21)	
	абс	%	абс	%	абс	%
<b>Содержимое пародонтального кармана</b>						
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	5	14,3	36	24,2	5	23,8
<i>Treponema denticola</i>	3	8,6	29	19,5	3	14,3
<i>Streptococcus mutans</i>	9	25,7	110	73,8 <sup>аb</sup>	8	38,1
<i>Streptococcus salivarius</i>	2	5,7	16	10,7	3	14,3
<i>Streptococcus sanguis</i>	23	65,7	85	57,0	13	61,9
<i>Streptococcus oralis</i>	8	22,9	86	57,7 <sup>аb</sup>	6	28,6
<i>Streptococcus macacae</i>	3	8,6	16	10,7	3	14,3
<i>Streptococcus sobrinus</i>	4	11,4	82	55,0 <sup>аb</sup>	5	23,8
<b>Ротовая жидкость</b>						
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	3	8,6	27	18,1	2	9,5
<i>Treponema denticola</i>	2	5,7	14	9,4	3	14,3
<i>Streptococcus mutans</i>	10	28,6	100	67,1 <sup>а</sup>	14	66,7 <sup>а</sup>
<i>Streptococcus salivarius</i>	1	2,9	8	5,4	1	4,7
<i>Streptococcus sanguis</i>	18	51,4	79	53,0	14	66,7
<i>Streptococcus oralis</i>	16	45,7	78	52,3	8	38,1
<i>Streptococcus macacae</i>	4	11,4	21	14,1	3	14,3
<i>Streptococcus sobrinus</i>	4	11,4	67	45,0 <sup>а</sup>	9	42,9 <sup>а</sup>

Примечание: <sup>а</sup> – различие с контролем, <sup>б</sup> – со значениями в 2-й группе достоверно (p < 0,05)

У больных пародонтитом второй группы без общесоматической патологии содержание микроорганизмов в пародонтальном кармане соответствовало таковому у здоровых лиц, причем частота встречаемости

указанных выше бактерий была достоверно ниже, чем у пациентов с сопутствующими соматическими заболеваниями: *Streptococcus mutans* - на 35,7% ( $\chi^2 = 11,1$ ,  $p = 0,001$ ), *Streptococcus oralis* - на 29,1% ( $\chi^2 = 6,3$ ,  $p = 0,017$ ), *Streptococcus sobrinus* на - 31,2% ( $\chi^2 = 7,2$ ,  $p = 0,008$ ).

Детекция патогенных и условно-патогенных микроорганизмов в ротовой жидкости показала отсутствие статистически значимых различий в распространенности исследованных бактерий у пациентов с сопутствующей соматической патологией и без нее (табл. 14). При этом в обеих группах больных хроническим пародонтитом установлено существенное, выше чем в контрольной группе, увеличение частоты выявления *Streptococcus mutans* (в 1-й группе - на 38,5%,  $\chi^2 = 17,5$ ,  $p = 0,0002$ ; во 2-й группе - на 38,1%,  $\chi^2 = 7,8$ ,  $p = 0,01$ ) и *Streptococcus sobrinus* (в 1-й группе - на 33,6%,  $\chi^2 = 13,5$ ,  $p = 0,0001$ ; во 2-й группе - на 38,1%,  $\chi^2 = 7,3$ ,  $p = 0,01$ ).

При анализе антибиотикоустойчивости бактерий, ассоциированных с пародонтитом, получены следующие результаты. Среди 41 больного, у которых в содержимом пародонтального кармана был выявлен *Porphyromonas gingivalis*, устойчивость к бацитрацину была обнаружена в 5 (12,2%) случаях, к нитромидазолу - в 23 (56,1%) случаях, к ванкомицину - в 18 (43,9%) случаях. У 118 больных с *Streptococcus mutans* данный микроорганизм оказался устойчив к линкомицину в 12 (10,1%) случаях, к  $\beta$  - лактамным антибиотикам - в 17 (14,4%) случаях. Устойчивость *Streptococcus sanguis* к блеомицину установлена у 25 из 98 больных (25,5%), *Streptococcus salivarius* к линкомицину - у 3 из 19 (15,8%) больных, к ванкомицину - у 4 (21,1%) больных. Устойчивость *Streptococcus oralis* к тетрациклину наблюдалась в 28 (30,4%) из 92 случаев выявления данного микроорганизма.

Таким образом, молекулярно-генетическая детекция микроорганизмов, ассоциируемых с пародонтитом свидетельствует о том, что у больных пародонтитом изменения микробиоценоза в ротовой полости в известной степени сопряжены с состоянием функций различных органов и систем макроорганизма.

## ГЛАВА 5 РЕЗУЛЬТАТЫ КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ ПАРОДОНТИТОМ

Для того чтобы оценить клиническую эффективность проводимой терапии больные хроническим пародонтитом в зависимости от метода лечения были разделены на 2 группы (рис. 14).



Рисунок 14 - Алгоритм терапии больных пародонтитом.

Первую группу – основную, составили 86 человек, которым в комплексе медикоментозной антибактериальной терапии была проведена обработка зубодесневых карманов и поверхности корня в одно посещение ультразвуковым аппаратом «Vector» (Durr Dental, Германия). Во вторую группу вошли 84 пациента, которым ультразвуковая терапия не проводилась.

Группы больных были сопоставимы между собой по основным клиническим характеристикам. У всех пациентов изучали изменения состояния пародонта и видового состава микробиоты полости рта через 14 дней лечения.

### **5.1. Клиническая оценка эффективности лечения больных пародонтитом**

Для клинической оценки эффективности комплексной терапии пациентов с пародонтитом средней и тяжелой степеней проводили осмотр пациентов в сроки 14 дней после лечения, изучая жалобы пациентов и сравнивая данные объективного обследования в динамике.

Через 14 дней после лечения пациенты обеих групп отмечали хорошую переносимость проводимой терапии, серьезных побочных реакций не было. Лишь у одного пациента основной группы с тяжелой формой пародонтита и сопутствующей патологией желудочно-кишечного тракта к окончанию курса антибиотикотерапии появилась тошнота, которая прекратилась с завершением приема Линкомицина.

Все пациенты (100%) отмечали улучшение состояния пародонта: значительное снижение болезненности, отека и кровоточивости десен, исчезновение неприятного запаха изо рта, появление уверенности при накусывании. При осмотре через 14 дней после лечения слизистая оболочка бледно-розового цвета, плотно прилегала к зубу, поддесневые и наддесневые камни или зубные отложения отсутствовали, кровоточивости нет, зубы устойчивы, пародонтальные карманы уменьшены до трех миллиметров, экссудация из пародонтальных карманов не отмечалась.

К этому сроку у больных, как со средней, так и с тяжелой степенью заболевания произошло существенное снижение показателей, отражающих степень воспаления в тканях пародонта.

Значение индекса гигиены уменьшилось на 53,0% при пародонтите средней степени и на 31,5% при тяжелой форме заболевания,

PDI – соответственно, на 32,1% и на 29,9%; индекса кровоточивости – на 84,1% и 64,0%; CPITN – на 91,9% и 81,2%, соответственно (табл. 15).

Таблица 15 - Показатели индексной оценки состояния тканей пародонта у больных пародонтитом после лечения

Параметры	Степень пародонтита			
	средняя (n = 129)		тяжелая (n = 41)	
	исходно	ч/з 14 дней	исходно	ч/з 14 дней
Индекс гигиены Silness-Loe (усл. ед.)	1,64±0,41	0,77 ±0,23 <sup>a</sup>	1,84±0,36	1,26±0,27
PDI (%)	4,43±0,47	3,01±0,48 <sup>a</sup>	5,82±0,23	4,08±0,52 <sup>a</sup>
Индекс кровоточивости (усл. ед.)	2,26± 0,18	0,36±0,13 <sup>a</sup>	2,78±0,16	1,00±0,37 <sup>a</sup>
CPITN (усл. ед.)	2,84±0,47	0,23±0,12 <sup>a</sup>	3,83±0,37	0,72±0,24 <sup>a</sup>

Примечание: <sup>a</sup> – различие со значением до лечения достоверно ( $p < 0,05$ )

Результаты индексной оценки состояния тканей пародонта в зависимости от проводимого лечения показали, что в обеих группах больных было достигнуто значимое улучшение стоматологического статуса (табл. 16, рис 15). Наиболее выраженные позитивные изменения в состоянии гигиены полости рта и тканей пародонта были получены при проведении медикаментозной терапии в сочетании с обработкой зубодесневых карманов и поверхности корня аппаратом Vector. Так, в основной группе больных со средним и тяжелым течением пародонтита величины индекса гигиены, PDI и индекса кровоточивости были достоверно ниже, чем в группе сравнения с подобной тяжестью заболевания. При пародонтите средней степени различия в значениях указанных параметров составили 23,9%, 24,4% и 48,9%, соответственно ( $p < 0,05$ ); при тяжелой форме заболевания – 16,1%, 19,9% и 16,5%, соответственно ( $p < 0,05$ ).

Таблица 16 - Показатели индексной оценки состояния тканей пародонта у больных пародонтитом в зависимости от тактики лечения

Параметры	Основная группа		Группа сравнения	
	исходно	ч/з 14 дней	исходно	ч/з 14 дней
<b>Пародонтит средней степени тяжести</b>				
Количество больных	64		65	
Индекс гигиены Silness-Loe (усл. ед.)	1,68±0,41	0,67±0,08 <sup>a</sup> <sub>б</sub>	1,60±0,39	0,88±0,11 <sup>a</sup>
PDI (%)	4,51±0,38	2,60±0,24 <sup>a</sup> <sub>б</sub>	4,36±0,43	3,44±0,19 <sup>a</sup>
Индекс кровооточивости (усл. ед.)	2,23±0,14	0,24±0,06 <sup>a</sup> <sub>б</sub>	2,28±0,15	0,47±0,08 <sup>a</sup>
СРITN (усл. ед.)	2,86±0,47	0,18±0,04 <sup>a</sup>	2,81±0,37	0,28±0,06 <sup>a</sup>
<b>Тяжелая степень пародонтита</b>				
Количество больных	22		19	
Индекс гигиены Silness-Loe (усл. ед.)	1,79±0,30	1,15±0,08 <sup>a</sup> <sub>аб</sub>	1,88±0,32	1,37±0,10 <sup>a</sup>
PDI (%)	5,81±0,21	3,67±0,25 <sup>a</sup> <sub>б</sub>	5,84±0,22	4,58±0,27 <sup>a</sup>
Индекс кровооточивости (усл. ед.)	2,82±0,14	0,91±0,06 <sup>a</sup> <sub>б</sub>	2,74±0,15	1,09±0,06 <sup>a</sup>
СРITN (усл. ед.)	3,85±0,33	0,66±0,04 <sup>a</sup>	3,81±0,36	0,78±0,07 <sup>a</sup>

Примечание: <sup>a</sup> – различие со значением до лечения, <sup>б</sup> – со значением в группе сравнения достоверно (p < 0,05)

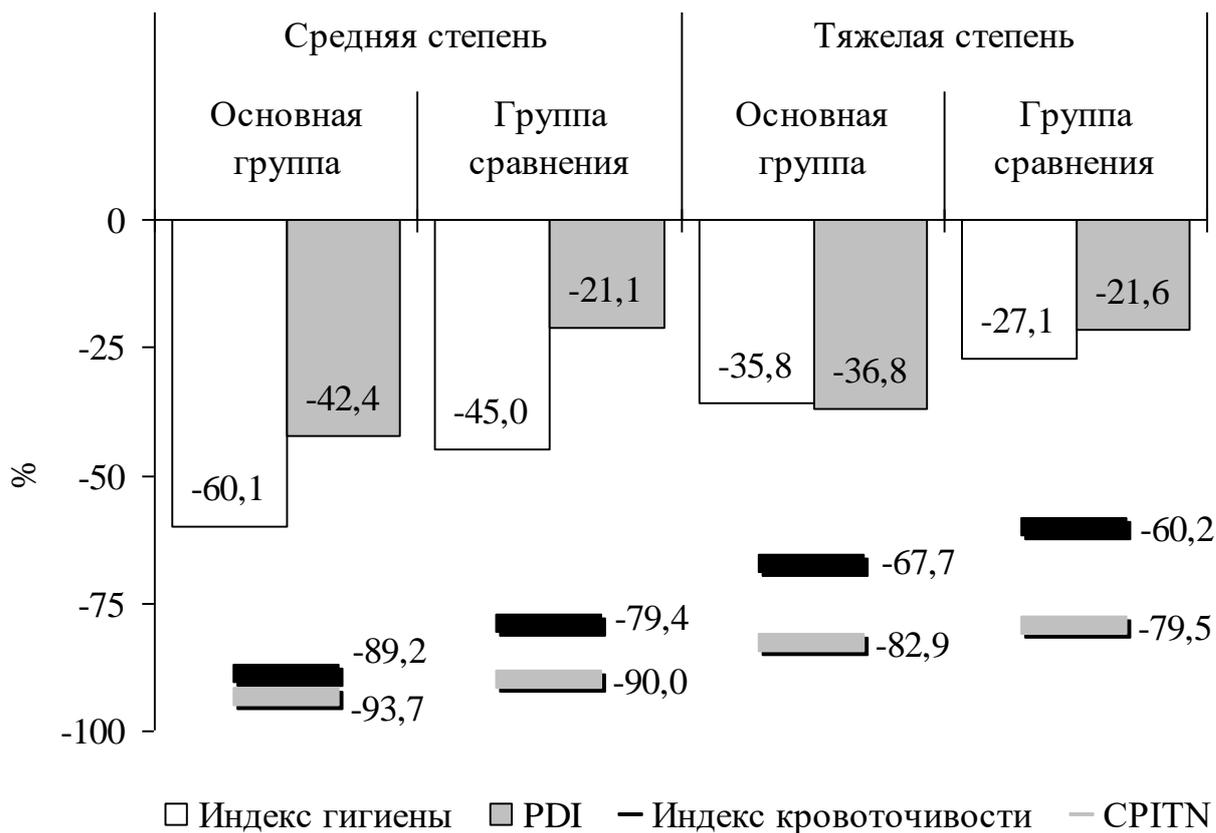


Рисунок 15 - Показатели изменения значений индексной оценки состояния тканей пародонта и у больных пародонтитом средней и тяжелой степеней по сравнению с показателями до лечения.

Важно отметить, что по субъективным ощущениям пациентов основной группы уже на 2-3-е сутки после проведения профессиональной гигиены аппаратом Vector у них купировался болевой симптом в деснах при приеме пищи и чистке зубов, снижалась кровоточивость десен при чистке зубов, что, несомненно, существенно улучшило качество жизни пациентов. Пациенты группы сравнения в указанные сроки подобные положительные сдвиги не отмечали.

После окончания курса лечения признаки воспаления отсутствовали у 48 (55,8%) пациентов основной группы, тогда как у остальных 38 (44,2%) пациентов наблюдались локальные признаки воспаления. Среди пациентов

группы сравнения признаки воспаления отсутствовали в 36 (42,9%) случаях, локальные признаки воспаления отмечались в 43 (51,2%) случаях. У 5 (6,0%) больных данной группы с тяжелой формой пародонтита были выявлены генерализованные признаки воспаления.

Таким образом, применение ультразвукового аппарата Vector в комплексной этиопатогенетической терапии пародонтита средней и тяжелой степеней способствует более выраженному улучшению гигиенического состояния полости рта и уменьшению воспалительных явлений в тканях пародонта, на что указывает существенно более низкие показатели индексной оценки состояния тканей пародонта.

## **5.2. Динамика изменения микрофлоры полости рта у больных пародонтитом в зависимости от проводимого лечения**

На фоне проводимого лечения у больных пародонтитом обеих групп отмечалось определенное уменьшение представленности всех изученных микроорганизмов. В основной группе обращает на себя внимание достоверное снижение частоты выявления в содержимом пародонтального кармана *Porphyromonas gingivalis* - на 18,6%, и *Treponema denticola* – на 15,1% (табл. 17).

Таблица 17 - Частота выделения условно-патогенных бактерий в содержимом пародонтального кармана у больных пародонтитом основной группы (n = 86)

Виды бактерий	Исходно		ч/з 14 дней	
	абс	%	абс	%
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	21	24,4	5 <sup>a</sup>	5,8
	$\chi^2 = 11,6, p = 0,001$			
<i>Treponema denticola</i>	18	20,9	5 <sup>a</sup>	5,8
	$\chi^2 = 8,48, p = 0,005$			
<i>Streptococcus mutans</i>	58	67,4	41 <sup>a</sup>	47,7
	$\chi^2 = 6,78, p = 0,017$			
<i>Streptococcus salivarius</i>	9	10,5	5	5,8
	$\chi^2 = 1,24, p = 0,373$			
<i>Streptococcus sanguis</i>	53	61,6	35 <sup>a</sup>	40,7
	$\chi^2 = 8,03, p = 0,011$			
<i>Streptococcus oralis</i>	48	55,8	28 <sup>a</sup>	32,6
	$\chi^2 = 9,43, p = 0,002$			
<i>Streptococcus macacae</i>	10	11,6	6	7,0
	$\chi^2 = 1,10, p = 0,436$			
<i>Streptococcus sobrinus</i>	47	54,7	24 <sup>a</sup>	27,9
	$\chi^2 = 12,68, p = 0,001$			

Примечание: <sup>a</sup> – различие со значением до лечения достоверно ( $p < 0,05$ )

Среди включенных в исследование представителей рода *Streptococcus* значимо ниже показателей до лечения была распространенность *Streptococcus mutans* – на 19,7%, *Streptococcus sanguis* – на 20,9%, *Streptococcus oralis* - на 23,2%, *Streptococcus sobrinus* - на 26,8%. Встречаемость *Streptococcus salivarius* и *Streptococcus macacae* в содержимом пародонтального кармана изменилась несущественно. Следует отметить, что исходно частота их

выявления у больных пародонтитом была невысокой – около 11%, и не отличалась от показателей у здоровых лиц.

Среднее количество патогенных и условно-патогенных бактерий в содержимом пародонтального кармана у данного контингента больных уменьшилось на 43,6% (с 3,07 исходно до 1,73 после лечения).

По результатам наших исследований (табл. 18), у больных пародонтитом после антибиотикотерапии в сочетании с ультразвуковой обработкой зубодесневых карманов и поверхности корня аппаратом «Vector» микробиологический статус ротовой жидкости характеризовался достоверно более низкой, чем до лечения, распространенностью *Porphyromonas gingivalis* – на 13,9%, *Treponema denticola* – на 9,3%, *Streptococcus mutans* – на 22,1%, *Streptococcus sanguis* – на 23,2%, *Streptococcus oralis* и *Streptococcus sobrinus* – на 18,6%. Представленность *Streptococcus macacae* уменьшилась на 9,3%, однако эти различия были статистически незначимыми. При этом среднее количество условно-патогенных бактерий в ротовой жидкости у пациентов основной группы уменьшилось на 43,2% (с 2,72 исходно до 1,55 после лечения).

Таблица 18 - Частота выделения условно-патогенных бактерий в ротовой жидкости у больных пародонтитом основной группы

Виды бактерий	Исходно		ч/з 14 дней	
	абс	%	абс	%
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	16	18,6	4 <sup>a</sup>	4,7
	$\chi^2 = 8,15, p = 0,012$			
<i>Treponema denticola</i>	10	11,6	2 <sup>a</sup>	2,3
	$\chi^2 = 5,73, p = 0,036$			
<i>Streptococcus mutans</i>	59	68,6	40 <sup>a</sup>	46,5
	$\chi^2 = 8,59, p = 0,005$			
<i>Streptococcus salivarius</i>	5	5,8	3	3,5
	$\chi^2 = 0,52, p = 0,722$			
<i>Streptococcus sanguis</i>	50	58,1	30 <sup>a</sup>	34,9
	$\chi^2 = 9,35, p = 0,004$			
<i>Streptococcus oralis</i>	44	51,2	28 <sup>a</sup>	32,6
	$\chi^2 = 6,12, p = 0,023$			
<i>Streptococcus macacae</i>	13	15,1	5	5,8
	$\chi^2 = 3,97, p = 0,083$			
<i>Streptococcus sobrinus</i>	37	43,0	21 <sup>a</sup>	24,4
	$\chi^2 = 6,66, p = 0,011$			

Примечание: <sup>a</sup> – различие со значением до лечения достоверно ( $p < 0,05$ )

У больных группы сравнения, наблюдалось существенное снижение частоты выделения в содержимом пародонтального кармана *Porphyromonas gingivalis* – на 13,1%, *Treponema denticola* – на 11,9%, *Streptococcus mutans* – на 16,6%, и *Streptococcus sanguis* – на 16,6% (табл. 19). Изменения в содержании остальных микроорганизмов были незначительны.

Таблица 19 - Частота выделения условно-патогенных бактерий в содержимом пародонтального кармана у больных пародонтитом группы сравнения (n = 84)

Виды бактерий	Исходно		ч/з 14 дней	
	абс	%	абс	%
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	20	23,8	9 <sup>a</sup>	10,7
	$\chi^2 = 5,04, p = 0,040$			
<i>Treponema denticola</i>	14	16,7	4 <sup>a</sup>	4,8
	$\chi^2 = 6,22, p = 0,023$			
<i>Streptococcus mutans</i>	60	71,4	46 <sup>a</sup>	54,8
	$\chi^2 = 5,01, p = 0,033$			
<i>Streptococcus salivarius</i>	10	11,9	5	6,0
	$\chi^2 = 1,83, p = 0,277$			
<i>Streptococcus sanguis</i>	45	53,6	31 <sup>a</sup>	36,9
	$\chi^2 = 4,71, p = 0,036$			
<i>Streptococcus oralis</i>	44	52,4	36 <sup>a</sup>	42,9
	$\chi^2 = 1,53, p = 0,279$			
<i>Streptococcus macacae</i>	9	10,7	6	7,1
	$\chi^2 = 0,66, p = 0,626$			
<i>Streptococcus sobrinus</i>	40	47,6	31	36,9
	$\chi^2 = 1,98, p = 0,241$			

Примечание: <sup>a</sup> – различие со значением до лечения достоверно ( $p < 0,05$ )

Среднее количество патогенных и условно-патогенных бактерий в содержимом пародонтального кармана у данного контингента больных снизилось на 30,6% (с 2,88 исходно до 2,00 после лечения).

При сопоставлении степени изменения частоты выделения микроорганизмов в содержимом пародонтального кармана у больных пародонтитом в зависимости от тактики лечения получены следующие результаты (рис. 16).

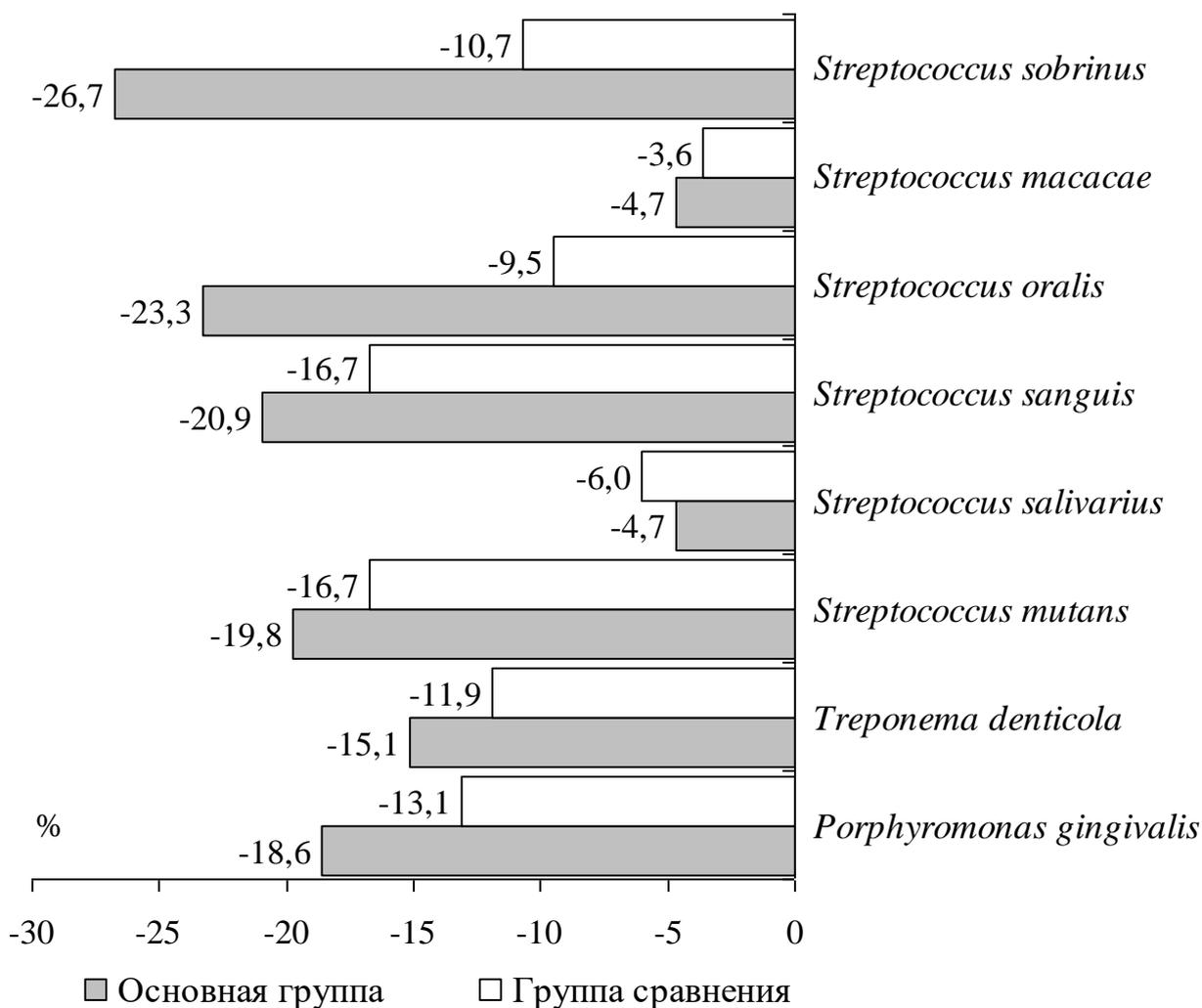


Рисунок 16 - Степень изменения частоты выделения микроорганизмов в содержимом пародонтального кармана у больных пародонтитом по сравнению с показателями до лечения.

Так, если в основной группе представленность *Streptococcus oralis* и *Streptococcus sobrinus* достоверно уменьшилась по сравнению с уровнями до лечения, то в группе сравнения изменения частоты выявления указанных бактерий были незначительными. При этом включение в комплексную терапию пародонтита лечения аппаратом «Vector» способствовало более высокому показателю снижения распространенности *Streptococcus oralis* и *Streptococcus sobrinus* в содержимом пародонтального кармана – соответственно, на 10,3% и на 9,0%. После проведенного лечения среднее

количество выявленных микроорганизмов в основной группе больных было на 15,4% ниже, чем у пациентов группы сравнения.

Анализ микробиологического статуса ротовой жидкости у пациентов группы сравнения, показал статистически значимое снижение представленности *Streptococcus mutans* и *Streptococcus sobrinus* – на 17,8% (табл. 20). Среднее количество бактерий в ротовой жидкости у данного контингента больных уменьшилось на 29,9% (с 2,55 исходно до 1,79 после лечения).

Таблица 20 - Частота выделения условно-патогенных бактерий в ротовой жидкости у больных пародонтитом группы сравнения

Виды бактерий	Исходно		ч/з 10 дней	
	абс	%	абс	%
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	13	15,5	7	8,3
	$\chi^2 = 2,04, p = 0,227$			
<i>Treponema denticola</i>	7	8,3	2	2,4
	$\chi^2 = 2,94, p = 0,189$			
<i>Streptococcus mutans</i>	55	65,5	40 <sup>a</sup>	47,6
	$\chi^2 = 5,45, p = 0,037$			
<i>Streptococcus salivarius</i>	4	4,8	1	1,2
	$\chi^2 = 1,86, p = 0,338$			
<i>Streptococcus sanguis</i>	43	51,2	36	42,9
	$\chi^2 = 1,17, p = 0,334$			
<i>Streptococcus oralis</i>	42	50,0	33	39,3
	$\chi^2 = 1,95, p = 0,208$			
<i>Streptococcus macacae</i>	11	13,1	7	8,3
	$\chi^2 = 0,99, p = 0,437$			
<i>Streptococcus sobrinus</i>	39	46,4	24 <sup>a</sup>	28,6
	$\chi^2 = 5,71, p = 0,022$			

Примечание: <sup>a</sup> – различие со значением до лечения достоверно ( $p < 0,05$ )

Частота выделения микроорганизмов в ротовой жидкости у больных пародонтитом не зависела существенно от тактики лечения (рис. 17). В то же время в основной группе больных среднее количество выявленных после лечения микроорганизмов было на 13,4% ниже, чем у пациентов второй группы.

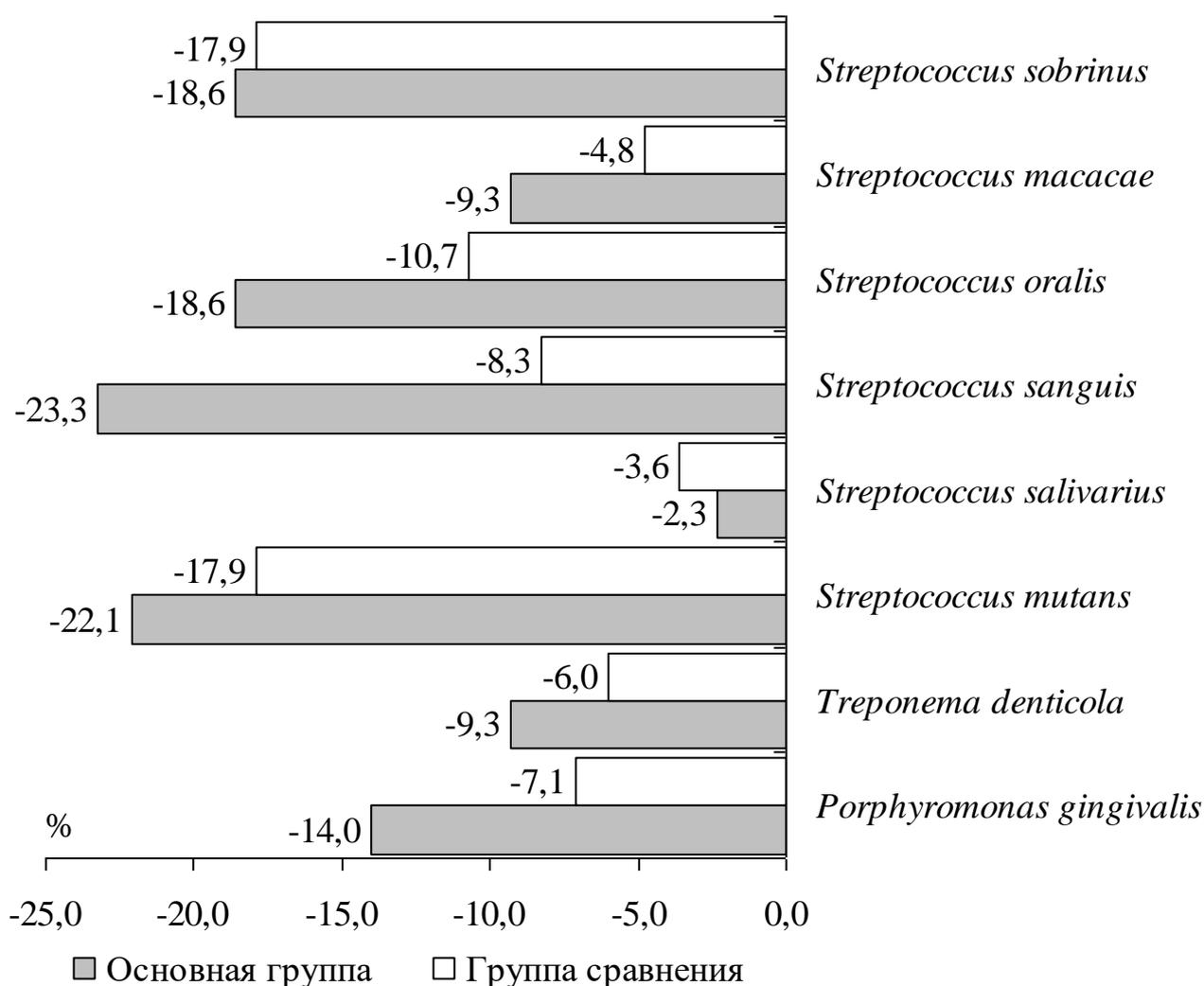


Рисунок 17 - Степень изменения частоты выделения микроорганизмов в ротовой жидкости у больных пародонтитом по сравнению с показателями до лечения.

При изучении динамики изменения микробиоты в содержимом пародонтального кармана в зависимости от тяжести пародонтита в обеих

группах больных установлено значимое снижение представленности большинства микроорганизмов (табл. 21).

Таблица 21 - Частота выделения бактерий в содержимом пародонтального кармана у больных пародонтитом средней и тяжелой степеней в зависимости от тактики лечения

Параметры	Основная группа		Группа сравнения	
	исходно	ч/з 14 дней	исходно	ч/з 14 дней
<b>Пародонтит средней степени тяжести</b>				
Количество больных	64		65	
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	14 (21,9%)	4(6,3%) <sup>a</sup>	12 (18,5%)	6 (9,2%)
<i>Treponema denticola</i>	10 (15,6%)	2 (3,1%) <sup>a</sup>	9 (13,8%)	2 (3,1%) <sup>a</sup>
<i>Streptococcus mutans</i>	47 (73,4%)	34 (53,1%) <sup>a</sup>	49 (75,4%)	37 (56,9%) <sup>a</sup>
<i>Streptococcus salivarius</i>	4 (6,3%)	3 (4,7%)	4 (6,2%)	1 (1,5%)
<i>Streptococcus sanguis</i>	44 (68,8%)	29 (45,3%) <sup>a</sup>	38 (58,5%)	25 (38,5%) <sup>a</sup>
<i>Streptococcus oralis</i>	39 (60,9%)	21 (32,8%) <sup>a</sup>	38 (58,5%)	31 (47,7%)
<i>Streptococcus macacae</i>	3 (4,7%)	2 (3,1%)	5 (7,7%)	3 (4,6%)
<i>Streptococcus sobrinus</i>	38 (59,4%)	18 (28,1%) <sup>a</sup>	33 (50,8%)	26 (40,0%)
<b>Тяжелая степень пародонтита</b>				
Количество больных	22		19	
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	7 (31,8%)	1 (4,5%) <sup>a</sup>	8 (42,1%)	3 (15,8%) <sup>a</sup>
<i>Treponema denticola</i>	8 (36,4%)	3 (13,6%) <sup>a</sup>	5 (26,3%)	2 (10,5%)
<i>Streptococcus mutans</i>	11 (50,0%)	7 (31,8%)	11 (57,9%)	9 (47,4%)
<i>Streptococcus salivarius</i>	5 (22,7%)	2 (9,1%)	6 (31,6%)	4 (21,1%)
<i>Streptococcus sanguis</i>	9 (40,9%)	6 (27,3%)	7 (36,8%)	6 (31,6%)
<i>Streptococcus oralis</i>	9 (40,9%)	7 (32,8%)	6 (31,6%)	5 (26,3%)
<i>Streptococcus macacae</i>	7 (31,8%)	4 (18,2%)	4 (21,1%)	3 (15,8%)
<i>Streptococcus sobrinus</i>	9 (40,9%)	6 (27,3%)	7 (36,8%)	5 (26,3%)

Примечание: <sup>a</sup> – различие со значением до лечения достоверно ( $p < 0,05$ )

Так, у пациентов основной группы со средней степенью пародонтита распространенность *Porphyromonas gingivalis* была ниже показателей до лечения на 15,6% ( $\chi^2 = 6,46$ ,  $p = 0,018$ ), а *Treponema denticola* – на 12,5% ( $\chi^2 = 5,89$ ,  $p = 0,006$ ). Среди представителей рода *Streptococcus* наиболее выраженные изменения обнаружены для *Streptococcus oralis* – снижение на 28,1% ( $\chi^2 = 10,16$ ,  $p = 0,003$ ), *Streptococcus sobrinus* – на 31,3% ( $\chi^2 = 12,70$ ,  $p = 0,001$ ), *Streptococcus sanguis* – на 23,5% ( $\chi^2 = 7,17$ ,  $p = 0,013$ ) и *Streptococcus mutans* – на 20,3% ( $\chi^2 = 5,68$ ,  $p = 0,035$ ). Частота выделения *Streptococcus salivarius* и *Streptococcus macacae* осталась практически без изменений, однако следует отметить, что их встречаемость до лечения среди данного контингента больных была низкой и не превышала 6,3%. Среднее количество выявленных после лечения микроорганизмов уменьшилось на 43,2% - с 2,31 до 1,31.

У пациентов основной группы с тяжелой формой заболевания в содержимом пародонтального кармана достоверные различия с показателями до лечения выявлены для *Porphyromonas gingivalis* и *Treponema denticola* – ниже, соответственно, на 27,3% ( $\chi^2 = 5,50$ ,  $p = 0,039$ ) и на 22,8% ( $\chi^2 = 5,26$ ,  $p = 0,042$ ). Необходимо отметить заметное снижение представленности в содержимом пародонтального кармана *Streptococcus mutans* (на 18,2%), однако эти различия были статистически незначимы и носили характер тенденции. У пациентов основной группы с тяжелым течением заболевания среднее количество выявленных бактерий уменьшилось на 44,6% - с 2,95 до лечения и до 1,64 после лечения.

Для пациентов группы сравнения со средней степенью пародонтита в содержимом пародонтального кармана установлено существенное снижение представленности бактерий *Treponema denticola* – на 10,7% ( $\chi^2 = 4,87$ ,  $p = 0,040$ ), *Streptococcus mutans* – на 18,5% ( $\chi^2 = 4,95$ ,  $p = 0,038$ ) и *Streptococcus sanguis* – на 20,0% ( $\chi^2 = 5,20$ ,  $p = 0,035$ ). После лечения среднее

количество выявленных у больного микроорганизмов уменьшилось на 30,3% - с 2,24 до 1,56.

У пациентов группы сравнения с тяжелой формой заболевания пародонтита обращает на себя внимание уменьшение встречаемости *Porphyromonas gingivalis* (на 26,3%,  $\chi^2 = 6,39$ ,  $p = 0,038$ ), тогда как представленность остальных исследованных микроорганизмов изменилась незначительно. Среднее количество выявленных бактерий уменьшилось по сравнению со значением до лечения на 31,5% - с 2,84 до 1,95.

Детекция микроорганизмов в содержимом пародонтального кармана после лечения показала статистически значимые различия в распространенности *Streptococcus oralis* и *Streptococcus sobrinus* у пациентов исследованных групп со средней степенью пародонтита. Так, если после комбинированной Vector- и антибактериальной терапии *Streptococcus oralis* отсутствовал у 18 (46,2%) из 39 больных, у которых исходно данный микроорганизм был выявлен, то после антибиотикотерапии – у 7 (18,4%) из 38 больных, т.е. на 27,8% ( $\chi^2 = 6,75$ ,  $p = 0,009$ ). Для *Streptococcus sobrinus* положительный эффект проводимого лечения отмечался у 52,6% (20 из 38) пациентов основной группы с пародонтитом средней степени и у 21,2% (7 из 33) пациентов данного профиля группы сравнения, что на 31,4% реже ( $\chi^2 = 7,39$ ,  $p = 0,004$ ). Выявленные закономерности нашли свое отражение в заметном увеличении среднего количества микроорганизмов на человека в группе сравнения с указанной тяжестью заболевания – на 15,7%.

Применение ультразвуковой Vector-терапии в лечении тяжелой формы пародонтита привело к значимому понижению представленности *Porphyromonas gingivalis* и *Treponema denticola* в содержимом пародонтального кармана, тогда как после антибиотикотерапии изменения в частоте встречаемости *Treponema denticola* были незначительными. Следует отметить более высокие показатели среднего количества микроорганизмов на человека в группе сравнения – 1,95 против 1,64, т.е. выше на 15,9%.

Динамика изменения частоты выделения условно-патогенных бактерий в ротовой жидкости у больных пародонтитом на фоне проводимого лечения представлена в табл. 22. У больных основной группы со средней тяжестью пародонтита микробиологический статус ротовой жидкости характеризовался существенным снижением представленности *Porphyromonas gingivalis* – на 12,5% ( $\chi^2 = 5,13$ ,  $p=0,044$ ), *Streptococcus mutans* – на 23,5% ( $\chi^2 = 7,33$ ,  $p = 0,006$ ), а также *Streptococcus sanguis* – на 26,6% ( $\chi^2 = 9,03$ ,  $p = 0,008$ ), *Streptococcus oralis* – на 21,9% ( $\chi^2 = 6,15$ ,  $p = 0,030$ ) и *Streptococcus sobrinus* – на 20,4% ( $\chi^2 = 6,92$ ,  $p = 0,022$ ). Следует также отметить отсутствие случаев выявления *Treponema denticola*, тогда как до лечения данный микроорганизм определялся у 4 пациентов. Среднее количество выявленных после лечения микроорганизмов уменьшилось на 43,8% - с 2,78 до 1,56.

Включение Vector-терапии в лечение тяжелой формы пародонтита способствовало снижению представленности в ротовой жидкости большинства изученных бактерий (табл. 22). Так, распространенность *Treponema denticola* и *Streptococcus mutans* уменьшилась на 19,2%, *Porphyromonas gingivalis* – на 18,2%, *Streptococcus sanguis* – на 13,6%, *Streptococcus oralis* и *Streptococcus macacae*– на 9,1%. Среднее количество условно-патогенных бактерий в ротовой жидкости снизилось с 2,55 до 1,50, т.е. на 41,1%.

По результатам наших исследований (табл. 22), в ротовой жидкости пациентов группы сравнения с более легким течением пародонтита выявлено падение среднего количества бактерий на 29,8% - с 2,58 до лечения до 1,82 после лечения, что обусловлено, в первую очередь, достоверным понижением частоты выделения *Streptococcus mutans* – на 20,0% ( $\chi^2 = 5,38$ ,  $p = 0,039$ ) и *Streptococcus sobrinus* – на 18,4% ( $\chi^2 = 4,76$ ,  $p = 0,036$ ).

Таблица 22 - Частота выделения бактерий в ротовой жидкости у больных пародонтитом средней и тяжелой степеней в зависимости от тактики лечения

Параметры	Основная группа		Группа сравнения	
	исходно	ч/з 14 дней	исходно	ч/з 14 дней
<b>Пародонтит средней степени тяжести</b>				
Количество больных	64		65	
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	11 (17,2%)	3 (4,7%) <sup>a</sup>	10 (18,5%)	5 (7,7%)
<i>Treponema denticola</i>	4 (6,3%)	0 (0,0%)	2 (3,1%)	0 (0,0%)
<i>Streptococcus mutans</i>	46 (71,9%)	31 (48,4%) <sup>a</sup>	45 (69,2%)	32 (49,2%) <sup>a</sup>
<i>Streptococcus salivarius</i>	2 (3,1%)	1 (1,6%)	2 (3,1%)	0 (0,0%)
<i>Streptococcus sanguis</i>	41 (64,1%)	24 (37,5%) <sup>a</sup>	36 (55,4%)	30 (46,2%)
<i>Streptococcus oralis</i>	37 (57,8%)	23 (35,9%) <sup>a</sup>	35 (53,8%)	28 (43,1%)
<i>Streptococcus macacae</i>	9 (14,1%)	3 (4,7%)	8 (12,3%)	5 (7,7%)
<i>Streptococcus sobrinus</i>	28 (43,8%)	15 (23,4%) <sup>a</sup>	30 (46,2%)	18 (27,7%) <sup>a</sup>
<b>Тяжелая степень пародонтита</b>				
Количество больных	22		19	
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	5 (22,7%)	1 (4,5%)	3 (15,8%)	2 (10,5%)
<i>Treponema denticola</i>	6 (27,3%)	2 (9,1%)	6 (31,6%)	2 (10,5%)
<i>Streptococcus mutans</i>	13 (59,1%)	9 (40,9%)	10 (52,6%)	8 (42,1%)
<i>Streptococcus salivarius</i>	3 (13,6%)	2 (9,1%)	2 (10,5%)	1 (5,3%)
<i>Streptococcus sanguis</i>	9 (40,9%)	6 (27,3%)	7 (36,8%)	6 (31,6%)
<i>Streptococcus oralis</i>	7 (31,8%)	5 (22,7%)	7 (36,8%)	5 (26,3%)
<i>Streptococcus macacae</i>	4 (18,2%)	2 (9,1%)	3 (15,8%)	2 (10,5%)
<i>Streptococcus sobrinus</i>	9 (40,9%)	6 (27,3%)	9 (47,4%)	6 (31,6%)

Примечание: <sup>a</sup> – различие со значением до лечения достоверно ( $p < 0,05$ )

У больных данной группы с тяжелой формой заболевания микробиологический статус ротовой жидкости характеризовался более низкой, чем до лечения, распространенностью *Treponema denticola* - на 21,1%, а также *Streptococcus sobrinus* – на 15,8%, *Streptococcus mutans* и *Streptococcus oralis* – на 10,5%. Среднее количество патогенных и условно-патогенных бактерий в слюне уменьшилось с 2,42 до 1,68, т.е. на 30,4%.

Сравнительный анализ состава микробиоты ротовой жидкости в зависимости от способа лечения показал существенные различия у пациентов исследованных групп. Так, если в основной группе больных с пародонтитом средней степени после лечения отмечалось достоверное снижение представленности *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus sanguis* и *Streptococcus oralis*, то у больных группы сравнения с подобной тяжестью заболевания эти различия были статистически незначимыми. Обращают на себя внимание более низкие показатели среднего количества микроорганизмов на человека в основной группе пациентов со средней и тяжелой степенью пародонтита – на 16,7% и на 12,0%, соответственно.

Таким образом, проведение молекулярно-генетических исследований у больных пародонтитом позволяет оценить бактериостатический эффект проводимого лечения. Исследование ДНК микроорганизмов, колонизирующих экосистему при пародонтите (*Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus macacae*, *Streptococcus sobrinus*), показало, что у больных хроническим пародонтитом включение в состав базовой антибактериальной терапии заболевания ультразвуковой обработки зубодесневых карманов и поверхности корня с помощью аппарата Vector оказывает более значимое положительное влияние на состояние микробиоценоза в ротовой полости по сравнению с эффектами базовой антибиотикотерапии.

### **5.3. Количественный анализ микробиоты пародонтальных карманов и ротовой жидкости методом ПЦР в режиме реального времени**

#### **5.3.1. Определение объема жидкости, впитываемого бумажным эндодонтическим штифтом**

Забор содержимого пародонтальных карманов с помощью стерильных бумажных эндодонтических штифтов (размер №25) является наиболее оптимальным способом взятия материала для молекулярно-генетического исследования у больных пародонтитом ввиду отличной абсорбирующей способности штифтов, возможности забора клинического материала определенного объема и исключения травматизации тканей пародонта.

Количественную оценку впитывающей способности стерильного эндодонтического штифта проводили путем измерения сорбции дистиллированной воды, 0,9% водного раствора хлорида натрия (NaCl) и ротовой жидкости при трех различных экспозициях: 5 сек., 10 сек. и 15 сек, соответственно в трех группах (1-я, 2-я, 3-я). Для этого при использовании стеклянного градуированного капилляра (до 100 мкл) и секундомера измеряли объем воды, поглощаемой штифтом, погруженным в воду на 5, 10 или 15 секунд. Бумажный штифт помещался на сухое плоское основание испытываемой стороной к капилляру, содержащему 100 мкл дистиллированной воды, который затем устанавливали нижним концом на испытываемый конец штифта, плотно прижав, для исключения просачивания жидкости. Эксперимент повторяли в трех сериях и в 20 повторах – для каждой экспозиции в отдельности. По истечении времени экспозиции определяли объем поглощенной жидкости по уменьшению объема воды в капилляре.

Средний объем впитываемой штифтом дистиллированной воды ( $1,045 \pm 0,171$  мкл), 0,9% водного раствора NaCl ( $1,065 \pm 0,162$  мкл), ротовой жидкости ( $1,05 \pm 0,175$  мкл) оказался практически одинаковым (табл.23).

Таблица 23 - Объем жидкости (мкл.), впитываемый эндодонтическим бумажным штифтом (размер №25) в зависимости от экспозиции (сек.)

Тип жидкости	Время экспозиции (сек)	Средний объем жидкости (мкл)
Дистиллированная вода		
1-я группа (n = 20)	5	0,50 ± 0,11
2-я группа (n = 20)	10	1,045 ± 0,171 <sup>а, б</sup>
3-я группа (n = 20)	15	1,145 ± 0,089
0,9% водный NaCl		
1-я группа (n = 20)	5	0,495 ± 0,116
2-я группа (n = 20)	10	1,065 ± 0,162 <sup>а, б</sup>
3-я группа (n = 20)	15	1,165 ± 0,085
Ротовая жидкость		
1-я группа (n = 20)	5	0,52 ± 0,132
2-я группа (n = 20)	10	1,05 ± 0,175 <sup>а, б</sup>
3-я группа (n = 20)	15	1,175 ± 0,088

Примечание: <sup>а</sup> – различие со значением в первой группе достоверно (p<0,01); <sup>б</sup> – различие со значением в третьей группе достоверно (p<0,01).

Полученные при разной экспозиции объемы свидетельствуют, что за 10 секунд штифт впитывает 1 мкл жидкого содержимого пародонтального кармана. Данного объема клинического материала достаточно для проведения ПЦР-анализа.

### **5.3.2. Количественная оценка содержания пародонтопатогенных микроорганизмов в клинических образцах**

У больных обеих групп со средней степенью пародонтита нами было проведено исследование количественного содержания бактерий в выравненных по объему клинических образцах содержимого пародонтальных карманов и ротовой жидкости методом ПЦР в режиме реального времени.

Количественная оценка содержания пародонтопатогенных микроорганизмов в группах больных пародонтитом с разными схемами лечения позволила установить связь между нарушением баланса пародонтопатогенной и условно-патогенной микрофлоры полости рта и прогрессированием инфекционно-воспалительных процессов в тканях пародонта.

Комплексное применение антибиотикотерапии и ультразвукового лечения аппаратом «Vector» у больных пародонтитом средней степени тяжести позволило не только существенно снизить общую бактериальную нагрузку на ткани пародонта, но и значительно уменьшить частоту выявления и количественное содержание в составе пародонтальных карманов и ротовой жидкости всех исследованных пародонтопатогенов (табл. 24).

Таблица 24 - Абсолютное количество условно-патогенных бактерий в содержимом пародонтальных карманов и ротовой жидкости у больных пародонтитом средней степеней основной группы (n = 64)

Бактерии	Содержимое пародонтальных карманов		Ротовая жидкость	
	исходно	ч/з 14 дней	исходно	ч/з 14 дней
	Me (P <sub>0,05</sub> ; P <sub>0,95</sub> ), Lg ГЭ/образец			
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	9,02 (4,23; 15,02)	4,76 (2,14; 7,47) <sup>a</sup>	9,03 (7,45; 14,63)	4,0 (2,31; 7,04) <sup>a</sup>
<i>Treponema denticola</i>	10,4 (5,47; 14,29)	4,68 (3,04; 8,14) <sup>a</sup>	10,62 (5,13; 15,21)	4,92 (2,65; 8,01)
<i>Streptococcus oralis</i>	13,15 (8,1; 16,48)	7,99 (5,47; 9,64) <sup>a</sup>	13,38 (7,45; 15,68)	7,23 (3,54; 8,67) <sup>a</sup>
<i>Streptococcus sanguis</i>	14,92 (8,64; 17,01)	6,46 (3,78; 8,48) <sup>a</sup>	14,15 (8,09; 15,64)	6,63 (4,15; 8,57) <sup>a</sup>
<i>Streptococcus sobrinus</i>	13,92 (7,12; 17,14)	5,45 (2,31; 7,08) <sup>a</sup>	13,18 (7,35; 16,45)	5,64 (3,56; 8,45)

Примечание: Me – медиана, P<sub>0,05</sub>; P<sub>0,95</sub> - интерквартильный размах (5-95-й процентиля), <sup>a</sup> – достоверность различий показателей в процессе лечения (p < 0,001)

Так, у пациентов основной группы обнаружено достоверное уменьшение абсолютного количества всех исследованных микроорганизмов в содержимом пародонтальных карманов, а также *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus oralis* и *Streptococcus sanguis* в ротовой жидкости.

В группе сравнения - у больных, проходивших курс системной антибиотикотерапии, наблюдалось статистически значимое снижение концентрации пародонтопатогенов *Porphyromonas gingivalis* в содержимом пародонтальных карманов (медиана – 10<sup>3,36</sup> ГЭ/образец) и в ротовой жидкости

( $10^{4,36}$  ГЭ/образец), а также *Treponema denticola* ( $10^{4,71}$  ГЭ/образец) в содержимом пародонтальных карманов (табл. 25).

Таблица 25 - Абсолютное количество условно-патогенных бактерий в содержимом пародонтальных карманов и ротовой жидкости у больных пародонтитом средней степени группы сравнения (n = 65)

Бактерии	Содержимое пародонтальных карманов		Ротовая жидкость	
	исходно	ч/з 14 дней	исходно	ч/з 14 дней
	Me (P <sub>0,05</sub> ; P <sub>0,95</sub> ), Lg ГЭ/образец			
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	7,13 (4,05; 10,27)	3,36 (4,08; 8,46) <sup>a</sup>	9,05 (4,92; 14,3)	4,36 (2,54; 6,78) <sup>a</sup>
<i>Treponema denticola</i>	6,48 (3,11; 12,3)	4,71 (2,01; 8,16) <sup>a</sup>	9,26 (3,14; 13,47)	5,73 (3,47; 7,89)
<i>Streptococcus oralis</i>	9,84 (2,82; 12,13)	7,91 (2,56; 10,32)	9,81 (5,1; 14,01)	7,89 (4,12; 11,04)
<i>Streptococcus sanguis</i>	9,43 (3,57; 14,8)	7,11 (3,11; 8,67)	9,51 (4,72; 11,23)	7,03 (3,14; 10,3)
<i>Streptococcus sobrinus</i>	11,14 (4,18; 14,7)	7,53 (3,03; 9,52)	11,28 (4,67; 15,3)	7,41 (3,47; 10,27)

Примечание: Me – медиана, P<sub>0,05</sub>; P<sub>0,95</sub> - интерквартильный размах (5-95-й процентиля), <sup>a</sup> – достоверность различий показателей в процессе лечения (p < 0,001)

По окончании терапии отмечалось сокращение сроков купирования воспалительных процессов в десне и достижение стабильной ремиссии. Следовательно, терапевтическое воздействие ультразвуком при помощи прибора «Vector» на поверхности корня и зубодесневых карманов в сочетании с

антибиотикотерапией приводит к эрадикации или к достоверному снижению абсолютного количества пародонтопатогенных микроорганизмов.

Таким образом, нами проведена работа по стандартизации выявления и количественного определения пародонтопатогенных микроорганизмов в клиническом материале (содержимое пародонтального кармана, ротовая жидкость) методом ПЦР в режиме реального времени. Для оптимизации условий проведения анализа разработан способ получения клинических образцов известного объема, а также сконструирован калибровочный образец для получения достоверных результатов при диагностике пародонтита. В дальнейшем данный способ позволит проводить диагностику заболевания на ранних стадиях, а также оценивать в динамике развитие инфекционного процесса в тканях пародонта.

## Заключение

Современный уровень научных знаний об этиопатогенезе пародонтита определяет пародонтальную микрофлору в качестве доминирующего фактора, поскольку особенности метаболизма и патогенность составляющих её микроорганизмов оказывают существенно влияние на течение воспалительного процесса (Атрушкевич В.Г., Школьная К.Д., 2015; Царев В.Н., Давыдова М.М., 2016; Aljehani Y.A., 2014; Genco R.J., Borgnakke W.S., 2013). Бактериальные ассоциации в пародонтальном кармане способствуют разрушению зубодесневого аппарата, резорбции альвеолярной кости и сенсибилизации макроорганизма (Дмитриева Л.А., 2014; Червинец В.М., 2015; Ebersole J.L. et al., 2013; Ram V.S. et al., 2015).

Вместе с тем, оценка роли бактерий в этиологии стоматологических заболеваний существенно сдерживается сложностью их выявления традиционными культуральными методами и невысокой информативностью серодиагностики. В этой связи представляется целесообразным использование молекулярно-генетических методов, не требующих выделения чистой культуры. Применение ПЦР в реальном времени позволяет точно анализировать состав микрофлоры в ротовой полости, выявляя ДНК искомым микроорганизмов, что помогает адекватному выбору этиотропной терапии и оценке ее эффективности.

Одной из основополагающих задач пародонтологического лечения является минимализация воспалительных реакций путем тщательного удаления микробной биоплёнки - основного источника инфекции (Вольф Г.Ф., Хэссел Т.М., 2014; Цепов Л.М. и др., 2015; Улитовский С.Б. и др., 2015). Однако в результате лечения часто развиваются такие осложнения, как посттравматическая воспалительная реакция, ретракция десны, оголение шеек зубов, несовершенная техника проведения дезэпителизации внутренней поверхности пародонтального кармана (Николаев А.И., Цепов Л.М., 2013; Graetz C. et al., 2017). В ряде исследований показана высокая клиническая эффективность ультразвуковой терапии в лечении пациентов с пародонтитом

(Лукиных Л.М., Круглова Н.В., 2011; Олейник О.И. и др., 2013; Латышева С.В., Брундукова О.Н., 2014; Paramashivaiah R., Prabhuji M.L., 2013; Ramich T. et al., 2015; Graetz C. et al., 2016). Вместе с тем, в литературе отсутствуют сведения о влиянии Vector-терапии на распространенность ассоциированных с пародонтитом микроорганизмов.

В связи с изложенным, выше нами было предпринято исследование, целью которого явилась разработка нового молекулярно-генетического способа эффективности комплексного лечения хронического пародонтита.

В основу работы положены результаты комплексного обследования 170 пациентов с пародонтитом со средней степенью (75,9%) и тяжелой степенью (24,1 %).

Контрольная группа была представлена 66 пациентами без патологии пародонта после санации полости рта.

Длительность заболевания колебалась от нескольких месяцев до 15 лет и составила в среднем  $7,2 \pm 3,18$  лет.

При обследовании больных применяли общепринятые клинические методы исследования: изучение анамнеза, определение общего статуса больного, исследование тканей пародонта. Для объективной оценки пародонтологического статуса были использованы индексы - гигиенический, PDI, пародонтальный, CPITN, индекс кровоточивости, подвижность зубов, глубина пародонтального кармана.

У всех пациентов с пародонтитом была проведена детекция *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus macacae*, которые в настоящее время рассматриваются в качестве одних из высокоинформативных «маркерных» микроорганизмов при пародонтите (Грудянов А.И., Овчинникова В.В., 2009; Царев В.Н., 2013; Николаева Е.Н., 2011; Zhang Y. et al., 2014; Scapoli L. et al., 2012; Wade W.G., 2013).

В качестве клинического материала использовали ротовую жидкость и содержимое пародонтального кармана. ДНК выделяли с использованием наборов «ДНК-экспресс» (НПФ «Литех», Россия). ПЦР-анализ в реальном времени проводили с помощью детектирующего амплификатора CFX-96 «REAL TIME» (Bio-Rad, США). Для оптимизации условий проведения ПЦР в реальном времени мы использовали разработанный нами способ получения клинических образцов известного объема (1 мкл).

Анализ клинических характеристик больных пародонтитом показал, что у 149 (87,4%) больных установлена общесоматическая патология. Пародонтит средней и тяжелой степени сочетался с заболеваниями желудочно-кишечного тракта в 61,2% случаев, сердечно-сосудистой системы - в 34,1% случаев, эндокринной системы - в 28,2% случаев.

По результатам наших исследований стоматологического статуса у больных пародонтитом установлено, что при данной патологии происходит значимое увеличение значений всех индексов оценки состояния тканей пародонта. Так, величина индекса гигиены Silness-Loe составила  $1,69 \pm 0,47$ , PDI -  $4,76 \pm 0,93$ , индекса кровоточивости -  $2,37 \pm 0,44$ , SPITN -  $3,08 \pm 0,76$ , пародонтального индекса -  $5,22 \pm 0,68$ . При этом у пациентов со средней степенью пародонтита показатели большинства указанных индексов были существенно ниже, чем при тяжелой форме заболевания - индекс PDI - на 23,9%, индекс кровоточивости - на 18,7%, SPITN - на 25,8%, пародонтального индекса - на 24,3%.

Степень деструкции кости альвеолярных отростков чаще всего определяется на основании глубины пародонтальных карманов, которая у пациентов с пародонтитом составила  $6,02 \pm 2,38$  мм. В группе больных тяжелой степенью пародонтита глубина пародонтальных карманов существенно - на 49,1%, превысила уровни у больных с менее тяжелым течением заболевания.

По результатам нашего исследования мы установили, что высокоинформативными «маркерными» микроорганизмами при пародонтите являются *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus mutans*,

*Streptococcus sanguis*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius* и *Streptococcus macacae*.

Для достижения поставленной цели исследования нами был произведен подбор олигонуклеотидных праймеров к специфическим консервативным последовательностям ДНК указанных пародонтопатогенных микробов – генам 16S рРНК, а также генам антибиотикоустойчивости, депонированных в международном банке нуклеотидных последовательностей GenBank ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)). Выравнивание сиквенированных последовательностей, подбор праймеров и оптимальных условий для ПЦР проводили при использовании компьютерных программ Megalain и PrimerSelect пакета программ DNASTar (Lasergene, США), предоставленных ФБУН «Институт биохимии и генетики» УНЦ РАН.

В результате наших исследований мы установили, что у больных пародонтитом микробиологический статус содержимого пародонтального кармана характеризовался существенно более высокой, чем в контрольной группе, распространенностью *Treponema denticola* (на 11,2%,  $\chi^2 = 4,55$ ,  $p = 0,047$ ), *Streptococcus mutans* (на 40,6%,  $\chi^2 = 32,2$ ,  $p = 0,0001$ ), *Streptococcus oralis* (на 31,4%,  $\chi^2 = 18,9$ ,  $p = 0,0001$ ) и *Streptococcus sobrinus* (на 39,1%,  $\chi^2 = 30,2$ ,  $p = 0,0001$ ), а также сообщества *Treponema denticola* и *Porphyromonas gingivalis* (на 7,9%,  $\chi^2 = 4,4$ ,  $p = 0,038$ ).

При анализе представителей микрофлоры в содержимом пародонтального кармана в зависимости от тяжести заболевания обнаружено, что при тяжелом пародонтите в сравнении с показателями при менее тяжелом течении заболевания значимо возрастает представленность *Porphyromonas gingivalis* (на 16,4%,  $\chi^2 = 4,58$ ,  $p = 0,043$ ), *Treponema denticola* (на 17,0%,  $\chi^2 = 6,87$ ,  $p = 0,012$ ), *Streptococcus salivarius* (на 20,6%,  $\chi^2 = 9,14$ ,  $p = 0,008$ ) и *Streptococcus macacae* (на 20,6%,  $\chi^2 = 9,14$ ,  $p = 0,008$ ). У больных тяжелым пародонтитом наблюдалась существенно более высокая, чем у пациентов с пародонтитом средней степени частота встречаемости сообщества *Treponema denticola* и *Porphyromonas gingivalis* (на 13,3%  $\chi^2 = 6,5$ ,  $p = 0,016$ ).

Подобная тенденция по содержанию микроорганизмов наблюдалась и в образцах ротовой жидкости больных пародонтитом. У больных пародонтитом в сравнении с показателями у здоровых лиц в ротовой жидкости установлено существенное увеличение частоты выявления *Streptococcus mutans* (на 39,8%,  $\chi^2 = 30,5$ ,  $p = 0,0001$ ), *Streptococcus sobrinus* (на 34,1%,  $\chi^2 = 24,2$ ,  $p = 0,0001$ ), ассоциации *Treponema denticola* и *Porphyromonas gingivalis* (на 8,8%,  $\chi^2 = 6,2$ ,  $p = 0,017$ ).

При исследовании микробиоты ротовой жидкости в зависимости от течения заболевания показано, что у больных тяжелым пародонтитом достоверно более высокая, чем у пациентов со средней степенью заболевания, представленность *Treponema denticola* (на 22,1%,  $\chi^2 = 17,0$ ,  $p = 0,0003$ ) и *Streptococcus salivarius* (на 9,1%, на  $\chi^2 = 5,13$ ,  $p = 0,042$ ).

Выполненная нами ПЦР-детекция указанных микроорганизмов свидетельствует о том, что изменения микробиоценоза при пародонтите в известной степени сопряжены с состоянием функций различных органов и систем макроорганизма. У больных пародонтитом без общесоматической патологии содержание микроорганизмов было достоверно ниже, чем у пациентов с сопутствующими соматическими заболеваниями: *Streptococcus mutans* - на 35,7% ( $\chi^2 = 11,1$ ,  $p = 0,001$ ), *Streptococcus oralis* - на 29,1% ( $\chi^2 = 6,3$ ,  $p = 0,017$ ), *Streptococcus sobrinus* на - 31,2% ( $\chi^2 = 7,2$ ,  $p = 0,008$ ). В то же время в ротовой жидкости у пациентов с сопутствующей соматической патологией и без нее статистически значимых различий в распространенности исследованных бактерий отсутствовали.

При анализе антибиотикоустойчивости бактерий, ассоциированных с пародонтитом, получены следующие результаты. Среди 41 больного, у которых в содержимом пародонтального кармана был выявлен *Porphyromonas gingivalis*, устойчивость к бацитрацину была обнаружена в 5 (12,2%) случаях, к нитромидазолу - в 23 (56,1%) случаях, к ванкомицину - в 18 (43,9%) случаях. У 118 больных с *Streptococcus mutans* данный микроорганизм оказался устойчив к линкомицину в 12 (10,1%) случаях, к  $\beta$ -лактамам антибиотикам -

в 17 (14,4%) случаях. Устойчивость *Streptococcus sanguis* к блеомицину установлена у 25 из 98 больных (25,5%), *Streptococcus salivarius* к линкомицину – у 3 из 19 (15,8%) больных, к ванкомицину – у 4 (21,1%) больных. Устойчивость *Streptococcus oralis* к тетрациклину наблюдалась в 28 (30,4%) из 92 случаев выявления данного микроорганизма.

Таким образом, подобранные нами праймеры позволяют выявлять методом ПЦР пародонтопатогенные бактерии видов *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus macacae*, *Streptococcus sobrinus*. У больных пародонтитом микробиологический статус характеризуется существенно более высокой, чем у лиц без патологии пародонта, распространенностью в содержимом пародонтального кармана, *Treponema denticola*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis* и *Streptococcus sobrinus*, в ротовой жидкости – *Streptococcus mutans* и *Streptococcus sobrinus*. В содержимом пародонтального кармана зубов и ротовой жидкости имеет место высокая частота ассоциации, *Treponema denticola* и *Porphyromonas gingivalis*. Качественные изменения микробиоценоза в ротовой полости сопряжены с тяжестью пародонтита и с состоянием функций различных органов и систем макроорганизма.

Оценка результатов комплексного лечения больных пародонтитом была проведена нами в сроки 14 дней после лечения. Все пациенты отмечали хорошую переносимость проводимой терапии, серьезных побочных реакций не было. Лишь у одного пациента основной группы с тяжелой формой пародонтита и сопутствующей патологией желудочно-кишечного тракта к окончанию курса антибиотикотерапии появилась тошнота, которая прекратилась с завершением приема линкомицина.

Все пациенты (100%) отмечали улучшение состояния пародонта: значительное снижение болезненности, отека и кровоточивости десен, исчезновение неприятного запаха изо рта, появление уверенности при накусывании. При осмотре через 14 дней после лечения слизистая оболочка

бледно-розового цвета, плотно прилегала к зубу, поддесневые и наддесневые камни или зубные отложения отсутствовали, кровоточивости нет, зубы устойчивы, пародонтальные карманы уменьшены до 3 мм, экссудация из пародонтальных карманов не отмечалась.

К этому сроку значение индекса гигиены у больных со средней степенью пародонтита уменьшилось на 53,0% ( $p < 0,05$ ), а у больных с тяжелой формой заболевания - на 31,5% ( $p < 0,05$ ), PDI – соответственно, на 32,1% и на 29,9% ( $p < 0,05$ ); индекса кровоточивости – на 84,1% и 64,0% ( $p < 0,001$ ); . CPITN – на 91,9% и 81,2% ( $p < 0,001$ ), соответственно.

Наиболее выраженные позитивные изменения в состоянии полости рта и тканей пародонта были получены у больных основной группы, кому была проведена обработка зубодесневых карманов и поверхности корня аппаратом Vector. В основной группе больных со средней степенью пародонтита величина индекса гигиены была достоверно ниже, чем в группе сравнения с подобной тяжестью заболевания – на 23,9%, PDI – на 24,4%, индекса кровоточивости – на 48,9% ( $p < 0,05$ ). При тяжелом пародонтите различия в значениях указанных параметров составили 16,1%, 19,9% и 16,5%, соответственно ( $p < 0,05$ ).

По субъективным ощущениям пациентов основной группы уже на 2-3-е сутки после проведения профессиональной гигиены аппаратом Vector у них купировался болевой симптом в деснах при приеме пищи и чистке зубов, снижалась кровоточивость десен при чистке зубов.

Проведенное нами исследование динамики изменения микрофлоры полости рта у больных пародонтитом в зависимости от проводимого лечения показало значимое снижение представленности большинства микроорганизмов. В основной группе больных после лечения среднее количество выявленных бактерий в содержимом пародонтального кармана уменьшилось на 43,6% до 1,73, в ротовой жидкости – до 1,55 (на 43,2%). В группе сравнения эти показатели составили в содержимом пародонтального кармана - 2,00 (30,6%), в ротовой жидкости - 1,79 (29,9%).

Включение в комплексную терапию пародонтита лечения ультразвуком способствовало более значимому снижению *sobrinus* в содержимом пародонтального кармана распространенности *Streptococcus oralis* (на 10,3%) и *Streptococcus* (на 9,0%). После проведенного лечения среднее количество выявленных микроорганизмов в основной группе больных было на 15,4% ниже, чем у пациентов группы сравнения.

ПЦР-детекция микроорганизмов в содержимом пародонтального кармана после лечения показала статистически значимые различия в распространенности ряда бактерий у пациентов исследованных групп со средней степенью пародонтита. Так, если после комбинированной Vector- и антибактериальной терапии *Streptococcus oralis* отсутствовал у 18 (46,2%) из 39 больных, у которых исходно данный микроорганизм был выявлен, то после антибиотикотерапии – у 7 (18,4%) из 38 больных, т.е. на 27,8% ( $\chi^2 = 6,75$ ,  $p = 0,009$ ). Для *Streptococcus sobrinus* положительный эффект проводимого лечения отмечался у 52,6% (20 из 38) пациентов основной группы с пародонтитом средней степени и у 21,2% (7 из 33) пациентов данного профиля группы сравнения, что на 31,4% реже ( $\chi^2 = 7,39$ ,  $p = 0,004$ ). Выявленные закономерности нашли свое отражение в заметном увеличении среднего количества микроорганизмов на человека в группе сравнения с указанной тяжестью заболевания – на 15,7%.

Применение ультразвуковой Vector-терапии в лечении тяжелой формы пародонтита привело к значимому понижению представленности *Porphyromonas gingivalis* и *Treponema denticola* в содержимом пародонтального кармана, тогда как в группе сравнения изменения в частоте встречаемости данных бактерий были несущественными. Следует отметить более высокие показатели среднего количества микроорганизмов на человека в группе сравнения – 1,95 против 1,64, т.е. выше на 15,9%.

Сравнительный анализ состава микробиоты ротовой жидкости в зависимости от способа лечения показал, что если в основной группе больных с пародонтитом средней степени после лечения отмечалось достоверное

снижение представленности *Porphyromonas gingivalis* (на 12,5%,  $\chi^2 = 5,13$ ,  $p = 0,044$ ), *Streptococcus sanguis* (на 26,6%,  $\chi^2 = 9,03$ ,  $p = 0,008$ ) и *Streptococcus oralis* (на 21,9%,  $\chi^2 = 6,15$ ,  $p = 0,030$ ), то у больных группы сравнения с подобной тяжестью заболевания эти различия были статистически незначимыми. Обращают на себя внимание более низкие показатели среднего количества микроорганизмов на человека в основной группе со средней и тяжелой степенью пародонтита – на 16,7% и на 12,0%, соответственно.

Нами был проведен количественный анализ микробиоты пародонтальных карманов и ротовой жидкости методом ПЦР в режиме реального времени у пациентов со средней степенью пародонтита до и после лечения. С целью выравнивания по объему образцов содержимого пародонтальных карманов нами был разработан способ получения клинических образцов определенного объема (Патент РФ. № 2612023 от 01 марта 2017 г.). Для осуществления забора 1 мкл жидкого содержимого пародонтального кармана, вполне достаточного для проведения ПЦР-анализа, применяют стерильные бумажные эндодонтические штифты (размер №25), время экспозиции – 10 секунд.

Нами установлено, что включение ультразвуковой терапии в комплекс лечения больных пародонтитом средней степени тяжести способствовало существенному снижению частоты выявления и количественного содержания и ротовой жидкости всех исследованных пародонтопатогенов. Так, если у пациентов основной группы обнаружено достоверное уменьшение абсолютного количества всех исследованных микроорганизмов в содержимом пародонтальных карманов, а также *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus oralis* и *Streptococcus sanguis* в ротовой жидкости, то в группе сравнения подобные различия выявлены в содержимом пародонтальных карманов для *Porphyromonas gingivalis* и *Treponema denticola*, в ротовой жидкости – только для *Porphyromonas gingivalis*.

Таким образом, проведение молекулярно-генетических исследований у больных пародонтитом позволяет оценить бактериостатический эффект проводимого лечения. Комплексная терапия (ультразвук + антибиотикотерапия)

характеризуется наибольшей эффективностью, сопровождается регрессией воспалительных реакций в тканях пародонта, снижает общую и относительную обсемененность тканей ротовой полости пародонтопатогенными микроорганизмами, улучшает клиническое течение пародонтита.

## Выводы

1. Контингент больных пародонтитом характеризовался возрастанием показателей состояния тканей пародонта - индексов гигиены Silness-Loe ( $1,69 \pm 0,47$ ), PDI ( $4,76 \pm 0,93$ ), кровоточивости на ( $2,37 \pm 0,44$ ), CRITN ( $3,08 \pm 0,76$ ) и пародонтального индекса ( $5,22 \pm 0,68$ ), существенно более высокой распространенностью в содержимом пародонтального кармана *Treponema denticola* (на 11,2%), *Streptococcus mutans* (на 40,6%), *Streptococcus oralis* (на 31,4%) и *Streptococcus sobrinus* (на 39,1%), в ротовой жидкости - *Streptococcus mutans* (на 39,8%) и *Streptococcus sobrinus* (на 34,1%). В содержимом пародонтального кармана зубов и ротовой жидкости имеет место высокая частота ассоциаций *Treponema denticola* и *Porphyromonas gingivalis* при тяжелой степени пародонтита.

2. Установлена взаимосвязь более высокой распространенности *Streptococcus mutans* (на 35,7%), *Streptococcus oralis* (на 29,1%), *Streptococcus sobrinus* (на 31,2%) в содержимом пародонтального кармана при преобладании сопутствующей общесоматической патологии желудочно-кишечного тракта – 61,2%, сердечно-сосудистой системы – 34,1%, эндокринной системы - 28,2%.

3. Методом молекулярно-генетической диагностики установлена взаимосвязь выявления с высокой частотой *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus macacae*, *Streptococcus sobrinus* и их ассоциаций при пародонтите средней и тяжелой степеней тяжести и проведен нами подбор праймеров к пародонтопатогенным видам бактерий.

4. Разработан способ количественного определения видового состава микробиоты пародонтальных карманов для определения качественного и количественного состава пародонтопатогенной микрофлоры ротовой полости, позволяющий в ряде случаев уточнить диагноз, выбрать более адекватный метод лечения и оценить его эффективность в ходе терапии.

5. Проведение молекулярно-генетических исследований у больных пародонтитом позволяет обосновать эффективность комбинированного лечения ультразвука с антибиотикотерапией при средней и тяжелой степени пародонтита.

### **Практические рекомендации**

1. Для повышения качества диагностики и контроля лечения пародонтита рекомендуется проведение молекулярно-генетических исследований с детекцией вирулентных видов бактерий (*Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus macacae*, *Streptococcus sobrinus*).

2. Для оптимизации условий проведения анализа полимиразно-цепной реакции в реальном времени при диагностике пародонтита рекомендуется использовать разработанный нами способ получения клинических образцов определенного объема и калибровочный образец. Для осуществления забора 1 мкл жидкого содержимого пародонтального кармана применяют стерильные бумажные эндодонтические штифты (размер №25), время экспозиции – 10 секунд.

3. Для повышения эффективности лечения пародонтита средней и тяжелой степени тяжести представляется целесообразным применение комплекса антибиотикотерапии с ультразвуковой обработкой зубодесневых карманов и поверхности корня с использованием аппарата Vector.

## Список сокращений

CPITN	– Community Periodontal Index of Treatment Needs
PDI	- Periodontal Disease Index (индекс болезни пародонта)
<i>P. gingivali</i>	- <i>Porphyromonas gingivali</i>
<i>S. oralis</i>	- <i>Streptococcus oralis</i>
<i>S. sanguis</i>	- <i>Streptococcus sanguis</i>
<i>S. mutans</i>	- <i>Streptococcus mutans</i>
<i>S. salivarius</i>	- <i>Streptococcus salivarius</i>
<i>S. sobrinus</i>	- <i>Streptococcus sobrinus</i>
<i>S. macacae</i>	- <i>Streptococcus macacae</i>
<i>T. denticola</i>	- <i>Treponema denticola</i>
ВОЗ	– всемирная организация здравоохранения
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
ПИ	- пародонтальный индекс
ПЦР	- полимеразная цепная реакция

## Библиографический список

1. Абаев, З.М. Современные методы лечения и профилактики заболеваний пародонта / З.М. Абаев, Д.И. Домашев, М.К. Антидзе // Стоматология. - 2012. - Т. 91, № 4. - С. 72-74.
2. Алимский, А.В. Геронтостоматология (эпидемиологические, социальные и организационные аспекты) / А.В. Алимский. – М., 2012. – 374 с.
3. Аржанцев, А.П. Некоторые аспекты рентгенодиагностики заболеваний пародонта / А.П. Аржанцев, М.И. Тамасханова // Стоматология для всех. - 2014. - № 1. - С. 30-34.
4. Аржанцев, А.П. Рентгенодиагностика пародонтальных костных воспалительных процессов / А.П. Аржанцев, М.И. Тамасханова // Стоматология. — 2012. — № 3. — С. 80-85.
5. Атрушкевич, В.Г. Экспериментальная модель пародонтита / В.Г. Атрушкевич, К.Д. Школьная // Пародонтология. - 2015. - № 4. – С. 4-9.
6. Бондаренко, В.М. Бактериальные биопленки условно-патогенных бактерий и их подавление пробиотическими лактобациллами / В.М. Бондаренко, О.В. Рыбальченко, О.Г. Орлова // Лечение и профилактика. – 2014. – № 2. – С. 28-35.
7. Булгакова, А.И. Исследование показателей иммуноцитограмм у больных с воспалительными заболеваниями пародонта/ А.И. Булгакова, Н.А. Васильева, Ю.В. Андреева // Пародонтология. - 2012. - Т. 17, № 3. - С. 22-26.
8. Булгакова, А.И. Клинико-иммунологические аспекты лечения хронического генерализованного пародонтита: монография / А.И. Булгакова, Ю.А. Медведев. - Уфа, 2008. - 112 с.
9. Булгакова, А.И. Клиническая характеристика состояния полости рта у лиц с табакозависимостью / А.И. Булгакова, Ю.О. Солдатова, Г.Ш. Зубаирова // Медицинский вестник Башкортостана. - 2014. - № 1. - С. 60-63.
10. Булгакова, А.И. Оценка качества жизни у пациентов стоматологического профиля / А.И. Булгакова, Р.М. Дюмеев, Д.М. Исламова //

Вестник национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2013. – Т. 8, № 3. – С. 22-24.

11.Булкина, Н.В. Быстропрогрессирующий пародонтит: новые аспекты патогенеза и комплексной терапии / Н.В. Булкина, А.П. Ведяева // Пародонтология. - 2012. - Т. 17, № 4. - С. 13-18.

12.Булкина, Н.В. Патогенетическая взаимосвязь и взаимовлияние воспалительных заболеваний пародонта с патологией сердечно-сосудистой системы и желудочно-кишечного тракта / Н.В. Булкина // Клиническая стоматология. — 2010. — № 2. — С. 28-29.

13.Булкина, Н.В. Профессиональная гигиена полости рта: комфорт до и после процедуры / Н.В. Булкина // Клиническая стоматология. - 2010. - № 3. - С. 13-15.

14.Булкина, Н.В. Современные аспекты этиологии и патогенеза воспалительных заболеваний пародонта. Особенности клинических проявлений рефрактерного пародонтита / Н.В. Булкина, В.М. Моргунова // Фундаментальные исследования. - 2012. - № 2. – С. 416-420.

15.Василевская, Е.М. Патогенетические аспекты формирования заболеваний пародонта у пациентов с ишемической болезнью сердца / Е.М. Василевская, С.Л. Блашкова // Практическая медицина. - 2013. - № 7. – С. 154-156.

16.Васильева, Н.А. Характеристика частичной адентии зубов по индексу потери жевательной эффективности у больных с воспалительными заболеваниями пародонта / Н.А. Васильева, А.И. Булгакова, Ю.В. Бортновская // Стоматология для всех. - 2016. - № 4. – С. 46-50.

17.Влияние различных способов снятия зубных отложений на микроструктуру твердых тканей зуба / А.А. Кунин, С.В. Ерина, Т.А. Попова, О.И. Олейник // Пародонтология. – 2010. – № 2. – С. 33–36.

18.Вольф, Г.Ф. Пародонтология. Гигиенические аспекты / Г.Ф. Вольф, Т.М. Хэссел. — М.: Медпресс-информ, 2014. — 360 с.

19.Вострикова, С.А. Пути оптимизации лечения хронического генерализованного пародонтита / С.А. Вострикова // Электронный научно-образовательный вестник «Здоровье и образование в XXI веке». - 2011. – № 7. - С. 329-330.

20.Гажва, С.И. Медикаментозные схемы консервативного лечения хронических форм пародонтитов / С.И. Гажва, А.И. Воронина, Д.А. Кулькова // Фундаментальные исследования. - 2013. - № 5-1. - С. 55-57.

21.Гажва, С.И. Проблема коморбидных заболеваний в стоматологии [Электронный ресурс] / С.И. Гажва, А.Ф. Еремеев, Д.А. Заплутанова // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 6. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=23147>.

22.Гажва, С.И. Распространенность и интенсивность воспалительных заболеваний пародонта (обзор литературы) / С.И. Гажва, Р.С. Гулуев // Обозрение. Стоматология. – 2012. - № 1 (75). – С. 13-14.

23.Галкина, О.П. Распространенность воспалительных заболеваний тканей пародонта у больных ювенильным ревматоидным артритом / О.П. Галкина // Пародонтология. – 2016. - № 3. – С. 53-56.

24.Городецкая, И.В. Влияние состояния функции щитовидной железы на реакцию тканей зуба и пародонта на стресс / И.В. Городецкая, Н.А. Корневская // Стоматология. – 2010. - № 6. – С. 34-36.

25.Грудянов, А.И. Взаимосвязь воспалительных заболеваний пародонта и рисков развития ишемической болезни сердца и атеросклероза / А.И. Грудянов // Клиническая стоматология. – 2011. - № 4. – С. 34-35.

26.Грудянов, А.И. Планирование лечебных мероприятий при заболеваниях пародонта / А.И. Грудянов, И.Ю. Александровская. – М.: МИА, 2010. – 56 с.

27.Грудянов, А.И. Терапия воспалительных заболеваний пародонта снижает риск развития ишемической болезни сердца и осложнений при сахарном диабете / А.И. Грудянов // Лечащий врач. — 2012. — № 7. — С. 2-3.

28.Грудянов, А.И. Частота выявления различных представителей пародонтопатогенной микрофлоры при пародонтите разной степени / А.И. Грудянов, В.В. Овчинникова // Стоматология. – 2009. – № 3. – С. 34-37.

29.Грудянов, А.И. Этиология и патогенез воспалительных заболеваний пародонта / А.И. Грудянов, Е.В. Фоменко. – М.: МИА, 2010. – 96 с.

30.Давыдова, М.М. Методы микробиологического исследования, применяемые в стоматологии / М.М. Давыдова, Л.Я. Плахтий, В.Н. Царёв // Микробиология, вирусология и иммунология полости рта / под ред. проф. В. Н. Царёва. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. - С. 223–268.

31.Дятлов, И.А. Актуальные проблемы медицинской микробиологии / И.А. Дятлов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2013. — № 1. — С. 88–93.

32.Елисеева, А.Ф. Роль смешанной инфекции в развитии хронического генерализованного пародонтита и ишемической болезни сердца / А.Ф. Елисеева, А.В. Цимбалистов, Г.Б. Шторина // Институт стоматологии. – 2012. - № 2. – С. 78-79.

33.Еловицова, Т.М. Состояние тканей пародонта и параметров ротовой жидкости у больных пародонтитом под влиянием жидких средств гигиены / Т.М. Еловицова, Н.А. Белоконова // Институт стоматологии. — 2013. — Т. 67, № 2. — С. 55–58.

34.Заболевания пародонта. Современный взгляд на клинко-диагностические и лечебные аспекты / О.О. Янушевич, В.М. Гринин, В.А. Почтаренко [и др.]. – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2010. – 160 с.

35.Зорина, О.А. Генетические факторы предрасположенности к развитию агрессивного пародонтита: белки матрикса, матриксины и их регуляторы / О.А. Зорина, О.А. Борискина, О.А. Леонович // Стоматология. – 2013. – Т. 92, № 1. – С. 76-83.

36.Зорина, О.А. Метод ПЦР "в реальном времени" для анализа количественного и качественного соотношений микробиоценоза

пародонтального кармана / О.А.Зорина, А.А. Кулаков, О.А. Борискина // Стоматология. – 2011. – Т. 90, № 3. – С. 31-33.

37.Зорина, О.А. Микробиоценоз пародонтального кармана и воспалительные заболевания пародонта / О.А. Зорина, А.И. Грудянов, Д.В. Ребриков // Уральский медицинский журнал. – 2011. - № 3. – С. 9-13.

38.Зорина, О.А. Сравнительная характеристика микробиоценозов пародонтальных карманов при хроническом генерализованном и агрессивном пародонтите до и после комплексного лечения / О.А. Зорина, И.С. Беркутова, Б.А. Рехвиашвили // Стоматология. – 2012. – Т. 91, № 6. - С. 28-32.

39.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. – Т. 90, № 5. – С. 22-26.

40.Иммунные и оксидантные нарушения в патогенезе воспалительных заболеваний пародонта / А.Л. Локтионов, А.И. Конопля, М.А. Лунев, А.В. Караулов // Иммунология. – 2015. - № 5. – С. 319-328.

41.Карданова, Л.В. Некоторые аспекты местного лечения хронических воспалительных заболеваний пародонта [Электронный ресурс] / Л.В. Карданова, М.Т. Тхазапlicheва, А.О. Балкаров // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 6. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=15777>.

42.Карпенко, И.Н. Современные представления об этиологии и патогенезе быстро прогрессирующего пародонтита / И.Н. Карпенко, Н.В. Булкина, Е.В. Понукалина // Архив патологии. – 2009. – Т. 71, № 1. – С. 57-60.

43.Керницкий, Р.В. Особенности морфофункциональных изменений в тканях пародонта при хроническом пародонтите и периодонтите / Р.В. Керницкий, А.Г. Гулюк, Н.А. Горянова // Морфология. - 2012. - № 4. – С. 58-63.

44. Клиническая характеристика пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта и дефектами твердых тканей зубов / А.И. Булгакова, И.Р. Шафеев, И.В. Валеев, Г.Ш. Зубаирова // Пародонтология. – 2014. - № 4. - С. 59-62.

45. Коморбидность болезней пародонта и желудочно-кишечного тракта / О.В. Еремин, А.В. Лепилин, И.В. Козлова [и др.] // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2009. – Т. 5, № 3. – С. 393-398.

46. Консервативные методы в профилактике и комплексной терапии воспалительных заболеваний пародонта (обзор литературы) / Л.М. Цепов, А.И. Николаев, Д.А. Наконечный, М.М. Нестерова // Пародонтология. – 2015. – Т. 74, № 1. - С. 7-9.

47. Коэн, Э.С. Атлас косметической и реконструктивной хирургии пародонта / Э.С. Коэн ; пер. с англ. под общ. ред. О.О. Янушевича. — М.: Практическая медицина, 2011. — 512 с.

48. Лагутин, М.Б. Наглядная математическая статистика / М.Б. Лагутин. — 3-е изд., испр. — М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2013. — 472 с.

49. Латышева, С.В. Целевые направления профилактики болезней периодонта / С.В. Латышева, О.Н. Брундукова // Современная стоматология. – 2014. – Т. 58, № 1. – С. 59-61.

50. Лукиных, Л.М. Значение консервативной терапии в комплексном лечении воспалительных заболеваний пародонта / Л.М. Лукиных, Н.В. Круглова // Обозрение. Стоматология. – 2012. – Т. 75, № 1. - С. 14-16.

51. Лукиных, Л.М. Хронический генерализованный пародонтит. Часть I. Современный взгляд на этиологию и патогенез / Л.М. Лукиных, Н.В. Круглова // Современные технологии в медицине. – 2011. - № 1. - С. 123-125.

52. Мандра, Ю.В. Клинико-экспериментальное обоснование выбора ультразвуковых систем для проведения профессиональной гигиены полости рта у больных с заболеваниями пародонта / Ю.В. Мандра, С.Л. Востряков, Н.М. Жегалина // Проблемы стоматологии. – 2011. - № 1. – С. 18-22.

53. Мелехов, С.В. Состояние местного иммунитета и микробиоценоза полости рта у больных хроническим генерализованным пародонтитом / С.В. Мелехов, Н.В. Колесникова, Е.С. Овчаренко // Пародонтология. – 2013. – Т. 17, № 1. – С. 3-9.

54. Микробиологический мониторинг ротовой жидкости у клинически здоровых детей / А.М. Самоукина, Е.С. Михайлова, В.М. Червинец [и др.] // Стоматология. – 2015. № 1. – С. 11-13.

55. Микробиология и иммунология для стоматологов / Р.Дж. Ламонт, М.С. Лантц, Р.А. Берне, Д.Дж. Лебланк. – М.: Практическая медицина, 2010. – 504 с.

56. Микробиология, вирусология и иммунология полости рта / под ред. В.Н. Царева. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 576 с.

57. Микробный пейзаж содержимого пародонтальных карманов и корневых каналов у пациентов с эдодонто-пародонтальными поражениями IV класса / В.Н. Царев, В.Г. Атрушкевич, Д.Т. Галиева, К.Д. Школьная // Пародонтология. – 2016. - № 1. - С. 13-17.

58. Морфологические особенности десен разных биотипов / В.М. Саркисян, О.В. Зайратьянц, А.М. Панин, М.Г. Панин // Пародонтология. — 2012. - № 1. - С. 26-31.

59. Николаев, А.И. Практическая терапевтическая стоматология / А.И. Николаев, Л.М. Цепов. – 9-е изд. - М.: МЕДпресс-информ, 2013. – 548 с.

60. Николаева, Е.Н. Маркеры риска генерализованного пародонтита. Молекулярно-генетические аспекты / Е.Н. Николаева. - LAP LANBERT Academic Publishing GmbH & Co. KG, Germany, 2011. – 384 с.

61. Николаева, Е.Н. Пародонтопатогенные бактерии – индикаторы риска возникновения и развития пародонтита / Е.Н. Николаева, В.Н. Царев, Е.В. Ипполитов // Стоматология для всех. – 2011. - № 4. - С. 4-7.

62. Орехова, Л.Ю. Пародонтологический статус и эффективность комплекса индивидуальной гигиены полости рта в профилактике

воспалительных заболеваний пародонта у беременных женщин с сахарным диабетом / Л.Ю. Орехова // Пародонтология. – 2015. - № 4. – С. 33-40.

63. Орехова, Л.Ю. Стоматологическая деятельность / Л.Ю. Орехова, Т.В. Кудрявцева. – СПб.: Человек, 2014. – 248 с.

64. Особенности диагностики и лечения ксеростомического синдрома при заболеваниях пародонта и слизистой оболочки полости рта у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа / О.С. Гилева, Е.Н. Смирнова, А.А. Позднякова, Т.В. Либик // Российский медицинский журнал. - 2016. - № 20. - С. 1340-1345.

65. Особенности стоматологического статуса пациентов с гастродуоденальной патологией / С.И. Гажва, О.В. Шкаредная, А.С. Лесков, Р.С. Гулуев // Обозрение. Стоматология. – 2012. – Т. 75, № 1. – С. 49-50.

66. Оценка эффективности применения вектор-системы в комплексном лечении пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом средней степени / О.И. Олейник, М.А. Сорокина, С.В. Ерина, К.П. Кубышкина // Вестник новых медицинских технологий. – 2013. – № 2. – С. 138-143.

67. Пародонтология. Национальное руководство / под ред. Л.А. Дмитриевой. – М.: Гэотар-Медиа, 2014. – 704 с.

68. Патогенетические критерии оценки эффективности лечения больных хроническим генерализованным пародонтитом / Д.В. Земерова, А.М. Монтотов, А.Л. Шаповалова [и др.] // Пародонтология. - 2012. - № 2. - С. 16–20.

69. Повышение эффективности лечения хронического и агрессивного пародонтита / О.А. Зорина, И.С. Беркутова, М.К. Антидзе, Б.А. Рехвиашвили // Здоровье и образование в XXI веке. – 2012. – Т. 14, № 2. – С. 13-14.

70. Применение ультразвуковой системы «VECTOR» в лечении пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом / С.А. Вострикова, А.В. Лепилин, Я.Г. Карабушина, Е.К. Маклецова // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2008. - № 2. - С. 133-136.

71. Распространенность заболеваний пародонта у жителей города Уфы и республики Башкортостан / А.И. Булгакова, Е.С. Солдатова, И.В. Валеев, А.В.

Зямелев // Биосовместимые материалы и новые технологии в стоматологии: сборник статей Международной конференции. – М., 2014. - С. 187-189.

72.Рединова, Т.Л. Сила давления зубной щетки при чистке зубов и ее значимость в развитии заболеваний пародонта / Т.Л. Рединова, О.В. Третьякова // Пародонтология. – 2017. - № 1. – С. 53-57.

73.Результаты клинических исследований по оценке эффективности лечебно-профилактических программ с зубными пастами и стоматологическими гелями у пациентов с заболеваниями пародонта // Л.Ю. Орехова, Е.В. Косова, Л.А. Луковенко [и др.] // Пародонтология. – 2017. - № 1. – С. 27-32.

74.Роль психологических особенностей личности в формировании мотивации к индивидуальной гигиене / Л.Ю. Орехова, Т.В. Кудрявцева, Е.Р. Исаева [и др.] // Пародонтология. - 2013. - № 1. - С. 10-13.

75.Рябокоть, Е.Н. Особенности лечения генерализованного пародонтита, сочетанного с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки / Е.Н. Рябокоть, ИИ. Соколова, В.В. Олейничук // Український стоматологічний альманах. – 2013. - № 6. – С. 38-42.

76.Сарапульцева, М.В. Уровень болевого симптома у пациентов при применении разных типов ультразвуковых скейлеров / М.В. Сарапульцева, И.А. Шляхтова // Пародонтология. – 2009. - № 4. – С. 26-31.

77.Современные подходы к лечению воспалительных генерализованных заболеваний пародонта (обзор литературы) / Л.М. Цепов, А.И. Николаев, Д.А. Наконечный, М.М. Нестерова // Пародонтология. – 2015. - № 2. – С. 3-9.

78.Современный подход к лечению воспалительных заболеваний пародонта у женщин с гинекологической патологией / Э.Ю. Забалуева, В.Г. Атрушквич, Е.В. Несяева [и др.] // Лечение и профилактика. – 2014. - № 2. - С. 54-58.

79.Состав микрофлоры пародонтального кармана при тяжелых формах пародонтита, устойчивых к стандартному лечению / С.И. Токмакова, Л.В.

Чудова, Н.В. Ручьева, О.А. Кичинекова // Проблемы стоматологии. – 2014. - № 6. – С. 20-23.

80. Сравнительная характеристика микробиоценозов пародонтальных карманов при хроническом генерализованном и агрессивном пародонтите до и после комплексного лечения/ О.А. Зорина, И.С. Беркутова, Б.А. Рехвиашвили, Н.К. Аймадинова // Российский стоматологический журнал. - 2013. - № 1. - С. 27-31.

81. Сравнительный анализ антимикробной активности пародонтальных антисептиков с использованием автоматизированной системы контроля роста микроорганизмов в режиме реального времени / В.Н. Царев, В.Г. Атрушкевич, Е.В. Ипполитов, М.С. Подпорин // Пародонтология. – 2017. - № 1. - С. 4-7.

82. Структура, факторы риска и клинические особенности заболеваний слизистой оболочки полости рта (по данным лечебно-консультативного приема) / О.С. Гилева, Е.Н. Смирнова, А.А. Позднякова [и др.] // Пермский медицинский журнал. - 2012. - № 6. - С. 18–24.

83. Тарасевич, Т.Н. Особенности иммунной системы у больных с агрессивным пародонтитом / Т.Н. Тарасевич, Т.В. Закиров, Е.В. Брусницина // Российский иммунологический журнал. – 2014. - № 8. – С. 607-609.

84. Терапевтическая стоматология / О.О. Янушевич, Ю.М. Максимовский, Л.Н. Максимовская, Л.Ю. Орехова. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. - 760 с.

85. Терапевтическая стоматология: национальное руководство / под ред. Л.А. Дмитриевой, Ю.М. Максимовского. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 888 с.

86. Трухан, Д.И. Изменение органов и тканей полости рта при заболеваниях внутренних органов / Д.И. Трухан, И.В. Викторова. – М.: Практическая медицина, 2012. – 208 с.

87. Улитовский, С.Б. Проблемы пародонтологии и современные пути их решения / С.Б. Улитовский, Е.С. Алексеева, А.А. Васянина // Пародонтология. – 2015. – Т. 20, № 3 (76). – С. 33-36.

88. Хисматуллина, Ф.Р. Оптимизация диагностики и лечения больных хроническим генерализованным пародонтитом, инфицированных герпес-

вирусом / Ф.Р. Хисматуллина, А.И. Булгакова, И.В. Валеев // Медицинский вестник Башкортостана. - 2015. - Т. 10, № 1. - С. 32-35.

89.Хронический генерализованный пародонтит у больных эндемическим зобом / Т.Р. Сутаева, С.Р. Минкаилова, И.М. Шамов, О.Г. Омаров // Вестник новых медицинских технологий. – 2012. – Т. 19, № 3. – С. 46-47.

90.Царев, В.Н. Микробиология, вирусология и иммунология полости рта / В.Н. Царев, М.М. Давыдова, Е.Н. Николаева. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 576 с.

91.Цепов, Л.М. Сочетанная патология: воспалительные заболевания пародонта, остеопороз, дефицит витамина D (обзор литературы) / Л.М. Цепов, Е.Л. Цепова, А.Л. Цепов // Пародонтология. – 2016. – № 4. – С. 4-9.

92.Шодиева, Ш.Ш. Клинико-иммунологические особенности состояния полости рта и цитокинового статуса ротовой жидкости у больных хроническим генерализованным пародонтитом / Ш.Ш. Шодиева // Вестник Совета молодых учёных и специалистов Челябинской области. - 2015 – № 3. - С. 48-51.

93.Эндодонто-пародонтальные поражения: актуальные вопросы / Д.Т. Галиева, В.Г. Атрушкевич, В.Н. Царев, А.В. Митронин // Лечение и Профилактика. - 2015. - № 4. - С. 85-91.

94.Ющук, Н.Д. Антибиотики и противоионфекционный иммунитет / Н.Д. Ющук, И. П. Балмасова, В. Н. Царёв. — М.: Практическая медицина, 2013. — 232 с.

95.Ялчин, Ф. Заболевания пародонта и общее здоровье: существует ли взаимосвязь? / Ф. Ялчин // Лечащий врач. – 2013. – № 3. – С. 77-80.

96.Янушевич, О.О. Пародонтит. XXI век / О.О. Янушевич, Л.А. Дмитриева, З.Э. Ревазова. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. — 480 с.

97.Ярилкина, С.П. Медико-экономическая эффективность профессиональной гигиены полости рта: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.14 / Ярилкина Светлана Павловна. — М., 2013. — 23 с.

98. A periodontal pathogen *Treponema denticola* hijacks the *Fusobacterium nucleatum*-driven host response / J.E. Shin, K.J. Baek, Y.S. Choi [et al.] // *Immunol. Cell. Biol.* - 2013. – Vol. 91. – P. 503-510.

99. A randomized controlled clinical trial on the clinical and microbiological efficacy of systemic satranidazole in the treatment of chronic periodontitis / A.R. Pradeep, N. Priyanka, N. Kalra [et al.] // *J. Int. Acad. Periodontol.* – 2013. – Vol. 15. – P. 43–50.

100. Al Jehani, Y. A. Risk factors of periodontal disease: review of the literature [Электронный ресурс] / Y. Al Jehani // *Int. J Dent.* – 2014. - doi: 10.1155/2014/182513.

101. Analysis of expression and localization of TLR-2 by immunofluorescent technique in healthy and inflamed oral tissues / R.S. D'Souza, K.G. Bhat, D. Sailaja [et al.] // *J. Clin. Diagn. Res.* – 2013. – Vol. 12. – P. 2780-683.

102. Anand, P.S. Role of dental plaque, saliva and periodontal disease in *Helicobacter pylori* infection / P.S. Anand, K.P. Kamath, S. Anil // *World J. Gastroenterol.* – 2014. – Vol. 20. – P. 5639-5653.

103. Apatzidou, D.A. Modern approaches to non-surgical biofilm management / D.A. Apatzidou // *Front. Oral Biol.* – 2012. - № 15. – P. 99-116.

104. Application of a diode laser in the reduction of targeted periodontal pathogens / M. Gojkov-Vukelic, S. Hadzic, A. Dedic [et al.] // *Acta Inform. Med.* – 2013. – Vol. 21. – P. 237-40.

105. Assessment of tissue oxygenation of periodontal inflammation in patients with coronary artery diseases using optical spectroscopy [Электронный ресурс] / C. Zhang, X. Xiang, M. Xu [et al.] // *BMC Oral Health.* - 2014. – Vol. 25. doi: 10.1186/1472-6831-14-25.

106. Association between *Helicobacter pylori* infection and risk of periodontal diseases in Han Chinese: a case-control study / J. Yang, Q. Zhang, M. Chen [et al.] // *Med. Sci. Monit.* – 2016. – Vol. 22. – P. 121-126.

107. Association between mental well-being, depression, and periodontal attachment level among young adults of the postwar Sebha city, Libya: A pilot study

/ S.W. Peeran, N.P. Kumar, F.A. Azaruk [et al.] // J. Nat. Sci. Biol. Med. – 2014. – № 5. – P. 308-312.

108. Association between selected oral pathogens and gastric precancerous lesions / C.R. Salazar, J. Sun, Y. Li [et al.] // PLoS One. – 2013. – Vol. 8. – P. e51604.

109. Atherogenic cholesterol-rich diet and periodontal disease / E. Macri, F. Lifshitz, C. Ramos [et al.] // Arch. Oral Biol. - 2014. – Vol. 59, № 7. – P. 679-686.

110. Azithromycin: Mechanisms of action and their relevance for clinical applications [Электронный ресурс] / M.J. Parnham, V.E. Haber, E.J. Giamarellos-Bourboulis [et al.] // Pharmacol. Ther. – 2014. – № 3. doi: 10.1016/j.pharmthera.2014.03.003.

111. Bacterial interactions in pathogenic subgingival plaque / H.M. Ng, L.X. Kin, S.G. Dashper [et al.] // Microb. Pathog. – 2016. – Vol. 94. – P. 60-69.

112. Bacterial profiles of oral streptococcal and periodontal bacterial species in saliva specimens from Japanese subjects / E. Miyamoto, K. Nakano, K. Fujita [et al.] // Arch. Oral Biol. - 2009. – Vol. 54, № 4. – P. 374–379.

113. Biofilm shows spatially stratified metabolic responses to contaminant exposure / B. Cao, P.D. Majors, B. Ahmed [et al.] // Environ. Microbiol. – 2012. – Vol. 14. – P. 2901-2910.

114. Bonebiomarkers in periodontal disease: a review article / V.S. Ram, Parthiban, U. Sudhakar [et al.] // J. Clin. Diagn. Res. – 2015. – Vol. 9. – P. 7-10.

115. Bostanci, N. Porphyromonas gingivalis: an invasive and evasive opportunistic oral pathogen / N. Bostanci, G.N. Belibasakis // FEMS Microbiol. Lett. – 2012. – Vol. 333. – P. 1-9.

116. Can thyroid dysfunction induce periodontal disease? / A. Monea, N. Elod, A. Sitari [et al.] // Eur. Sci. J. – 2014. – Vol. 10. – P. 74-83.

117. Change of scaling-induced proinflammatory cytokine on the clinical efficacy of periodontitis treatment [Электронный ресурс] / K.-G. Shyu, Ch.-S. Choy, D.Ch.-L. Wang [et al.] // Sci. World J. – 2015. – Vol. 2015. doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/289647>.

118. Clinical and microbiologic effect of nonsurgical periodontal therapy on patients with chronic or aggressive periodontitis / J. Liu, J. Zhao, C. Li [et al.] // Quintessence Int. – 2013. – Vol. 44. – P. 575-583.

119. Clinical and microbiologic evaluation, by real-time polymerase chain reaction, of non-surgical treatment of aggressive periodontitis associated with amoxicillin and metronidazole / A.S. Rodrigues, D.S. Lourenção, L.G. Lima Neto [et al.] // J. Periodontol. – 2012. – Vol. 83. – P. 744-752.

120. Clinical results after nonsurgical therapy in aggressive and chronic periodontitis / S. Scharf, M. Wohlfeil, Y. Siegelin [et al.] // Clin. Oral Investig. – 2014. – Vol. 18. – P. 453-460.

121. Comparative analysis of oral treponemes associated with periodontal health and disease [Электронный ресурс] / M. You, S. Mo, W.K. Leung, R.M. Watt // BMC Infect. Dis. - 2013. – Vol. 13. doi: 10.1186/1471-2334-13-174.

122. Comparison of microbial changes in early redeveloping biofilms on natural teeth and dentures / F.R. Teles, R.P. Teles, A. Sachdeo [et al.] // J. Periodontol. – 2012. – Vol. 83. – P. 1139-1148.

123. Dahiya, P. Rotary instruments in the treatment of chronic periodontitis: A randomized clinical trial / P. Dahiya, R. Kamal // J. Ind. Soc. Periodontol. – 2013. – Vol. 17. – P. 748-52.

124. Deleon-Pennell, K.Y. Circulating Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide resets cardiac homeostasis in mice through a matrix metalloproteinase-9 dependent mechanism / K.Y. Deleon-Pennell, L.E. Bras, M.L. Lindsey // Physiol. Rep. – 2013. – Vol. 1. – P. e00079.

125. Dentilisin involvement in coaggregation between Treponema denticola and Tannerella forsythia / Y. Sano, K. Okamoto-Shibayama, K. Tanaka [et al.] // Anaerobe. – 2014. – Vol. 30. – P. 45-50.

126. Distinct and complex bacterial profiles in human periodontitis and health revealed by 16S pyrosequencing / A.L. Griffen, C.J. Beall, J.H. Campbell [et al.] // Isme J. – 2012. – Vol. 6. – P. 1176–1185.

127. Do, T. Oral biofilms: molecular analysis, challenges, and future prospects in dental diagnostics / T. Do, D. Devine, P.D. Marsh // *Clin. Cosmet. Investig. Dent.* – 2013. – Vol. 28. – P. 11-19.

128. Dutt, P. Oral health and menopause: a comprehensive review on current knowledge and associated dental management / P. Dutt, S. Chaudhary, P. Kumar // *Ann. Med. Health Sci. Res.* – 2013. – Vol. 3. – P. 320-323.

129. Effect of periodontal disease on diabetes: systematic review of epidemiologic observational evidence / W.S. Borgnakke, P.V. Ylostalo, G.W. Taylor, R.J. Genco // *J. Clin. Periodontol.* – 2013. – Vol. 40 (Suppl. 14). – P. 135–152.

130. Efficacy versus health risks: An in vitro evaluation of power-driven scalers / C. Graetz, A. Plaumann, J. Bielfeldt [et al.] // *J. Ind. Soc. Periodontol.* – 2015. – Vol. 19. – P. 18-24.

131. Enersen, M. *Porphyromonas gingivalis fimbriae* [Электронный ресурс] / M. Enersen, K. Nakano, A. Amano // *J. Oral Microbiol.* – 2013. – Vol. 6. doi: 10.3402/jom.v5i0.20265.

132. Engebretson, S. Evidence that periodontal treatment improves diabetes outcomes: a systematic review and meta-analysis / S. Engebretson, T. Kocher // *J. Clin. Periodontol.* - 2013. – Vol. 4. – P. 153–163.

133. Epidemiology of periodontal disease [Электронный ресурс] / F.O. Costa, C. Susin, J.R. Cortelli, Is.A. Pordeus // *Int. J. Dent.* – 2012. - Vol. 2012. – Article ID 848641. doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2012/848641>.

134. ESC Working Group on CardioVascular Pharmacology and Drug Therapy. Risk stratification in cardiovascular disease primary prevention – scoring systems, novel markers, and imaging techniques / F. Zannad, G. De Backer, I. Graham [et al.] // *Undam Clin. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 26. – P. 163-174.

135. Esfahanian, V. Relationship between osteoporosis and periodontal disease: review of the literature / V. Esfahanian, M.S. Shamami // *J. Dent. (Tehran).* – 2012. – № 9. – P. 256-264.

136. Estrugo-Devesa, A. Osteoporosis and oral diseases / A. Estrugo-Devesa, C. Gómez-Vaquero, J. López-López // Med. Clin. (Barc). – 2013. – Vol. 140. – P. 169-174.

137. Functional diversity of the microbial community in healthy subjects and periodontitis patients based on sole carbon source utilization [Электронный ресурс] / Y. Zhang, Y. Zheng, J. Hu [et al.] // PLoS One. – 2014. – Vol. 9. – P. e91977. doi: 10.1371.

138. Genco, R.J. Risk factors for periodontal disease / R.J. Genco, W.S. Borgnakke // Periodontology 2000. – 2013. – Vol. 62. – P. 59-94.

139. General immune status and oral microbiology in patients with different forms of periodontitis and healthy control subjects [Электронный ресурс] / J. Schmidt, H. Jentsch, C.S. Stingu, U. Sack // PLoS One. – 2014. – Vol. 9. – P. e109187. doi: 10.1371.

140. Generalized aggressive periodontitis as a risk factor for dental implant failure: a systematic review and meta-analysis / A. Monje, G. Alcoforado, M. Padijal-Molina [et al.] // J. Periodontol. – 2014. – Vol. 85. – P. 1398-1407.

141. Hajishengallis, G. Novel inflammatory pathways in periodontitis / G. Hajishengallis, S.E. Sahingur // Adv. Dent. Res. – 2014. – Vol. 26. – P. 23-29.

142. Hand instrumentation versus ultrasonic debridement in the treatment of chronic periodontitis: a randomized clinical and microbiological trial / I. Ioannou, N. Dimitriadis, K. Papadimitriou [et al.] // J. Clin. Periodontol. – 2009. – Vol. 36. – P. 132-141.

143. Hatem, A.E. Epidemiology and risk factors of periodontal disease / A.E. Hatem / Periodontal diseases - a clinician's guide / ed. Dr. Jane Manakil. - 2012. - P. 213-230.

144. Histatin 5 binds to *Porphyromonas gingivalis* hemagglutinin B (HagB) and alters HagB-induced chemokine responses / D.S. Borgwardt, A.D. Martin, J.R. van Hemert [et al.] // Sci. Rep. – 2014. – Vol. 4. – Article 3904.

145. Host response mechanisms in periodontal diseases / N. Silva, L. Abusleme, D. Bravo [et al.] // J. Appl. Oral Sci. – 2015. – Vol. 23. – P. 329-355.

146. How, K.Y. *Porphyromonas gingivalis*: an overview of periodontopathic pathogen below the gum line [Электронный ресурс] / K.Y. How, K.P. Song, K.G. Chan // Front. Microbiol. – 2016. – Vol. 7. – P. H53. doi: 10.3389/fmicb.2016.00053.

147. Immune response and alveolar bone resorption in a mouse model of *Treponema denticola* infection / S.F. Lee, E. Andrian, E. Rowland, I.C. Marquez // Infect. Immun. - 2009. – Vol. 77. – P. 694-698.

148. In vitro adhesion of *Streptococcus sanguinis* to dentine root surface after treatment with Er:YAG laser, ultrasonic system, or manual curette / C. Ota-Tsuzuki, F.L. Martins, A.P. Giorgetti [et al.] // Photomed. Laser Surg. – 2009. – Vol. 27. – P. 735-741.

149. Influence of combined oral contraceptives on the periodontal condition / R.S. Domingues, B.F. Ferraz, S.L. Greggi [et al.] // J. Appl. Oral Sci. – 2012. – Vol. 20. – P. 253-259.

150. Is periodontal health a predictor of drug-induced gingival overgrowth? A cross-sectional study / R. Banthia, S. Gupta, P. Banthia [et al.] // Dent. Res. J. (Isfahan). – 2014. – Vol. 11. – P. 579-584.

151. Javed, F. Cytokine profile in the gingival crevicular fluid of periodontitis patients with and without type 2 diabetes: a literature review / F. Javed, M. Al-Askar, K. Al-Hezaimi // J. Periodontol. – 2012. – Vol. 83. – P. 156-161.

152. Kayal, R.A. The role of osteoimmunology in periodontal disease [Электронный ресурс] / R.A. Kayal // Biomed Res. Int. – 2013. - Vol. 2013. - Article ID 639368. doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/639368>.

153. Lee, S.-H. Antagonistic effect of peptidoglycan of *Streptococcus sanguinis* on lipopolysaccharide of major periodontal pathogens / S.-H. Lee // J. Microbiol. – 2015. - Vol. 53. – P. 553-560.

154. Marcinkiewicz, J. Antibiotic resistance: a "dark side" of biofilm-associated chronic infections / J. Marcinkiewicz, M. Strus, E. Pasich // Pol. Arch. Med. Wewn. – 2013. – Vol. 123. – P. 309-313.

155. Marsh, P.D. Contemporary perspective on plaque control / P.D. Marsh // Br. Dent. J. – 2012. – Vol. 22. - P. 601-606.

156. Marsh, P.D. Prospects of oral disease control in the future – an opinion [Электронный ресурс] / P.D. Marsh, D.A. Head, D.A. Devine // J. Oral Microbiol. – 2014. – Vol. 27. – P. 26176.

157. Mechanisms of action of systemic antibiotics used in periodontal treatment and mechanisms of bacterial resistance to these drugs / G.M. Soares, L.C. Figueiredo, M. Favari [et al.] // J. Appl. Oral Sci. – 2012. – Vol. 20. – P. 295-309.

158. Microflora and periodontal disease / L. Scapoli, A. Girardi, A. Palmieri [et al.] // Dent. Res. J. – 2012. – Vol. 9. – P. S202–206.

159. Mistry, S. Oral contraceptive pill induced periodontal endocrinopathies and its management: A case report / S. Mistry, D. Bhowmick // Eur. J. Dent. – 2012. – Vol. 6. – P. 324-329.

160. Mombelli, A. Antimicrobial advances in treating periodontal diseases / A. Mombelli // Front. Oral Biol. – 2012. – Vol. 15. – P. 133-148.

161. Non-surgical periodontal therapy improves oral health-related quality of life / R.M. Wong, S.K. Ng, E.F. Corbet, W.K. Leung // J. Clin. Periodontol. – 2012. – Vol. 39. – P. 53-61.

162. Olsen, I. *Porphyromonas gingivalis* suppresses adaptive immunity in periodontitis, atherosclerosis, and Alzheimer's disease / I. Olsen, M.A. Taubman, S.K. Singhrao // J. Oral Microbiol. – 2016. – Vol. 8. doi: 10.3402/jom.v8.33029.

163. Oxidative stress resistance in *Porphyromonas gingivalis* / L.G. Henry, R.M.E. McKenzie, A. Robles, H.M. Fletcher // Future Microbiol. – 2012. – Vol. 7. – P. 497-512.

164. Palakuru, S.K. Microbiological analysis of oral samples for detection of *Mycobacterium tuberculosis* by nested polymerase chain reaction in tuberculosis patients with periodontitis [Электронный ресурс] / S.K. Palakuru, V.K. Lakshman, K.G. Bhat // Dent. Res. J. (Isfahan). - 2012. - Vol. 9. – P. 688-693.

165. Paramashivaiah, R. Mechanized scaling with ultrasonics: Perils and proactive measures / R. Paramashivaiah, M.L. Prabhuji // J. Ind. Soc. Periodontol. – 2013. – Vol. 17. – P. 423-428.

166. Pathogenic microbes and community service through manipulation of innate immunity / G. Hajishengallis, J.L. Krauss, S. Liang [et al.] // Adv. Exp. Med. Biol. - 2012. – Vol. 946. – P. 69-85.

167. Patil, V. Systemic anti-microbial agents used in periodontal therapy / V. Patil, R. Mali, A. Mali // J. Ind. Soc. Periodontol. – 2013. – Vol. 17. – P. 162–168.

168. Periodontal care as a fundamental step for an active and healthy ageing [Электронный ресурс] / C. Cafiero, M. Matarasso, G. Marenzi [et al.] // Sci. World J. – 2013. – Vol. 17. doi: 10.1155/2013/127905.

169. Periodontal disease and atherosclerotic vascular disease: does the evidence support an independent association? A scientific statement from the American Heart Association / P.B. Lockhart, A.F. Bolger, P.N. Papapanou [et al.] // Circulation. – 2012. – Vol. 125. – P. 2520-2544.

170. Periodontal disease immunology: ‘double indemnity’ in protecting the host / J.L. Ebersole, D.R. Dawson, L.A. Morford [et al.] // Periodontology 2000. – 2013. – Vol. 62. – P. 163–202.

171. Periodontal diseases and stress: a brief review / A. Akcali, O. Huck, H. Tenenbaum [et al.] // J. Oral Rehabil. – 2013. – Vol. 40. – P. 60-68.

172. Periodontitis and *Porphyromonas gingivalis* in patients with rheumatoid arthritis / T.R. Mikuls, J.B. Payne, F. Yu [et al.] // Arthritis Rheumatol. – 2014. – Vol. 66. – P. 1090-1100.

173. Pihlstrom, B.L. Diabetes and periodontal therapy / B.L. Pihlstrom, J.B. Buse // J. Am. Dent. Assoc. – 2014. - Vol. 145, № 12. – P. 1208-1210.

174. *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola* synergistic polymicrobial biofilm development / Y. Zhu, S.G. Dashper, Y.Y. Chen [et al.] // PLoS One. - 2013. – Vol. 8. – P. e71727.

175. *Porphyromonas gingivalis*: Major Periodontopathic Pathogen Overview [Электронный ресурс] / J. Mysak, S. Podzimek, P. Sommerova [et al.] // J. Immunol. Res. – 2014. – Vol. 2014. - Article 476068. doi: 10.1155/2014/476068.

176. Potential role of free fatty acids in the pathogenesis of periodontitis and primary Sjögren's syndrome [Электронный ресурс] / Y. Shikama, Y. Kudo, N.

Ishimaru, M. Funaki // *Int. J. Mol. Sci.* – 2017. – Vol. 14. pii: E836. doi: 10.3390/ijms18040836.

177. Prakasam, A. Antibiotics in the management of aggressive periodontitis / A. Prakasam, S.S. Elavarasu, R.K. Natarajan // *J. Pharm. Bioallied. Sci.* – 2012. – Vol. 4 (Suppl. 2). – P. S252–S255.

178. Probiotics and oral health: A systematic review / A. Seminario-Amez, J. López-López, A. Estrugo-Devesa [et al.] // *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.* – 2017. – Vol. 22. – P. e282-e288.

179. Protease inhibitor levels in periodontal health and disease / S. Kretschmar, L. Yin, F. Roberts [et al.] // *J. Periodontal. Res.* – 2012. – Vol. 47. – P. 228-235.

180. Rat model of polymicrobial infection, immunity, and alveolar bone resorption in periodontal disease / L. Kesavalu, S. Sathishkumar, V. Bakthavatchalu [et al.] // *Infect. Immun.* – 2012. – Vol. 75. – P. 1704-1712.

181. Removal of simulated biofilm: a preclinical ergonomic comparison of instruments and operators / C. Graetz, A. Plaumann, S. Rauschenbach [et al.] // *Clin. Oral Investig.* – 2016. – Vol. 20. – P. 1193-1201.

182. Removal of simulated biofilm: an evaluation of the effect on root surfaces roughness after scaling / C. Graetz, A. Plaumann, R. Wittich [et al.] // *Clin. Oral Investig.* – 2017. – Vol. 21. – P. 1021-1028.

183. Role of systemic markers in periodontal diseases: a possible inflammatory burden and risk factor for cardiovascular diseases? / V. Kalburgi, L. Sravya, S. Warad [et al.] // *Ann. Med. Health Sci. Res.* – 2014. – Vol. 4. – P. 388-392.

184. Salivary biomarkers of bacterial burden, inflammatory response, and tissue destruction in periodontitis / A. Salminen, U.K. Gursoy, S. Paju [et al.] // *J. Clin. Periodontol.* – 2014. – Vol. 41. – P. 442-450.

185. Scheres, N. Gingival fibroblast responsiveness is differentially affected by *Porphyromonas gingivalis*: implications for the pathogenesis of periodontitis / N. Scheres, W. Crielaard // *Mol. Oral Microbiol.* – 2013. – Vol. 28. – P. 204-218.

186. Seymour, R.A. Antibiotics in dentistry – an update / R.A. Seymour // *Dent. Update.* – 2013. – Vol. 40. – P.319-322.

187. Structure and mechanism of cysteine peptidase gingipain K (Kgp), a major virulence factor of *Porphyromonas gingivalis* in periodontitis / I. de Diego, F. Veillard, M.N. Sztukowska [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2014. – Vol. 289. – P. 102.

188. Subgingival instrumentation to remove simulated plaque in vitro: influence of operators' experience and type of instrument / C. Graetz, F. Schwendicke, A. Plaumann [et al.] // *Clin. Oral Investig.* – 2015. – Vol. 19. – P. 987-995.

189. Subgingival plaque sampling after combined mechanical and antibiotic nonsurgical periodontal therapy / T. Ramich, B. Schacher, S. Scharf [et al.] // *Clin. Oral Investig.* – 2015. – Vol. 19. – P. 27-34.

190. Suri, V. Menopause and oral health / V. Suri // *J. Midlife Health.* – 2014. – Vol. 5. – P. 115-120.

191. Synergistic virulence of *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola* in a murine periodontitis model / R.K.-H. Orth, N.M. O'Brien-Simpson, S.G. Dashper, E.C. Reynolds // *Mol. Oral Microbiol.* – 2011. – Vol. 26. – P. 229-240.

192. The clinical effect of scaling and root planing and the concomitant administration of systemic amoxicillin and metronidazole: a systematic review / D. Zandbergen, D.E. Slot, C.M. Cobb [et al.] // *J. Periodontol.* – 2013. – Vol. 84. – P. 332-351.

193. The effect of waterpipe smoking on periodontal health / A.R. Bibars, S.R. Obeidat, Y. Khader [et al.] // *Oral Health Prev. Dent.* – 2015. – Vol. 13. – P. 253-259.

194. The epidemiological evidence behind the association between periodontitis and incident atherosclerotic cardiovascular disease / T. Dietrich, P. Sharma, C. Walter [et al.] // *J. Periodontol.* – 2013. – Vol. 84. – P. S70-S84.

195. The relationship between body mass index and periodontitis among postmenopausal women / R. Al Habashneh, W. Azar, A. Shaweesh, Y. Khader // *Obes. Res. Clin. Pract.* – 2016. – Vol. 10. – P. 15-23.

196. The road less traveled - defining molecular commensalism with *Streptococcus sanguinis* / J. Kreth, R.A. Giacaman, R. Raghavan, J. Merritt // *Mol. Oral Microbiol.* – 2017. – Vol. 32. – P. 181-196.

197. The subgingival microbiome in health and periodontitis and its relationship with community biomass and inflammation / L. Abusleme, A.K. Dupuy, N. Dutzan [et al.] // *Isme J.* – 2013. – Vol. 7. – P. 1016-1025.

198. The use rodent models to investigate host-bacteria interactions related to periodontal diseases / D.T. Graves, D. Fine, Y.T. Teng [et al.] // *J. Clin. Periodontol.* – 2008. – Vol. 35. – P. 89-105.

199. T-helper cells from aggressive periodontitis patients produce higher levels of interleukin-1 beta and interleukin-6 in interaction with *Porphyromonas gingivalis* / J.R. Gonzales, S. Groeger, A. Johansson, J. Meyle // *Clin. Oral Investig.* – 2014. – Vol. 18. – P. 1835-1843.

200. *Treponema denticola* invasion into human gingival epithelial cells / S. Inagaki, R. Kimizuka, E. Kokubu [et al.] // *Microb. Pathogen.* – 2016. – Vol. 94. – P. 104-111.

201. Ultramorphology of the root surface subsequent to hand-ultrasonic simultaneous instrumentation during non-surgical periodontal treatments: an in vitro study / S.D. Aspriello, M. Piemontese, L. Levrini, S. Sauro // *J. Appl. Oral Sci.* – 2011. – Vol. 19. – P. 74-81.

202. Vernal, R. Activation of RANKL-induced osteoclasts and memory T lymphocytes by *Porphyromonas gingivalis* is serotype-dependant / R. Vernal, J. Díaz-Zúñiga, S. Melgar-Rodríguez // *J. Clin. Periodontol.* – 2014. – Vol. 41, № 5. – P. 451-459.

203. Wade, W.G. The oral microbiome in health and disease / W.G. Wade // *Pharmacol. Res.* – 2013. – Vol. 69. – P. 137-143.

204. Xie, H. Biogenesis and function of *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles / H. Xie // *Future Microbiol.* – 2015. – Vol. 10. – P. 1517-1527.