

**ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**Медико-профилактический факультет с отделением микробиологии
Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии**

Швец Ксения Юрьевна

**КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ
ПАРОДОНТОПАТОГЕНОВ В ОЧАГАХ ПОРАЖЕНИЯ
ДО И ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ
ТЕРАПИИ В СТОМАТОЛОГИИ**

Руководитель:
профессор, д.б.н.

Ал.Х. Баймиев

Уфа – 2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	9
1.1. Современные представления о пародонтите	9
1.2. Видовой состав постоянной микрофлоры полости рта	13
1.3. Микрофлора полости рта при пародонтите	17
1.4. Лабораторная диагностика пародонтита	23
1.4.1. Классификация Хазановой В.В., 1993	23
1.4.2. Микробиологические методы диагностики	24
1.4.3. Оптические методы диагностики	24
1.4.4. Иммунологические методы диагностики	25
1.4.5. Полимеразная цепная реакция (ПЦР)	26
ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	28
2.1. Объекты исследования	28
2.2. Выделение ДНК из клинических образцов	30
2.3. Конструирование калибровочного образца	31
2.4. Конструирование положительных образцов	33
2.5. Полимеразная цепная реакция (ПЦР)	34
2.6. Электрофорез	35
2.7. ПЦР в режиме реального времени	37
ГЛАВА III. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ ..	39
3.1 Определение объема жидкости, впитываемого бумажным эндодонтическим штифтом (размер №25)	39
3.2. Оценка частоты встречаемости пародонтопатогенных микроорганизмов у больных ХГП до проведения терапии	40
3.3. Анализ ассоциативных связей между пародонтопатогенными микроорганизмами различных видов в клиническом материале больных ХГП	43

3.4. Качественная оценка содержания пародонтопатогенных микроорганизмов в клиническом материале больных ХГП с разными схемами лечения	46
3.5. Количественная оценка содержания пародонтопатогенных микроорганизмов в клиническом материале больных ХГП с разными схемами лечения	51
ВЫВОДЫ	60
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	62
ПРИЛОЖЕНИЕ	74

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ГЭ – геном-эквивалент

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РНК – рибонуклеиновая кислота

рРНК – рибосомная рибонуклеиновая кислота

СПК – содержимое пародонтального кармана

УФ – ультрафиолет

ХГП – хронический генерализованный пародонтит

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Воспалительные заболевания пародонта представляют серьезную проблему в современной стоматологии в связи с большой распространенностью среди взрослого населения, наличием клинических форм, приводящих к разрушению зубочелюстной системы и потере зубов, сложностью диагностики, недостаточной эффективностью лечения и частотой возникновения рецидивов заболевания [Безрукова И.В. с соавт., 2002; Барер Г.М. с соавт., 2006; Соловьева А.М. с соавт., 2006]. По данным ВОЗ у лиц в возрасте 15–19 лет пародонтит регистрируется в 55–89% случаев, в возрасте 35–44 лет и в старших возрастных группах заболеваемость пародонтитом регистрируется уже в 65–98%. [Давыдова Т.Р. с соавт., 2001; Грудянов А. И. с соавт., 2010; Луцкая И. К., 2010].

Согласно современным представлениям, возникновение и прогрессирование воспалительных заболеваний пародонта связывают с влиянием микроорганизмов, обладающих факторами агрессии к тканям пародонтального комплекса [Грудянов А.И. с соавт., 2009; Thiha K. Et al., 2007; Corraini P. et al., 2012]. Резкое увеличение количества резидентной микрофлоры при неудовлетворительной гигиене или появление в составе микрофлоры полости рта пародонтопатогенных микроорганизмов, обладающих повышенными адгезивными, инвазивными и токсическими свойствами, приводит к деструктивным изменениям всего комплекса поддерживающих структур зуба. Известно, что наиболее часто встречающимися являются пародонтопатогенные виды бактерий *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* и *Treponema denticola*. Развиваясь в суббиотопах полости рта, условно-патогенные и патогенные бактерии, образуют отдельный микробиоценоз (зубную бляшку), способствующий разрушению зубодесневого аппарата и

резорбции альвеолярной кости. [Simonson L.G. et al. 1992; Haffajee A.D. et al., 1994; Maiden M.F. et al., 2003; Царев В.Н. с соавт., 2004; Чепуркова О.А. с соавт., 2007].

Количество идентифицированных в настоящее время на поверхности зубов и слизистой оболочке рта видов бактерий, находящихся в динамическом равновесии и образующих микробиоценоз, превышает 700. [Tong K.Z. et al., 2003; Aas. J.A. et al., 2005; Wara-Aswapti N. et al., 2007; Queiroz-Junior C.M. et al., 2009]. Более половины представителей микробиоты полости рта не поддаются культивированию, поэтому данные о количественных соотношениях бактерий в настоящее время практически отсутствуют. Во многом последнее обусловлено недостаточной информативностью применяемых на современном этапе методов (микроскопических, бактериологических и др.), не позволяющих выявлять весь спектр анаэробных, микроаэрофильных и некультивируемых бактерий. Такая диагностика пародонита в настоящее время ограничивается констатацией очага уже необратимой инфекционной деструкции ткани. В этой связи представляется целесообразным использование молекулярно-генетических методов, не требующих выделения чистой культуры.

В практической стоматологии комплексное лечение воспалительно-деструктивных заболеваний пародонта чаще всего осуществляют с применением антибактериальных средств. Однако, длительное, бесконтрольное их применение приводит к многочисленным осложнениям: лекарственной толерантности, ослаблению лечебного эффекта, дисбактериозу полости рта и желудочно-кишечного тракта и т.д. Основные лечебные мероприятия направлены на купирование воспалительного процесса в пародонте, предупреждение распространения процесса вглубь, восстановление анатомической структуры пародонта, достижение стабильной ремиссии. [Григорьян А.С. с соавт., 2009; Ламонт Р.Дж. с соавт., 2010; Недосеко В.Б. с соавт., 2010; Gamboa F. Et al., 2013].

Следовательно, вопросы диагностики, профилактики и лечения воспалительных заболеваний пародонта остаются актуальными. Успех лечения напрямую зависит от своевременной диагностики, комплексного подхода к лечению, адекватного консервативного и хирургического лечения.

Современные молекулярно-генетические методы исследования открывают широкие возможности для ранней диагностики, оценки и прогнозирования лечения пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта. [Янушевич О.О. с соавт., 2010; Зорина О.А. с соавт., 2011; Иванюшко Т.П. с соавт., 2011; Eke P.I., 2011]. Ранняя и точная диагностика может позволить в будущем уменьшить распространение пародонтита и прогрессию его течения.

Цель исследования

Молекулярно-генетическое исследование состава и количественного содержания пародонтопатогенных микроорганизмов в ротовой полости пациентов для оценки эффективности лечения пародонтита.

Задачи исследования

1. Сбор клинического материала из пародонтальных карманов и слюны больных хроническим генерализованным пародонтитом средней и тяжелой степени тяжести.
2. Выделение бактериальной ДНК из собранного клинического материала.
3. ПЦР-анализ образцов ДНК, выделенных из клинических образцов больных пародонтитом на наличие участков генов 16S рРНК *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis* и *Streptococcus sobrinus*.
4. Количественный анализ методом ПЦР в режиме реального времени содержания участков генов 16S рРНК *Porphyromonas gingivalis*,

Treponema denticola, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis* и *Streptococcus sobrinus* в положительных клинических образцах больных пародонтитом до и после лечения.

Практическая значимость

Сконструирован калибровочный образец pAL-TAStrSob16S ($7,08 \times 10^{11}$ копий ДНК/мл) для количественного определения содержания пародонтопатогенных бактерий *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus sobrinus* в выравненных по объему клинических образцах с помощью метода ПЦР в режиме реального времени.

Область применения результатов исследования

Идентификация основных возбудителей пародонтита методом ПЦР и количественная оценка эффективности терапии методом ПЦР в режиме реального времени может стать основой при ранней диагностики, постановки диагноза, мониторинга и прогнозирования течения воспалительных заболеваний пародонта.

ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Современные представления о пародонтите

Пародонтит — это инфекционно-воспалительное поражение всего комплекса поддерживающих структур зубов (пародонта) с прогрессирующей деструкцией десны, пародонтальной связки и альвеолярной кости, ведущее к выпадению зубов. Воспалительные заболевания пародонта являются одной из важнейших проблем современной стоматологии вследствие высокой распространенности среди взрослого населения, недостаточной эффективности лечения и высокой частоты рецидивов [Парунова С.Н., 2004; Almstahl A. Et al., 2005; Darby L.B. et al., 2005; Ramich T. et al., 2014]. Постоянное действие предрасполагающих факторов (системных, социальных, ятрогенных, местных условий полости рта и др.) на фоне неблагополучия окружающей среды чрезвычайно часто приводят к развитию пародонтопатий во всех возрастных группах [Балмасова И.П. с соавт., 2013]. По некоторым данным распространенность патологии пародонта среди взрослого населения Российской Федерации достигает 95-100% и не имеет тенденции к снижению [Гажва С. И. с соавт., 2012].

Клиническая картина фазы обострения пародонтита характеризуется деструкцией альвеолярной кости, смещением и подвижностью зубов, возникновением пародонтальных карманов с потерей зубодесневого прикрепления, наличием абсцессов, серозно-гнойного экссудата в области десневых карманов, а также воспаления и кровоточивости десен [Рабинович И.М. с соавт., 2000; Ефимович О.И., 2002; Плахтий Л.Я., 2002]. Для оценки функционального состояния тканей пародонта определяют гигиеническое состояние полости рта, интенсивность и локализованность воспалительной реакции, измеряют глубину пародонтальных карманов, оценивают уменьшение клинического прикрепления [Грудянов А.И. с соавт., 2009].

Многими исследователями показана полиэтиологическая природа заболеваний пародонта, однако большая роль в прогрессировании пародонтита принадлежит микробиоте полости рта, поскольку видоспецифические особенности метаболизма составляющих её микроорганизмов оказывают существенное патологическое воздействие на течение воспалительного процесса в пародонте [Ковалчук Л.В. с соавт., 2000; Григорьян А. С. с соавт., 2004; Дмитриева Л. А. с соавт., 2004; Зайрятъянц О.В. с соавт., 2007].

В 1994-1995 гг. ВОЗ рекомендовала в ряду нормальной или резидентной флоры полости рта выделять так называемые «пародонтопатогенные виды», которые отличаются от других высокими адгезивными, инвазивными и токсическими свойствами по отношению к тканям пародонта [Канканян А. П., 1998; Мюллер, Х. П., 2004]. Образуя микробные ассоциации [Косенко К.Н. с соавт., 2000; Цепов Л.М. с соавт., 2005; Зорина О.А с соавт., 2011; Добреньков Д.С., 2014; Вечерковская М.Ф., 2015], а именно зубные бляшки на поверхности зубов, пародонтопатогены производят некротизирующие ферменты (гиалуронидазу, коллагеназу, эластазу, фибринолизин и др.), способствующие нарушению целостности эпителиальных тканей, разрушению зубодесневого аппарата, сенсибилизации макроорганизма, изменению иммунореактивности и ассоциации с соматической патологией [Fowler E.B. et al., 2001; Булкина Н.В. с соавт., 2006; Cullinan M.P. et al., 2010; Лукиных Л.М. с соавт., 2011].

Под зубной бляшкой понимается специализированная бактериальная экосистема, формирующаяся в придесневых областях и межзубных промежутках, и обеспечивающая жизнеспособность всех микроорганизмов, входящих в её состав. В ряде исследований [Романов А.Е., 1998; Илюшина А. И., 2005] показано, что зубная бляшка формируется также и на поверхности пломб, причем видовой состав доминирующей флоры различен при использовании различных

пломбировочных материалов, контактирующих с десной, что может быть обусловлено отличающимися адгезивными свойствами у микроорганизмов. Формирование бляшки происходит спустя 2 часа после чистки зубов, причем сначала доминирует аэробная микрофлора и только по мере созревания бляшки – анаэробная. Полностью сформированная ассоциация образуется через 6-9 дней и представляет собой микробную массу бактерий, располагающихся около поверхности зуба строго под прямым углом. При продвижении бактериальной массы в апикальном направлении происходит углубление процесса, а именно пролиферация и погружной рост эпителия, разволокнение и разрушение волокон периодонта.

Показано [Косенко К.Н. с соавт., 2000; Цепов Л.М. с соавт., 2005; Зорина О.А. с соавт., 2011; Добреньков Д.С., 2014; Вечерковская М.Ф., 2015], что штаммы микроорганизмов, способные к образованию микробных ассоциаций на поверхности зубов и непосредственно участвующие в воспалительных процессах, характеризуются множественной резистентностью к широкоиспользуемым антибиотикам. Кроме того, биопленка, образуемая микроорганизмами, защищает их от действия факторов гуморального и клеточного иммунитета макроорганизма. Поэтому лечение пародонтита, а особенно хронического путем проведения системной антибиотикотерапии является недостаточным, так как возникает необходимость в удалении зубных отложений.

Состав зубных бляшек сильно варьирует у разных индивидуумов, причем данные различия определяются характером принимаемой пищи, промежутками между приемами пищи, гигиеническим уходом за полостью рта, шириной межзубных промежутков [Feng Z. et al., 2000; Lang N.P., 2009]. Также одной из не менее важных причин такого различия является количество и характер поступающих с пищей углеводов, которые способствуют накоплению в бляшке органических кислот. Установлено,

что сахароза значительно повышает рост микроорганизмов по сравнению с глюкозой, мальтозой, фруктозой и галактозой. При поступлении новых типов гликозилированных и частично гидролизованных углеводов изменяется синтез белков и полипептидов у бактерий, причем изменения в бактериальном сообществе происходят в течение нескольких часов, что дает возможность бактериям максимально использовать питательные ресурсы.

По результатам многочисленных микробиологических исследований были определены микробные пародонтальные комплексы, преобладающие при различных формах пародонтита. Принято выделять красный, оранжевый, зеленый, пурпурный и желтый комплексы. Они существенно отличаются по качественному и количественному составу, способствуют запуску множества патологических состояний в пародонте [Ламонт Р. Дж., 2010].

Красный комплекс включает пародонтопатогенные виды: *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis* и *Treponema denticola*. Присутствие бактерий данного комплекса в тканях пародонта обуславливает наличие следующих симптомов: болезненность и кровоточивость десен, наличие гнойного экссудата, выраженные деструктивные процессы. Высокая степень патогенности данных микроорганизмов обусловлена наличием факторов вирулентности - протеаз и гемагглютинина, способствующих активному внедрению и размножению микробов в ткани с последующим её разрушением.

Оранжевый комплекс обладает высокой патогенностью и представлен: *Campylobacter rectus*, *Campylobacter showae*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Eubacterium nodatum*, *Peptostreptococcus micros*. Продуцируя эндотоксины и различные виды энзимов, бактерии данного комплекса способствуют нарушению целостности мембран эпителиальных клеток и разрушению периодонтальной ткани. Также в ходе обмена веществ, пародонтопатогены

продуцируют метаболиты, необходимые для выживания более требовательных микроорганизмов красного комплекса.

Зеленый комплекс представляет собой сочетание пародонтопатогенов: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Capnocytophaga spp.*, *Campylobacter concisus*, *Eikenella corrodens*. Данные микроорганизмы являются ранними колонизаторами зубодесневых карманов и именно их совместное заселение может привести к развитию ювенильных и агрессивных форм пародонтита, а также к различного рода воспалительным заболеваниям слизистой оболочки полости рта. Очень высокая степень патогенности обусловлена способностью продуцировать фосфатазы, цитотоксин, лейкотоксин, оказывая иммуноподавляющее воздействие на организм.

Микроорганизмы, входящие в пурпурный (*Actinomyces odontoliticus*, *Veillonella parvulla*) и желтый (*Streptococcus mitis*, *Streptococcus israilis*, *Streptococcus sanguis*) пародонтальные комплексы являются представителями нормальной микрофлоры полости рта и в то же время предикторами прогрессирования заболевания. Это связано с интенсивным ростом и размножением бактерий в пародонтальных карманах при развитии воспалительных процессов.

Выделение этих комплексов не означает, что в их состав входят только перечисленные виды микроорганизмов, однако именно эти представители микробных сообществ являются биомаркерами текущей активности и прогрессирования заболевания.

1.2. Видовой состав постоянной микрофлоры полости рта.

Нормальная микрофлора полости рта играет не последнюю роль в защите организма человека от заболеваний. Оказывая многоплановое влияние на защитные, адаптационные и обменно-трофические механизмы, нормофлора обеспечивает поддержание и сохранение постоянства внутренней среды. Антагонистическая активность нормальной микробной флоры проявляется в отношении широкого круга грамположительных и

грамотрицательных бактерий и дрожжеподобных грибов. Благодаря нормальной аутофлоре происходит эндогенный синтез витаминов группы В, РР, К, С, улучшается синтез и всасывание витаминов D и Е, фолиевой и никотиновой кислот, поступивших в организм с пищей. Также представители естественной флоры тормозят декарбоксилирование пищевого гистидина, уменьшая тем самым синтез гистамина, и, следовательно, снижают аллергический потенциал пищевых продуктов [Aas J.A. et al., 2005].

Микробиоценоз ротовой полости представлен разнообразными видами кокков, палочек и извитых форм. По данным ряда авторов [Bauenneister C.D., 2003; Darby L.B. et al., 2005] бактерии с анаэробным типом дыхания составляют около 75% всей бактериальной флоры полости рта и в норме соотношение анаэробных и аэробных микроорганизмов в полости рта — 10:1. Около половины представителей резидентной флоры являются факультативными и облигатно-анаэробными стрептококками, которые включают в свой состав *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus sobrinus* и пептострептококки. Другая половина нормальной флоры состоит из вейлонелл, дифтероидов и бактероидов. К второстепенным представителям резидентной флоры относятся лактобациллы, стафилококки, спирохеты, фузобактерии, энтерококки, дрожжи, грибы, простейшие. Относительно встречаемости энтерококков в полости рта мнения различны. Если одни авторы рассматривают их как постоянных обитателей, то В. Г. Петровская и О. П. Марко [1976] считают, что наличие кишечных бактерий в полости рта можно расценивать как сигнал о возможном неблагополучии, о снижении иммунологической реактивности организма. Увеличение количества условно-патогенных микроорганизмов у практически здоровых людей оценивается большинством исследователей как проявление дисбактериоза.

Среди представителей нормального микробиоценоза полости рта наибольшая физиологическая значимость принадлежит роду *Lactobacillus*, который представлен здесь более чем 10 видами [Keijser B.F. et al., 2008; Dewhirst F.E. et al., 2010]. Лактобактерии подавляют рост и размножение представителей посторонней микрофлоры, предотвращают приживление последних, блокируя рецепторы клеток слизистых оболочек от адгезинов потенциально патогенных бактерий [Salvetti E. Et al., 2012; Ishihara Y. et al., 2014]. Наиболее выражена антагонистическая активность у вида *Lactobacillus casei*, связанная с присутствием в ее культуральной жидкости метаболитов с антибиотическим действием: органических кислот (молочной, уксусной, альфа-кетоглутаровой и янтарной), пептидных соединений и липофильной субстанции. Другие виды молочнокислых бактерий *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus casei* стимулируют иммунные реакции, способствуют повышенной активности натуральных киллеров и продукции антителообразующих клеток [Paster B.J. et al., 2006; Papaioannou W. et al., 2009].

Активная жизнедеятельность молочнокислых бактерий создает среду, благоприятную для развития нормальной микрофлоры, в том числе и для бифидобактерий, играющих определяющую роль в регуляции и стабильности нормобиоценоза. Полагается, что именно бифидобактерии препятствуют развитию патогенной, гнилостной и газообразующей микрофлоры, продуцируя молочную кислоту, бактериоцины и перекись водорода [Almstahl A. et al., 2005]. Бифидобактерии имеют в составе клеточной стенки мурамилдипептид, высвобождение которого стимулирует лимфоидный аппарат, синтез иммуноглобулинов, увеличивают уровень пропердина и комплемента, повышает активность лизоцима и способствует уменьшению проницаемости сосудисто-тканевых барьеров для токсических продуктов патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, препятствует развитию бактериемии и сепсиса.

Специфический антагонизм молочнокислых бактерий не сводится полностью к действию производимых ими органических кислот; нормальная микрофлора также синтезирует антибиотики, не обладающие, к сожалению, особо выраженной активностью. Так, например, *Streptococcus lactis* выделяет низин, *Streptococcus cremosus* — диплококцин, *Lactobacillus acidophilus* — ацидофилин и лактоцидин, *Lactobacillus plantarum* — лактолин, *Lactobacillus brevis* — бревин [Al-Otaibi F.E. et al., 2014].

Компенсаторные возможности симбионтной микрофлоры не беспредельны, и под влиянием различных факторов динамическое равновесие между нормальной и патогенной флорой полости рта может быть нарушено. Так, расстройство глотания, жевания и слюноотделения всегда приводит к нарастанию количества патогенных микроорганизмов в полости рта. В результате наступает резкое угнетение представителей постоянной флоры и может развиваться дисбактериоз. Этим термином в настоящее время обозначают качественные и/или количественные изменения нормальной микрофлоры, возникающие в результате воздействия на организм различных факторов экзогенного или эндогенного характера.

Нередко изменение бактериоценоза полости рта является следствием приема антибиотиков, что приводит к быстрому изменению видового и количественного состава микрофлоры с преобладанием некоторых видов микробов, в том числе дрожжеподобных грибов *Candida* [Haffajee A.D., 2006; Haffajee A. et al., 2006;], которые лишаясь конкурентов и антагонистов получают возможность к ускоренному росту, адгезии и колонизации. Аналогичная картина с бактериями рода *Proteus*, которые обладают высокой гемолитической, гиалуронидазной, протеолитической и лецитиназной активностью, и увеличиваются в количестве в результате нерациональной антибиотикотерапии, оказывая угнетающее действие на представителей нормальной микрофлоры. Находясь в ассоциациях с

патогенными и условно-патогенными микроорганизмами, протей усиливает их действие на макроорганизм [Плахтий Л.Я., 2002].

1.3. Микрофлора полости рта при пародонтите

Важная роль микробного фактора в этиологии и патогенезе воспалительных заболеваний пародонта определяет актуальность исследований в этом направлении. Вирулентность пародонтопатогенных микроорганизмов обусловлена факторами адгезии, колонизации и инвазии [Парунова Н., 2004; Царев В.Н., Ушаков Р.В., 2004; Николаева Е.Н., 2005; Грудянов А.И., 2009]. Одним из важных этапов развития воспаления в пародонте является транслокация бактерий из зубной бляшки в десну с последующим инфицированием прилежащих тканей. При этом микроорганизмы преодолевают защитные барьеры полости рта и пародонта. Следующий этап альтерации колонизированных тканей является результатом дальнейшего межклеточного и тканевого взаимодействия возбудителей и организма-хозяина. Течение этого этапа зависит как от повреждающего действия микробов, так и от ответной реакции макроорганизма на внедрившиеся пародонтопатогенные бактерии [Цепов Л.М. с соавт., 2005; Чепуркова О.А. с соавт., 2007].

Выделяя активные вещества в окружающее пространство, пародонтопатогены оказывают прямое и опосредованное повреждающее действие [Kreth J. et al., 2009; Redanz S. et al., 2011]. К таким веществам относятся эндотоксин, представляющий собой липополисахаридный комплекс клеточной стенки большинства грамотрицательных бактерий и обладающий устойчивостью к температурным воздействиям и способностью активировать систему комплемента, лейкоциты, выделяющие простагландины, лейкотриены, свободные радикалы и другие токсические продукты, направленные на разрушение бактериальных патогенов и одновременно приводящие к воспалительным и деструктивным поражениям тканей пародонта [Kelk P. et al., 2005].

Помимо эндотоксинов, представители пародонтальной микробиоты способны вырабатывать токсические вещества, вызывающие целевую деструкцию тканей и участвующие в механизмах образования пародонтальных карманов. К ним относятся меркаптены, жирные кислоты и гидролитические ферменты, разрушающие тканевые структуры, а именно соединительную ткань (протеиназа, коллагеназа), эпителиальные структуры (кератиназа), жировую ткань (фосфолипаза), поверхностные структуры клеток (нейраминидаза), [Haffajee A.D. et al., 2004]. Наиболее активными являются микробные протеазы, присутствующие при заболеваниях пародонта в большом количестве и разрушающие иммуноглобулины классов IgA и IgG, тем самым снижая барьерную функцию слизистой оболочки полости рта и облегчая проникновение в ткани токсических продуктов, литических ферментов, поддесневой микрофлоры [Filoche S. et al., 2004]. Предполагается, что энзимы при накоплении в значительных количествах, и, действуя совместно с тканевыми протеазами и протеазами из аккумулированных лейкоцитов, могут вызывать значительную деструкцию тканей [Mori Y. et al., 2003].

Установлено, что в местах наибольшей деструкции пародонта чаще всего встречаются «истинные» пародонтопатогенные виды *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, а также представители условно-патогенной микрофлоры полости рта *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus sobrinus*.

Класс *Bacteroidia*, Порядок *Bacteroidales*, Семейство *Porphyromonadaceae*, род *Porphyromonas*, вид *Porphyromonas gingivalis*.

Porphyromonas gingivalis – грамотрицательные неподвижные палочки, расположенные в виде отдельных клеток, парами или короткими цепочками. Облигатные анаэробы. Пародонтопатоген прихотлив, растет в анаэробных условиях, на питательных средах формирует небольшие черные колонии, которые трудно обнаружить. Поверхность *Porphyromonas gingivalis* покрыта перитрихиальными фимбриями, выполняющими

существенную роль в адгезии к эпителиоциту, колонизации и деструкции пародонта [Amano A. et al., 2004]. Этот микроорганизм устойчив к амоксициллину, поэтому рекомендуемой терапией является применение SRP в комбинации с метронидазолом, либо, в случае непереносимости или устойчивости, с клиндамицином.

Многочисленными исследованиями *in vivo* показана причастность фимбрий к развитию инфекционного процесса ввиду их способности проникать в эпителиальные и эндотелиальные клетки десны. Внутриклеточно расположенные *Porphyromonas gingivalis* способны подчинить себе метаболизм клетки хозяина, а также подавить секрецию интерлейкина-8 [Reynolds H. Y. et al., 2002] и миграцию полиморфноядерных лейкоцитов через эпителиальный барьер [Koehler A. et al., 2003]. В создавшихся условиях макроорганизм лишается сигнала о присутствии патогенной флоры и не направляет лейкоциты для их уничтожения, что в целом приводит к ослаблению естественной защиты пародонта.

Также *Porphyromonas gingivalis* продуцирует большое количество аргинин- и лизинспецифических протеиназ в растворимой (Kgp) и мембраносвязанной (Rgp) форме. Эти ферменты, объединенные название «гингипаин», участвуют в разрушении соединительных тканей пародонта, апоптозе клеток и возникновении воспалительных процессов [Kolenbrander P. K. Et al., 2002]. Кроме гингипаина, весьма вероятным кандидатом на роль патогенного фактора *Porphyromonas gingivalis* является фимбрилин — филаментозный компонент клеточной поверхности, играющий важную роль в колонизации и проникновении этого микроорганизма в ткани пародонта.

Обнаружение *Porphyromonas gingivalis* в содержимом пародонтальных карманов пациентов является диагностически значимым показателем и указывает на риск прогрессирования хронического генерализованного пародонтита, так как содержание этого

пародонтопатогена последовательно возрастает при прогрессировании патологического процесса в зависимости от степени тяжести.

Статистические данные ряда авторов, занимающихся данной проблемой, имеют несущественные расхождения: *Porphyromonas gingivalis* обычно обнаруживается в содержимом пародонтальных карманов у больных пародонтитом с частотой встречаемости 50% [Вострикова С.А. с соавт., 2008], 60% [Rasmussen L. et al., 2000], 90% [Зорина О.А. с соавт., 2014].

Класс *Spirochaetes*, Порядок *Spirochaetales*, Семейство *Treponemataceae*, род *Treponema*, вид *Treponema denticola*.

Treponema denticola – грамотрицательные тонкие спиральные палочки, изогнутые на концах, подвижны. Облигатные анаэробы. Микроорганизм прихотлив, растет в анаэробных условиях, на питательных средах с пептоном, дрожжевым экстрактом и сывороткой формирует белые диффузные колонии, которые легко обнаружить. Подвижность *Treponema denticola* считается ключевым фактором вирулентности, поскольку неподвижные мутанты неспособны инфицировать ткани организма-хозяина. Этот микроорганизм также, как и пародонтопатогенный вид *Porphyromonas gingivalis* устойчив к амоксициллину, поэтому рекомендуемой терапией также является применение SRP в комбинации с метронидазолом, либо, в случае непереносимости или устойчивости, с клиндамицином.

Располагаясь в микробных бляшках придесневой области и межзубных промежутков, индуцирует деполимеризацию и реаранжировку актиновых микрофиламентов, наряду с ослаблением крепления самих эпителиоцитов [Amin M. Et al., 2004; Armitage G.C., 2004]. Поверхностный адгезин Msp способен перемещаться в мембрану эпителиоцита с ее последующей деполяризацией и образованием ионных каналов, приводя к нарушению функции эпителиоцитов [Gonzales J.R. et al., 2003].

Доказана способность *Treponema denticola* активировать макрофаги, которые в свою очередь выделяют вещества, способствующие резорбции коллагена (закись азота и цитокины). На фоне нарушенной функции нейтрофилов *Treponema denticola* вызывает глубокие очаги поражения [Gomes S.C., 2006].

К вирулентным факторам пародонтопатогена относится также способность агглютинировать и лизировать эритроциты [Hashimoto M. Et al., 2003], прикрепляясь к эндотелию и связываться с клетками на всем их протяжении, способствовать продукции металлопротеиназ из полиморфно-ядерных лейкоцитов, вызывая деструкцию межклеточного вещества соединительной ткани [Heitz-Mayfield L.J., 2005]. Также *Treponema denticola* образует агрегаты с *Porphyromonas gingivalis* и *Fusobacterium spp.*, что может иметь значение для формирования зубной бляшки, а также для питания бактерий [Heitz-Mayfield L. J., 2006].

Статистические данные ряда авторов, занимающихся данной проблемой, имеют несущественные расхождения: *Treponema denticola* обычно обнаруживается в содержимом пародонтальных карманов пациентов у больных пародонтитом с частотой встречаемости 80% [Jansson H., 2006], 70% [Irwin C. Et al., 2007], 75% [Зорина О.А. с соавт., 2014].

Класс *Bacilli*, Порядок *Lactobacillales*, Семейство *Streptococcaceae*, род *Streptococcus*, виды *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus sobrinus*.

Бактерии рода *Streptococcus* – грамположительные кокки неправильной округлой формы, располагающиеся в виде цепочек или попарно. Факультативные анаэробы. На питательных средах (кровяной агар) идентифицируются как мелкие блестящие колонии. Обитая в десневых карманах, виды *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus sobrinus* очень чутко реагируют на снижение местных защитных свойств организма (недостаточная гигиена, общие болезни).

Микроорганизмы начинают активно размножаться, вызывая воспаление десен и пародонта [Oho T. et al., 2000; Mattos-Graner R. O. et al. 2001].

Формирование бактериями вида *Streptococcus sobrinus* в ходе метаболизма экзополисахаридов приводит к стабильному связыванию бактерий с поверхностью зуба, а также агрегации других микроорганизмов полости рта [Ramos-Gomez F. J. et al., 2002]. Поскольку сахароза является одним из основных источников энергии для *Streptococcus sobrinus*, большое внимание уделяется механизму и регулированию поглощения углеводов. Для данного микроорганизма характерно наличие нескольких систем включения сахарозы в метаболизм, что позволяет микроорганизму быстро адаптироваться к колебаниям концентрации сахарозы в ротовой полости [Tanner A. C. R. Et al., 2002; Tedjosasongko, U. et al. 2002; Conrads G. et al., 2014].

Рядом авторов [Corraini P. et al., 2012.] были проведены исследования, показавшие высокую вероятность (80%) вертикальной передачи штаммов *Streptococcus sobrinus* и *Streptococcus mutans*, от матери к плоду. Полученные результаты позволяют предположить, что мать, являющаяся носителем пародонтопатогенной микрофлоры, а именно *Streptococcus sobrinus* и *Streptococcus mutans*, является основным первичным источником инфекции для детей.

Бактерии рода *Streptococcus* очень чувствительны к пенициллину и антибиотикам цефалоспоринового ряда (цефалексин, цефаклор, цефизим, цефподоксим, лоракарбеф и др.), в случае непереносимости пенициллинов и цефалоспоринов препаратами выбора будут служить антибиотики-макролиды (азитромицин, кларитромицин). Современные полусинтетические пенициллины (амоксициллин, амоксициллин-клавуланат, клоксациллин и диклоксациллин) эффективнее своего предшественника — пенициллина.

1.4. Лабораторная диагностика пародонтита

1.4.1. Классификация Хазановой В.В., 1993

Нарушение количественных соотношений между нормальной и условно-патогенной микрофлорой приводит к развитию дисбиотических состояний и характеризуется значительным снижением количества лакто- и бифидобактерий и ростом условно-патогенных микроорганизмов. Классификация Хазановой В. В. и соавт. (1993) позволяет успешно дифференцировать 4 степени пародонтита (дисбиоз полости рта): дисбиоз полости рта I-II степени (компенсированный), III степени (субкомпенсированный) и дисбиоз полости рта IV степени (декомпенсированный) с формулировкой соответствующего врачебного лабораторного заключения (таблица 1).

Таблица 1

Лабораторная классификация дисбиозов полости рта по степени выраженности (тяжести) Хазановой В. В. и соавт., 1993

Степень выраженности (тяжести) дисбиоза полости рта	Критерий	Количественная оценка
Дисбиотический сдвиг	Лактобациллярная микрофлора	- в большом количестве (количественно превалируют)
	Условно-патогенная микрофлора	- представлены единичными бактериальными клетками или не обнаруживаются
	Клинические проявления	- не обнаруживаются
I-II степени (компенсированный)	Лактобациллярная микрофлора	- снижение общего количества
	Условно-патогенная микрофлора	- представлены единичными бактериальными клетками
	Клинические проявления	- обнаруживаются
III степень (субкомпенсированный)	Лактобациллярная микрофлора	- снижение общего количества или полное отсутствие
	Условно-патогенная микрофлора	- значительное увеличение количества, образование патогенной монокультуры
	Клинические проявления	- обнаруживаются
IV степень (декомпенсированный)	Лактобациллярная микрофлора	- снижение общего количества или полное отсутствие
	Условно-патогенная микрофлора	- образование патогенной монокультуры, наличие

Степень выраженности (тяжести) дисбиоза полости рта	Критерий	Количественная оценка
		ассоциаций патогенных бактерий с дрожжеподобными грибами рода <i>Candida</i>
	Клинические проявления	- обнаруживаются

1.4.2. Микробиологические методы диагностики

Микробиологические методы диагностики направлены на качественную и количественную оценку состава микробиоты пародонтальных карманов. Данное исследование целесообразно в случае возможности получения четких и достоверных данных. Наиболее часто в клинической практике применяется метод секторных посевов по J. C. Gould (1965). Для определения количественного состава микроорганизмов с помощью данного метода клинический материал собирают стерильным стандартным диском диаметром 6 мм, изготовленного из целлофановой пленки толщиной 40 мкм. Согнутый пополам диск вводят пуговчатым зондом в пародонтальный карман экспозицией не менее 1 минуты. В течение всего времени пространство между согнутыми краями диска заполняется содержимым пародонтального кармана. Затем диск извлекают пинцетом и помещают в пробирку типа Eppendorf с фосфатным буфером. Делают посев на питательную среду и оценивают количественный состав микроорганизмов по числу микроколоний на единицу площади диска.

1.4.3. Оптические методы диагностики

Оптические методы всегда занимали значительное место среди всего арсенала методов лабораторной диагностики стоматологических заболеваний в силу их доступности и информативности. Гистологическое исследование биоптатов пораженных тканей было и остается «золотым стандартом» диагностики. В последние десятилетия микроскопическая техника претерпела значительные изменения, позволяющие говорить о

современных способах микроскопического исследования как о научном методе, так и о способе неинвазивной прижизненной диагностики стоматологических заболеваний.

Среди современных оптических методов диагностики воспалительных заболеваний пародонта особое значение в медицине приобрели конфокальная микроскопия, сканирующая микроскопия ионной проводимости, а также электронная микроскопия [Царев В.Н. с соавт., 2011]. Исследование с помощью метода фазовоконтрастной микроскопии заключается в определении процентного содержания пяти морфологических форм микроорганизмов (кокки, подвижные палочки, неподвижные палочки, извитые формы, филаменты). Отсутствие поражения в тканях пародонта сочетается в основном с кокковой флорой и низким количеством подвижных бактерий, а при заболеваниях преобладают палочки, подвижные бактерии и спирохеты.

Дополнительно рассчитывают коэффициент устойчивости (КУ) микроорганизмов как соотношение неподвижных и подвижных форм микроорганизмов (в норме КУ равен 3,4). Подобная количественная оценка позволяет оценить эффективность подобранной терапии и в случае рецидивов изменить тактику лечения. Однако далеко не всегда этот показатель коррелирует с выраженным улучшением клинического состояния пациента. Следовательно, этот данный метод необходимо использовать в комплексе с другими способами диагностики.

1.4.4. Иммунологические методы диагностики

Использование иммунологических методов при диагностике пародонтопатий обусловлено высокими информативностью, чувствительностью и специфичностью диагностики. Исследование базируется на использовании методов иммуноанализа, а именно применении меченых молекулами флюорохромов моноклональных и поликлональных антител. Таким образом определяют провоспалительные

цитокины, молекулярные продукты деградации соединительной ткани и костной ткани.

Наиболее широко используется иммуноферментный анализ (ИФА, ELISA) — метод выявления антигенов или антител, основанный на определении комплекса антиген — антитело за счет введения в один из компонентов реакции ферментативной метки с последующей ее детекцией с помощью соответствующего субстрата, изменяющего свою окраску. Основой проведения любого варианта ИФА служит определение продуктов ферментативных реакций при исследовании тестируемых образцов в сравнении с негативными и позитивными контролями. Иммуноферментный метод нашел широкое применение в стоматологии, в частности для определения биомаркеров заболеваний полости рта инфекционно-воспалительной природы, а цитокинов [Holmlund A. et al., 2004; Horst O.V. et al., 2009; Elsalhy M. et al., 2012], протеогликанов [Shibutani T. et al., 1993], пептидных продуктов тканевой деструкции [Wilson A.N. et al., 2003].

1.4.5. Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

К числу наиболее часто используемых методов молекулярной биологии относится полимеразная цепная реакция (ПЦР). Метод ПЦР изобрел в 1983 г. американский ученый Кэри Мюллис, получивший впоследствии за это изобретение Нобелевскую премию. Сущность метода заключается в том, что он имитирует естественную репликацию нуклеиновых кислот и позволяет получать фрагменты последовательности ДНК, характерные для того или иного микроорганизма, в количествах, достаточных для их распознавания. В соответствии с этим принципом проведение ПЦР-анализа включает в себя три основных этапа: пробоподготовка (выделение нуклеиновых кислот ДНК/РНК из клинического материала), амплификация (экспоненциальное увеличение количества целевых участков ДНК), регистрация и интерпретация

поученных результатов. Детекция продуктов амплификации осуществляется путем проведения электрофореза в агарозном геле, гибридизации со специфическим олигонуклеотидным зондом, с использованием метода масс-спектрометрии и т.д. [Патрушев Л.И., 2005].

На сегодняшний день метод ПЦР и его модификации очень широко используются в стоматологической практике, в том числе и для диагностики воспалительных заболеваний пародонта. Метод позволяет определять экспрессию генов, регулирующих образование рецепторов или секреторных продуктов в клетке, идентифицировать в остеокластах альвеолярных отростков генов, регулирующих нарушенный синтез коллагена I типа с образованием телопептидов [Kinney J.S. et al., 2007], проводить качественный и количественный анализ микробиоты суббиотопов полости рта [Socransky S.S. et al., 2000].

ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследования

В исследование были включены 165 пациентов (59 мужчин и 106 женщин) в возрасте от 29 до 74 лет, которые составили группу наблюдения. Из них 91 (55,2%) обратились за помощью впервые, 74 (44,8%) человека ранее лечились и посещали стоматологический кабинет не менее 1 раза в год. По данным анамнеза продолжительность заболевания составляла от нескольких месяцев до 15 лет. По степени тяжести у 129 (78,2%) пациентов диагностирован хронический генерализованный пародонтит средней степени тяжести (I группа), у 36 (21,8%) пациентов – пародонтит тяжелой степени (II группа) (таблица 2).

Критериями включения в исследование являлись: установление у пациента ХГП средней или тяжелой степени, без наличия фоновой патологии или с таковой. При включении в исследование учитывали возраст пациентов — от 35 до 70 лет, а также строгое соблюдение назначений и рекомендаций (по приему препаратов и гигиене полости рта).

Все пациенты, включенные в исследование, в полном объеме и в доступной форме были проинформированы о проводимых методах обследования и лечения. Каждым участником исследования было подписано добровольное информированное согласие на участие в нем.

Пациентам был проведен стандартный стоматологический осмотр с определением формы и степени поражения, характеризующиеся воспалением и деструкцией тканей пародонта, экссудацией из пародонтального кармана, кровоточивостью десен при чистке зубов. Для объективной оценки клинического состояния пародонта учитывались гигиенические индексы: индекс Грина-Вермиллиона (OHI-S, Green-

Vermillion, 1964), индекс РМА (Schour J., Massler M., 1948; Massler M., 1967), индекс СРІТН (ВООЗ, 1989).

На следующем этапе был проведен инструктаж по чистке зубов, подбору индивидуальных средств гигиены полости рта, а также информирование и мотивирование по предстоящему лечению. Убедившись в правильности всех манипуляций, приступали к лечению. Лечение проводилось по трем схемам: 1) однократное терапевтическое воздействие ультразвуком при помощи прибора «Vector» («Durr Dental», Германия) на поверхности зубодесневых карманов и корня; 2) ежедневно однократное введение инъекционного раствора антибиотика и анестетика (1 мл 30% р-ра линкомицина гидрохлорида в смеси с 0,2 мл 2% р-ра лидокаина гидрохлорида, ex tempore); 3) комплексная терапия, включающая ультразвуковое воздействие при помощи прибора «Vector» и антибиотикотерапию. Лечение проводилось в течение 10 дней.

Таблица 2

Распределение пациентов в зависимости от диагноза и тактики лечения

Тактика лечения	I группа – с ХГП средней степени тяжести, N=129	II группа – с ХГП тяжелой степени тяжести, N=36
Системная антибиотикотерапия	43	11
Использование прибора «Vector»	36	9
Применение комбинированного лечения «Vector + антибиотикотерапия	50	16

Материал для молекулярно-генетического исследования - содержимое пародонтального кармана зубов и ротовая жидкость. Содержимое пародонтального кармана отбирали стерильным бумажным эндодонтическим штифтом (размер №25), который вводили пинцетом в пародонтальный карман в наиболее глубокие участки на 10 секунд и затем помещали в стерильную пластиковую пробирку типа Eppendorf (1,5 мл),

содержащую 1 мл физиологического раствора. Забор проводили в двух повторностях для каждого пациента.

Транспортировали образцы в лабораторию при +4°C в течение 2 часов в термоконтейнерах с хладагентом.

2.2. Выделение ДНК из клинических образцов

Для выделения тотальной ДНК микроорганизмов использовали ионообменную смолу Chelex100, приготовленную с использованием следующих реагентов: Triton X-100 (1%), Tween-20 (1%), Chelex 100, TRIS-HCl (pH 9,1, 100 mM), крезоловый красный, ddH₂O. Для этого растворить 0,5 г Chelex 100, 5 мл TRIS-HCl и 0,5 мл Triton X-100 в 50 мл в ddH₂O. Добавить щепотку красителя крезоловый красный и перемешать до полного растворения. Рекомендуется постоянно ресусцировать готовый реактив для растворения частичек, осевших на дно. Хранить реагент при температуре +4°C.

Ход работы:

1. Подготовить и расставить в штативе пробирки с клиническим материалом, необходимое количество одноразовых стерильных пробирок типа Eppendorf объемом 1,5 мл, промаркировать.
2. В каждую пробирку одним наконечником добавить по 200 мкл реактива. Рекомендуется использовать синие наконечники с отрезанным кончиком. Обязательно должен быть фильтр или вата. Если фильтр окрасится, необходимо поменять наконечник.
3. Внести по 50 мкл клинического образца, используя для каждой пробы отдельный наконечник с фильтром.
4. Тщательно ресусцировать пробирки на вортексе и затем поместить в термостат с температурой 95°C на 10 минут. После окончания инкубации необходимо повторно перемешать содержимое пробирок на вортексе.

5. Центрифугировать пробирки при 12 тыс об/мин в течение 5 мин на микроцентрифуге. Надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК. Пробы готовы к постановке ПЦР.

Полученные пробы можно хранить в течение 1 месяца, при условии хранения образцов в холодильнике при 4°C.

В дальнейшем полученную ДНК использовали в качестве матрицы для амплификации нужного участка гена 16S рРНК, выявляемого методом ПЦР.

2.3. Конструирование калибровочного образца

Калибровочный образец конструировали с использованием в качестве ДНК-матрицы плазмиды pAL-TA (3,0 т.п.н.) со вставкой участка гена 16S рРНК *Streptococcus sobrinus* (235 п.н.), в результате чего была получена плазмида pAL-TA_{StrSob16S}. Клонирование проводили по Маниатис Т. и соавт. [5]. Выделенная с помощью ионообменной смолы Chelex100 тотальная ДНК использовалась в качестве матрицы для проведения классической ПЦР с целью накопления участка гена 16S рРНК *Streptococcus sobrinus* (235 п.н.). Амплификацию проводили на термоцикlerе Терцик МС-2 («ДНК-Технология», Россия) с использованием пары видоспецифичных праймеров к выбранному участку следующей структуры:

5'caacgatacatagccgacctg 3'

5'ttagccgtccctttctggta 3'.

Выделение искомого амплифицированного участка из реакционной смеси проводили с применением набора для очистки ДНК («Цитокин», Санкт-Петербург). Полученный фрагмент клонировали с использованием векторной плазмиды pAL-TA. Для этого в стерильной микроцентрифужной пробирке готовили реакционную смесь для лигирования, включающую ДНК вектор и клонируемый фрагмент в эквимолярном соотношении, буфер для лигирования (конечная

концентрация - 66 мМ трис-HCl, pH 7,5, 5 мМ MgCl₂, 5 мМ дитиотрейтол, 1 мМ АТФ) и ДНК - лигазу фага T4 (1 ед/мкг ДНК) («Fermentas», Литва). Реакцию проводили при 4-10°C в течение ночи.

Для получения компетентных клеток культуру *Escherichia coli* XL1-Blue выращивали в среде LB при 37°C до середины логарифмической фазы роста. Клетки осаждали центрифугированием. Осадок ресуспендировали в 1/2 первоначального объема 10 мМ раствора CaCl₂, выдерживали 20 мин и после центрифугирования ресуспендировали в 1/50 первоначального объема 50 мМ CaCl₂. Через 12-24 ч хранения при 2-4°C 0,2 мл суспензии клеток смешивали с 10 мкл лигированной смеси и инкубировали 30-60 мин на льду. Трансформационную смесь переносили на 2 мин в водянную баню (42°C) (тепловой шок), добавляли к суспензии 1 мл среды LB, инкубировали 1 ч при 37°C, перемешивая каждые 15 минут. Центрифугировали 2 мин (4000 об./мин), отбирали 100 мкл трансформированных клеток и высевали на чашки с агаризованной средой LB, содержащей антибиотик ампициллин («Serva», ФРГ) в концентрации 100 мкг/мл, а также ИПТГ (конечная концентрация 200 мг/мл) и X-gal (конечная концентрация 20 мг/мл). Чашки инкубировали в течение 16-20 часов в термостате при 37°C и отбирали бесцветные колонии. Из 50 бесцветных колоний выделяли плазмидные ДНК и, используя их в качестве матриц, проводили классическую ПЦР.

Разделение продуктов амплификации осуществляли электрофоретически в 1,7%-ном горизонтальном агарозном геле («Sigma», США) с последующей визуализацией после окраски бромистым этидием ультрафиолетом в фотодокументационной системе. В качестве электролита для электрофореза применяли 50Х трис-ацетатный электродный буфер (2 М Tris-base, pH = 8,0; 1,56 М уксусная кислота, pH 7,6; 50 мМ ЭДТА, pH = 8,0). Одну из «положительных» колоний пересевали на чашки с агаризованной средой LB, содержащей антибиотик ампициллин (конечная концентрация 100 мкг/мл) и помещали в термостат

при 37°C на ночь. Бактериологической петлей забирали большую часть выросших колоний и переносили в пробирку типа Eppendorf (1,5 мл). Далее щелочным методом (лизисом) выделяли плазмиду из бактериальных клеток, используя следующие буферы: 1) для разделения клеток – 1 М TRIS, 1 М ЭДТА, сахароза; 2) для лизиса клеток – 10% SDS, 5 М NaOH; 3) для нейтрализации примесей – 5 М ацетата калия, 1,56 М уксусная кислота. Полученную плазмиду очищали от ферментов, ионов и молекул РНК. Для этого препарат ДНК обрабатывали РНК-азой (конечная концентрация 50 мкг/мл) в течение 16-20 часов при 4-10°C. Затем плазмиду растворяли в 25 мкл mQ и проводили препаративный электрофорез (элюцию), смешивая 25 мкл плазмиды и 20 мкл смеси красителей (бромфеноловый синий, ксиленцианол, 30% глицерин). После проведения элюции экстрагировали ДНК из вырезанных фрагментов агарозного геля, содержащих ДНК необходимой длины с помощью набора для очистки ДНК («Цитокин», Санкт-Петербург).

Чистоту и концентрацию препарата ДНК определяли спектрофотометрически с помощью флуориметра QUBIT ("Invitrogen", США) с использованием коммерческого набора реагентов Quant-iT DNA HS ("Invitrogen", США). Концентрация двухцепочной ДНК составила 2,48 мкг/мл ($7,08 \times 10^{11}$ копий ДНК/мл).

2.4. Конструирование положительных образцов

Положительные контрольные образцы получали встраиванием участков генов 16S рРНК пародонтопатогенных микроорганизмов *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus sobrinus* в вектор pAL-TA («Евроген», Москва) с последующей трансформацией и наработкой плазмиды в клетках *E.coli* XL1-Blue.

2.5. Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

Амплификацию участков ДНК осуществляли с использованием стандартных наборов на амплификаторе «Терцик МС-2», «ДНК-технология», г. Москва.

Таблица 3

Последовательности праймеров, температуры отжига и размеры ожидаемых продуктов

Объект (GenBank)	Название праймера	5'-3' последовательность	Темп. отжига	Ожидаемый размер продукта (п.н.)
<i>Porphyromonas gingivalis</i> (AE015924.1)	Ging F_Pr1 Ging R_Pr2	F: aaggcgtggtatcaaacag R: gggtaaggttcctcgctat	60°C	220
<i>Treponema denticola</i> (AE017226.1)	Dent F_Pr1 Dent R_Pr2	F: aatgaagaaggccgaaaggt R: tcaaggcagtacccaatgcag	60°C	245
<i>Streptococcus oralis</i> (FR720602.1)	Oral F_Pr1 Oral R_Pr2	F: cagctcggtcgatgt R: tccgaactgagactggctt	60°C	240
<i>Streptococcus sanguis</i> (CP000387.1)	Sang F_Pr1 Sang R_Pr2	F: tggacctcggtgtattagc R: ccactctcacacccgttctt	60°C	239
<i>Streptococcus sobrinus</i> (JMLC00000000.1)	Sobr F_Pr1 Sobr R_Pr2	F: caacgatacatagccgacctg R: ttagccgtcccttctggta	60°C	235

Ход работы:

1. Расположить в штативе буфер Таq-полимеразы, dNTP, растворы праймеров для разморозки, затем ресуспендировать на вортексе. Таq-полимеразу необходимо хранить в морозильнике, избегать долгого нахождения на рабочем месте без холодного штатива.
2. Отобрать пинцетом необходимое количество одноразовых стерильных полипропиленовых пробирок объемом 0,6 мл, промаркировать и расставить в штатив соответствующим образом.
3. Приготовить амплификационную смесь для общего количества анализируемых проб в пробирке на 1,5 мл и разлить по 22 мкл в каждую пробирку для амплификации на 0,6 мл.

Состав реакционной смеси для 1 пробирки: 2,5 мкл 10× Taq – буфера, 2,5 мкл раствора dNTP, по 1 мкл каждого праймера (10 праймеров по 1 о.е.), 0,5 мкл Taq-полимеразы, 14,5 мкл mQ

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

5. Во избежание испарения жидкости на поверхность каждой реакционной смеси насылаиваем 1 каплю минерального масла.

6. Пробирки закрыть, центрифугировать 5 с при 3000 об/мин на микроцентрифуге-вортекс.

7. Перенести пробирки в прогретый до 94°C амплификатор.

8. На ДНК-амплификаторе запустить необходимую программу со следующими параметрами:

	Температура	Время	Кол-во циклов
Начальная денатурация	95 °C	1 мин	1
Денатурация	95 °C	30 сек	30
Отжиг	60 °C	40 сек	
Элонгация	72 °C	20 сек	
Финальное удлинение	72 °C	2 мин	1
Хранение	10 °C	пауза	

2.6. Электрофорез

Электрофоретический анализ продуктов ПЦР в агарозном геле осуществляли с использованием стандартных наборов на сертифицированном оборудовании (Биоком, г. Москва) в 1,7% горизонтальном агарозном геле. Детекцию результатов проводили путем окрашивания агарозного геля бромистым этидием с последующей визуализацией при освещении УФ на трансиллюминаторе «УВТ-1» (Биоком, Россия). Документирование результатов проводили с использованием цифровой видеокамеры «Mintron» и программы «Biotest-D» (Биоком, Россия).

Агарозный гель-электрофорез проводили по следующей схеме:

1. Приготовить 1 л 2х-ногого ТАЕ буфера путем разбавления 50х-ногого ТАЕ буфера в дистиллированной воде. К 20 мл 50х-ногого ТАЕ буфера добавить 980 мл дистиллированной воды. Тщательно перемешать.

2. Взвесить 1,7 г агарозы и добавить 2 мл 50х-ногого ТАЕ буфера, перемешать и расплавить смесь в микроволновой печи в течение 2-3 минут. Периодически помешивать. Довести до кипения, но не допускать кипения более 10 секунд. Смесь в колбе должна стать прозрачного цвета.

3. Разлить агарозу на ровной поверхности в специальную форму (заливка) с одной или двумя пластиковыми гребенками, при этом толщина геля не должна быть менее 2 мм и не более 5 мм. Гель полностью застывает и может быть использован после 15-20 минут.

4. Налить в камеру для электрофореза необходимое количество 2х-ногого ТАЕ буфера, поместить в него застывший гель. Буфер должен полностью покрывать гель сверху на 2-10 мм.

5. Медленно нанести автоматической пипеткой пробу ДНК с красителем в лунку геля в последовательности, соответствующей нумерации проб. Благодаря глицерину раствор ДНК не будет всплывать из лунки.

6. Нанести автоматической пипеткой отрицательный контроль и маркерную лестницу в отдельные лунки.

7. Подключить клеммы прибора к источнику питания так, чтобы (–) находился на старте, а (+) – на финише.

8. Запустить электрофорез при помощи источника питания (Эльф-4, ДНК-Технология) при следующих параметрах: сила тока 400 мА, мощность 80Вт, напряжение 120 В. На старте пузырей должно быть больше, чем на финише. Контроль за электрофоретическим разделением осуществляется визуально по движению полосы красителя.

9. Электрофорез проводить в течение 20-50 минут, затем вынуть гель из формы и поместить в кювету для окрашивания. Налить в кювету слабый раствор бромистого этидия. Окрашивать в течение 5-7 мин.

10. Слить краситель в колбу. Промыть гель проточной водой. Поместить его на стекло УФ-трансиллюминатора. Включить трансиллюминатор и проанализировать результаты анализа. Сфотографировать гель при помощи цифрового фотоаппарата. Фрагменты анализируемой ДНК проявляются в виде светящихся оранжево-красных полос при облучении УФ-излучением с длиной волны 310 нм.

2.7. ПЦР в режиме реального времени

Для постановки ПЦР в режиме реального времени использовали пары видоспецифичных праймеров к фрагментам ДНК исследуемых микроорганизмов и 2,5х-ную реакционную смесь в присутствии SYBR Green I (ООО «СИНТОЛ», согласно инструкции производителя). ПЦР проводили с помощью детектирующего амплификатора CFX96 Touch "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 плазмида pAL-TAStRSoB16S известной концентрации. Реакцию амплификации проводили в 25 мкл смеси, содержащей 10 мкл 2,5х реакционной смеси ПЦР-Микс SYBR Green I, 9 мкл ddH₂O, 2 мкл каждого из пары праймеров и 2 мкл тотальной ДНК.

1. Подготовить и расставить 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. Отобрать пинцетом необходимое количество одноразовых стерильных полипропиленовых пробирок объемом 0,2 мл и расставить в штатив соответствующим образом.

3. В подготовленные одноразовые стерильные полипропиленовые пробирки внести по 9 мкл mQ, после чего внести по 10 мкл 2,5х-ной реакционной смеси, используя наконечники без фильтра.

4. Добавить в каждую пробирку по 2 мкл растворов праймеров, предварительно разведенных до 1 о.е.

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

6. Пробирки плотно закрыть, перемешать содержимое встряхиванием, затем перенести пробирки в амплификатор и расставить соответствующим образом.

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

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

8. По окончании амплификации по показателю индикаторного цикла рассчитать относительное количество ДНК исследуемого инфекционного агента.

ГЛАВА III. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Определение объема жидкости, впитываемого бумажным эндодонтическим штифтом (размер №25).

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. 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 испытуемой стороной к капилляру, содержащему 100 мкл дистиллированной воды, который затем устанавливали нижним концом на испытуемый 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 (таблица 4). Полученные при разной экспозиции объемы свидетельствуют, что за 10

секунд штифт впитывает 1 мкл жидкого содержимого пародонтального кармана. Данного объема клинического материала вполне достаточно для проведения ПЦР-анализа.

Таблица 4

Объем жидкости (мкл), впитываемый бумажным эндодонтическим штифтом (размер №25) в зависимости от экспозиции

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

Примечание: M – среднее значение, σ – стандартное отклонение; * – различие со значением в первой группе достоверно ($p<0,01$); ** – различие со значением в третьей группе достоверно ($p<0,01$).

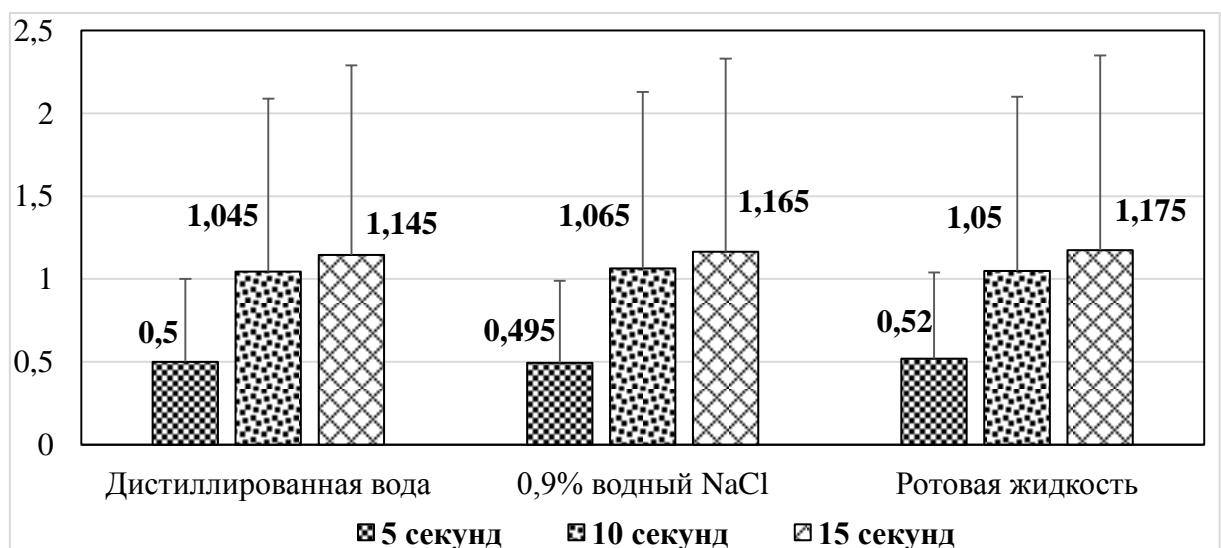


Рисунок 1. Средние объемы жидкости (мкл), впитываемые бумажным эндодонтическим штифтом (размер №25) в зависимости от экспозиции

3.2. Оценка частоты встречаемости пародонтопатогенных микроорганизмов у больных ХГП до проведения терапии.

Молекулярно-генетическое исследование содержимого пародонтальных карманов в группе больных хроническим генерализованным пародонтитом и в группе сравнения до лечения позволило выявить все виды исследуемых пародонтопатогенных бактерий: *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus sobrinus* (таблица 5).

Таблица 5
Частота выявления методом ПЦР патогенных и условно-патогенных бактерий в содержимом пародонтального кармана в исследуемых группах до лечения

Виды бактерий	Группа наблюдения (n = 165)		Группа сравнения (n = 62)	
	абс	%	абс	%
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	83	47,9 *	18	27,7
<i>Treponema denticola</i>	67	38,7	16	24,6
<i>Streptococcus oralis</i>	47	27,2	27	41,5
<i>Streptococcus sanguis</i>	21	46,8	31	47,7
<i>Streptococcus sobrinus</i>	125	72,3 *	29	44,6

Примечание: * – различие со значениями в группе сравнения достоверно (p < 0,001)

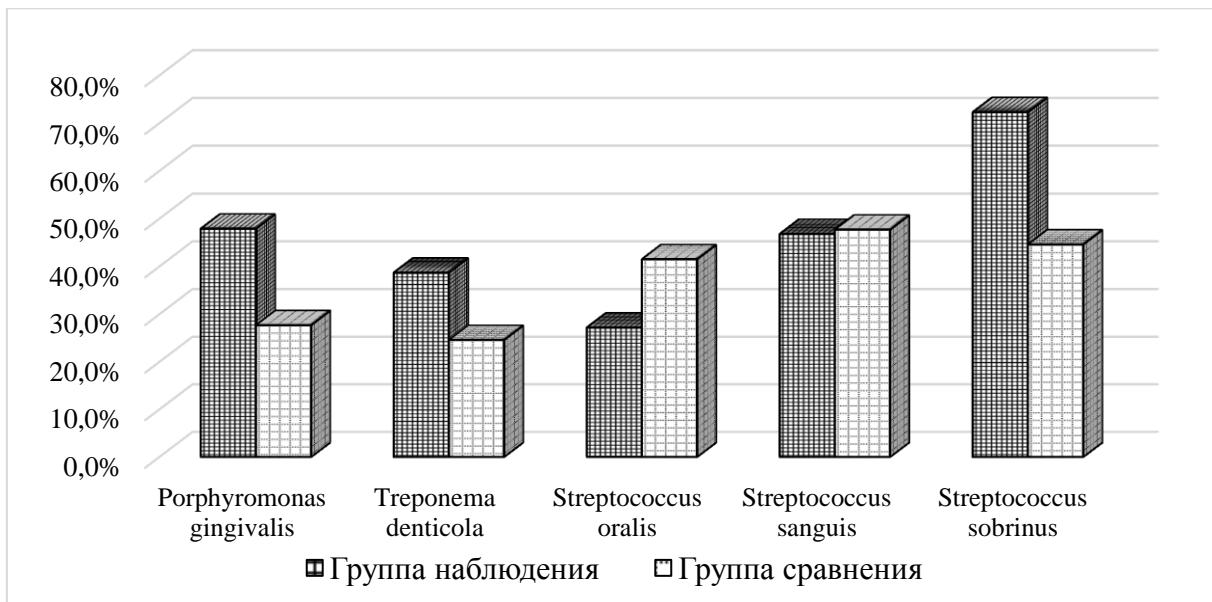


Рисунок 2. Частота встречаемости патогенных и условно-патогенных бактерий в содержимом пародонтальных карманов в исследуемых группах до лечения.

Наиболее часто у больных ХГП обнаруживались виды *Streptococcus sobrinus* (72,3%), *Porphyromonas gingivalis* (47,9%) и *Streptococcus sanguis* (46,8%). Однако только у пародонтопатогенов *Streptococcus sobrinus* (на 27,7%, $\chi^2 = 20,05$, $p = 0,001$) и *Porphyromonas gingivalis* (на 20,2%, $\chi^2 = 16,08$, $p = 0,001$) встречаемость в группе наблюдения была достоверно выше, чем в группе сравнения.

При молекулярно-генетическом исследовании образцов слюны (таблица 6) у больных пародонтитом наиболее часто обнаруживались виды *Streptococcus sobrinus* (60,1%), *Streptococcus sanguis* (60,1%) и *Porphyromonas gingivalis* (39,3%). Однако достоверно выше в слюне пациентов встречались виды пародонтопатогенов - *Streptococcus sobrinus* (на 19,8%, $\chi^2 = 21,59$, $p = 0,001$) и *Treponema denticola* (на 14,3%, $\chi^2 = 21,63$, $p = 0,001$).

Таблица 6

Частота выявления методом ПЦР пародонтопатогенных бактерий в слюне в исследуемых группах до лечения

Виды бактерий	Группа наблюдения (n = 165)		Группа сравнения (n = 62)	
	абс	%	абс	%
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	68	39,3	17	26,2
<i>Treponema denticola</i>	54	31,2 *	11	16,9
<i>Streptococcus oralis</i>	36	20,8	23	35,4
<i>Streptococcus sanguis</i>	104	60,1	26	40,0
<i>Streptococcus sobrinus</i>	106	61,3 *	27	41,5

Примечание: * – различие со значениями в группе сравнения достоверно ($p < 0,001$)

Сравнительный анализ данных, полученных при исследовании содержимого пародонтальных карманов и слюны в группе больных показал, что в содержимом пародонтального кармана частота выявления большинства исследованных микроорганизмов несколько превышала таковые в слюне, однако эти различия были недостоверны. В группе сравнения данные, полученные при исследовании содержимого пародонтальных карманов и слюны, также достоверно не отличались между собой.

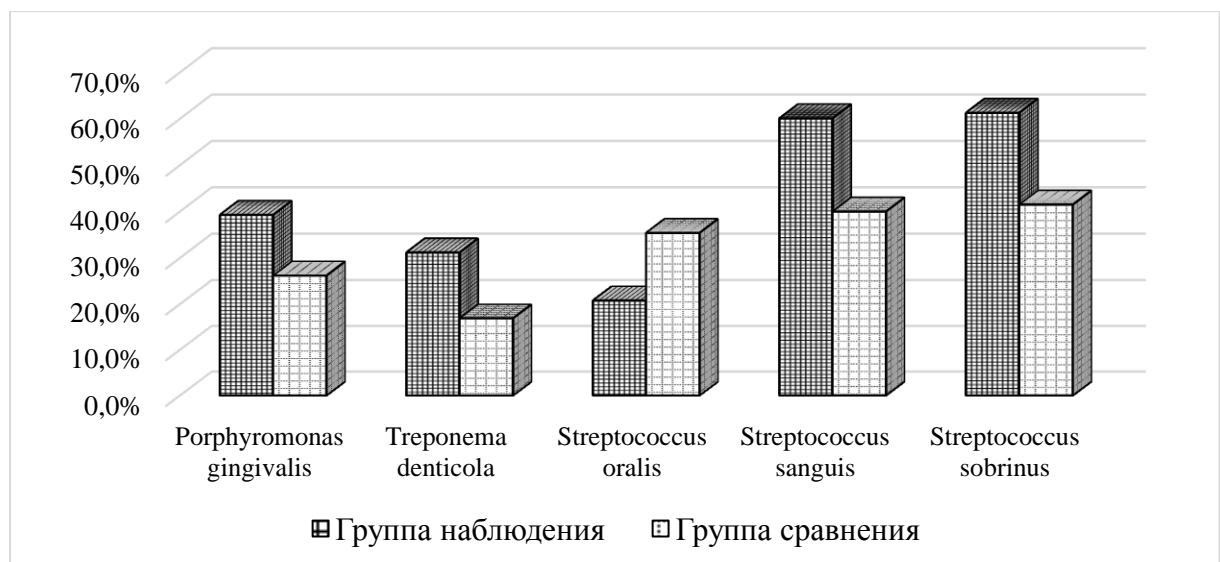


Рисунок 3. Частота встречаемости патогенных и условно-патогенных бактерий в слюне в исследуемых группах до лечения.

3.3. Анализ ассоциативных связей между пародонтопатогенными микроорганизмами различных видов в клиническом материале больных ХГП.

С учетом того, что пародонтопатогенные бактерии наиболее часто представлены в микробных ассоциациях, был проведен анализ образования сообществ между микроорганизмами различных видов (таблица 7). У пациентов с пародонтитом в содержимом пародонтальных карманов наиболее часто были представлены ассоциации *Streptococcus mutans* - *Streptococcus oralis* - *Streptococcus sanguis* - *Streptococcus sobrinus* (34,3%), *Streptococcus mutans* - *Streptococcus sanguis* - *Streptococcus oralis* (34,3%), *Streptococcus mutans* - *Streptococcus sanguis* (20,2%), *Streptococcus mutans* - *Streptococcus oralis* (12,4%). Однако в группе наблюдения значимое превышение частоты выявления определенных ассоциаций установлено только для *Streptococcus mutans* - *Streptococcus oralis* - *Streptococcus sanguis* - *Streptococcus sobrinus* (на 15,6%, $\chi^2 = 9,1$, $p = 0,004$), тогда как частота выявления сочетания бактерий *Streptococcus mutans* - *Streptococcus oralis* у больных пародонтитом была достоверно ниже, чем у здоровых лиц (на 11,9%, $\chi^2 = 5,9$, $p = 0,019$).

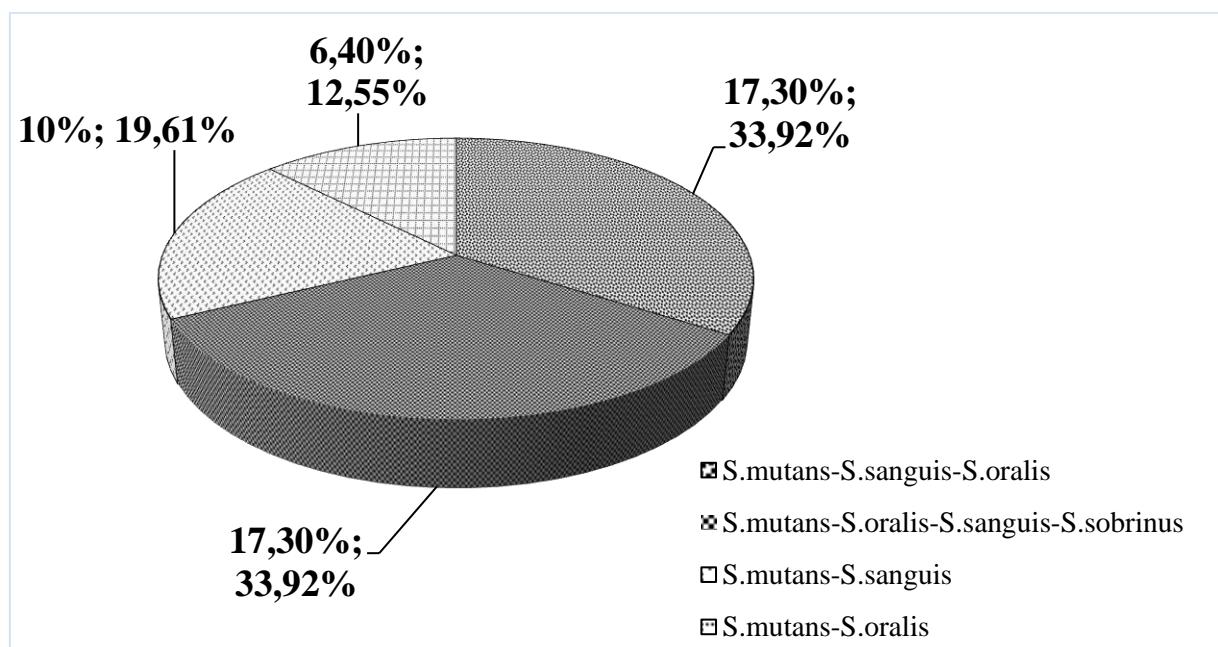


Рисунок 4. Частота выявления ассоциаций пародонтопатогенных бактерий в содержимом пародонтальных карманов в группе больных.

Таблица 7

Частота выявления ассоциаций пародонтопатогенных бактерий в содержимом пародонтальных карманов у больных ХГП и в группе сравнения

Варианты сообществ	Больные пародонтитом (n = 110)		Группа сравнения (n = 60)	
	абс	%	абс	%
<i>Streptococcus mutans</i> - <i>Streptococcus sanguis</i> - <i>Streptococcus oralis</i>	19	34,3	5	28,3
<i>Streptococcus mutans</i> - <i>Streptococcus oralis</i> - <i>Streptococcus sanguis</i> - <i>Streptococcus sobrinus</i>	19	34,3 *	1	4,7
<i>Streptococcus mutans</i> - <i>Streptococcus sanguis</i>	11	20,0	1	5,7
<i>Streptococcus mutans</i> - <i>Streptococcus oralis</i>	7	12,4 *	11	61,3

Примечание: * – различие со значениями в группе сравнения достоверно (p < 0,05)

В слюне частота встречаемости указанных вариантов составляла для ассоциации *Streptococcus mutans* - *Streptococcus oralis* – 61,4%, для *Streptococcus mutans* - *Streptococcus sanguis* - *Streptococcus oralis* – 28,2%, для *Streptococcus mutans* - *Streptococcus oralis* - *Streptococcus sanguis* - *Streptococcus sobrinus* – 5,1%, и ассоциативный вариант *Streptococcus mutans* - *Streptococcus sanguis* регистрировался с частотой 6,3%. При этом существенных различий в частоте выявления данных ассоциаций пародонтопатогенных бактерий между исследованными группами не установлено.

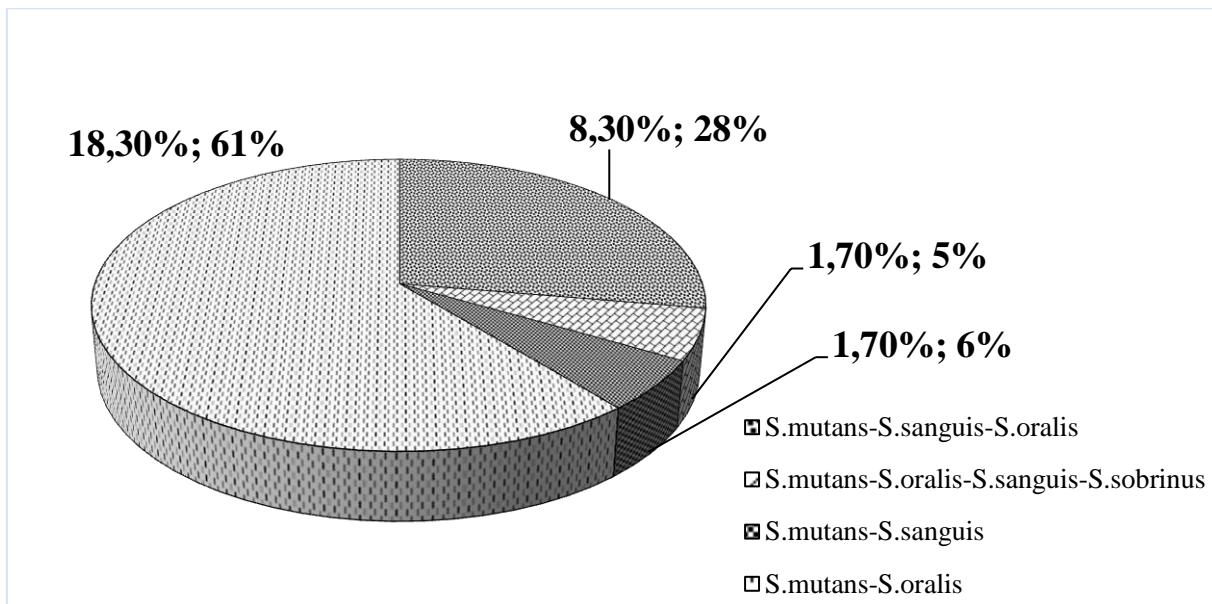


Рисунок 5. Частота выявления ассоциаций пародонтопатогенных бактерий в содержимом пародонтальных карманов в группе сравнения.

В целом сравнительный анализ данных, полученных при исследовании содержимого пародонтальных карманов и слюны в группе наблюдения показал, что в содержимом пародонтального кармана частота выявления большинства исследованных микроорганизмов и их ассоциаций несколько превышала таковые в слюне, однако эти различия были недостоверны. В группе сравнения данные, полученные при исследовании содержимого пародонтальных карманов и слюны, также достоверно не отличались между собой.

3.4. Качественная оценка содержания пародонтопатогенных микроорганизмов в клиническом материале больных ХГП с разными схемами лечения

При сопоставлении данных о видовом составе микробиоты пародонтальных карманов и слюны у больных пародонтитом, получавших разное лечение были выявлены статистически значимые различия. В частности, методом ПЦР в режиме реального времени в группе больных, получавших лишь антибиотикотерапию, наблюдалось изменение

представленности патогенных и условно-патогенных бактерий в клиническом материале в ходе проведения терапии. Показано статистически значимое снижение частоты встречаемости *Porphyromonas gingivalis* как в пародонтальном кармане (на 20,2%, $\chi^2 = 9,82$, $p = 0,001$), так и в слюне (на 40,6%, $\chi^2 = 6,96$, $p = 0,001$), а также *Streptococcus sobrinus* в пародонтальном кармане (на 27,7%, $\chi^2 = 9,07$, $p = 0,001$) (таблица 8).

Таблица 8

Частота обнаружения (%) патогенных и условно-патогенных бактерий у больных ХГП после системной антибиотикотерапии, N=54

Бактерии	Содержимое пародонтального кармана		Слюна	
	исходно	ч/з 10 дней	исходно	ч/з 10 дней
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	47,9	27,7 *	60,6	21,0 *
<i>Treponema denticola</i>	38,7	24,6	28,3	12,3
<i>Streptococcus oralis</i>	27,2	41,5	27,3	22,1
<i>Streptococcus sanguis</i>	46,8	47,7	33,0	48,8
<i>Streptococcus sobrinus</i>	72,3	44,6 *	54,5	31,3

Примечание: * – различие со значениями в группе сравнения достоверно ($p < 0,001$)

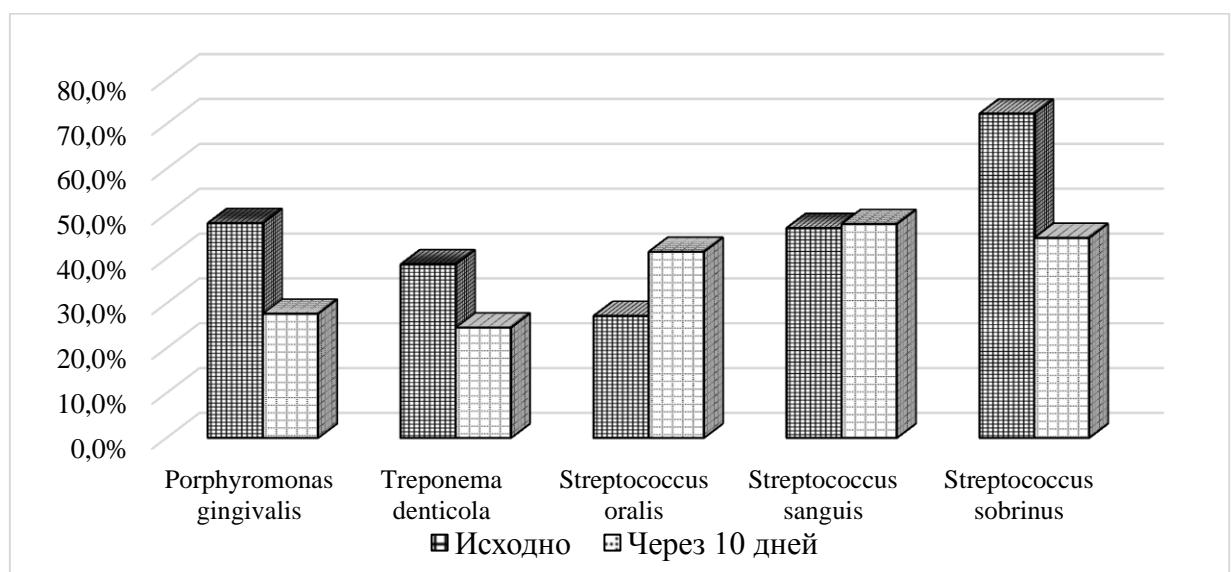


Рисунок 6. Сравнительный анализ частот встречаемости пародонтопатогенных бактерий в содержимом пародонтальных карманов у больных ХГП после системной антибиотикотерапии.

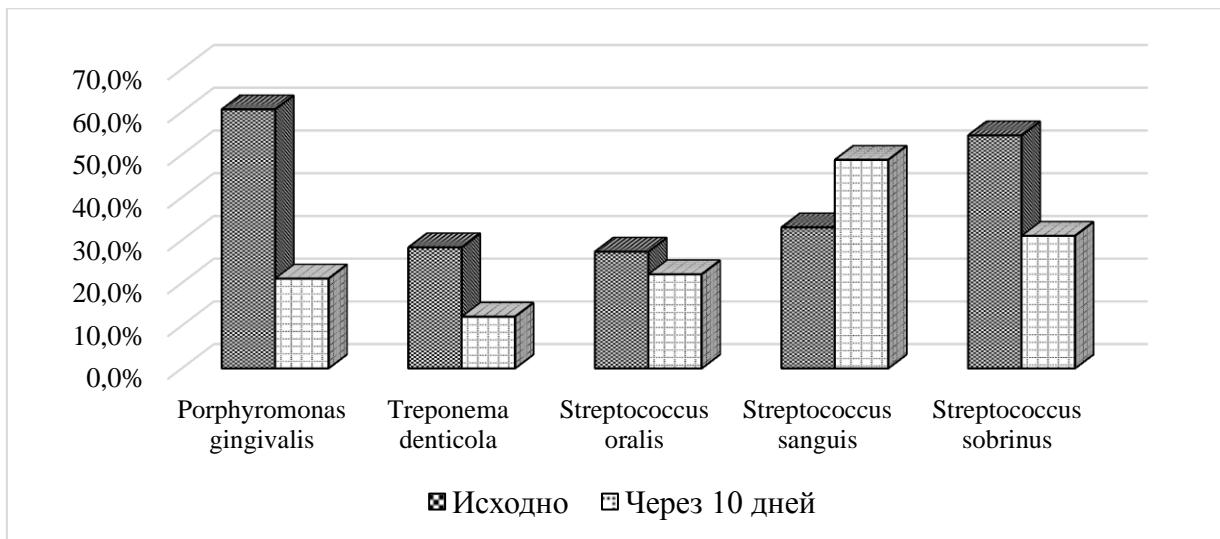


Рисунок 7. Сравнительный анализ частот встречаемости пародонтопатогенных бактерий в слюне у больных ХГП после системной антибиотикотерапии.

В группе больных, пролеченных путем воздействия ультразвуком при помощи прибора «Vector» («Durr Dental», Германия), выявлено снижение частоты встречаемости пародонтопатогенных видов – *Porphyromonas gingivalis* в пародонтальном кармане (на 25,0%, $\chi^2 = 8,16$, $p = 0,001$), *Streptococcus oralis* в слюне (на 40,4%, $\chi^2 = 9,36$, $p = 0,001$) и *Streptococcus sanguis* – и в пародонтальном кармане (на 22,4%, $\chi^2 = 7,69$, $p = 0,001$), и в слюне (на 29,5%, $\chi^2 = 9,48$, $p = 0,001$) (таблица 9).

Таблица 9

Частота обнаружения (%) патогенных и условно-патогенных бактерий у больных ХГП после проведения Vector-терапии, $N=45$

Бактерии	Содержимое пародонтального кармана		Слюна	
	исходно	ч/з 10 дней	исходно	ч/з 10 дней
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	47,3	22,3 *	33,2	19,4
<i>Treponema denticola</i>	26,7	12,0	29,6	10,8
<i>Streptococcus oralis</i>	31,4	29,1	56,9 *	16,5
<i>Streptococcus sanguis</i>	53,8	21,4 *	37,9 *	8,4
<i>Streptococcus sobrinus</i>	40,0	30,1	63,1	56,7

Примечание: * – различие со значениями в группе сравнения достоверно ($p < 0,001$)

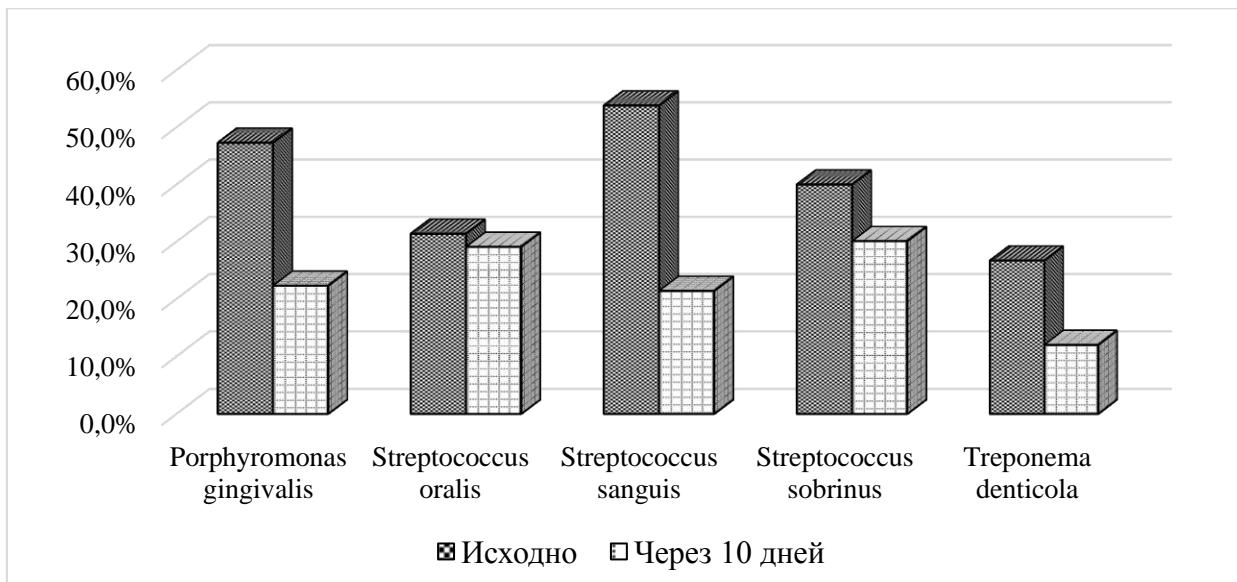


Рисунок 8. Сравнительный анализ частот встречаемости пародонтопатогенных бактерий в содержимом пародонтальных карманов у больных ХГП после Vector-терапии.

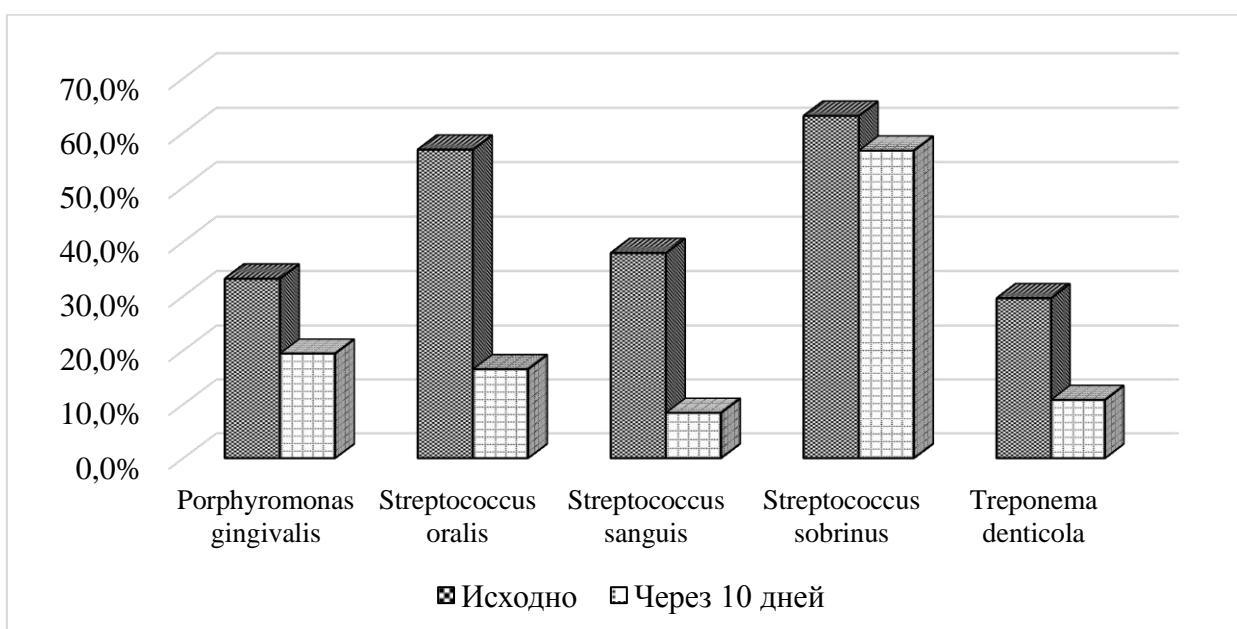


Рисунок 9. Сравнительный анализ частот встречаемости пародонтопатогенных бактерий в слюне у больных ХГП после Vector-терапии.

Проведение ПЦР-анализа в группе больных, получивших комбинированное лечение (Vector-терапия + интенсивный курс приема антибиотиков), позволило выявить значительное уменьшение встречаемости пародонтопатогенов - *Porhyromonas gingivalis* в пародонтальном кармане (на 27,0%, $\chi^2 = 10,89$, $p = 0,001$) и в слюне (на

35,9%, $\chi^2 = 13,63$, $p = 0,001$), *Streptococcus oralis* – и в пародонтальном кармане (на 36,5%, $\chi^2 = 21,63$, $p = 0,001$), и в слюне (на 31,6%, $\chi^2 = 11,37$, $p = 0,001$), *Streptococcus sanguis* – только в слюне (на 25,7%, $\chi^2 = 11,38$, $p = 0,001$), *Streptococcus sobrinus* – и в пародонтальном кармане (на 33,8%, $\chi^2 = 13,08$, $p = 0,001$), и в слюне (на 42,2%, $\chi^2 = 14,04$, $p = 0,001$) (таблица 10).

Таблица 10

Частота обнаружения (%) патогенных и условно-патогенных бактерий у больных ХГП после проведения комбинированного лечения, включающего Vector-терапию и курс антибиотикотерапии, $N = 66$

Бактерии	Содержимое пародонтального кармана		Слюна	
	исходно	ч/з 10 дней	исходно	ч/з 10 дней
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	70,3	33,3 *	63,3	27,4 *
<i>Treponema denticola</i>	36,7	23,1	44,3	35,1
<i>Streptococcus oralis</i>	51,2	14,7 *	70,8	39,2 *
<i>Streptococcus sanguis</i>	68,1	31,2	58,1	32,4 *
<i>Streptococcus sobrinus</i>	61,1	27,3 *	81,1	38,9 *

Примечание: * – различие со значениями в группе сравнения достоверно ($p < 0,001$)

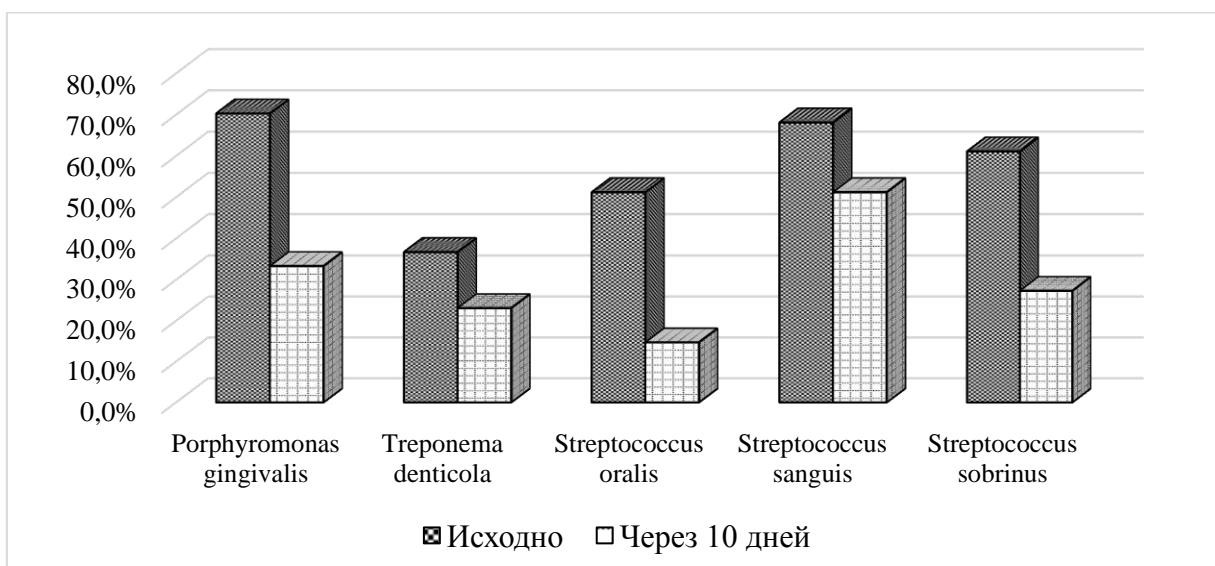


Рисунок 10. Сравнительный анализ частот встречаемости пародонтопатогенных бактерий в содержимом пародонтальных карманов

у больных ХГП после проведения комбинированного лечения, включающего Vector-терапию и курс антибиотикотерапии.

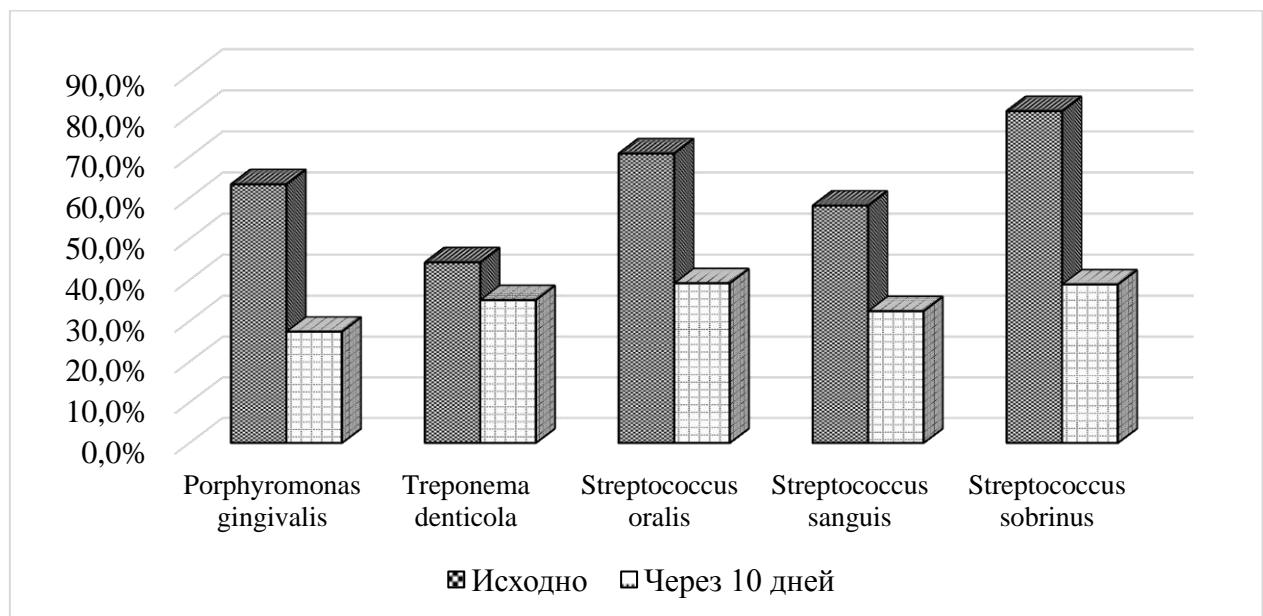


Рисунок 11. Сравнительный анализ частот встречаемости пародонтопатогенных бактерий в содержимом пародонтальных карманов у больных ХГП после проведения комбинированного лечения, включающего Vector-терапию и курс антибиотикотерапии.

Полученные данные позволяют убедиться в большей эффективности применения комплексного лечения ввиду уменьшения представленности пародонтопатогенных микроорганизмов в пародонтальном кармане и слюне, снижения воспалительного процесса и болевого синдрома в процессе пережёвывания пищи, а также кровоточивости дёсен и выделения гнойных масс.

3.5. Качественная оценка содержания пародонтопатогенных микроорганизмов в клиническом материале больных ХГП с разными схемами лечения

Качественное определение содержания пародонтопатогенных бактерий в выравненных по объему клинических образцах с помощью

метода ПЦР в режиме реального времени позволило определить абсолютное количество ген-эквивалента ДНК возбудителя в образце (ГЭ/образец). По мере утяжеления клинических признаков заболевания наблюдалась тенденция к увеличению видового состава и количественного содержания бактерий в содержимом пародонтальных карманов и слюне. Качественная оценка содержания пародонтопатогенных микроорганизмов в группах больных ХГП 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.

В группе больных, проходивших курс системной антибиотикотерапии, наблюдалось статистически значимое снижение концентрации пародонтопатогенов *Porphyromonas gingivalis* в содержимом пародонтальных карманов (медиана – $10^{3,36}$ ГЭ/образец) и в слюне ($10^{4,36}$ ГЭ/образец), а также *Treponema denticola* ($10^{4,71}$ ГЭ/образец) в содержимом пародонтальных карманов (таблица 11). По литературным данным, данные виды пародонтопатогенных микроорганизмов оказывают наиболее выраженное повреждающее действие на ткани пародонта. Установлено, что повышенная концентрация пародонтопатогена *Porphyromonas gingivalis* в микробиоценозах пародонтальных карманов коррелирует со степенью тяжести заболевания вследствие повышенных адгезивных, инвазивных и токсических свойств микроорганизма.

Таблица 11

Абсолютное количество (ГЭ/образец) патогенных и условно-патогенных бактерий в содержимом пародонтальных карманов и слюне у больных ХГП после проведения системной антибиотикотерапии, N=55

Бактерии	Содержимое пародонтальных карманов		Слюна	
	до лечения	ч/з 10 дней	до лечения	ч/з 10 дней
	Ме (P _{0,05} ; P _{0,95}), Lg ГЭ/образец			
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	7,13 (4,05; 10,27)	3,36 (4,08; 8,46) *	9,05 (4,92; 14,3)	4,36 (2,54; 6,78) *
<i>Treponema denticola</i>	6,48 (3,11; 12,3)	4,71 (2,01; 8,16) *	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: Ме – медиана, P_{0,05}; P_{0,95} - интерквартильный размах (5-95-й процентили),
* – достоверность различий показателей в процессе лечения (p < 0,001)

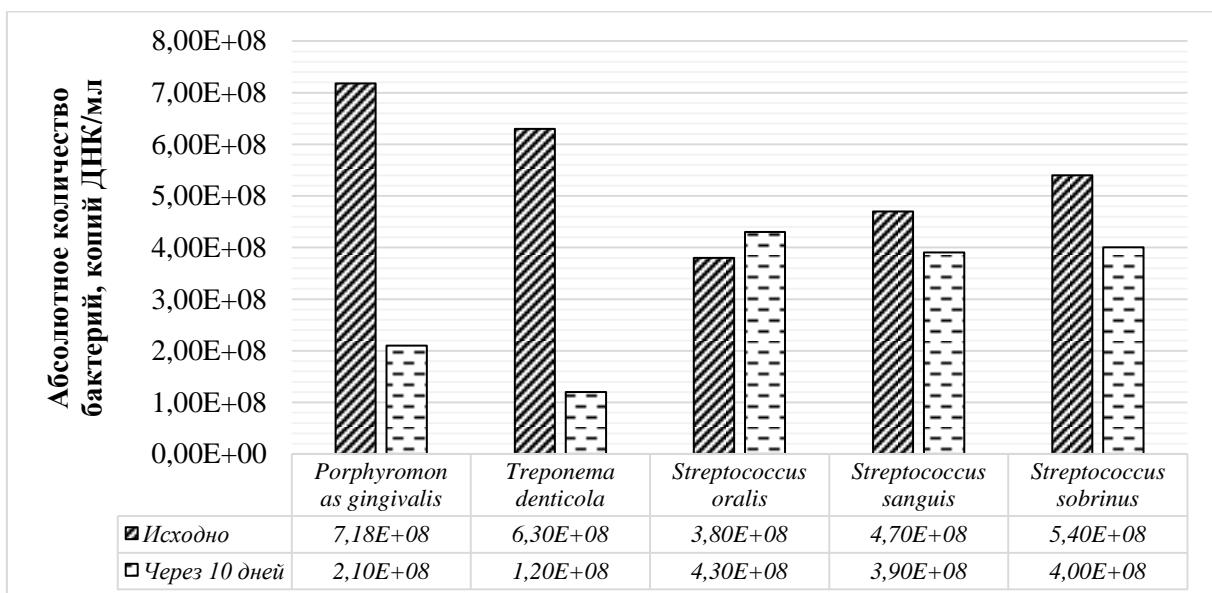


Рисунок 12. Сравнительная количественная оценка содержания пародонтопатогенных микроорганизмов в содержимом пародонтальных карманов у больных ХГП до и после системной антибиотикотерапии.

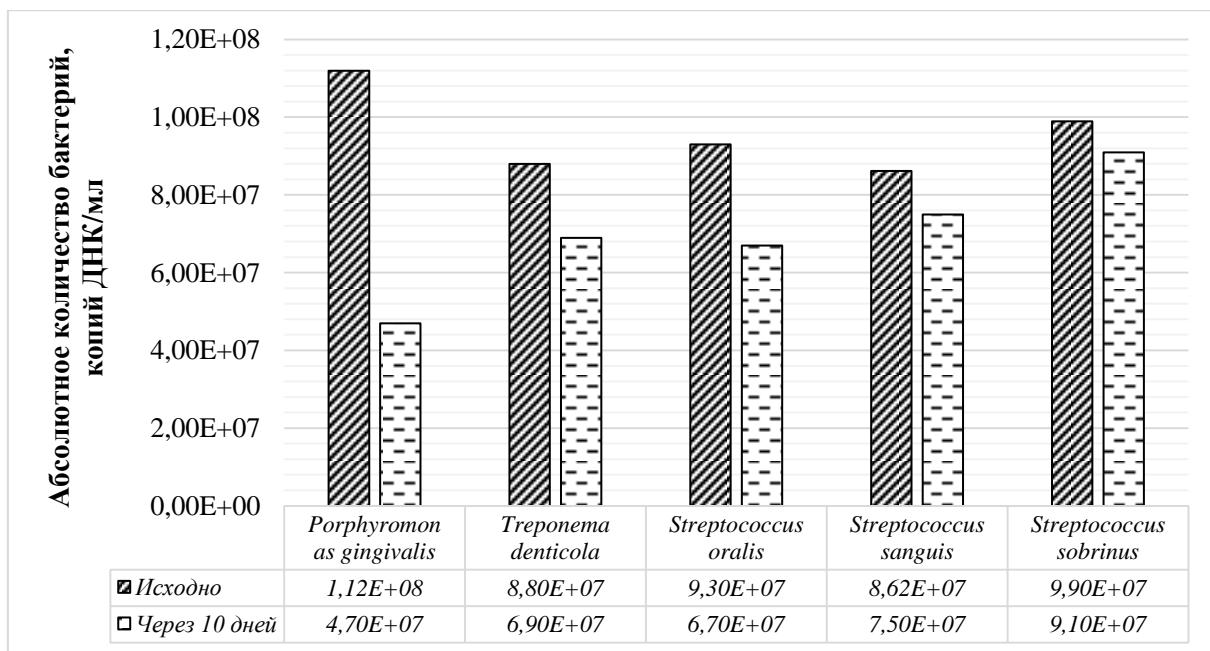


Рисунок 13. Сравнительная количественная оценка содержания пародонтопатогенных микроорганизмов в слюне у больных ХГП до и после системной антибиотикотерапии.

Изучение микробиоценоза пародонтальных карманов и слюны в группе больных, пролеченных ультразвуком при использовании прибора «Vector» показало существенное снижение абсолютного количества сразу нескольких пародонтопатогенов – *Porphyromonas gingivalis* как в содержимом пародонтальных карманов (медиана – $10^{2,04}$ ГЭ/образец), так и в слюне ($10^{2,15}$ ГЭ/образец), *Treponema denticola* в содержимом пародонтальных карманов ($10^{3,46}$ ГЭ/образец) и слюне ($10^{3,59}$ ГЭ/образец), *Streptococcus oralis* в содержимом пародонтальных карманов ($10^{6,97}$ ГЭ/образец) и слюне ($10^{7,83}$ ГЭ/образец), *Streptococcus sanguis* только в слюне ($10^{7,62}$ ГЭ/образец) и *Streptococcus sobrinus* только в содержимом пародонтальных карманов ($10^{7,26}$ ГЭ/образец) (таблица 12). Проведенный анализ клинической эффективности применения прибора «Vector» показал, что по окончании терапии у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом наблюдалось улучшение состояния тканей пародонта, характеризующееся отсутствием таких симптомов, как болезненность и кровоточивость десен, отделяемое пародонтальных карманов. Полученные

данные согласуются с рядом исследований, показывающих высокую клиническую эффективность использования прибора «Vector» в лечении пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта.

Таблица 12

Абсолютное количество (ГЭ/образец) патогенных и условно-патогенных бактерий в содержимом пародонтальных карманов и слюне у больных хроническим генерализованным пародонтитом после проведения Vector-терапии, N=47

Бактерии	Содержимое пародонтальных карманов		Слюна	
	до лечения	ч/з 10 дней	до лечения	ч/з 10 дней
	Me (P _{0,05} ; P _{0,95}), Lg ГЭ/образец			
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	9,2 (4,45; 13,04)	2,04 (1,82; 6,47) *	9,73 (5,12; 14,1)	2,15 (1,47; 5,78) *
<i>Treponema denticola</i>	10,89 (5,23; 12,81)	3,46 (2,57; 6,14) *	10,83 (5,14; 14,32)	3,59 (1,98; 8,47) *
<i>Streptococcus oralis</i>	9,94 (7,44; 15,86)	6,97 (4,7; 10,21) *	10,85 (7,41; 15,89)	7,83 (3,45; 9,04) *
<i>Streptococcus sanguis</i>	9,83 (6,57; 16,32)	7,52 (4,65; 9,74)	9,74 (7,47; 14,58)	7,62 (4,21; 9,86) *
<i>Streptococcus sobrinus</i>	10,18 (8,56; 15,32)	7,26 (4,36; 9,87) *	10,37 (7,69; 16,02)	8,18 (4,32; 10,5)

Примечание: Me – медиана, P_{0,05}; P_{0,95} - интерквартильный размах (5-95-й процентили), * – достоверность различий показателей в процессе лечения (p < 0,001)

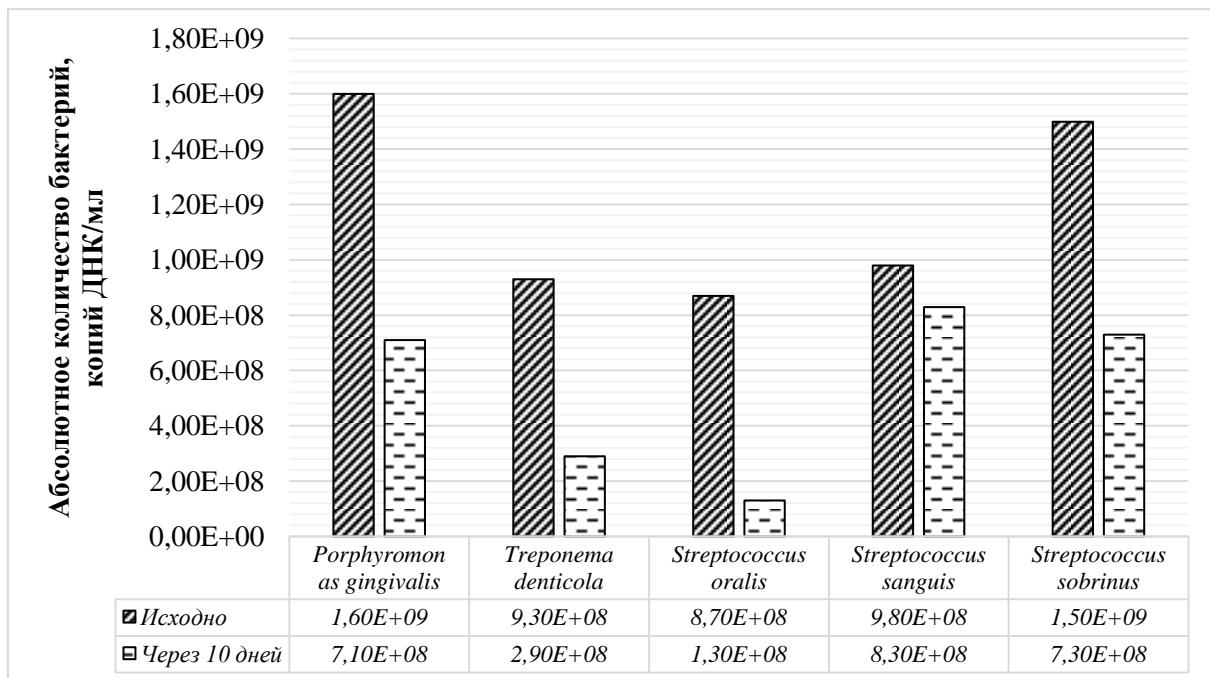


Рисунок 14. Сравнительная количественная оценка содержания пародонтопатогенных микроорганизмов в содержимом пародонтальных карманов у больных ХГП до и после проведения Vector-терапии.

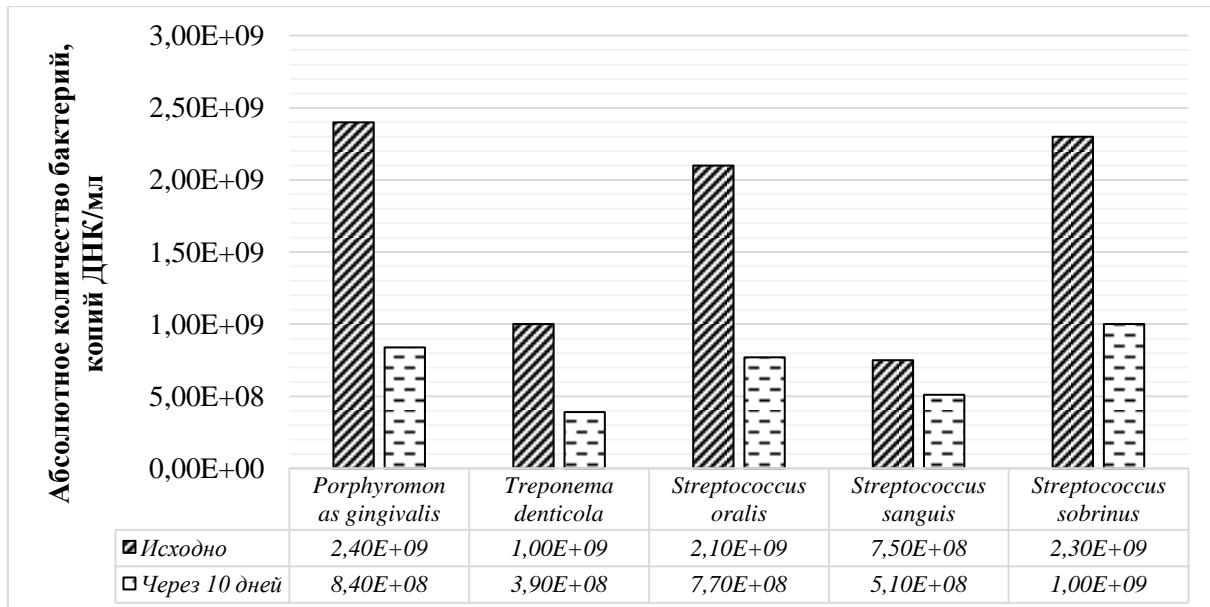


Рисунок 15. Сравнительная количественная оценка содержания пародонтопатогенных микроорганизмов в слюне у больных ХГП до и после проведения Vector-терапии.

Включение в ультразвуковое лечение больных хроническим генерализованным пародонтитом средней и тяжелой степени тяжести

антибиотикотерапии 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 слюны всех исследованных пародонтопатогенов (таблица 13).

Таблица 13

Абсолютное количество (ГЭ/образец) патогенных и условно-патогенных бактерий в содержимом пародонтальных карманов и слюне у больных хроническим генерализованным пародонтитом после применения комбинированного лечения «Vector + антибиотикотерапия», N=71

Бактерии	Содержимое пародонтальных карманов		Слюна	
	до лечения	ч/з 10 дней	до лечения	ч/з 10 дней
	Ме ($P_{0,05}$; $P_{0,95}$), Лг ГЭ/образец			
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	9,02 (4,23; 15,02)	4,76 (2,14; 7,47) *	9,03 (7,45; 14,63)	4,0 (2,31; 7,04) *
<i>Treponema denticola</i>	10,4 (5,47; 14,29)	4,68 (3,04; 8,14) *	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) *	13,38 (7,45; 15,68)	7,23 (3,54; 8,67) *
<i>Streptococcus sanguis</i>	14,92 (8,64; 17,01)	6,46 (3,78; 8,48) *	14,15 (8,09; 15,64)	6,63 (4,15; 8,57) *
<i>Streptococcus sobrinus</i>	13,92 (7,12; 17,14)	5,45 (2,31; 7,08) *	13,18 (7,35; 16,45)	5,64 (3,56; 8,45)

Примечание: Ме – медиана, $P_{0,05}$; $P_{0,95}$ – интерквартильный размах (5-95-й процентили), * – достоверность различий показателей в процессе лечения ($p < 0,001$)

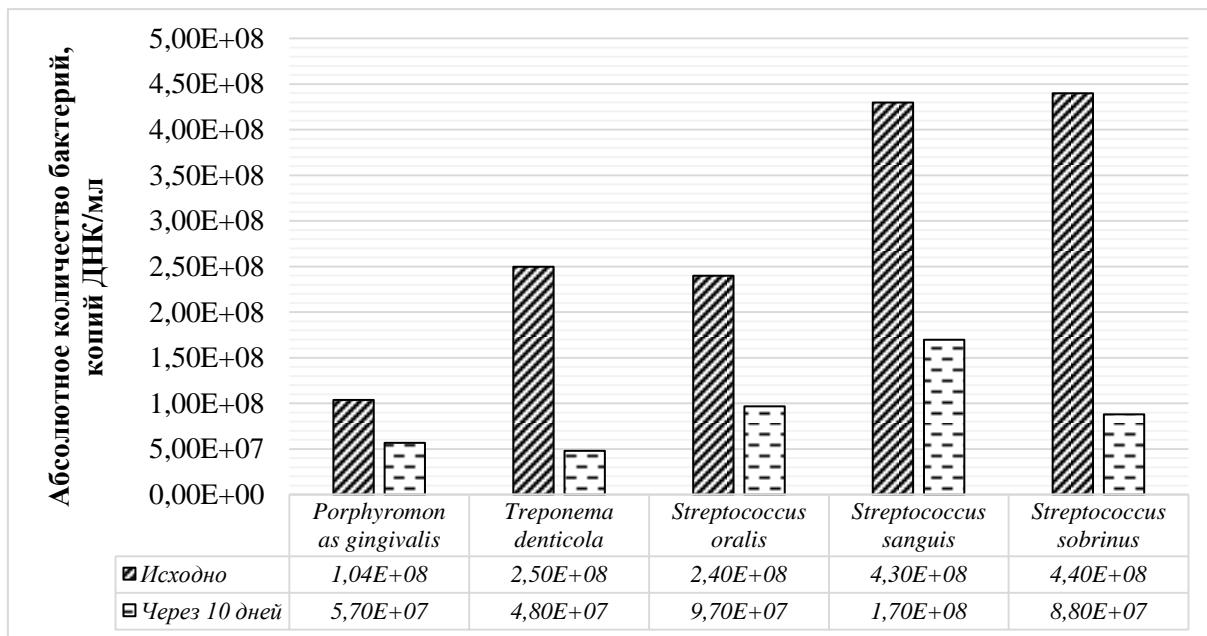


Рисунок 16. Сравнительная количественная оценка содержания пародонтопатогенных микроорганизмов в содержимом пародонтальных карманов у больных ХГП до и после проведения комбинированного лечения, включающего Vector-терапию и курс антибиотикотерапии.

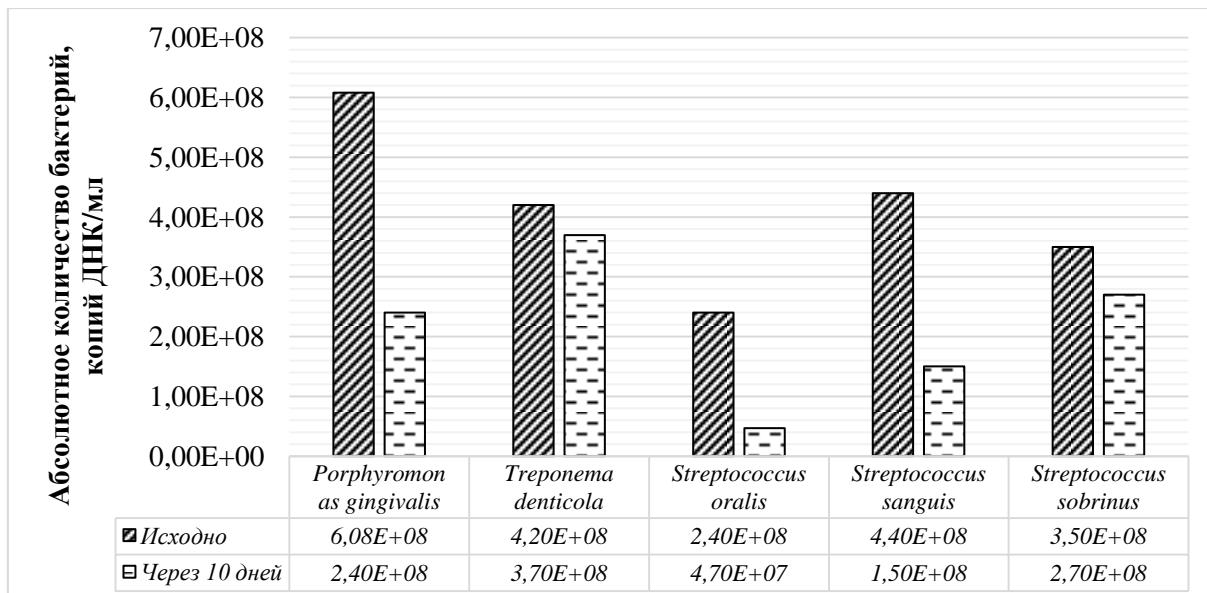


Рисунок 17. Сравнительная количественная оценка содержания пародонтопатогенных микроорганизмов в слюне у больных ХГП до и после проведения комбинированного лечения, включающего Vector-терапию и курс антибиотикотерапии.

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, а также восстановлению физиологической функции пародонта.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом средней и тяжелой степени тяжести в содержимом пародонтальных карманов преобладают пародонтопатогенные виды - *Streptococcus sobrinus* ($6,4 \cdot 10^8$ копий ДНК/мл) и *Porphyromonas gingivalis* ($7,5 \cdot 10^7$ копий ДНК/мл). В образцах слюны у больных достоверно чаще обнаруживаются пародонтопатогены - *Streptococcus sobrinus* ($3,6 \cdot 10^8$ копий ДНК/мл) и *Treponema denticola* ($1,3 \cdot 10^7$ копий ДНК/мл).

2. Обнаружение пародонтопатогена *Streptococcus sobrinus* методом ПЦР в содержимом пародонтальных карманов значимо как в монокультуре, так и в ассоциации *Streptococcus mutans* - *Streptococcus oralis* - *Streptococcus sanguis* - *Streptococcus sobrinus*. Соответственно выявление данного пародонтопатогена в содержимом пародонтальных карманов и/или в слюне у больных хроническим генерализованным пародонтитом имеет диагностическое значение.

3. Пародонтопатогенные микроорганизмы *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* и *Streptococcus sobrinus* наиболее чаще образуют микробные ассоциации: *Streptococcus mutans* - *Streptococcus oralis* - *Streptococcus sanguis* - *Streptococcus sobrinus* (34%), *Streptococcus mutans* - *Streptococcus sanguis* - *Streptococcus oralis* (34%) в содержимом пародонтальных карманов и *Streptococcus mutans* - *Streptococcus oralis* (61%) в слюне.

4. Комбинированное лечение, включающее Vector-терапию и курс антибиотиков характеризуется наибольшей эффективностью, регрессией воспалительных реакций в тканях пародонта, улучшением клинического течения пародонтита, увеличением ремиссии, а также снижением общей бактериальной обсемененности тканей

пародонтопатогенами *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* и представителями условно-патогенной микрофлоры полости рта *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus sobrinus*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Балмасова И.П., Шестакова И.В., Ющук Н.Д. Современные методы лабораторной диагностики и биомаркеры инфекционно-воспалительных заболеваний полости рта на примере хронического пародонтита. Стоматология 2013; 2: 35-41.
2. Барер Г.М. Рациональная фармакотерапия в стоматологии: руководство для практикующих врачей / Г.М. Барер, Е.В. Зорян, В.С. Агапов, В.В. Афанасьев и др.; под общ. ред. Г.М. Барера, Е.В. Зорян. – М.: Литтерра, 2006. – 568 с.
3. Безрукова И.В., Грудянов А.И. Агрессивные формы пародонтита. – М.: МИА, 2002. – С. 127.
4. Булкина Н.В., Косачев О.Н., Осадчук М.А. Заболевания пародонта при патологии органов пищеварения. – Самара: Офорт, 2006. – 184 с.
5. Вечерковская М.Ф. Изучение смешанных микробных биоплёнок в ротовой полости детей: дисс.... канд. мед. наук. – СПб. – 2015. – 150 с.
6. Вострикова С.А., Лепилин А.В., Карабушина Я.Г., Маклецова Е.К. Применение ультразвуковой системы «Vector» в лечении пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2008. - Т. 20, №2. – С. 132-136.
7. Гажва С.И., Гажва Ю.В., Гулев Р.С. Качество жизни пациентов с заболеваниями полости рта (обзор литературы) // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 4. - С. 23-29.
8. Григорьян А. С., Грудянов А. И., Рабухина Н. А., Фролова О. А. Болезни пародонта. М. : МИА, 2004. С. 320.
9. Григорьян А.С., Грудянов А.И., Фролова О.А. и др. Видовой состав анаэробной микрофлоры пародонтального кармана в зависимости от стадии пародонтита. Стоматология 2009; 4: 43—47.

10. Грудянов А. И., Зорина О. А. Методы диагностики воспалительных заболеваний пародонта. Медицинское информационное агентство. 2009. 612. 439. 391.
11. Грудянов А.И., Овчинникова В.В. Частота выявления различных представителей пародонтопатогенной микрофлоры при пародонтите различной степени тяжести. Стоматология 2009; 3: 34—37.
12. Грудянов А. И., Фоменко Е. Ф. Этиология и патогенез воспалительных заболеваний пародонта. М. : МИА, 2010. С. 96.
13. Давыдова Т.Р., Карасенков Я.Н., Хавкина Е.Ю. К проблеме дисбиоза в стоматологической практике. //Стоматология. 2001. 80:2:23—24.
14. Дмитриева Л. А., Крайнова А. Г. Современные представления о роли микрофлоры в патогенезе заболеваний пародонта // Пародонтология. 2004. № 1. С. 8-15.
15. Добреньков Д.С. Характеристика биоценотических отношений бактериальных сообществ полости рта и микробиологическое обоснование принципов биокоррекции: дисс.... канд. мед. наук. – Волгоград, 2014. – 146 с.
16. Ефимович О.И. Клинико-лабораторное обоснование терапии дисбактериоза слизистой оболочки рта: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. 2002. 32.
17. Зайрятьянц О.В., Бойкова С.П., Смольянникова В.А. Роль иммунокомпетентных клеток десны, Toll-like рецепторов и других молекулярных механизмов в патогенезе воспалительно-деструктивных заболеваний пародонта. //Пародонтология. 2007. 3:44:12-20.
18. Зорина О.А, Беркутова И.С., Басова А.А. Антимикробная эффективность системного применения антибиотиков разных групп в комплексном лечении пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом // Стоматология. — Т.93. -2014.-№5.-С.13-18.

19. Зорина О.А., Кулаков А.А., Борискина О.А. и др. Метод ПЦР «в реальном времени» для анализа количественного и качественного соотношений микробиоценоза пародонтального кармана. Стоматология 2011; 3: 31—33.
20. Зорина О.А., Кулаков А.А., Грудянов А.И. Микробиоценоз полости рта в норме и при воспалительных заболеваниях пародонта // Стоматология – 2011. – № 1. – С. 73 – 78.
21. Иванюшко Т.П., Тумбинская Л.В., Донников А.Е. Исследование условно-патогенных микроорганизмов методом ПЦР в реальном времени у больных пародонтитом. Стоматология 2011; 5: 22—26.
22. Илюшина А. И. Клинико-лабораторные исследования особенностей образования зубных бляшек на поверхности пломб из композитных пломбировочных материалов: Дис. к. м. н. — М., 2005.
23. Канканян А.П., Леонтьев В.К. Болезни пародонта: Новые подходы в этиологии, патогенезе, диагностике, профилактике и лечении. — Ер.: ТигранМец., 1998. — 360 с.
24. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Рогова М.А. Роль цитокинов в механизмах развития хронического воспаления в тканях пародонта. //Иммунология. 2000. 6:24—26.
25. Косенко К.Н., Чумакова Ю.Г., Городенко Э.А., Басова С.П. Микробные ассоциации пародонтального кармана у больных генерализованным пародонтитом. //Вісник стоматології. 2000. 3:10—13.
26. Ламонт Р.Дж., Лантц М.С., Берне Р.А. и др. Микробиология и иммунология для стоматологов. Пер. с англ. В.К. Леонтьева. М: Практическая медицина 2010; 504.
27. Лукиных Л.М., Круглова Н.В. Хронический генера-лизованный пародонтит. Часть I. Современный взгляд на этиологию и патогенез // Стоматоло-гия. – 2011. - № 1. – С 123-125.
28. Луцкая И. К. Болезни пародонта. М.: Медицинская литература, 2010. С.256.

29. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. Перевод с англ. языка под редакцией А.А. Баева и К.Г. Скрябина. М.: Мир, 1984. – 479 с.
30. Мюллер Х.П. Пародонтология. Название. Пародонтология. Автор. Мюллер Х.П. Издательство. ГалДент, 2004.
31. Недосеко В.Б., Чеснокова М.Г., Чепуркова О.А. и др. Распространенность грибковой флоры и особенности микробиоценоза у лиц с интактным пародонтом и с хроническими воспалительными заболеваниями пародонта. Пародонтология 2009; 1: 60—65.
32. Парунова С.Н. Влияние микрофлоры полости рта на регенерацию тканей пародонта у больных сахарным диабетом: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. 2004.
33. Патрушев Л.И. Искусственные генетические системы. М: Наука 2005; 1—2.
34. Плахтий Л.Я. Тактика антибактериальной терапии пародонтита, основанная на результатах микробиологического и молекулярно-генетического исследования: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. 2002.
35. Рабинович И.М., Дмитриева Н.А., Ефимович О.И. Коррекция микробиологических изменений у больных с дисбактериозами полости рта. //Съезд стоматологической ассоциации России, 6-й: Труды. 2000. 281—283.
36. Романов А.Е. Влияние пломб из различных материалов и антисептиков на субgingивальную микробную бляшку и течение гингивита и пародонтита. Автореферат дисс. .канд. мед. наук. ММСИ, 1998.
37. Соловьева А.М., Матело К., Тотолян А.А. Эпидемиологическое исследование распространенности периодонтопатогенной микрофлоры полости рта у населения России. //Стоматология. 2005. 5:14—20.

38. Царев В.Н., Трефилов А.Г., Клейменова Г.Н., Левкин А.В. Пространственно-временная модель формирования биопленки полости рта: взаимосвязь процессов первичной адгезии и микробной колонизации. *Dental Forum* 2011; 5: 126—131.
39. Царев В.Н., Ушаков Р.В. //Антимикробная терапия в стоматологии. 2004.
40. Цепов Л.М., Орехова Л.Ю., Николаев А.И., Михеева Л.А. Факторы местной резистентности и иммунологической реактивности полости рта. Способы их клинико-лабораторной оценки (обзор литературы). //Ч. 2. Пародонтология. 2005. 3:36:35—39.
41. Чепуркова О.А., Чеснокова М.Г., Недосеко В.Б. Особенности микробиоценоза пародонтального кармана при генерализованном пародонтите средней степени тяжести. //Институт стоматологии. 2007. 3:86-88.
42. Шабанская М.А. Некоторые показатели дисбактериозов полости рта при разных формах стоматологических заболеваний и эффективность коррекционной бактериальной терапии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М 1994;23.
43. Янушевич О.О., Гринин В.М., Почтаренко В.А. и др. Заболевания пародонта. Современный взгляд на клинико-диагностические и лечебные аспекты. М: ГЭОТАР-Медиа 2010; 160.
44. Aas J.A. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity / J.A. Aas, B.J. Paster, L.N. Stokes, I. Olsen, F.E. Dewhirst // *J. Clin. Microbiol.* – 2005. – Vol. 43. - No11. – P. 5721 – 5732.
45. Almstahl A., Wikstrom M. Microflora in oral ecosystems in subjects with hyposalivation due to medicines or of unknown origin. //Oral Health Prev Dent. 2005. 3:2:67—76.
46. Almstahl A., Wikstrom M. Microflora in oral ecosystems in subjects with hyposalivation due to medicines or of unknown origin. *Oral Health Prev Dent* 2005;3:2:67—76.

47. Al-Otaibi F.E., Al-Mohizea M.M. Non-vertebral Veillonella species septicemia and osteomyelitis in a patient with diabetes: a case report and review of the literature / Journal of Medical Case Reports. – 2014. – 8:365.
48. Amano A., Nakagawa I., Okahashi N. Variations of Porphyromonas gingivalis fimbriae in relation to microbial pathogenesis//Journal of Periodontal Research. 2004. - Vol. 39 (2). - p. 136-142.
49. Amin M., Ho A.C.S., Lin J.Y., Batista da Silva A P., Glogauer M., Ellen R.P. Induction of de novo subcortical actin filament assembly by *Treponema denticola* major outer sheath protein // Infect. Immun. — 2004. — Vol. 72. — P. 3650 — 3654.
50. Armitage G.C. Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases // Periodontology 2000. 2004. - Vol. 34 - P. 9 - 21.
51. Armitage G.C., Wu Y., Wang H-Y., Sorrell J., di Giovine F.S., Duff G.W. Low prevalence of a periodontitis-associated interleukin-1 composite genotype in individuals of Chinese heritage // J. Periodontal. 2000. - Vol. 71. - P. 164 -171.
52. Armitage P., Berry G., Matthews J.N.S. Statistical methods in medical research. -2002. 4th edn. Blackwell Science Ltd, London.
53. Bauenneister C.-D. Микробиологическая диагностика заболеваний тканей пародонта. Новое в стоматологии 2003;7:115:27—30.
54. Conrads G., de Soet J.J., Song L., Henne K. et al. Comparing the cariogenic species *Streptococcus sobrinus* and *S. mutans* on whole genome level // Journal of Oral Microbiology. - 2014. - № 6. - P. 1-13.
55. Corraini P., Baelum V., Pannuti C.M., Romito G.A., Aquino D.R., Cortelli S.C., Cortelli J.R., Pustiglioni F.E. Subgingival microbial profiles as diagnostic markers of destructive periodontal diseases: A clinical epidemiology study. Acta Odontol Scand 2012.
56. Cullinan M.P., Seymour G.J. Understanding risk for periodontal disease. // Annals of the Royal Australasian College of Dental Surgeons. – 2010. – Vol. 20. – P. 86-87.

57. Darby L.B., Hodge P.J., Riggio M.P., Kinane D.F. Clinical and microbiological effect of scaling and root planing in smoker and non-smoker chronic and aggressive periodontitis patients. //J Clin Periodontol. 2005. 32:2:200-206.
58. Dewhirst F.E. The human oral microbiome / F.E. Dewhirst, T. Chen, J. Izard, B.J. Paster, A.C. Tanner, Wen-Han Yu, A. Lakshmanan, W.J. Wade // Journal of bacteriology. – 2010. – Vol. 192. – No 19. – P. 5002 – 50017.
59. Eke P.I. High PCR copy-counts of periodontal pathogens in saliva are associated with periodontal disease status. J Evid Based Dent Pract 2011; 11: 4: 208—209.
60. Elsalhy M., Azizieh F., Raghupathy R. Cytokines as diagnostic markers of pulpal inflammation. Int Endod J 2012.
61. Feng Z., Weinberg A. Role of bacteria in health and disease of periodontal tissues // Periodontology 2000. – 2006. – Vol. 40, № 1. – P. 50–76.
62. Filoche S., Anderson S., Sissons C. Biofilm growth of Lactobacillus sp. Is promoted by Actinomyces sp. and Streptococcus mutans. Oral Microbiol Immunol 2004;19:5:322—326.
63. Fowler E.B., Breault L.G., Cuenin M.F. Periodontal disease and its association with systemic disease // Mil Med. – 2001. – Vol. 166, N 1. – P. 85-89.
64. Gamboa F., García D.A., Acosta A. et al. Presence and antimicrobial profile of gram-negative facultative anaerobe rods in patients with chronic periodontitis and gingivitis. Acta Odontol Latinoam 2013; 26: 1: 24—30.
65. Gomes S.C. Periodontal status in smokers and never-smokers: clinical findings and real-time polymerase chain reaction quantification of putative periodontal pathogens // J. Periodontol. 2006. - Vol. 77, № 9. p. 1483 - 1490.

66. Gonzales J.R., Michel J., Rodriguez E.L., Herrmann J.M., Bodeker R.H., Meyle J. Comparison of interleukin-1 genotypes in two populations with aggressive periodontitis // Eur. J. Oral Sci. 2003. - Vol. 111. - P. 395 - 399.
67. Haffajee A.D. Systemic antibiotics: to use or not to use in the treatment of periodontal infections. That is the question the treatment of periodontal infections. J Clin Periodontol 2006;33:5:359—361.
68. Haffajee A.D., Bogren A., Hasturk H. et al. Subgingival microbiota of chronic periodontitis subjects from different geographic locations. J Clin Periodontol 2004;31:996—1002.
69. Haffajee A.D., Socransky S.S. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. Periodontol 2000; 1994; 5: 78—111.
70. Haffajee A., Teles R., Socransky S. Association of Eubacterium nodatum and Treponema denticola with human periodontitis lesion. Oral Microbiol Immunol 2006;21:5:269—282.
71. Hashimoto M., Ogawa S., Asai Y., Takai Y., Ogawa T. Binding of Porphyromonas gingivalis fimbriae to Treponema denticola dentilisin // FEMS Microbiol. Lett. 2003. - Vol. 226. - P. 267 - 271.
72. Heitz-Mayfield L.J. Disease progression: identification of high-risk groups and individuals for periodontitis // J. Clin. Periodontol. — 2005. Vol. 32, Suppl 6. -P. 196-209.
73. Heitz-Mayfield L. J. Microbial colonization pattern predict the outcomes of surgical treatment of intrabony defects // J. Clin. Periodontol. 2006. - Vol. 33, № 1.-P. 62-68.
74. Holmlund A., Hanstrom L., Lerner U.H. Bone resorbing activity and cytokine levels in gingival crevicular fluid before and after treatment of periodontal disease. J Clin Periodontol 2004; 31: 6: 475—482.
75. Horst O.V., Tompkins K.A., Coats S.R. et al. TGF- β 1 inhibits TLR-mediated odontoblast responses to oral bacteria. J Dent Res 2009; 88: 4: 333—338.

76. Irwin C., Mullally B., Ziada H., Allen E., Byrne P.J. Periodontics: 2. Risk factors and susceptibility in periodontitis // Dent. Update. — 2007. Vol. 34, № 5. -P. 270-272, 275-276.
77. Ishihara Y. Severe oral infection due to *Lactobacillus rhamnosus* during induction chemotherapy for acute myeloid leukemia / Ishihara Y., Kanda J., Tanaka K. et al. // Int. J. Hematol. – 2014. – No 100. – P. 607 – 610.
78. Jansson H. Studies on periodontitis and analyses of individuals at risk for periodontal diseases // Swed. Dent. J. Suppl. 2006. - Vol. 180. - P. 5 - 49.
79. Keijser B.J.F. Pyrosequencing analysis of the oral microflora of healthy adults / B.J.F. Keijser, E. Zaura, S.M. Huse, J.M.B.M. van der Vossen, F.H.J. Schuren.
80. Kelk P., Claesson R., Hanstrom L. Abundant secretion of bioactive interleukin-1 β by human macrophages induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* leukotoxin. Infect Immun 2005;73:453—458.
81. Koehler A., Karch H., Beikler T. Multilocus sequence analysis of *Porphyromonas gingivalis* indicates frequent recombination// J. Microbiology. 2003. - Vol. 149. - p. 2407-2415.
82. Kolenbrander P. K., Andersen R. N., Blehert D.S. Communication among Oral Bacteria// J. microbiology , and molecular biology reviews. — 2002, Vol. 66 (3). p. 486-505.
83. Kinney J.S., Ramseier C.A., Giannobile W.V. Oral fluid-based biomarkers of alveolar bone loss in periodontitis. Ann N Y Acad Sci 2007; 1098: 230—251.
84. Kreth J., Merritt J., Qi F. Bacterial and host interactions of oral streptococci // DNA and Cell Biology. – 2009. – Vol. 28. – No 8. – P. 397–403.
85. Lang N.P. Gingivitis as a risk factor in periodontal disease / N.P. Lang, M.A. Schatzle, H. Loe / Journal of Clinical Periodontology – 2009. – 36 (Suppl. 10). – P. 3–8.

86. Maiden M.F., Cohee P., Tanner A.C. Proposal to conserve the adjectival form of the specific epithet in the reclassification of *Bacteroides forsythus* Tanner et al. 1986 to the genus *Tannerella* Sakamoto et al. 2002 as *Tannerella forsythia* corrig., gen. nov., comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 2003; 53:2111—2112.
87. Mattos-Graner, R. O., Y. Li, P. W. Caufield, M. Duncan, and D. J. Smith. 2001. Genotypic diversity of mutans streptococci in Brazilian nursery children suggests horizontal transmission. *J. Clin. Microbiol.* 39:2313–2316.
88. Montijn R.C., Cate ten J.M., Crielaard W. // *Journal of Dental Research.* – 2008. – Vol. 87. – No 11. – P. 1016 - 1020.
89. Mori Y., Yoshimura A., Ukai T. et al. Immunohistochemical localization of Toll-like receptors 2 and 4 in gingival tissue from patients with periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 2003;18:1:54—58.
90. Oho, T., Y. Yamashita, Y. Shimazaki, M. Kushiyama, and T. Koga. 2000. Simple and rapid detection of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in human saliva by polymerase chain reaction. *Oral Microbiol. Immunol.* 15:258–262.
91. Papaioannou W. The microbiota on different oral surfaces in healthy children / W. Papaioannou, S. Gizani, A. D. Haffajee, M. Quirynen, E. Mamai-Homata, L. Papagiannoulis // *Oral Microbiol. Immunol.* – 2009. – No 24. – P. 183–189.
92. Paster B.J. The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites / B.J. Paster, I. Olsen, J.A. Aas, F.E. Dewhirst // *Periodontolgy* 2000. – 2006. – Vol. 42. – P.80 – 87.
93. Pederson E.D. Salivary levels of a2- macroglobulin, al- antitrypsin, C- reactive protein, cathepsin G and elastase in human with or without destructive periodontal disease / E.D. Pederson et al. // *Archs. Oral. Biol.* – 1995. – Vol. 40, № 12. – P. 1151–1155.
94. Queiroz-Junior C.M., Pacheco C.M., Maltos K.L., Caliari M.V., Duarte I.D., Francischi J.N. Role of systemic and local administration of

selective inhibitors of cyclo-oxygenase 1 and 2 in an experimental model of periodontal disease in rats. *J Periodontal Res* 2009; 44: 2: 153—160.

95. Ramich T., Schacher B., Scharf S. et al. Subgingival plaque sampling after combined mechanical and antibiotic nonsurgical periodontal therapy. *ClinOral Investig* 2014; [Epub ahead of print].

96. Ramos-Gomez, F. J., J. A. Weintraub, S. A. Gansky, C. I. Hoover, and J. D. Featherstone. 2002. Bacterial, behavioral, and environmental factors associated with early childhood caries. *J. Clin. Pediatr. Dent.* 26:165–173.

97. Rasmussen L., Hanstrom L., Lerner U.H. Characterization of bone resorbing activity in gingival crevicular fluid from patients with periodontitis. *J Clin Periodontol* 2000; 27: 1: 41—52.

98. Redanz S. A Five-Species Transcriptome Array for Oral Mixed-Biofilm Studies / S. Redanz., K. Standar., A. Podbielski, B. Kreikemeyer // *PLoS ONE*. – 2011. – Vol. 6. – No 12. –P. e27827.

99. Reynolds, H. Y. Modulating airway defenses against microbes / H. Y. Reynolds // *Curr. Opin. Pulm. Med.* – 2002. – Vol. 8, № 3. – P. 154-165.

100. Salvetti E., Torriani S., Felis G.E. The Genus *Lactobacillus*: A Taxonomic Update / *Probiotics & Antimicro. Prot.* – 2012. – No 4. – P. 217 – 226.

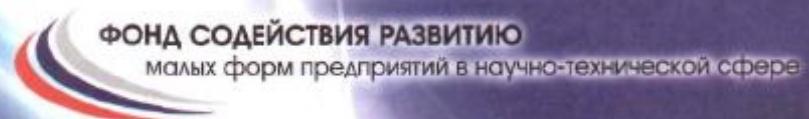
101. Shibusaki T., Nishino W. ELISA detection of glycosaminoglycan (GAG)-linked proteoglycans in gingival crevicular fluid. *J Periodontal Res* 1993; 28:1: 17—20.

102. Simonson L.G., McMahon K.T., Childers D.W., Morton H.E. Bacterial synergy of *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis* in a multinational population. *Oral Microbiol Immunol* 1992; 7: 111—112.

103. Socransky S.S., Haffajee A.D., Smith C. et al. Microbiological parameters associated with IL-1 gene polymorphisms in periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 2000; 27: 11: 810—818.

104. Tanner, A. C. R., P. M. Milgrom, R. Kent, Jr., S. A. Mokeem, R. C. Page, C. A. Riedt, P. Weinstein, and J. Bruss. 2002. The microbiota of young children from tooth and tongue samples. *J. Dent. Res.* 80:2060–2065.
105. Tedjosasongko, U., and K. Kozai. 2002. Initial acquisition and transmission of mutans streptococci in children at day nursery. *ASDC J. Dent. Child.* 69:284–288, 234–235.
106. Thiha K., Takeuchi Y., Umeda M. et al. Identificaion periodontopathic bacteria in gingival tissue of Japanese periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol* 2007; 22: 3: 201—207.
107. Tong K.Z., Zee K.Y., Lee D.H., Corbet E.F. Clinical responses to mechanical periodontal treatment in Chinese chronic periodontitis patients with and without *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Periodontol* 2003; 74: 11:1582—1588.
108. Wara-Aswapati N., Surarit R., Chayasadom A. et al. RANKL Upregulation Associated with Periodontitis and *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodontology* 2007; 78: 6: 1062—1069.

ПРИЛОЖЕНИЕ



диплом

Победитель программы “Участник молодежного
научно-инновационного конкурса” (“УМНИК”)

Швец

Ксения Юрьевна

Председатель
Наблюдательного совета

И.М. Бортик

Генеральный директор
Фонда содействия развитию
малых форм предприятий
в научно-технической сфере

С.Г. Поляков



ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ

БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ДИПЛОМ

НАГРАЖДАЕТСЯ

Швец К.Ю., Тамарова Э.Р.

за лучший доклад на секции

«Медико-биологические науки»

81-ой Всероссийской итоговой молодежной
научной конференции с международным участием
«Вопросы теоретической и практической медицины»

Ректор ГБОУ ВНОУ БГМУ

Минздрава России



Б. Н. Павлов

Уфа, 18–20 апреля 2016 года





ВСЕРОССИЙСКАЯ МОЛОДЕЖНАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
"Региональные программы и проекты в области
интеллектуальной собственности глазами молодежи"
в рамках **IX Международного форума**
"Интеллектуальная собственность - XXI век"

ДИПЛОМ

ПРОЕКТ

Прецизионные способы получения количественных данных о
видовом составе микробиоты в микрообъемах биологических
образцов

АВТОРЫ

Швец Ксения Юрьевна

Ректор ФГБОУ ВО
Российская Государственная
Академия Интеллектуальной
Собственности

Близнец И.А.

Первый заместитель
председателя комитета
Совета Федерации
по науке, образованию и
культуре

Гумерова Л.С.



Грамота

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

Участник отборочного тура весенней сессии
«У.М.Н.И.К. – БГМУ 2015»
по направлению «Медицина будущего»

НАГРАЖДАЕТСЯ

Швец Ксения Юрьевна

представившая проект «Разработка способа ранней диагностики и
оценки эффективности лечения парадонтита»

за научные результаты, обладающие новизной и
перспективой их коммерческой реализации

Научные руководители:
д.б.н., проф. Баймиеев А.Х., врач-стоматолог Тамарова Э.Р.

Проректор по научной и
инновационной работе
д.фарм.н., профессор



В.А. Катаев

апрель 2015 г.



СЕРТИФИКАТ

Настоящий сертификат дает победителю
программы «**Участник молодежного
научно-инновационного конкурса**
«УМНИК»)

Швец

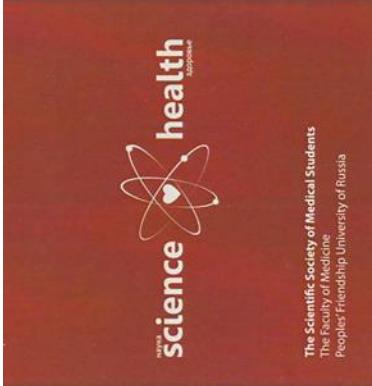
Ксения Юрьевна

право на бесплатную консультацию
и оформление заявки на регистрацию одного
объекта интеллектуальной собственности
на сайте onlinepatent.ru

Генеральный директор
Фонда содействия развитию
малых форм предприятий
в научно-технической сфере
ПОЛЯКОВ С. Г.

Генеральный директор
компании **Онлайн Патент**
АТАМАНОВ А. В.

VII INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE
SCIENCE4HEALTH 2016
12TH APRIL 2016 – 15TH APRIL 2016, MOSCOW, RUSSIA



CERTIFICATE

This is to certify that

Shvets Kseniya

has attended the VII INTERNATIONAL SCIENTIFIC
CONFERENCE **SCIENCE4HEALTH 2016**.



15TH APRIL 2016

ALEXEI YU. ABRAMOV
THE CHAIRMAN OF THE ORGANIZING COMMITTEE
DEAN OF THE FACULTY OF MEDICINE OF PFUR

ORGANIZING COMMITTEE of
SCIENCE4HEALTH 2016: The Scientific Society of Medical Students,
The Faculty of Medicine,
Peoples' Friendship University of Russia,

www.science4health.org
info@science4health.org

СЕРТИФИКАТ

Настоящим удостоверяется, что

Швец Ксения Юрьевна

принял(а) участие в научно-практической конференции

"Актуальные вопросы бактериологической диагностики инфекционных заболеваний"

Директор ФГБУН ГНИЦ ПМБ
член-корреспондент РАН
доктор медицинских
наук, профессор

И.А. ДРЯГИЛОВ



4 марта 2015г., Уфа



Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина

СЕРТИФИКАТ

На настоящим сертификатом удостоверяется, что

Швец Ксения Юрьевна

(фамилия, имя, отчество)

с 06 октября 2014 г по 11 октября 2014 г.

Пропел(а) обучение по программе _____
(наименование программы дополнительного образования)
«Биология будущего: традиции и инновации»

в рамках VII Всероссийского Конгресса молодых биологов «Симбиоз - Россия 2014»

в объеме 36 часов
(количество часов)

Ректор (директор) _____
Руководитель структурного подразделения



Регистрационный номер 4686



**ВСЕРОССИЙСКАЯ МОЛОДЕЖНАЯ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
"РЕГИОНАЛЬНЫЕ ПРОГРАММЫ И ПРОЕКТЫ
В ОБЛАСТИ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ
СОБСТВЕННОСТИ ГЛАЗАМИ МОЛОДЕЖИ"**

**КАТАЛОГ
ПРОЕКТОВ УЧАСТНИКОВ**

**Г. УФА
РЕСПУБЛИКА БАШКОРТОСТАН
18 АПРЕЛЯ 2016 ГОДА**

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕХАНИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ МЕТАЛЛОВ, ЗА СЧЕТ ПРИМЕНЕНИЯ СОВРЕМЕННЫХ СМАЗОЧНО-ОХЛАЖДАЮЩИХ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СРЕД	53
ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ КЕРМЕТОВ НА ОСНОВЕ КАРБИДА ТИТАНА В ЗАПОРНОЙ АРМАТУРЕ	54
ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВОПОМПАЖНЫХ СИСТЕМ ГАЗОТУРБИННЫХ ДВИГАТЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ДАТЧИКОВ, ПЕРВИЧНЫХ ПРЕОБРАЗОВАТЕЛЕЙ И АЛГОРИТМОВ ОБРАБОТКИ РАБОЧИХ ПАРАМЕТРОВ ГАЗОТУРБИННОГО ДВИГАТЕЛЯ	54
ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ СИСТЕМ ШИРОКОПОЛОСНОГО ДОСТУПА К МУЛЬТИМЕДИЙНЫМ УСЛУГАМ, РАБОТАЮЩИХ ПО ТЕХНОЛОГИИ RADIO-OVER-FIBER (ROF), НА ОСНОВЕ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ЭЛЕМЕНТОВ И УСТРОЙСТВ ФИЗИЧЕСКОГО УРОВНЯ	55
ПОЛУЧЕНИЕ НЕФТЯНЫХ СУЛЬФОКСИДОВ	56
ПОЛУЧЕНИЕ ПОЛИМЕРНЫХ ПРОДУКТОВ, СОДЕРЖАЩИЕ ЦИКЛОПРОПАНОВЫЕ ГРУППЫ	57
ПОЛУЧЕНИЕ ПОРИСТОГО МАТЕРИАЛА	57
ПОЛУЧЕНИЕ УГЛЕРОДНОГО АДСОРБЕНТА НА ОСНОВЕ БУРОГО УГЛЯ И НЕФТЯНОГО ПЕКА	58
ПОЛУЧЕНИЕ ЭПОКСИДИРОВАННЫХ 1,2 ПОЛИБУТАДИЕНОВ	58
ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ ГАЗОПРОЯВЛЕНИЙ СКВАЖИНЫ В ПЕРИОД ОЗЦ	58
ПРЕЦИЗИОННЫЕ СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ДАННЫХ О ВИДОВОМ СОСТАВЕ МИКРОБИОТЫ В МИКРООБЪЕМАХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ	58
ПРОГРАММНО-АППАРАТНЫЙ КОМПЛЕКС «ВИРТУАЛЬНАЯ РУКА», ИСПОЛЬЗУЮЩИЙ ЕСТЕСТВЕННЫЕ ЖЕСТЫ РУК ДЛЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С ВИРТУАЛЬНЫМ МИРОМ	59
РАЗРАБОТКА БИФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ПРИСАДКИ ДЛЯ ДИЗЕЛЬНЫХ ТОПЛИВ	60
РАЗРАБОТКА ГАЗОЖИДКОСТНЫХ ХРОМАТОГРАФОВ ДЛЯ АНАЛИЗА НЕФТИ И НЕФТЕПРОДУКТОВ	60
РАЗРАБОТКА И ВНЕДРЕНИЕ НОВОЙ КОНСТРУКЦИИ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЗУБНОЙ ШИНЫ-КАППЫ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ	61
РАЗРАБОТКА И ИССЛЕДОВАНИЕ ШАРИКОВЫХ ПЕРВИЧНЫХ ПРЕОБРАЗОВАТЕЛЕЙ РАСХОДА ЖИДКОСТЕЙ ДЛЯ ИХ ПОДГОТОВКИ К ГОСУДАРСТВЕННЫМ ИСПЫТАНИЯМ В ГОССТАНДАРТЕ РОССИИ С ЦЕЛЬЮ УТВЕРЖДЕНИЯ ТИПА СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЯ И К СЕРИЙНОМУ ПРОИЗВОДСТВУ	61
РАЗРАБОТКА МЕТОДА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА	63
РАЗРАБОТКА МОДЕЛИ ОЦЕНКИ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО КАПИТАЛА НА КОРПОРАТИВНОМ УРОВНЕ В НЕФТЕГАЗОВОЙ ОТРАСЛИ	64
РАЗРАБОТКА ПИНХОЛ-КАМЕР ДЛЯ СОЛЯРОГРАФИИ И ПЛЕНОЧНОЙ ФОТОГРАФИИ	64
РАЗРАБОТКА ПРОГРАММНОГО КОМПЛЕКСА "INVEST PROJECT" ДЛЯ ИНВЕСТИЦИОННОЙ ОЦЕНКИ РОССИЙСКИХ БИЗНЕС-ПРОЕКТОВ	64
РАЗРАБОТКА СИНТЕЗА ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОГО ГИДРОГЕЛЯ И ИЗУЧЕНИЕ ЕГО ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ	65
РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ АНАЛИЗА МИКРОСЕЙСМИЧЕСКИХ СОБЫТИЙ ПРИ ГИДРАВЛИЧЕСКОМ РАЗРЫВЕ ПЛАСТА	66
РАЗРАБОТКА ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БАКТЕРИАЛЬНОГО ВАГИНОЗА МЕТОДОМ ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ	67
РАСТВОРИМЫЕ ЭЛЕКТРОКТИВНЫЕ ДИЗАМЕЩЕННЫЕ ПОЛИАНИЛИНЫ	67

ПОЛУЧЕНИЕ УГЛЕРОДНОГО АДСОРБЕНТА НА ОСНОВЕ БУРОГО УГЛЯ И НЕФТЯНОГО ПЕКА

1. Возрастная группа авторов: от 25 до 30 лет.
2. Научный руководитель проекта: Жирнов Борис Семенович, УГНУТ в г.Салавате, заведующий кафедрой, д.т.н., профессор.
3. Автор: Запылкина Вероника Валерьевна – к.т.н., доцент.
4. Цель: Производство углеродного адсорбента.
5. Задачи: Изучение процесса получения углеродного адсорбента, реализация процесса в промышленном масштабе.
6. Сроки реализации: 2016-2018 гг.
7. Конкурентные преимущества: Дешевое и доступное сырье, высокая сорбционная емкость, адсорбция различных химических и металлоорганических веществ
8. Эффект(ы) от реализации: экономический.
9. Контактная информация: моб. тел.:89173834210

Адрес эл. почты: veronikazapylkina@mail.ru
Адрес почтовый с индексом (для корреспонденции): РБ, г. Салават, ул. Губкина 22 Б, индекс - 453265

ПОЛУЧЕНИЕ ЭПОКСИДИРОВАННЫХ 1,2 ПОЛИБУТАДИЕНОВ

1. Возрастная группа авторов: от 25 до 30 лет.
2. Научный руководитель проекта: Глазырин Андрей Борисович, ФГБОУ ВО "Башкирский государственный университет", доцент, кандидат химических наук БашГУ.
3. Авторы: Абдуллин Марат Ибрагимович, Глазырин Андрей Борисович, Куковинец Ольга Сергеевна, Басыров Азамат Айратович, Валекжанин Илья Владимирович, Клысова Гульфия Ураловна.
4. Цель: получение полимерных продуктов на основе 1,2-полибутадиенов, содержащих в составе макромолекул эпоксидные группы.
5. Задачи: Разработка способа получения эпоксидированных 1,2-полибутадиенов, характеризующегося более высоким уровнем безопасности, исключение использования в процессе химически агрессивного и взрывоопасного реагента - пероксида водорода, снижение энергетических затрат, повышение качества целевого продукта.
6. Сроки реализации: 1 год.
7. Конкурентные преимущества: Разработанный метод дает возможность целенаправленного получения полимерных продуктов, содержащих эпоксидные группы, на основе 1,2-полибутадиенов с заданной степенью функционализации (содержанием эпоксидных групп) от 10 до 40% и молекулярной массой от 1000 до 150000 и содержанием в макромолекулах звеньев 1,2-полимеризации 60-95 мол. %, в зависимости от требований, предъявляемых к полимеру.
8. Эффект(ы) от реализации: образовательный.
9. Контактная информация: 89276376346, azacompany@rambler.ru

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ ГАЗОПРОЯВЛЕНИЙ СКВАЖИНЫ В ПЕРИОД ОЗЦ

1. Возрастная группа авторов: от 17 до 25 лет.
2. Научный руководитель проекта: Агзамов Фарит Акрамович, УГНТУ, профессор,доктор технических наук,профессор.
3. Авторы: Ризванов Шамиль Закирович, Коток Андрей Александрович.
4. Цель: Повышение герметичности кольцевого пространства скважины во время твердения цемента, улучшение качества крепления скважины.
5. Задачи: Разработка рецептуры цементного раствора, при котором не будет миграции газа при ОЗЦ и установки для экспериментального изучения процесса.
6. Сроки реализации: 2018 год включительно.
7. Эффект(ы) от реализации: Сокращение капитальных ремонтов скважин, уменьшение времени простоев, улучшение качества крепи скважин.
8. Контактная информация: моб. тел.: 89610407997-Ризванов Ш.З. ,89872532529-Коток А.А.

Адрес эл. почты: schwejk600@gmail.com- Ризванов Ш.З., kotok-andrei@mail.ru-Коток А.А.
Адрес почтовый с индексом (для корреспонденции):450062, РБ ул.Космонавтов 1.

ПРЕЦИЗИОННЫЕ СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ДАННЫХ О ВИДОВОМ СОСТАВЕ МИКРОБИОТЫ В МИКРООБЪЕМАХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ

1. Возрастная группа авторов: от 17 до 25 лет.

2. Научный руководитель проекта: Мавзютов Айрат Радикович, д.м.н., зав. кафедрой фундаментальной и прикладной микробиологии ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России.
3. Автор: Швец Ксения Юрьевна.
4. Цель: Разработка прецизионных способов получения количественных данных о видовом составе микробиоты в микрообъемах биологических образцов (содержимое пародонтальных карманов, сокобы из цервикального канала, отделяемое слизистой конъюнктивы и др.) амплификационными методами.
5. Задачи:
- Разработка прецизионного способа получения количественных данных о видовом составе микробиоты в микрообъемах биологических образцов. Оформление заявки на изобретение. Создание универсального контроля для получения точных количественных данных (копий ДНК/мл) о концентрациях искомых микроорганизмов в микрообъемах биологических образцов.
 - Оформление заявки на изобретение.
 - Создание диагностических систем для диагностики дисбиотических состояний различной локализации. Оформление заявки на изобретение.
6. Сроки реализации: 2015-2018 гг.
7. Конкурентные преимущества:
- Наивысшие из возможных в области биологии специфичность и чувствительность.
 - Прецизионность.
 - Дифференциальная диагностика патологических и пограничных состояний различной локализации, ассоциируемых с условно-патогенными представителями микробиоты человека.
 - Возможность применения в области метагеномных исследований.
8. Эффект(ы) от реализации:
- Создание панели прецизионных молекулярно-генетических диагностических систем для ранней диагностики дисбиотических и пограничных состояний, инфекционных полизиологических заболеваний в области акушерства и гинекологии, стоматологии, офтальмологии и др.
 - Создание лабораторно-инструментальной базы для сравнительной оценки эффективности новых и применяемых методов лечения.
 - Создание методологии для оценки в реальном времени эффективности проводимого лечения инфекционных заболеваний и ассоциируемых с ними пограничных состояний.
9. Контактная информация: Тел., моб.тел.: 89374788755
Адрес эл. почты: kseniya.shvets@yandex.ru
Адрес почтовый с индексом: 450077 г.Уфа, ул. Кирова, д. 41, кв. 9.

ПРОГРАММНО-АППАРАТНЫЙ КОМПЛЕКС «ВИРТУАЛЬНАЯ РУКА», ИСПОЛЬЗУЮЩИЙ ЕСТЕСТВЕННЫЕ ЖЕСТЫ РУК ДЛЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С ВИРТУАЛЬНЫМ МИРОМ

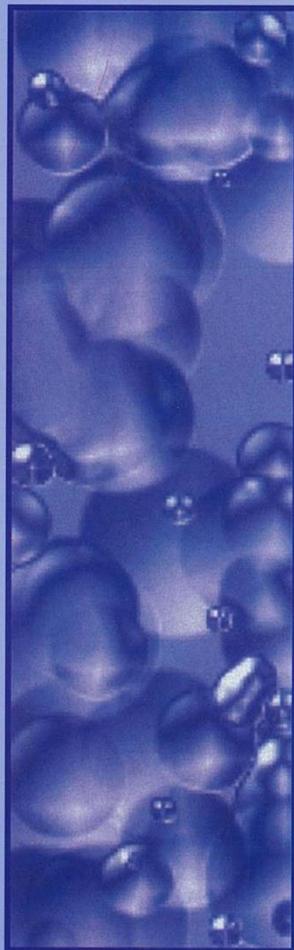
1. Возрастная группа авторов: от 17 до 25 лет.
2. Научный руководитель проекта: Попов Денис Владимирович, к.т.н., доцент.
3. Авторы: Габдуллина Яна Олеговна, Лобанов Александр Сергеевич.
4. Цель: Основная цель ПАК «Виртуальная рука» - определение движения рук и пальцев человека и перенесение этих движений программным способом в виртуальную реальность (на обычный монитор либо на экраны шлемов виртуальной реальности типа Oculus Rift) для ее управления и взаимодействия с ней. В зависимости от используемого специализированного ПО, будет предопределенное назначение и область применения «виртуальной руки». Это может быть: медико-реабилитационная область (к примеру, реабилитация пациентов после инсульта); тренажеры и симуляторы;- игровые приложения и аттракционы.
5. Задачи:
1. Исследование, разработка и экспериментальное тестирование прототипа Программно-аппаратного комплекса «Виртуальная рука». Разработка алгоритмов распознавания жестов руки, отображения в виртуальном мире и взаимодействия с ним.Разработка технических заданий и технических предложений «Виртуальной руки» для специализированных применений: медико-реабилитационного, для тренажёров и симуляторов, сложных аппаратных комплексов, для игровых аттракционов и приставок.
 2. Разработка опытно-промышленной версии Программно-аппаратного комплекса «Виртуальная рука» и его испытания. Разработка системного программного обеспечения взаимодействия «Виртуальной руки» в виртуальном мире на основе естественных жестов рук. Разработка алгоритмов и ПО сопоставления и определения правильности повторения реабилитационных упражнений.

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

RUSSIAN CLINICAL LABORATORY DIAGNOSTICS

ISSN 0869-2084



12'2015

Том 60

- БИОХИМИЯ
- ГЕМАТОЛОГИЯ
- МИКРОБИОЛОГИЯ

Volume 60 • Issue 12 • 2015

www.medlit.ru

Издательство «МЕДИЦИНА»

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

БИОХИМИЯ

- Рожкова Т.А., Титов В.Н., Амелиушкина В.А., Каба С.И., Кухарчук В.В. Липолиз в филогенетически ранних липопротеинах низкой плотности и более поздних липопротеинах очень низкой плотности; функция и диагностическое значение apoE и apo111 4

- Соколова Е.А., Боярскихих У.А., Ширшова А.Н., Кель А.Э., Филипенко М.Л. Биомаркеры для своевременной диагностики колоректального рака 15

- Гасанова А.Г., Матвеева Е.Л., Спиркина Е.С. Исследование показателей минерального обмена у больных с дегенеративно-дистрофическими поражениями суставов 23

ГЕМАТОЛОГИЯ

- Левина А.А., Мещерякова Л.М., Цыбульская М.М., Соколова Т.В. Дифференциальная диагностика анемий 26

МИКРОБИОЛОГИЯ

- Мавзютова Г.А., Кузовкина О.З., Мирсаярова И.А. Диагностическое значение современных методов микробиологической верификации внебольничной пневмонии в клинической практике 31

- Мальцева Н.В., Воробьева О.Н., Тараско А.Д., Пирогов Е.А. ДНК-диагностика синегнойной инфекции 35

- Карташов М.Ю., Микрюкова Т.П., Терновой В.А., Москвитина Н.С., Локтев В.В. Высокоэффективная детекция ДНК риккетсий методом ПЦР в реальном времени 39

- Харссеева Г.Г., Воронина Н.А., Миронов А.Ю., Алютина Э.Л. Сравнительный анализ методов идентификации *Corynebacterium non diphtheriae* 43

- Платонова А.Г., Осипов Г.А., Бойко Н.Б., Кириллова Н.В., Родионов Г.Г. Хромато-масс-спектрометрическое исследование микробных жирных кислот в биологических жидкостях человека и их клиническая значимость 46

- Тамарова Э.Р., Баймиеев А.Х., Швец К.Ю., Мавзютов А.Р. Молекулярно-генетическая характеристика видового состава микробиоты слюны и десневых карманов при пародонтите 56

- Ипполитов Е.В., Диденко Л.В., Царев В.Н. Особенности морфологии биопленки пародонта при воспалительных заболеваниях десен (хронический катаральный gingivitis, хронический пародонтит, кандидоассоциированный пародонтит) по данным электронной микроскопии 59

BIOCHEMISTRY

- Rozhкова T.A., Titov V.N., Amelyushkina V.A., Kaba S.I., Kukharchuk V.V. The lipolysis in phylogenetically early low density lipoproteins and more later very low density lipoproteins: function and diagnostic value of apoE and apo111

- Sokolova E.A., Boyarskikh U.A., Shirshova A.N., Kel A.E., Filipenko M.L. The biomarkers for timely diagnostic of colorectal cancer

- Gasanova A.G., Matveeva E.L., Spirkina E.S. The analysis of indicators of mineral metabolism in patients with degenerative dystrophic affections of joints

HEMATOLOGY

- Levina A.A., Mesheryakova L.M., Tsibulskaya M.M., Sokolova T.V. The differential diagnostic of anemia

MICROBIOLOGY

- Mavzyutova G.A., Kuzovkina O.Z., Mirsayapova I.A. The diagnostic value of modern methods of microbiological verification of community-acquired pneumonia in clinical practice

- Mal'tseva N.F., Vorobyeva O.N., Tarasko A.D., Pirogov E.A. The DNA diagnostic of pseudomonas infection

- Kartashov M.Yu., Mikryukova T.P., Ternovoi V.A., Moskvitina N.S., Loktev V.B. The highly effective detection of DNA rickettsia using technique of polymerase chain reaction in real-time

- Kharseeva G.G., Voronina N.A., Mironov A.Yu., Alyutina E.L. The comparative analysis of techniques of identification of *Corynebacterium non diphtheriae*

- Platonova A.G., Osipov G.A., Boiko N.B., Kirillova N.V., Rodionov G.G. The chromatography-mass spectrometry analysis of microbial fatty acids in human biological fluids and their clinical significance

- Tamarova E.R., Baimieev A.Kh., Shvetz K.Yu., Mavzyutov A.R. The molecular genetic characteristic of species content of saliva and gingival recess under periodontitis

- Ippolitov E.V., Didenko L.V., Tzarev V.N. The characteristics of morphology of biofilm of periodontium under inflammatory diseases of gums (chronic catarrhal gingivitis, chronic periodontitis, Candida-associated periodontitis) according results of electron microscopy

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.314.17-002-07:616.316-008.87-078

Тамарова Э. Р., Баймиеев А. Х., Швец К. Ю., Мавзютов А. Р.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИДОВОГО СОСТАВА МИКРОБИОТЫ СЛЮНЫ И ДЕСНЕВЫХ КАРМАНОВ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ

ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, 450077, Уфа

Обследовано 110 больных пародонтитом (группа наблюдения) и 60 пациентов без патологии пародонта (группа сравнения). С помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) исследованы образцы слюны и содержимого пародонтальных карманов для выявления видоспецифических фрагментов ДНК *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus macacae*, *S. mutans*, *S. oralis*, *S. salivarius*, *S. sanguis*, *S. sobrinus*, *Treponema denticola*. У больных пародонтитом в содержимом пародонтального кармана зубов достоверно чаще обнаруживали *S. mutans*, *S. oralis*, *S. sobrinus*, в слюне – *S. mutans*, *S. sobrinus*. В группе наблюдения значимо превышена частота выявления ассоциации *S. mutans* – *S. oralis* – *S. sanguis* – *S. sobrinus* (на 15,6%; $\chi^2 = 9,1$; $p = 0,004$). Через 10 дней эффективного лечения пародонтита наблюдалось достоверное снижение частоты обнаружения *S. oralis*, *S. sobrinus* в содержимом пародонтальных карманов, но не в слюне. Выявление *S. sobrinus* методом ПЦР в содержимом пародонтальных карманов и/или слюне у больных пародонтитом имеет диагностическое значение. Обнаружение *S. sobrinus* (ПЦР) в содержимом пародонтальных карманов значимо как в монокультуре, так и в ассоциации *S. mutans* – *S. oralis* – *S. sanguis* – *S. sobrinus*. Отсутствие *S. sobrinus* (ПЦР) в содержимом пародонтальных карманов свидетельствует об эффективности лечения основного заболевания (пародонтита).

Ключевые слова: пародонтит; диагностика; пародонтопатогенная микрофлора; полимеразная цепная реакция; эффективность лечения.

Для цитирования: Клиническая лабораторная диагностика. 2015;60(12): 56–59.

Tamarova E.R., Baimiev A.Kh., Shvetz K.Yu., Mavzyutov A.R.

THE MOLECULAR GENETIC CHARACTERISTIC OF SPECIES CONTENT OF SALIVA AND GINGIVAL RECESS UNDER PERIODONTITIS

The Bashkirskii state medical university of Minzdrav of Russia, 450077 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia

The examination was carried out of samplings of 110 patients with periodontitis (observation group) and 60 patients without pathology of periodont (comparison group). The polymerase chain reaction was used to analyze samples of saliva and contents of periodontal recesses for detecting species-specific DNA fragments of *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus macacae*, *S. mutans*, *S. oralis*, *S. salivarius*, *S. sanguis*, *S. sobrinus*, *Treponema denticola*. In patients with periodontitis *S. mutans*, *S. oralis*, *S. sobrinus* were reliably more often detected in the content of periodontal recesses and *S. mutans*, *S. sobrinus* in saliva. In the observation group the rate of detection of association *S. mutans* – *S. oralis* – *S. sanguis* – *S. sobrinus* was significantly exceeded (up to 15.6%, $\chi^2 = 9.1$, $p = 0.004$). In ten days of effective treatment of periodontitis reliable decreasing of rate of detection of *S. wasoralis*, *S. sobrinus* was observed in contents of periodontal recesses but not in of saliva. The detection of *S. sobrinus* using technique of polymerase chain reaction in contents of periodontal recesses and/or saliva of patients with periodontitis has a diagnostic value. The detection of *S. sobrinus* in contents of periodontal recesses is significant both in monoculture and in association *S. mutans* – *S. oralis* – *S. sanguis* – *S. sobrinus*. The absence of *S. sobrinus* in contents of periodontal recesses testifies effectiveness of treatment of main disease (periodontitis).

Ключевые слова: периодонтит; диагностика; периодонтопатогенная микрофлора; полимеразная цепная реакция; эффективность; лечение

Сitation: Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika. 2015; 60 (12): 56–59. (in Russ.)

Введение. Одной из важнейших проблем современной стоматологии вследствие высокой распространенности среди взрослого населения, недостаточной эффективности лечения и высокой частоты рецидивов являются воспалительные заболевания пародонта [1, 2]. По некоторым данным, распространенность патологии пародонта среди взрослого населения Российской Федерации достигает 95–100% и не имеет тенденции к снижению [3, 4].

В качестве основного этиологического фактора пародонтия рассматривают пародонтальную микробиоту, поскольку видоспецифические особенности метаболизма составляющих ее микроорганизмов являются патогенетически значимыми и могут оказывать существенно влияние на течение воспалительного процесса [5, 6]. Условно-патогенные и патогенные бактерии в пародонтальном кармане в процессе своей жизнедеятельности способствуют разрушению зубодесневого

аппарата вплоть до резорбции альвеолярной кости, сенсибилизируют организм, изменяют иммунореактивность, ассоциируются с соматической патологией [7–9]. В связи с этим характеристика микробиоты зубодесневого аппарата, выявление патогенетически и клинически значимых ее особенностей может иметь диагностическое и прогностическое значение для стоматолога.

Микробиота ротовой полости и зубодесневых карманов отличается нестабильностью, определяемой многими, чаще неконтролируемыми факторами, представлена труднокультивируемыми (анаэробными, микроаэрофильными и др.) и некультивируемыми микроорганизмами, соответственно методология лабораторных исследований, используемая, например, при дисбионах, как правило, неэффективна. Перспективным представляется применение полимеразной цепной реакции (ПЦР), обеспечивающей выявление и идентификацию микроорганизмов без выделения чистой культуры. ПЦР предполагает детекцию конкретных микроорганизмов, виды которых, их сочетания, этиопатогенетическое значение у конкретного больного различаются и изначально неизвестны [10–12], что в известной степени снижает при-

Для корреспонденции: Тамарова Эльмира Рифовна, tamarovufa2@mail.ru

For correspondence: Tamarova E.R., tamarovufa2@yandex.ru

кладное значение метода. Стоматологическая патология имеет свою специфику в плане выбора и взятия материала для исследования, например содержимого пародонтального кармана и др.

Цель исследования – установить виды бактерий, имеющие маркерное значение, выявление которых можно рассматривать как метод лабораторной диагностики и контроля эффективности лечения пародонтиита.

Материалы и методы. Обследовано 110 больных (группа наблюдения) пародонтитом (48 мужчин и 62 женщины) в возрасте от 18 до 72 лет ($49,7 \pm 9,32$ года). Из них 76 (69,1%) пациентов обратились за помощью впервые, 34 (30,9%) ранее лечились, частота обращения – не менее 1 раза в год. Анамнестически: продолжительность заболевания составляла от нескольких месяцев до 15 лет ($6,7 \pm 3,41$ года). По степени тяжести у 81 (73,6%) пациент диагностирован пародонтит средней степени, у 29 (26,4%) – пародонтит тяжелой степени. В первые сутки поверхности зубодесневых карманов и корня однократно подвергались терапевтическому воздействию ультразвука и обработке гидроксиапатитом кальция при помощи прибора Vector («Durr Dental», Германия). Всем больным пародонтитом однократно ежедневно (10 дней) инъекционно вводили раствор антибиотика и анестетика (1 мл 30% раствора линкомицина гидрохлорида в смеси с 0,2 мл 2% раствора лидокаина гидрохлорида *ex tempore*).

Таблица 1
Частота выявления методом ПЦР патогенных и условно-патогенных бактерий в содержимом пародонтального кармана

Бактерии	Больные пародонтитом (n = 110)		Группа сравнения (n = 60)	
	абс.	%	абс.	%
<i>P. gingivalis</i>	26	23,6	9	15,0
<i>S. macacae</i>	14	12,7	5	8,3
<i>S. mutans</i>	87	79,1 *	17	29,3
<i>S. oralis</i>	69	62,7 *	14	23,3
<i>S. salivarius</i>	13	11,8	3	5,0
<i>S. sanguis</i>	72	65,5	38	63,3
<i>S. sobrinus</i>	58	52,7 *	7	11,7
<i>T. denticola</i>	20	18,2	5	8,3

Примечание. * – отличие от значений в группе сравнения достоверно ($p < 0,001$).

Таблица 2
Частота выявления методом ПЦР пародонтопатогенных бактерий в слюне

Бактерии	Больные пародонтитом (n = 110)		Группа сравнения (n = 60)	
	абс.	%	абс.	%
<i>P. gingivalis</i>	20	18,2	5	8,3
<i>S. macacae</i>	22	20,0	8	13,3
<i>S. mutans</i>	81	73,6*	16	26,7
<i>S. oralis</i>	60	54,5	27	45,0
<i>S. salivarius</i>	7	6,4	2	3,3
<i>S. sanguis</i>	63	57,3	28	46,7
<i>S. sobrinus</i>	47	42,7 *	7	11,7
<i>T. denticola</i>	11	10,0	3	5,0

Примечание. * – отличие от значений в группе сравнения достоверно ($p < 0,001$).

Группу сравнения составили 60 пациентов (26 мужчин и 34 женщины, возраст $45,3 \pm 7,62$ года) без патологии пародонта после санации полости рта.

Материалом для исследования служили содержимое пародонтального кармана зубов и ротовая жидкость. Содержимое пародонтального кармана отбирали из наиболее глубоких участков с помощью стерильных бумажных эндодонтических штифтов (размер № 25), которые затем помещали в пробирку с физиологическим раствором. Одновременно брали пробу слюны. Образцы хранили и транспортировали при 4°C в течение 2 ч.

Тотальную ДНК из образцов ДНК выделяли с использованием наборов ДНК-экспресс (НПФ «Литех», Россия). Детекцию видоспецифических фрагментов ДНК *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus macacae*, *S. mutans*, *S. oralis*, *S. salivarius*, *S. sanguis*, *S. sobrinus*, *Treponema denticola*, наиболее часто встречающихся при пародонтиите [6, 13], осуществляли методом ПЦР. Для амплификации использовали собственные пары праймеров, комплементарные консервативным участкам ДНК 16S рРНК указанных микроорганизмов на термоциклире Террик МС-2 (НПФ «ДНК-Технология», Россия). Разделение продуктов амплификации выполняли электрофоретически в 2% горизонтальном агарозном геле («Sigma», США) с последующей визуализацией ультрафиолетом после окраски бромидом этидия в фотодокументационной системе.

У 60 больных хроническим пародонтитом молекулярно-генетическое исследование проведено дважды – до и через 10 дней лечения по описанной схеме.

Результаты и обсуждение. В результате молекулярно-генетического исследования содержимого пародонтальных карманов больных пародонтитом и в группе сравнения обнаружены все виды приоритетных пародонтопатогенных бактерий: *P. gingivalis*, *S. macacae*, *S. mutans*, *S. oralis*, *S. salivarius*, *S. sanguis*, *S. sobrinus*, *T. denticola* (табл. 1). С частотой более 50% обнаруживали *S. mutans* (79,1%), *S. sanguis* (65,5%), *S. oralis* (62,7%), *S. sobrinus* (52,7%). Встречаемость бактерий данных видов в содержимом пародонтальных карманов достоверно выше у больных, чем в группе сравнения, только относительно *S. mutans* (на 49,8%; $\chi^2 = 42,1$; $p = 0,0001$), *S. oralis* (на 39,4%; $\chi^2 = 24,1$; $p = 0,0001$), *S. sobrinus* (на 41%; $\chi^2 = 27,7$; $p = 0,0001$).

Близкие данные о содержании указанных микроорганизмов получены при молекулярно-генетическом исследовании образцов слюны у больных пародонтитом (табл. 2). Наиболее часто обнаруживали *S. mutans* (73,6%), *S. sanguis* (57,3%), *S. oralis* (54,5%), *S. sobrinus* (42,7%). Встречаемость данных бактерий в слюне пациентов группы наблюдения достоверно выше, чем в группе сравнения, только для *S. mutans* (на 46,9%; $\chi^2 = 34,9$; $p = 0,0001$) и *S. sobrinus* (на 31,0%; $\chi^2 = 17,3$; $p = 0,0001$).

Учитывая, что наиболее часто пародонтопатогенные бактерии представлены в микробных ассоциациях [14, 15], провели анализ ассоциативных связей между микроорганизмами различных видов (табл. 3). У пациентов с пародонтитом в содержимом пародонтальных карманов чаще всего выявляли ассоциации *S. mutans* – *S. sanguis* – *S. oralis* (17,3%), *S. mutans* – *S. oralis* – *S. sanguis* – *S. sobrinus* (17,3%), *S. mutans* – *S. sanguis* (10%), *S. mutans* – *S. oralis* (6,4%). В группе наблюдения значимое превышение частоты выявления ассоциаций установлено только для *S. mutans* – *S. oralis* – *S. sanguis* – *S. sobrinus* (на 15,6%; $\chi^2 = 9,1$; $p = 0,004$), тогда как частота выявления сочетания бактерий *S. mutans* – *S. oralis* у больных пародонтитом достоверно ниже, чем у здоровых лиц (на 11,9%; $\chi^2 = 5,9$; $p = 0,019$).

Частота встречаемости указанных вариантов в слюне составляла для ассоциации *S. mutans* – *S. sanguis* – *S. oralis* 19,1%, для *S. mutans* – *S. oralis* 11,8%, для *S. mutans* – *S. oralis* – *S. sanguis* – *S. sobrinus* 9,1%, и ассоциативный вариант *S. mutans* – *S. sanguis* регистрировали с частотой 8,2%. Частота встречаемости других вариантов не превышала 5%. При

Таблица 3
Частота выявления ассоциаций пародонтопатогенных бактерий в содержимом пародонтальных карманов у больных и в группе сравнения

Сообщества бактерий	Больные пародонтитом (n = 110)		Группа сравнения (n = 60)	
	абс.	%	абс.	%
<i>S. mutans</i> – <i>S. Sanguis</i> – <i>S. oralis</i>	19	17,3	5	8,3
<i>S. mutans</i> – <i>S. oralis</i> – <i>S. Sanguis</i> – <i>S. sobrinus</i>	19	17,3*	1	1,7
<i>S. mutans</i> – <i>S. sanguis</i>	11	10,0	1	1,7
<i>S. mutans</i> – <i>S. oralis</i>	7	6,4*	11	18,3

Примечание. * – отличие от значений в группе сравнения достоверно ($p < 0,05$).

Таблица 4
Частота (в %) выделения патогенных и условно-патогенных бактерий у больных хроническим пародонтитом после лечения

Бактерии	Содержимое пародонтального кармана		Слюна	
	исходно	через 10 дней	исходно	через 10 дней
<i>P. gingivalis</i>	20,0	6,7	16,7	10,0
<i>S. macacae</i>	13,3	10,0	20,0	6,7
<i>S. mutans</i>	76,7	70,0	73,3	60,0
<i>S. oralis</i>	63,3	40,0*	50,0	40,0
<i>S. salivarius</i>	13,3	13,3	6,7	3,3
<i>S. sanguis</i>	70,0	60,0	56,7	46,7
<i>S. sobrinus</i>	53,3	33,3*	43,3	36,7
<i>T. denticola</i>	16,7	6,7	13,3	3,3

Примечание. * – отличие от значений в группе сравнения достоверно ($p < 0,001$).

этом существенных различий в частоте выявления данных ассоциаций пародонтопатогенных бактерий между исследованными группами не установлено.

Анализ данных, полученных при исследовании содержимого пародонтальных карманов и слюны в группе наблюдения, показал, что в содержимом пародонтального кармана частота выявления большинства исследованных микроорганизмов и их ассоциаций несколько превышала таковую в слюне, однако эти различия недостоверны. В группе сравнения данные, полученные при исследовании содержимого пародонтальных карманов и слюны, также достоверно не различались.

Слюна в качестве исследуемого материала для этиологической ПЦР-диагностики заболеваний, вызванных пародонтопатогенными бактериями, могла быть использована для детекции *S. mutans* и *S. sobrinus*, но не *S. oralis*, поскольку частота данного микроорганизма в слюне в отличие от таковой в содержимом пародонтального кармана существенного не отличалась от показателей у здоровых лиц.

На фоне лечения у больных пародонтитом отмечено снижение представленности исследованных микроорганизмов (табл. 4). Частота выделения в содержимом пародонтального кармана *P. gingivalis* по окончании курса терапии снизилась на 13,3%, *S. oralis* – на 23,2%, *S. sanguis* – на 10%, *S. sobrinus* – на 20%, *T. denticola* – на 10%. Статистически значимым после лечения было снижение частоты выявления *S. oralis* и *S. sobrinus*.

Выводы. 1. Выявление *S. sobrinus* методом ПЦР в содержимом пародонтальных карманов и/или слюне у больных пародонтитом имеет диагностическое значение.

2. Обнаружение *S. sobrinus* (ПЦР) в содержимом пародонтальных карманов значимо как в монокультуре, так и в ассоциации *S. mutans* – *S. oralis* – *S. sanguis* – *S.*

3. Отсутствие *S. sobrinus* (ПЦР) в содержимом пародонтальных карманов свидетельствует об эффективности лечения основного заболевания (пародонтита).

ЛИТЕРАТУРА

- Грудянов А.И., Фоменко Е.В. *Этиология и патогенез воспалительных заболеваний пародонта*. М.: МИА; 2010.
- Demmer R., Papapanou P.N. Epidemiologic patterns of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontol. 2000*. 2010; 53: 28–44.
- Гажва С.И., Гулев Р.С. Распространенность и интенсивность воспалительных заболеваний пародонта (обзор литературы). *Озрение. Стоматология*. 2012; 1: 13–4.
- Янушевич О.О. Стоматологическая заболеваемость населения России. М.: МГМСУ; 2008.
- Зорина О.А., Грудянов А.И., Ребриков Д.В. Микробиоценоз пародонтального кармана и воспалительные заболевания пародонта. *Уральский медицинский журнал*. 2011; 3: 9–13.
- Царев В.Н., ред. Микробиология, вирусология и иммунология полости рта. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013.
- Агаева Н.А. Микробиологическая и иммунологическая характеристика пародонтитов и гингивитов с актиномикотической этиологией. *Фундаментальные исследования*. 2010; 3: 7–12.
- Ebersole J.L., Dawson D.R., Morford L.A., Peyyala R., Miller C.S., Gonzalez O.A. Periodontal disease immunology: 'double indemnity' in protecting the host. *Periodontol. 2000*. 2013; 62(1): 163–202.
- Тамарова Э.Р., Мавзютов А.Р. Клинико-лабораторные параллели между видовым составом микробиоты полости рта и общесоматической патологией у больных пародонтитом. *Пермский медицинский журнал*. 2014; 31(6): 68–73.
- Иванюшко Т.П., Тумбинская Л.В., Донников А.Е. Исследование условно-патогенных микроорганизмов методом ПЦР в реальном времени у больных пародонтитом. *Стоматология*. 2011; 5: 22–6.
- Зорина О.А., Кулаков А.А., Ребриков Д.В. Количественная оценка соотношения патогенных представителей микробиоценоза полости рта в норме и при пародонтите. *Стоматология*. 2011; 3: 40–2.
- Зырянова Н.В., Григорьян А.С., Грудянов А.И. Видовой состав анаэробной микрофлоры пародонтального кармана в зависимости от стадии пародонтита. *Стоматология*. 2009; 4: 43–7.
- Wade W.G. The oral microbiome in health and disease. *Pharmacol. Res.* 2013; 69: 137–43.
- Kuramitsu H.K., He X., Lux R., Anderson M.H., Shi W. Interspecies interactions within oral microbial communities. *Microbiology and molecular biology reviews*. 2007; 71(4): 653–70.
- Комлева А.С., Чеснокова М.Г., Недосеко В.Б., Миронов А.Ю. Патогены биотопа пародонта и их чувствительность к антибиотикам у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом. *Стоматолог*. 2012; 3: 54–60.

Поступила 29.04.15

REFERENCES

1. Grudjanov A.I., Fomenko E.V. Etiology and pathogenesis of inflammatory periodontal diseases. M.: MIA; 2010. (in Russian)
2. Demmer R., Papapanou P.N. Epidemiologic patterns of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontol. 2000*. 2010; 53: 28–44.
3. Gajva S.I., Guluev R.S. The prevalence and intensity of inflammatory periodontal diseases (review). *Ozrenie. Stomatologiya*. 2012; 1: 13–4. (in Russian)
4. Janushevich O.O. Dental public health of Russia. M.: MGMSU; 2008. (in Russian)
5. Zorina O.A., Grudjanov A.I., Rebrakov D.V. Microbiocenosis of periodontal pocket and inflammatory periodontal disease. *Ural'skij meditsinskij zhurnal*. 2011; 3: 9–13. (in Russian)
6. Carev V.N., red. Microbiology, virology and immunology of the oral cavity. M.: GEOTAR-Media; 2013. (in Russian)

7. Agaeva N.A. Microbiological and immunological characteristics of periodontitis and gingivitis with actinomikoticheskoy etiologii. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2010; 3: 7–12. (in Russian)
8. Ebersole J.L., Dawson D.R., Morford L.A., Peyyala R., Miller C.S., González O.A. Periodontal disease immunology: 'double indemnity' in protecting the host. *Periodontol. 2000*. 2010; 62(1): 163–202.
9. Tamarova Je.R., Mavzutov A.R. Clinical laboratory Parallels between the species composition of the microbiota of the oral cavity and somatic pathology in patients with periodontitis. *Permskij meditsinskij zhurnal*. 2014; 31(6): 68–73.
10. Ivanjushko T.P., Tumbinskaja L.V., Donnikov A.E. Investigation of opportunistic pathogens by real-time PCR in patients with periodontitis. *Stomatologiya*. 2011; 5: 22–6. (in Russian)
11. Zorina O.A., Kulakov A.A. Rebrivkov D.V. Quantitative detection of periodontopathogenic microflora in periodontitis and healthy control. *Stomatologiya*. 2011; 3: 40–2. (in Russian)
12. Zyrjanova N.V., Grigor'jan A.S., Grudjanov A.I. Species composition of anaerobic microflora of periodontal pockets depending on the stage of periodontitis. *Stomatologiya*. 2009; 4: 43–7. (in Russian)
13. Wade W.G. The oral microbiome in health and disease. *Pharmacol. Res.* 2013; 69: 137–43.
14. Kuramitsu H.K., He X., Lux R., Anderson M.H., Shi W. Interspecies interactions within oral microbial communities. *Microbiology and molecular biology reviews*. 2007; 71(4): 653–70.
15. Komleva A.S., Chesnokova M.G., Nedoseko V.B., Mironov A.Ju. Pathogens biotope periodontal and their sensitivity to antibiotics in patients with chronic generalized periodontitis. *Stomatolog*. 2012; 3: 54–60.

Received 29.04.15

©КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.311.2-002-07:616.314.17-091.8-078-076.4

Ипполитов Е. В.¹, Диденко Л. В.², Царев В. Н.¹

ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИИ БИОПЛЕНКИ ПАРОДОНТА ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ДЕСЕН (ХРОНИЧЕСКИЙ КАТАРРАЛЬНЫЙ ГИНГИВИТ, ХРОНИЧЕСКИЙ ПАРОДОНТИТ, КАНДИДА-АССОЦИИРОВАННЫЙ ПАРОДОНТИТ) ПО ДАННЫМ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ

¹ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова» Минздрава России, 127473, г. Москва, Россия; ²У «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» РАМН, 123098, г. Москва, Россия

Цель исследования – изучить морфологию биопленки пародонта и разработать электронно-микроскопические критерии дифференциальной диагностики воспалительных заболеваний десен. С помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) проведено исследование образцов биопленки пародонта у 70 человек, в том числе 10 пациентов каждой нозологической формы, включая группы с хроническим пародонтитом легкой, средней, тяжелой степени, хроническим катаральным гингивитом, кандида-ассоциированным пародонтитом, и 20 здоровых людей с интактным пародонтом. Исследования выполняли с помощью двухлучевого сканирующего электронного микроскопа *Quanta 200 3D* (FEI Company, США) и просвечивающего электронного микроскопа *JEM 100B* (JEOL, Япония). Для определения маркерной ДНК пародонтопатогенных бактерий в исследуемых образцах использовали набор реагентов для ПЦР «МультиДент-5» («ГенЛаб», Россия). СЭМ в сочетании с трансмиссионной электронной микроскопией и ПЦР позволяет не только изучать строение, состав и степень развития биопленки пародонта, но также проводить дифференциальную диагностику разных нозологических форм воспалительных заболеваний пародонта, включая легкую форму хронического пародонтита и гингивита. Установлены электронно-микроскопические признаки заболеваний пародонта воспалительной природы: катаральный гингивит (кокковый морфологический вариант), хронический пародонтит (бациллярный морфологический вариант), кандида-ассоциированный пародонтит (кандидозный морфологический вариант биопленки пародонта).

Ключевые слова: биопленка пародонта; сканирующая электронная микроскопия; трансмиссионная электронная микроскопия; ПЦР; пародонтит.

Для цитирования: Клиническая лабораторная диагностика. 2015;60(12): 59–64.
Ippolitov E.V.¹, Didenko L.V.², Tzarev V.N.¹

THE CHARACTERISTICS OF MORPHOLOGY OF BIOFILM OF PERIODONTIUM UNDER INFLAMMATORY DISEASES OF GUMS (CHRONIC CATARRHAL GINGIVITIS, CHRONIC PERIODONTITIS, CANDIDA-ASSOCIATED PERIODONTITIS) ACCORDING RESULTS OF ELECTRONIC MICROSCOPY

¹The A.E. Evdokimov Moscow state medical stomatological university, 127473 Moscow, Russia; ²The N.F. Gamaleia research institute of epidemiology and microbiology, 123098 Moscow, Russia

The study was carried out to analyze morphology of biofilm of periodontium and to develop electronic microscopic criteria of differentiated diagnostic of inflammatory diseases of gums. The scanning electron microscopy was applied to analyze samples of biofilm of periodont from 70 patients. Including ten patients with every nosologic form of groups with chronic catarrhal periodontitis of light, mean and severe degree, chronic catarrhal gingivitis, Candida-associated paroperiodontitis and 20 healthy

Для корреспонденции: Ипполитов Евгений Валерьевич, ippo@bk.ru
For correspondence: Ippolitov E.V. ippo@bk.ru

ISSN 1999 - 6209

Медицинский Вестник Башкортостана



№ 2
2016



СОДЕРЖАНИЕ

ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДОРОВЬЕ И ОРГАНИЗАЦИЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ

К.В. Лозовая, С.В. Демьянчук, Г.Ф. Лозовая, Ж.В. Мироненкова РАЗРАБОТКА КОМПЛЕКСНОГО ПОДХОДА ЛЕКАРСТВЕННОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА В РЕКРЕАЦИОННЫХ УСЛОВИЯХ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН	K.V. Lozovaya, S.V. Demyanchuk, G.F. Lozovaya, Zh.V. Mironenkova DEVELOPMENT OF A COMPREHENSIVE APPROACH TO MEDICINAL MAINTENANCE OF PATIENTS WITH CORONARY HEART DISEASE UNDER RECREATION CONDITIONS IN THE REPUBLIC OF BASHKORTOSTAN
---	--

5

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

Р.Н. Мустафин, М.А. Бернишева, Э.К. Хуснутдинова БОЛЕЗНЬ РЕКЛИНГХАУЗЕНА В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН, РЕЗУЛЬТАТЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	R.N. Mustafin, M.A. Bermisheva, E.K. Khusnutdinova VON RECKLINGHAUSEN'S DISEASE IN THE REPUBLIC OF BASHKORTOSTAN, THE RESULTS AND PROSPECTS OF RESEARCH
---	--

9

А.М. Мирхайдаров, У.Р. Фархутдинов, Р.Р. Фархутдинов ИММУННЫЙ СТАТУС БОЛЬНЫХ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИММУНОВЕНИНА В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ
--

12

Г.М. Акмалова, Л.А. Мусина, С.В. Чуйкин МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА ПРИ КРАСНОМ ПЛОСКОМ ЛИШАЕ

16

Э.Р. Тамарова, К.Ю. Швец, А.Р. Мавзютов, А.Л. Баймисев, Р.Т. Буляков ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ПОЛИМЕРНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ ДЛЯ ВИДОВОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ МИКРОБИОТЫ ПОЛОСТИ РТА И ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ

19

И.Р. Шафев, А.И. Булгакова, И.В. Валеев, Г.Ш. Зубаирова ИССЛЕДОВАНИЯ МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА ПОЛОСТИ РТА У ПАЦИЕНТОВ С НЕСТЕМНЫМИ ЭСТЕТИЧЕСКИМИ ОРТОПЕДИЧЕСКИМИ КОНСТРУКЦИЯМИ И ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПАРОДОНТА

23

Р.К. Ибрагимов, М.В. Тимербулатов, С.С. Казбулатов, Д.Р. Ибрагимов, А.М. Мухаметьянов ЭПИПЕРИНЕВРАЛЬНЫЙ ШОУП ПРИ ДИСТАЛЬНОЙ РЕПЛАНТАЦИИ ВЕРХНЕЙ КОНЕЧНОСТИ

26

М.В. Тимербулатов, Р.К. Ибрагимов, С.С. Казбулатов, Р.Ф. Тимербулатов, Д.Р. Ибрагимов РЕПЛАНТАЦИЯ БЛОКА ПАЛЬЦЕВ КИСТИ ПОСЛЕ АМПУТАЦИИ В РЕЗУЛЬТАТЕ ТРАВМЫ
--

29

Б.Ш. Минасов, Р.Р. Якупов, И.Р. Гафаров, К.Х. Сироджев, А.Р. Трубин, Г.Н. Филимонов, К.К. Каримов АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ЛЕЧЕНИЯ ДЕСТРУКТИВНО-ДИСТРОФИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЙ ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА ПО ТЕХНОЛОГИИ АРТРОПЛАСТИКИ
--

31

Б.Ш. Минасов, Н.В. Афанасьева РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ КАРТЫ МАРШРУТИЗАЦИИ ПРИ ОКАЗИИ ПОМОЩИ ПОСТРАДАВШИМ С СОЧЕТАННЫМИ ТРАВМАМИ В ДОРОЖНО-ТРАНСПОРТНЫХ ПРОИСШЕСТВИЯХ
--

35

Ю.О. Солдатова, А.И. Булгакова, Х.Х. Ганцева, Ф.Р. Хисматуллина ВЗАИМОСВЯЗЬ СОСТОЯНИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА С КОЛИЧЕСТВОМ ВЫДЕЛЯЕМОГО УГАРНОГО ГАЗА В ВЫДЫХАЕМОМ ВОЗДУХЕ У ТАБАКОЗАВИСИМЫХ ПАЦИЕНТОВ

40

Б.Ф. Терегулов ПРОИЗВОДСТВЕННАЯ ОБУСЛОВЛЕННОСТЬ НАРУШЕНИЙ РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВЬЯ У ШАХТЕРОВ, ЗАНЯТЫХ ДОБЫЧЕЙ РУД ЦВЕТНЫХ МЕТАЛЛОВ ПОДЗЕМНЫМ СПОСОБОМ

43

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

И.С. Шорманов, М.В. Косенко, А.К. Петровский, А.Ю. Петровская, Л.А. Андреева, В.Н. Федоров, М.М. Ворчалов ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА АДАПТИВНЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ОРГАНИЗМА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОПЕРАЦИОННОГО СТРЕССА	I.S. Shormanov, M.V. Kosenko, A.K. Petrovsky, A.Yu. Petrovskaya, L.A. Andreeva, V.N. Fedorov, M.M. Vorchalov PHARMACOLOGICAL SUPPORT FOR ADAPTIVE CAPACITY OF THE ORGANISM IN EXPERIMENTAL SURGICAL STRESS
---	--

47

4. Загородная, Е.Б. Патоморфологический, иммуногистохимический и цитологический анализ красного плоского лишая слизистой оболочки полости рта: автореф. дис.... канд. мед. наук. – Новосибирск, 2010.
5. Чуйкин, С.В. Состояние проницаемости гематосаливарного барьера при красном плоском лишае слизистой оболочки рта / С.В. Чуйкин, Г.М. Акмалова, А.Ж. Гильманов, Е.М. Гареев // Проблемы стоматологии. – 2016. – Т.12, №1. – С.11-18.

УДК 616.31-022

© Коллектив авторов, 2016

Э.Р. Тамарова, К.Ю. Швets, А.Р. Мавзютов, Ал.Х. Баймиеv, Р.Т. Буляков
**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ПОЛИМЕРНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ
 В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ ДЛЯ ВИДОВОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ
 МИКРОБИОТЫ ПОЛОСТИ РТА И ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ
 ПРИ ПАРОДОНТИТЕ**

ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет»
 Минздрава России, г. Уфа

Обследовано 165 больных пародонтитом (группа наблюдения) и 62 пациента без патологии пародонта (группа сравнения). Методом полимерной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени проведено исследование образцов слюны и содержимого пародонтальных карманов на предмет выявления видоспецифических фрагментов ДНК *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis*, *Treponema denticola*. Анализ обсемененности биотопов полости рта пародонтопатогенными микроорганизмами до и после лечения позволил оценить эффективность лечения пародонтита. Показана эффективность комбинированного лечения (антибиотикотерапия и ультразвуковое воздействие при помощи прибора «Vector»), сопровождающегося регрессией воспалительных реакций в тканях пародонта, снижением общей относительной обсемененности тканей пародонтопатогенными микроорганизмами *P.gingivalis*, *S.oralis*, *S.sanguis*, *S.sobrinus*, улучшением клинического течения пародонтита.

Ключевые слова: пародонтит, пародонтопатогенная микрофлора, диагностика, ПЦР в режиме реального времени, эффективность лечения.

E.R. Tamarova, K.Yu. Shvets, A.R. Mavzyutov, Al.Kh. Baimiev, R.T. Bulyakov
**USE OF PCR IN REAL TIME FOR SPECIFIC CHARACTERISTICS
 OF ORAL CAVITY MICROBIOTA AND ESTIMATION
 OF THERAPY EFFICIENCY IN PERIODONTITIS**

We examined 165 patients with periodontitis (monitoring group) and 62 patients without pathology of the periodontium (the comparison group). Using PCR method we carried out examination of saliva samples and the contents of periodontal pockets to identify species-specific DNA fragments *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis*, *Treponema denticola*. Analysis of contamination of oral habitats with periodontal pathogenic microorganisms before and after treatment has allowed to evaluate the effectiveness of periodontitis treatment. The work proves the effectiveness of the combined treatment (use of antibiotic therapy and ultrasound exposure using the device «Vector»), accompanied by a regression of inflammatory reactions in the periodontal tissues, the overall relative reduction in contamination of tissues to periodontopathogenic microorganisms *P.gingivalis*, *S.oralis*, *S.sanguis*, *S.sobrinus*, improving the clinical course of periodontitis.

Key words: periodontitis, periodontopathogenic microflora, diagnostics, real-time PCR, effectiveness of treatment.

Одной из достаточно сложных по видовому составу экосистем организма человека является полость рта, в которой широко представлены как условно-патогенные, так и патогенные микроорганизмы [9,13]. Жизнедеятельность представителей микробиоты в пародонтальном кармане нередко способствует разрушению зубодесневого аппарата, вплоть до резорбции альвеолярной кости, способствует сенсибилизации макроорганизма, изменяя иммунореактивность, и часто ассоциируется с соматической патологией [1,7,11]. Согласно современным представлениям резидентная флора полости рта преимущественно представлена факультативными и облигатно-анаэробными *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguis* и пептострептококками. Высока частота встречаемости вейлонелл и дифтероидов [4,12,15]. При этом

показана высокая информативность в качестве вспомогательного биомаркера инфекционно-воспалительных заболеваний пародонта еще одного вида – *Streptococcus sobrinus*, относительное количество которого изменяется на разных стадиях течения заболевания [8]. Помимо условно-патогенных микроорганизмов в местах наибольшей деструкции пародонта также чаще остальных встречаются *Porphyromonas gingivalis* и *Treponema denticola*, выявляемые преимущественно при хронизации воспалительного процесса [14]. Последние, однако, обнаруживаются и у здоровых людей в интактном пародонте.

Основную часть микроорганизмов, инициирующих инфекционно-воспалительные заболевания пародонта, составляют анаэробы и, соответственно, их культивирование и идентификация довольно сложная задача. В связи с этим в последние годы все более перспектив-

ными становятся разработки, связанные с конструированием диагностических систем, основанных на методах амплификации нуклеиновых кислот, в частности методе полимеразной цепной реакции (ПЦР). ПЦР не предполагает выделения чистой культуры и отличается высокими чувствительностью и специфичностью [2, 3]. Вместе с тем наиболее широко используемые в настоящее время качественные варианты этого метода, предполагающие электрофоретическую детекцию продуктов амплификации, отличает трудоемкость, относительно невысокая воспроизводимость и риски контаминации. Указанное существенно ограничивает диагностические возможности ПЦР, в частности, на этапе контроля эффективности лечения. В этой связи высок интерес к ПЦР в режиме реального времени, которую наряду с высокими специфичностью и чувствительностью отличает высокая производительность, скорость получения результатов и отсутствие рисков контаминации на лабораторном этапе, что является преимуществом при оценке эффективности метода лечения [5, 6, 10]. Метод ПЦР в режиме реального времени позволяет автоматизировать трудоемкие процессы амплификации, детекции и анализа флуоресцентных данных.

Цель исследования – оценка информативности и диагностических возможностей ПЦР в режиме реального времени при пародонтите.

Материал и методы

В исследование были включены 165 пациентов (59 мужчин и 106 женщин) в возрасте от 29 до 74 лет ($51,6 \pm 9,82$ года), которые составили группу наблюдения. Из них 91 (55,2%) пациент обратился за помощью впервые, 74 (44,8%) человека ранее лечились и посещали стоматологический кабинет не менее 1 раза в год. Анамнестически продолжительность заболевания составляла от нескольких месяцев до 15 ($7,5 \pm 4,41$ года) лет. По степени тяжести у 129 (78,2%) пациентов диагностирован пародонтит средней степени тяжести (I группа), у 36 (21,8%) пациентов – пародонтит тяжелой степени (II группа).

Пациентам был проведен стандартный стоматологический осмотр с определением формы и степени поражения, обусловленного воспалением и деструкцией тканей пародонта, экссудацией из пародонтального кармана, кровоточивостью десен при чистке зубов. Для объективной оценки клинического состояния пародонта учитывались гигиенические индексы: индекс Грина–Вермиллиона (OHI-S, Green–Vermillion, 1964), индекс PMA (Schour

J., Massler M., 1948; Massler M., 1967), индекс CPITN (BOO3, 1989).

Лечение начинали после инструктажа по уходу за зубами, подбору индивидуальных средств гигиены полости рта, а также после мотивирования и информирования о предстоящем лечении. Убедившись в правильности всех манипуляций, приступали к лечению. Лечение проводилось по трем схемам: 1) ежедневное однократное введение инъекционного раствора антибиотика и анестетика (1 мл 30% раствора линкомицина гидрохлорида в смеси с 0,2 мл 2% раствора лидокаина гидрохлорида, ex tempore); 2) однократное терапевтическое воздействие ультразвуком при помощи прибора «Vector» («Durr Dental», Германия) на поверхность зубодесневых карманов и корня; 3) комплексная терапия, включающая ультразвуковое воздействие при помощи прибора «Vector» и антибиотикотерапию. Лечение проводилось в течение 10 дней (табл. 1).

Таблица 1
Распределение пациентов в зависимости от диагноза и тактики лечения

Тактика лечения	I группа – с ХГП средней степени тяжести, n=129	II группа – с ХГП тяжелой степени тяжести, n=36
Системная антибиотикотерапия	43	11
Использование прибора «Vector»	36	9
Применение комбинированного лечения «Vector» + антибиотикотерапия	50	16

Группу сравнения составили 62 практически здоровых пациента – 24 мужчины и 38 женщин, средний возраст $45,3 \pm 7,62$ года, без сопутствующей патологии, после профилактической санации полости рта.

Материалом для молекулярно-генетического исследования служили содержимое пародонтального кармана зубов и ротовая жидкость. Содержимое пародонтального кармана отбирали стерильным бумажным эндодонтическим штифтом (размер №25), который вводили пинцетом в пародонтальный карман в наиболее глубокие участки на 10 секунд и затем помещали в стерильную пластиковую пробирку типа Eppendorf (1,5 мл), содержащую 1 мл физиологического раствора. Забор проводили в двух повторностях для каждого пациента. Храли и транспортировали образцы при $+4^{\circ}\text{C}$ в течение 2 часов. Транспортировку партий проб в лабораторию осуществляли в термоконтейнерах с хладагентом.

Для выделения тотальной ДНК из клинических образцов использовали ионообменную смолу Chelex100. Для постановки ПЦР в

режиме реального времени использовали поборные 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 CFX96 Touch «REAL TIME» (Bio-Rad, США). Учет результатов проводили с помощью программного обеспечения Bio-Rad CFX Manager.

Молекулярно-генетическое исследование у пациентов проводилось дважды – до и через 10 дней лечения по описанной схеме.

Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием программного пакета Statistica 6.0. Рассчитывали процентное содержание и критерий хи-квадрат (χ^2) с поправкой Йетса. Значения считались достоверными при $p < 0,001$.

Результаты и обсуждение

Молекулярно-генетическое исследование содержимого пародонтальных карманов выявило все виды основных пародонтопатогенных бактерий: *P. gingivalis*, *S. oralis*, *S. sanguis*, *S. sobrinus*, *T. denticola* – и у больных пародонтитом, и в группе сравнения (табл. 2).

В группе наблюдения чаще обнаруживались *S. sobrinus* (67,9%), *S. oralis* (64,8%) и *P. gingivalis* (50,7%). В сравнении со здоровыми частота встречаемости указанных бактерий в содержимом пародонтальных карманов у больных была достоверно выше: *S. sobrinus* (на 29,0%, $\chi^2 = 20,05$, $p = 0,001$), *S. oralis* (на 17,0%, $\chi^2 = 7,01$, $p = 0,001$), *P. gingivalis* (на 25,9%, $\chi^2 = 16,08$, $p = 0,001$).

При молекулярно-генетическом исследовании образцов слюны (табл. 3) у больных

пародонтитом наиболее часто обнаруживались *S. sanguis* (63,03%), *S. oralis* (58,8%) и *S. sobrinus* (58,2%). Однако достоверно чаще (на 30,4%, $\chi^2 = 21,59$, $p = 0,001$) в слюне пациентов с пародонтитом встречались только *S. sobrinus*.

Сравнительный анализ данных, полученных при исследовании содержимого пародонтальных карманов и слюны в группе больных показал, что в содержимом пародонтального кармана частота выявления большинства исследованных микроорганизмов несколько превышала таковые в слюне, однако эти различия были недостоверны. В группе сравнения (практически здоровые) данные, полученные при исследовании содержимого пародонтальных карманов и слюны, также достоверно не отличались между собой.

У больных, проходивших курс антибиотикотерапии, молекулярно-генетическое исследование выявило снижение частоты встречаемости пародонтопатогенных микроорганизмов, а также изменение видового состава микробиоты. Отмечено статистически значимое снижение частоты встречаемости *P. gingivalis* в пародонтальном кармане (29,6%, $\chi^2 = 9,82$, $p = 0,001$) и в слюне (27,3%, $\chi^2 = 6,96$, $p = 0,001$), *S. oralis* – только в пародонтальном кармане (20,6%, $\chi^2 = 9,07$, $p = 0,001$) (табл. 4).

Исследование методом ПЦР клинического материала в группе больных, пролеченных ультразвуком при использовании прибора «Vector» («Durr Dental», Германия), показало снижение частоты обнаружения *P. gingivalis* в пародонтальном кармане (27,3%, $\chi^2 = 8,16$, $p = 0,001$), *S. oralis* в слюне (26,9%, $\chi^2 = 9,36$, $p = 0,001$), *S. sanguis* – и в пародонтальном кармане (23,8%, $\chi^2 = 7,69$, $p = 0,001$), и в слюне (17,9%, $\chi^2 = 9,48$, $p = 0,001$) (табл. 5).

Таблица 2

Виды бактерий	Частота выявления патогенных и условно-патогенных бактерий в содержимом пародонтального кармана методом ПЦР в режиме реального времени			
	Группа наблюдения (n = 165)		Группа сравнения (n = 62)	
	абс.	%	абс.	%
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	83	50,3 ^a	22	24,4
<i>Streptococcus oralis</i>	107	64,8 ^a	25	27,8
<i>Streptococcus sanguis</i>	79	11,5	64	71,1
<i>Streptococcus sobrinus</i>	112	67,9 ^a	35	38,9
<i>Treponema denticola</i>	44	26,7	21	23,3

^a Различие со значениями в группе сравнения достоверно ($p < 0,001$).

Таблица 3

Виды бактерий	Частота выявления пародонтопатогенных бактерий в слюне методом ПЦР в режиме реального времени			
	Группа наблюдения (n = 165)		Группа сравнения (n = 62)	
	абс.	%	абс.	%
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	68	41,2	57	63,3
<i>Streptococcus oralis</i>	97	58,8	75	83,3
<i>Streptococcus sanguis</i>	104	63,03	78	86,7
<i>Streptococcus sobrinus</i>	96	58,2 ^a	25	27,8
<i>Treponema denticola</i>	36	21,8	19	21,1

^a Различие со значениями в группе сравнения достоверно ($p < 0,001$).

Таблица 4

Бактерии	Содержимое пародонтального кармана		Слюна	
	исходно	через 10 дней	исходно	через 10 дней
Porphyromonas gingivalis	27	29,6 ^a	22	27,3 ^a
Streptococcus oralis	34	20,6 ^a	31	80,6
Streptococcus sanguis	26	80,8	33	78,8
Streptococcus sobrinus	36	77,8	31	64,5
Treponema denticola	14	78,6	12	58,3

^a Различие со значениями в группе сравнения достоверно (p < 0,001).

Таблица 5

Бактерии	Содержимое пародонтального кармана		Слюна	
	исходно	через 10 дней	исходно	через 10 дней
Porphyromonas gingivalis	22	27,3 ^a	19	63,2
Streptococcus oralis	29	41,4	26	26,9 ^a
Streptococcus sanguis	21	23,8 ^a	28	17,9 ^a
Streptococcus sobrinus	30	50,0	26	73,1
Treponema denticola	12	66,7	10	89,6

^a Различие со значениями в группе сравнения достоверно (p < 0,001).

В группе больных, получавших комбинированное лечение (воздействие ультразвуком при помощи прибора «Vector» и антибиотикотерапия), наблюдалось уменьшение относительного количества *P.gingivalis* и в пародонтальном кармане (30,3%, $\chi^2 = 10,89$, $p = 0,001$), и в слюне (33,3%, $\chi^2 = 13,63$, $p = 0,001$),

S. oralis – и в пародонтальном кармане (31,2%, $\chi^2 = 21,63$, $p = 0,001$), и в слюне (30,8%, $\chi^2 = 11,37$, $p = 0,001$), *S.sanguis* – только в слюне (38,1%, $\chi^2 = 11,38$, $p = 0,001$), *S.sobrinus* – и в пародонтальном кармане (31,1%, $\chi^2 = 13,08$, $p = 0,001$), и в слюне (21,1%, $\chi^2 = 14,04$, $p = 0,001$) (табл. 6).

Таблица 6

Бактерии	Содержимое пародонтального кармана		Слюна	
	исходно	через 10 дней	исходно	через 10 дней
Porphyromonas gingivalis	33	30,3 ^a	27	33,3 ^a
Streptococcus oralis	43	31,2 ^a	39	30,8 ^a
Streptococcus sanguis	32	28,1	42	38,1 ^a
Streptococcus sobrinus	45	31,1 ^a	38	21,1 ^a
Treponema denticola	18	66,7	14	64,3

^a Различие со значениями в группе сравнения достоверно (p < 0,001).

Полученные нами клинико-лабораторные данные свидетельствуют о большей эффективности применения комплексного лечения ввиду уменьшения пародонтопатогенных микроорганизмов в содержимом пародонтального кармана и слюне, снижения интенсивности воспалительного процесса и болевого синдрома, связанного с пережевыванием пищи, а также кровоточивости десен и выделения гнойных масс. К тому же по результатам комплексного лечения было показано сокращение сроков реабилитации пациентов и снижение рисков травматизации. Использование метода ПЦР в режиме реального времени позволяет сравнительно оценивать эффективность применяемых методов терапии, обеспечивает индивидуальный подход при выборе тактики лечения, а также позволяет оценивать эффективность непосредственно в ходе терапии.

Выводы

1. ПЦР в режиме реального времени при диагностике инфекционно-воспалительных заболеваний пародонта, ассоциированных с условно-патогенной микрофлорой полости рта, может использоваться для оценки эффективности терапии.

2. Комбинированное лечение пародонтиита, включающее антибиотикотерапию и ультразвуковое воздействие, эффективно снижает остроту воспалительного процесса в тканях пародонта и частоту встречаемости в тканях пародонта *P.gingivalis*, *S.oralis*, *S.sanguis*, *S.sobrinus*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере по программе «УМНИК» на 2015-2016 гг.

Сведения об авторах статьи:

Тамарова Эльмира Рифовна – аспирант кафедры фундаментальной прикладной микробиологии ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: tamarovufa2@mail.ru.
Швец Ксения Юрьевна – студентка 4 курса медико-профилактического факультета с отделением микробиологии ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: kseniya.shvets@yandex.ru.

Мавзютов Айрат Радикович – д.м.н., профессор, зав. кафедрой фундаментальной и прикладной микробиологии ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава. Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: uflab@mail.ru.

Баймиеев Алексей Ханифович – д.б.н., профессор кафедры фундаментальной и прикладной микробиологии ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, зав. лабораторией ФБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН. Адрес: 450054, г. Уфа, Проспект Октября, 71. E-mail: baymiev@mail.ru.

Буликов Раис Тимергалиевич – д.м.н., зав. кафедрой стоматологии общей практики ИПО ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, главный врач ГБОУ РСП. Адрес: 450097, г. Уфа, ул. Заводская, 15.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаева, Н.А. микробиологическая и иммунологическая характеристика пародонтитов и гингивитов с актиномикотической этиологией / Н.А. Агаева // Фундаментальные исследования. – 2010. – № 3. – С. 7-12.
2. Зорина, О.А. Количественная оценка соотношения патогенных представителей микробиоценоза полости рта в норме и при пародонтите / О.А. Зорина, А.А. Кулаков, Д.В. Ребриков // Стоматология. – 2011. – № 3. – С. 40-42.
3. Зырянова, Н.В. Видовой состав анаэробной микрофлоры пародонтального кармана в зависимости от стадии пародонтита / Н.В. Зырянова, А.С. Григорьян, А.И. Грудянов // Стоматология. – 2009. – № 4. – С. 43-47.
4. Иванюшко, Т.П. Исследование условно-патогенных микробов методом ПЦР в реальном времени у больных пародонтитом / Т.П. Иванюшко, Л.В. Тумбанская, А.Е. Донников // Стоматология. – 2011. – № 5. – С. 22-26.
5. Патрушев, Л.И. Искусственные генетические системы. – М.: Наука, 2004. – 530 с.
6. Ребриков, Д.В. ПЦР в реальном времени. 3-е изд. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. – 223 с.
7. Тамарова, Э.Р. Клинико-лабораторные параллели между видовым составом микробиоты полости рта и общесоматической патологией у больных пародонтитом / Э.Р. Тамарова, А.Р. Мавзютов // Пермский медицинский журнал. – 2014. – Т. 31, № 6. – С. 68-73.
8. Тамарова, Э.Р. Молекулярно-генетическая характеристика видового состава микробиоты слюны и десневых карманов при пародонтите/ Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – Т. 60, № 12. – С. 56-59.
9. Царев, В.Н. Микробиология, вирусология и иммунология полости рта / В.Н. Царев. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 576 с.
10. Щелкунов, С. Н. Генетическая инженерия. – Новосибирск: Изд-во Сиб. унив., 2008. – 496 с.
11. Periodontal disease immunology: 'double indemnity' in protecting the host / J.L. Ebersole [et al.] // Periodontol. – 2013. – Vol. 62, № 1. – P. 163-202.
12. Haffajee A.D. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases / A.D. Haffajee, S.S. Socransky // Periodontol. – 2000. – Vol. 5. – P. 78-111.
13. Identification of candidate periodontal pathogens and beneficial species by quantitative 16S clonal analysis / P.S. Kumar [et al.] // J Clin Microbiol. – 2005. – Vol. 43, № 8. – P. 3944-3955.
14. Taba M., Kinney J., Kim A.S. et al. Diagnostic Biomarkers for Oral and Periodontal Diseases. Dent Clin North Am. – 2005. – Vol. 49, № 3. – P. 551-571.
15. Rasmussen L., Hanstrom L., Lerner U.H. Characterization of bone resorbing activity in gingival crevicular fluid from patients with periodontitis. J Clin Periodontol. – 2000. – Vol. 27, № 1. – P. 41-52.

УДК 616.314.2

© Коллектив авторов, 2016

И.Р. Шафеев^{1,2}, А.И. Булгакова¹, И.В. Валеев¹, Г.Ш. Зубаирова² ИССЛЕДОВАНИЯ МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА ПОЛОСТИ РТА У ПАЦИЕНТОВ С НЕСЪЕМНЫМИ ЭСТЕТИЧЕСКИМИ ОРТОПЕДИЧЕСКИМИ КОНСТРУКЦИЯМИ И ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПАРОДОНТА

¹ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет»

Минздрава России, г. Уфа

²ГБУЗ РБ «Стоматологическая поликлиника №4», г. Уфа

Изучено состояние местного иммунитета полости рта у пациентов с несъемными эстетическими ортопедическими конструкциями и воспалительными заболеваниями пародонта. В исследовании участвовали 90 пациентов с несъемными эстетическими ортопедическими конструкциями и воспалительными заболеваниями пародонта (основная группа) и 21 пациент без ортопедических конструкций и заболеваний пародонта (контрольная группа). Методом иммуноферментного анализа в ротовой жидкости определяло содержание IgA, sIgA, IgG, IgM, IgE, интерлейкинов ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-1β, ИФ-α. В результате наших исследований в ротовой жидкости у пациентов основной и контрольной групп выявлено увеличение концентрации IgA и тенденция к повышению sIgA. Определялось увеличение IgE, маркера аллергизации, у пациентов основной группы. При исследовании содержания интерлейкинов в ротовой жидкости у пациентов основной группы определены статистически значимое снижение концентрации ИЛ-4 и увеличение содержания ИЛ-6, ИЛ-1β. Таким образом, нами установлен дисбаланс гуморального иммунитета в полости рта у пациентов с несъемными эстетическими ортопедическими конструкциями и воспалительными заболеваниями пародонта.

Ключевые слова: воспалительные заболевания пародонта, дефекты зубных рядов, гуморальные факторы иммунитета полости рта, несъемные эстетические ортопедические конструкции.

I.R. Shafeev, A.I. Bulgakova, I.V. Valeev, G.Sh. Zubairova STUDY OF LOCAL IMMUNITY OF THE ORAL CAVITY OF PATIENTS WITH FIXED PROSTHETIC AESTHETIC DESIGNS AND INFLAMMATORY PERIODONTAL DISEASES

The work studied the local immunity of the oral cavity of patients with fixed prosthetic aesthetic designs and inflammatory periodontal diseases. The study included 90 patients with fixed prosthetic aesthetic designs and inflammatory periodontal diseases and 21 people (control group) with no orthopedic constructions and periodontal diseases. Oral immunoglobulins IgA, sIgA, IgG, IgM, IgE, interleukins IL-4, IL-6, IL-1β, IF-α levels were identified by the method of enzyme immunoassay analysis. As a result of our



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

ВОПРОСЫ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

**Материалы Республиканской научно-практической
конференции**

Выпуск 7



Уфа
2015

Хужиахметова Г.Р.	170
Условия труда и состояние здоровья работников промышленного птицеводства	
Хусаинов И.Р.	175
Гигиеническая оценка обеспеченности организма витамином А у студентов Башкирского государственного медицинского университета	
Хусаинов Р.Р.	178
Определение содержания витамина С неинвазивным способом (метод Нестерова) у студентов БГМУ	
Чинчик Ю.С., Черкасова М.А., Нуртдинова Э.И.	181
Меры профилактики рака шейки матки на анализе результатов типирования ДНК ВПЧ и определения наиболее часто встречающихся генотипов высокого канцерогенного риска	
Шангареева Ф.Д., Юнусова Л.И	186
Гигиеническая оценка качества жизни и статуса питания студен- тов Башкирского государственного медицинского университета	
Швец К.Ю., Тамарова Э.Р., Баймиеев А.Х., Мавзютов А.Р.	190
Сравнительная характеристика микробиоценозов пародонтальных карманов при пародонтите до и после лечения	

Н.А. Бебякова, Т.П. Экономова //Экология человека. – 2003 - №4. – С. 39-42.

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБИОЦЕНОЗОВ
ПАРОДОНТАЛЬНЫХ КАРМАНОВ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ
ДО И ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ**

Швец К.Ю., Тамарова Э.Р., Баймиеев А.Х., Мавзютов А.Р.

*Башкирский государственный медицинский университет,
кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии, г. Уфа*

Актуальность. Воспалительные заболевания пародонта являются одними из наиболее распространенных хронических заболеваний человека [2,5]. Проблема пародонтита обусловлена его высокой распространностью среди взрослого населения, наличием клинических форм, приводящих к разрушению зубочелюстной системы и потере зубов, недостаточной эффективностью лечения и частотой возникновения рецидивов заболевания. Современный уровень знаний об этиологии и патогенезе пародонтита однозначно определяет микробный фактор как доминирующую причину развития его форм [1,4]. Данные о количественных соотношениях бактерий в настоящее время практически отсутствуют. Во многом последнее обусловлено недостаточной информативностью применяемых на современном этапе методов [3]. Современные молекулярно-генетические методы исследования открывают широкие возможности для диагностики, оценки и прогнозирования лечения пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта.

Цель. Сравнительный анализ содержания пародонтопатогенных микроорганизмов в очагах поражения до и после лечения методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом.

Материалы и методы. Было обследовано 110 пациентов (группа наблюдения) с пародонтитом (48 мужчин и 62 женщины) в возрасте от 18 до 72 лет ($49,7 \pm 9,32$). Из них 76 (69,1%) пациентов обратились за помощью впервые, 34 (30,9%) человека ранее лечились и посещали стоматологический кабинет не менее 1 раза в год. Анамнестически – продолжительность

заболевания составляла от нескольких месяцев до 15 лет ($6,7 \pm 3,41$). По степени тяжести у 81 (73,6%) пациента диагностирован пародонтит средней степени тяжести, у 29 (26,4%) пациентов – пародонтит тяжелой степени. Группу сравнения составили 60 пациентов (26 мужчин и 34 женщины, $45,3 \pm 7,62$ лет) без патологии пародонта после санации полости рта. У 60 больных хроническим генерализованным пародонтитом молекулярно-генетическое исследование проведено дважды - до и через 10 дней лечения. Материалом для исследования служили содержимое пародонтального кармана зубов и ротовая жидкость. Выявление видоспецифических фрагментов ДНК *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus macacae*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus sobrinus*, *Treponema denticola* осуществляли методом ПЦР с использованием собственных пар праймеров и с детекцией продуктов в агарозном геле.

Статистическую обработку данных проводили с использованием непараметрического критерия Хи-квадрат. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. В результате молекулярно-генетического исследования содержимого пародонтальных карманов больных пародонтитом и в группе сравнения были обнаружены все виды основных пародонтопатогенных бактерий: *P. gingivalis*, *S. macacae*, *S. mutans*, *S. oralis*, *S. salivarius*, *S. sanguis*, *S. sobrinus*, *T. denticola*. Наиболее часто, с частотой выше 50%, обнаруживались *S. mutans* (79,1%), *S. sanguis* (65,5%), *S. oralis* (62,7%) и *S. sobrinus* (52,7%). Однако встречаемость бактерий этих видов в содержимом пародонтальных карманов была достоверно выше у больных, нежели в группе сравнения, только относительно *S. mutans* (на 49,8%, $\chi^2 = 42,1$, $p = 0,0001$), *S. oralis* (на 39,4%, $\chi^2 = 24,1$, $p = 0,0001$) и *S. sobrinus* (на 41,0%, $\chi^2 = 27,7$, $p = 0,0001$).

Относительно близкие данные по содержанию указанных микроорганизмов были получены при молекулярно-генетическом исследовании образцов слюны у больных пародонтитом. Наиболее часто обнаруживались *S. mutans* (73,6%), *S. sanguis* (57,3%), *S. oralis* (54,5%) и *S. sobrinus* (42,7%). Однако встречаемость этих бактерий в слюне пациентов группы наблюдения была достоверно выше, нежели в группе сравнения, только для *S.*

mutans (на 46,9%, $\chi^2 = 34,9$, $p = 0,0001$) и *S. sobrinus* (на 31,0%, $\chi^2 = 17,3$, $p = 0,0001$).

Изучение микробиоценоза пародонтального кармана после окончания лечения показало существенное снижение количества исследованных пародонтопатогенных бактерий (табл. 1). Так, частота выделения в содержимом пародонтального кармана *P.gingivalis* по окончании курса терапии снизилась на 13,3%, *S.oralis* - 23,2%, *S.sanguis* – на 10,0%, *S.sobrinus* – на 20,0% и *T.denticola* – на 10%. Однако статистически значимым после лечения было снижение частоты выявления *S.oralis* и *S.sobrinus*.

Таблица 1.
Частота выделения патогенных и условно-патогенных бактерий у больных хроническим пародонтитом после лечения (%)

Бактерии	Содержимое пародонтального кармана		Слюна	
	исходно	ч/з 10 дней	исходно	ч/з 10 дней
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	20,0	6,7	16,7	10,0
<i>Streptococcus macacae</i>	13,3	10,0	20,0	6,7
<i>Streptococcus mutans</i>	76,7	70,0	73,3	60,0
<i>Streptococcus oralis</i>	63,3	40,0 ^a	50,0	40,0
<i>Streptococcus salivarius</i>	13,3	13,3	6,7	3,3
<i>Streptococcus sanguis</i>	70,0	60,0	56,7	46,7
<i>Streptococcus sobrinus</i>	53,3	33,3 ^a	43,3	36,7
<i>Treponema denticola</i>	16,7	6,7	13,3	3,3

Примечание: ^a – различие со значениями в группе сравнения достоверно ($p < 0,001$)

Выводы. В результате проведенного исследования показано успешное применение метода ПЦР для обнаружения пародонтопатогенных микроорганизмов при хроническом генерализованном пародонтите и продемонстрирована динамика изменений их видового состава до и после комплексного лечения. Полученные данные свидетельствуют о том, что выявление пародонтопатогенов *S.sobrinus* и *S.oralis* методом ПЦР в содержимом пародонтальных «карманов» и/или в слюне у больных пародонтитом

имеет диагностическое значение и может быть использовано для ранней диагностики заболевания, определения адекватной и эффективной антибиотикотерапии, а также оценки эффективности лечения пародонтита.

Литература:

1. Агаева Н.А. Микробиологическая и иммунологическая характеристика пародонтитов и гингивитов с актиномикотической этиологией. Фундаментальные исследования. 2010; 3: 7-12.
2. Грудянов А.И., Фоменко Е.В. Этиология и патогенез воспалительных заболеваний пародонта. М.: МИА, 2010.
3. Зорина О.А., Кулаков А.А., Ребриков Д.В. Количественная оценка соотношения патогенных представителей микробиоценоза полости рта в норме и при пародонтите. Стоматология. 2011; 3: 40-42.
4. Царев В.Н., ред. Микробиология, вирусология и иммунология полости рта. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013.
5. Demmer R., Papapanou P.N. Epidemiologic patterns of chronic and aggressive periodontitis. Periodontol. 2000. 2010; 53: 28-44.



ВСЕРОССИЙСКАЯ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

**НОВЫЕ МЕТОДЫ
ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКИ
МИКРООРГАНИЗМОВ В МЕДИЦИНЕ,
ФАРМАЦИИ, ВЕТЕРИНАРИИ
И ЭКОЛОГИИ**

МАТЕРИАЛЫ

15-16 октября 2015
Санкт-Петербург



**НОВЫЕ МЕТОДЫ ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКИ
МИКРООРГАНИЗМОВ В МЕДИЦИНЕ,
ФАРМАЦИИ, ВЕТЕРИНАРИИ И ЭКОЛОГИИ**

МУЛЬТИПЛЕКСНАЯ ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ, КАК ЭКСПРЕСС-МЕТОД ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТНЫХ Сухинин А.А., Макавчик С.А., Прасолова О.В.	253
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВИДОВОГО СОСТАВА МИКРОБИОТЫ ПОЛОСТИ РТА У БОЛЬНЫХ ПАРОДОНТИТОМ Швец К.Ю., Тамарова Э.Р., Баймиев А.Х., Мавзютов А.Р.	254
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБИОЦЕНОЗОВ ПАРОДОНТАЛЬНЫХ КАРМАНОВ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ ДО И ПОСЛЕ КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ Швец К.Ю., Тамарова Э.Р., Баймиев А.Х., Мавзютов А.Р.	255
ЭКСПРЕСС МЕТОД ДЛЯ АНАЛИЗА ПРОДУКЦИИ ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ Шишин М.В., Сухих С.А., Кригер О.В., Просеков А.Ю.	257



носят массовый характер. Особенностью мультиплексного метода является возможность проведения мониторинга и количественный анализ накопления продуктов ПЦР, автоматическая регистрация и интерпретация полученных результатов, что особенно актуально для ветеринарных лабораторий при проведении большого количества исследований.

К негативным факторам, которые могут ограничить применение мультиплексных ПЦР в системе скрининга и мониторинга различных инфекций, можно отнести более высокий риск неспецифических реакций в связи с наличием в реакционной смеси нескольких пар праймеров и снижение чувствительности реакции в связи с конкуренцией за компоненты реакционной смеси при синтезе нескольких разных ампликонов.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВИДОВОГО СОСТАВА МИКРОБИОТЫ ПОЛОСТИ РТА У БОЛЬНЫХ ПАРОДОНТИТОМ

Швец К.Ю., Тамарова Э.Р., Баймиев А.Х., Мавзютов А.Р.

Башкирский государственный медицинский университет,
г.Уфа

Цель. Исследование распространенности основных пародонтопатогенов у пациентов с хроническим пародонтитом.

Материалом для исследования служили содержимое пародонтального кармана зубов и ротовая жидкость 110 больных пародонтитом средней степени тяжести (48 мужчин и 62 женщины), средний возраст $49,7 \pm 9,32$ лет. ДНК основных пародонтопатогенных микробов (*P. gingivalis*, *T. denticola*, *S. oralis*, *S.sanguis*, *S. mutans*, *S.salivarius*, *S.sobrinus*, *S.macaiae*) выявляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

У больных пародонтитом в содержимом пародонтального кармана обнаружены все исследованные микроорганизмы. Наиболее распространены были бактерии *S. mutans*, которые были выявлены у 80,0% больных. Следует отметить высокую представленность *S.sanguis* и *S.oralis*, частота которых составила 53,3% и 51,7%, соответственно. Остальные микроорганизмы встречались заметно реже. Подобная тенденция по содержанию микроорганизмов наблюдалась и в образцах слюны. Максимальная представленность обнаружена для *S.mutans* (51 человек, 85,0%). Доля больных с *S.sanguis* и *S.oralis* составила 39 (65,0%) человек и 37 (61,7%) человек, соответственно.

У пациентов с пародонтитом в биотопах полости рта наблюдались сочетания несколько видов бактерий. Наиболее часто встречающийся со-



став сообщества включал *S.mutans*, *S.sanguis*, *S.oralis* – 16,7%. Второе место (15,0%) разделили два сообщества, в состав которых входили: 1) *P gingivalis*, *T.denticola*, *S.mutans*, *S.sanguis*, *S.oralis* и 2) *P gingivalis*, *S.mutans*, *S.sanguis*, *S.oralis*, *S.sobrinus*. Сочетание бактерий *T.denticola*, *S.mutans*, *S.sanguis*, *S.oralis*, *S.sobrinus* установлено у 11,7% пациентов, тогда как частота других сообществ микроорганизмов не превышала 5%.

Таким образом, у больных пародонтитом в содержимом пародонтального кармана зубов и слюны имеет место сочетание несколько видов бактерий. Проведение молекулярно-генетических исследований у больных пародонтитом позволяет обосновать этиологический диагноз заболевания, назначить адекватную антибактериальную терапию, направленную на освобождение пациента от возбудителей.

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере по программе «УМНИК» на 2015–2016 гг.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБИОЦЕНОЗОВ ПАРОДОНТАЛЬНЫХ КАРМАНОВ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ ДО И ПОСЛЕ КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ

Швец К.Ю., Тамарова Э.Р., Баймиев А.Х., Мавзютов А.Р.
Башкирский государственный медицинский университет,
г. Уфа

Цель. Сравнительный анализ содержания пародонтопатогенных микроорганизмов в очагах поражения до и после комплексного лечения методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом.

Материалы и методы. Было обследовано 140 пациентов (группа наблюдения) с пародонтитом (58 мужчин и 82 женщины) в возрасте от 18 до 72 лет ($49,7 \pm 9,32$). Из них 96 (68,6%) пациентов обратились за помощью впервые, 44 (31,4%) человека ранее лечились и посещали стоматологический кабинет не менее 1 раза в год. Анамнестически – продолжительность заболевания составляла от нескольких месяцев до 15 лет ($6,7 \pm 3,41$). По степени тяжести у 101 (72,1%) пациента диагностирован пародонтит средней степени тяжести, у 39 (27,9%) пациентов – пародонтит тяжелой степени. Группу сравнения составили 60 пациентов (26 мужчин и 34 женщины, $45,3 \pm 7,62$ лет) без патологии пародонта после санации полости рта. У 60 больных хроническим генерализованным



пародонтитом молекулярно-генетическое исследование проведено дважды - до и через 10 дней лечения. Материалом для исследования служили содержимое пародонтального кармана зубов и ротовая жидкость. Выявление видоспецифических фрагментов ДНК *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus macasae*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus sobrinus*, *Treponema denticola* осуществляли методом ПЦР с использованием собственных пар праймеров и с детекцией продуктов в агарозном геле.

Статистическую обработку данных проводили с использованием непараметрического критерия Хи-квадрат. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. В результате молекулярно-генетического исследования содержимого пародонтальных карманов больных пародонтитом и в группе сравнения были обнаружены все виды основных пародонтопатогенных бактерий: *P. gingivalis*, *S. macasae*, *S. mutans*, *S. oralis*, *S. salivarius*, *S. sanguis*, *S. sobrinus*, *T. denticola*. Наиболее часто, с частотой выше 50%, обнаруживались *S. mutans* (79,1%), *S. sanguis* (65,5%), *S. oralis* (62,7%) и *S. sobrinus* (52,7%). Однако встречаемость бактерий этих видов в содержимом пародонтальных карманов была достоверно выше у больных, нежели в группе сравнения, только относительно *S. mutans* (на 49,8%, $\chi^2 = 42,1$, $p = 0,0001$), *S. oralis* (на 39,4%, $\chi^2 = 24,1$, $p = 0,0001$) и *S. sobrinus* (на 41,0%, $\chi^2 = 27,7$, $p = 0,0001$).

Относительно близкие данные по выявлению указанных микроорганизмов были получены при молекулярно-генетическом исследовании образцов слюны у больных пародонтитом. Наиболее часто обнаруживались *S. mutans* (73,6%), *S. sanguis* (57,3%), *S. oralis* (54,5%) и *S. sobrinus* (42,7%). Однако встречаемость этих бактерий в слюне пациентов группы наблюдения была достоверно выше, нежели в группе сравнения, только для *S. mutans* (на 46,9%, $\chi^2 = 34,9$, $p = 0,0001$) и *S. sobrinus* (на 31,0%, $\chi^2 = 17,3$, $p = 0,0001$).

Изучение микробиоценозов пародонтальных карманов после окончания лечения показало существенное снижение количества исследованных пародонтопатогенных бактерий. Так, частота выделения в содержимом пародонтального кармана *P.gingivalis* по окончании курса терапии снизилась на 13,3%, *S.oralis* - 23,2%, *S.sanguis* - на 10,0%, *S.sobrinus* - на 20,0% и *T.denticola* - на 10%. Однако статистически значимым после лечения было снижение частоты выявления *S.oralis* и *S.sobrinus*.

Выводы. 1. Показано успешное применение метода ПЦР для обнаружения анаэробных, труднокультивируемых пародонтопатогенов при хроническом генерализованном пародонтите и продемонстрирована динамика изменений их видового состава в ходе проведения комплексного лечения.

2. Выявление пародонтопатогенов *S.sobrinus* и *S.oralis* методом ПЦР в содержимом пародонтальных «карманов» и/или в слюне у больных пародонтитом



имеет диагностическое значение и может быть использовано для ранней диагностики заболевания, определения адекватной и эффективной антибиотикотерапии, а также оценки эффективности лечения пародонтита.

ЭКСПРЕСС МЕТОД ДЛЯ АНАЛИЗА ПРОДУКЦИИ ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Шишин М.В., Сухих С.А., Кригер О.В., Просеков А.Ю.

Кемеровский технологический институт пищевой промышленности,
г. Кемерово

В последние годы обнаружена группа заболеваний, характеризующихся прогрессирующим поражением различных отделов нервной системы и имеющих необычный генетический механизм возникновения и развития. Основная патогенетическая роль в развитии этих заболеваний принадлежит белковому агенту, который было предложено называть прионом (PRION - от англ. Proteinaceous Infectious particle, с перестановкой двух букв). В группу прионных болезней входят куру, болезнь Крейтцфельдта-Якоба (БКЯ), болезнь Герстмана-Штросслера и летальная семейная инсомния.

Источник инфекционной формы прионов - овцы и козы, у которых spontанно может развиваться заболевание, известное под названием «скрэп».

Важное значение в диагностике болезни Крейтцфельдта-Якоба имеет ЭЭГ-исследование. При этом на ранних этапах болезни наблюдается замедление биоэлектрической активности. Состав цереброспинальной жидкости при прионных болезнях обычно нормальный, воспалительная реакция в ней отсутствует.

В настоящее время самым надежным и достоверным методом диагностики БКЯ и других прионных заболеваний является иммуноцитохимический метод выявления в биоптате отложения PrPSc. Инфекционная изоформа PrPSc откладывается в синапсах коры большого мозга и мозжечка, а также в амилоидных бляшках. Отложение PrPSc является наиболее ранним этапом в развитии БКЯ и определяется еще до развития структурных изменений в ткани мозга. Однако эта методика (иммуноцитохимическое исследование и иммуно-блоттинг) находится уже за рамками чисто морфологических методов и требует специальных реагентов и оборудования.

Результаты последних работ, посвященных количественному определению нормальной формы прионового белка и его патогенной изоформы в зараженном материале свидетельствуют о том, что уровень чувствительности подобного теста должен соответствовать нескольким атоммолям. Очевидно,

2016



Российский национальный исследовательский
медицинский университет им. Н.И. Пирогова
Pirogov Russian National Research
Medical University



Студенческое научное общество
РНИМУ им. Н.И. Пирогова
Student's Scientific Society
of RNRMU



„Где господствует дух науки,
там творится величие и
малыми средствами.“

Н.И. Пирогов

XI Международная
(XX Всероссийская)
Пироговская научная
медицинская конференция
студентов и
молодых ученых

XI International Pirogov
scientific medical conference
for students and young scientists

**СБОРНИК
ТЕЗИСОВ**
**BOOK OF
ABSTRACTS**

pirogovka.rsmu.ru

Москва
2016

Пироговская научная медицинская конференция студентов и молодых ученых

Содержание

01. СЕКЦИЯ: «АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ»	3
02. СЕКЦИЯ: «АНЕСТЕЗИОЛОГИЯ И РЕАНИМАТОЛОГИЯ»	54
03. СЕКЦИЯ: «ВНУТРЕННИЕ БОЛЕЗНИ»	75
04. СЕКЦИЯ: «ДЕТСКАЯ ХИРУРГИЯ»	167
05. СЕКЦИЯ: «МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ»	188
06. СЕКЦИЯ: «МЕДИЦИНСКАЯ ПСИХОЛОГИЯ И ПСИХИАТРИЯ»	260
07. СЕКЦИЯ: «МЕДИЦИНСКАЯ РЕАБИЛИТАЦИЯ И СПОРТИВНАЯ МЕДИЦИНА»	288
08. СЕКЦИЯ: «МЕДИЦИНСКИЕ НАНОБИОТЕХНОЛОГИИ, МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА»	314
09. СЕКЦИЯ: «ОБЩАЯ ХИРУРГИЯ»	344
10. СЕКЦИЯ: «ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДОРОВЬЕ, ЭКОНОМИКА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И ГУМАНИТАРНЫЕ НАУКИ»	403
11. СЕКЦИЯ: «ОФТАЛЬМОЛОГИЯ»	463
12. СЕКЦИЯ: «ПЕДИАТРИЯ И НЕОНАТОЛОГИЯ» ИМЕНИ АКАДЕМИКА В. А. ТАБОЛИНА	492
13. СЕКЦИЯ: «СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТАЯ ХИРУРГИЯ»	545
14. СЕКЦИЯ: «СТОМАТОЛОГИЯ, ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВАЯ ХИРУРГИЯ И ОТОРИНОЛАРИНГОЛОГИЯ»	567
15. СЕКЦИЯ: «ФАРМАЦИЯ»	601

группы (R-SO₂) – остатки метионина и цистеина в виде сульфеновых и сульфоновых кислот, дитиолы. Изменение структуры белков инициирует их конечный распад на аминокислотные фрагменты. В зависимости от степени модификации белка протеолиз может быть либо активизирован (незначительное изменение структуры), либо угнетен (глубокие изменения структуры). Так, при диабетической катаракте гликозилированный кристаллин хрусталика глаза не подвергается протеолизу и вызывает необратимое нарушение зрения.

Выводы: Остается пока открытым вопрос механизма образования и лиминации посттрансляционных модификаций белков и их роли в прогрессировании почечной патологии. Не установлено, что является первичным в окислении протеинов – продукты ПОЛ или непосредственно активные формы кислорода и азота. Не исследована протеазная система и ее регуляция у больных с ХПН. Не выявлено, может ли нарушенная протеазная система почек при ХПН приводить к накоплению в организме модификаций белков. Однако доказано, что при ХПН в крови больных накапливаются пептидные гормоны – инсулин и гастрин.

АНАЛИЗ МИКРОБИОТЫ ПОЛОСТИ РТА МЕТОДОМ ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ ПАРОДОНТИТОМ

К. Ю. Швец, Э. Р. Тамарова

Научные руководители – д. м. н., профессор А. Р. Мавзютов; д. б. н., профессор А. Х. Баймиеев
Башкирский Государственный Медицинский Университет, Уфа, Россия

Введение: Воспалительные заболевания пародонта являются начальным этапом деструктивного процесса, приводящего к потере зубов и нарушению коммуникативной функции человека, что определяет социальную значимость проблемы. Важнейшим пусковым фактором в инициации патологического процесса является формирование зубной бляшки как многослойной микробной биопленки с участием пародонтопатогенных микроорганизмов.

Цель исследования: Сравнительная характеристика качественного и количественного состава микробиоценозов полости рта при пародонтите методом ПЦР в режиме реального времени для определения эффективности терапии.

Материалы и методы: В исследование были включены 66 пациентов (16 мужчин и 50 женщин) в возрасте от 32 до 66 ($51,19 \pm 2,66$) лет, составивших группу наблюдения. Группу сравнения составили 24 пациента (10 мужчины и 14 женщины, $45,3 \pm 7,62$ лет), не имеющих сопутствующей патологии и воспалительных изменений в тканях пародонта. Материал для исследования – содержимое пародонтальных карманов зубов и ротовая жидкость. Тотальную ДНК из образцов ДНК выделяли с использованием ионообменной смолы Chelex100. Для постановки ПЦР в реальном времени использовали подобранные нами пары видоспецифических 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 CFX96 Touch «REAL TIME» (Bio-Rad, США). Учет результатов проводили с помощью программного обеспечения Bio-Rad CFX Manager. Молекулярно-

генетическое исследование у пациентов проводилось дважды – до и через 10 дней лечения по описанной схеме.

Результаты: При молекулярно-генетическом исследовании содержимого пародонтальных карманов и слюны у больных (группа наблюдения), проходивших комплексную терапию по схеме «Vector + антибиотикотерапия», методом ПЦР в режиме реального времени обнаруживались все виды основных пародонтопатогенных микроорганизмов – *P. gingivalis*, *S. oralis*, *S. sanguis*, *S. sobrinus*, *T. denticola*. В содержимом пародонтальных карманов наиболее часто обнаруживались *S. sobrinus* (67,9%), *S. oralis* (64,8%) и *P. gingivalis* (50,7%). Частота встречаемости пародонтопатогенов *S. sobrinus* (на 29,0%, $x^2 = 20,05$, $p = 0,001$), *P. gingivalis* (на 25,9%, $x^2 = 16,08$, $p = 0,001$) и *S. oralis* (на 17,0%, $x^2 = 7,01$, $p = 0,001$) была достоверно выше в группе наблюдения, нежели в группе сравнения. Молекулярно-генетический анализ образцов слюны показал наиболее частое обнаружение *S. sanguis* (63,03%), *S. oralis* (58,8%) и *S. sobrinus* (58,2%). Достоверно выше в слюне пациентов с пародонтитом встречался пародонтопатоген *S. sobrinus* (на 30,4%, $x^2 = 21,59$, $p = 0,001$). Также проведение ПЦР в режиме реального времени в группе больных, получавших комбинированное лечение позволило выявить уменьшение относительного количества *P. gingivalis* в пародонтальном кармане (на 30,3%, $x^2 = 10,89$, $p = 0,001$) и в слюне (на 33,3%, $x^2 = 13,63$, $p = 0,001$), *S. oralis* – и в пародонтальном кармане (на 31,2%, $x^2 = 21,63$, $p = 0,001$), и в слюне (на 30,8%, $x^2 = 11,37$, $p = 0,001$), *S. sanguis* – только в слюне (на 38,1%, $x^2 = 11,38$, $p = 0,001$), *S. sobrinus* – и в пародонтальном кармане (на 31,1%, $x^2 = 13,08$, $p = 0,001$), и в слюне (на 21,1%, $x^2 = 14,04$, $p = 0,001$).

Выводы: 1. Комбинированное лечение («Vector + антибиотикотерапия») характеризуется наибольшей эффективностью, сопровождается регрессией воспалительных реакций в тканях пародонта, снижает общую относительную осемененность тканей пародонтопатогенными микроорганизмами *P. gingivalis*, *S. oralis*, *S. sanguis*, *S. sobrinus*, улучшает клиническое течение пародонтита, а также увеличивает ремиссию. 2. ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени – достаточно точный метод изучения 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.

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА CXCL10 В РАЗВИТИИ ТУБЕРКУЛЁЗА ЛЁГКИХ

Д. Е. Гомбоева

Научный руководитель – к. б. н. Е. Ю. Брагина
Сибирский Государственный Медицинский Университет, Томск, Россия

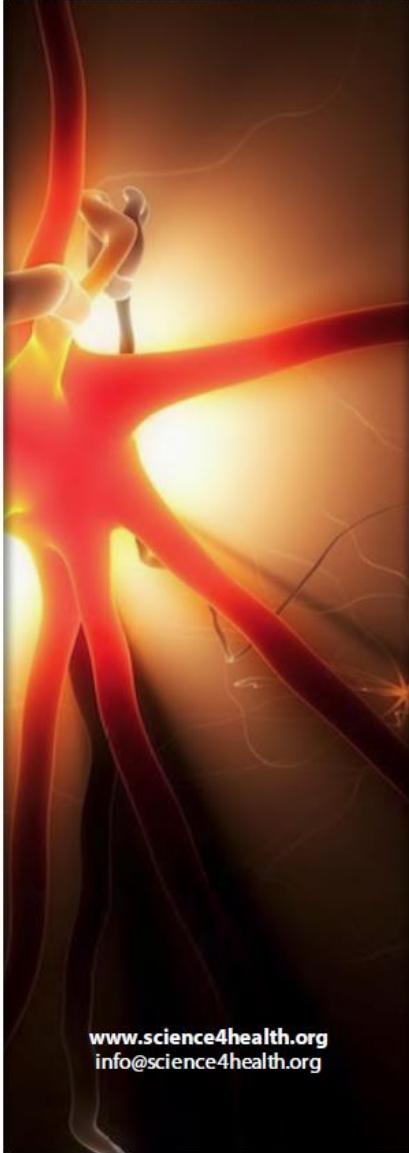
Введение: Туберкулёз – одно из наиболее распространённых и опасных инфекционных заболеваний во всём мире, более чем 1,5 миллиона человек умирают от него ежегодно. Наследственные и средовые факторы оказывают влияние в развитии туберкулёза. Активация хемокинов, в частности, хемокина CXCL10 является важным компонентом врождённого иммунного ответа на патогены, попадающие в дыхательные пути.

Цель исследования: Изучить полиморфизм в промоторе гена CXCL10 (G-201A) и оценить его роль в развитии туберкулёза лёгких.



The Scientific Society of Medical Students
The Faculty of Medicine
Peoples' Friendship University of Russia

SCIENCE4HEALTH 2016



www.science4health.org
info@science4health.org

VII INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE
SCIENCE4HEALTH 2016
12TH APRIL 2016 – 15TH APRIL 2016
MOSCOW, RUSSIA

VII МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
SCIENCE4HEALTH 2016
12 АПРЕЛЯ 2016 ГОДА – 15 АПРЕЛЯ 2016 ГОДА
МОСКВА, РОССИЯ

MATERIALS OF THE CONFERENCE

МАТЕРИАЛЫ КОНФЕРЕНЦИИ



The Faculty of Medicine
Peoples' Friendship University of Russia
Медицинский факультет
Российский университет дружбы народов



Semmelweis University
Budapest, Hungary
Университет Семмельвейс
Будапешт, Венгрия

USE OF PCR IN REAL TIME FOR SPECIFIC CHARACTERISTICS MICROBIOTA OF THE ORAL CAVITY AND ESTIMATION OF THERAPY EFFICIENCY IN PERIODONTITIS.....	181	Agaev R.A., Kidirisha R.M., Alfredo A.G., Korniushko A.Y., El'kova M.YU., Imanaliева А. А.	185
Shvets K.Yu.....	181		
ИСПЫТАНИЕ ЙОДОГЕНЕРАТОРА.....	181	CLINICAL AND EPIDEMIOLOGIC FEATURES OF TRAUMATIC BRAIN INJURY OF MILD TO MODERATE SEVERITY IN CHILDREN	185
Старцева Т.А., Савенкова И.В.....	181	Agaev R.A., Kidirisha R.M., Alfredo A.G., Korniushko A.U., Elkova M.U., Imanalieva A. A.	185
IODINE GENERATOR TESTING.....	181		
Startseva T.A., Savenkova I.V.....	181	КЛИНИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ БРУКСИЗМА У ЛИЦ МОЛОДОГО ВОЗРАСТА	185
ИССЛЕДОВАНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ КОРТИЗОЛА ПЛАЗМЫ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РАЗЛИЧНЫХ МЕСТНЫХ АНЕСТЕТИКОВ ВО ВРЕМЯ ТОНЗИЛЛЭКТОМИИ.....	181	Биктимерова Э.А., Осокина Т.К.	185
Ильинская М.В., Кастиро И.В.....	182	CLINICAL DIAGNOSIS AND TREATMENT OF BRUXISM IN YOUNG PEOPLE.....	185
RESEARCH OF BLOOD PLASMA CORTISOL CONCENTRATION WITH PATIENTS USING VARIETY OF LOCAL ANESTHETIC DURING TONSILLECTOMY.....	182	Biktimirova E.A., Osokina T.K.	185
Ilinskaya M.V., Kastyro I.V.....	182	КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ СМЕРТИ ПОДРОСТКА ОТ ОСТРОЙ КОРОНАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ВСЛЕДСТВИЕ АНОМАЛЬНОЙ ТОПОГРАФИИ ВЕНЕЧНОЙ АРТЕРИИ	186
ИТОГИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБОВ РЕКОНСТРУКЦИИ У БОЛЬНЫХ С СИНДРОМОМ ЛЕРИША.....	182	Горустович О.А.	186
Козырева А.Б., Бондаренко П.Б., Ермина М.Ю., Хвостова М.С.....	182	CLINICAL CASE OF THE TEENAGER'S DEATH FROM ACUTE CORONARY INSUFFICIENCY AS A RESULT ABNORMAL TOPOGRAPHY OF THE CORONARY ARTERY	186
RESULTS OF THE VARIOUS WAYS OF RECONSTRUCTION IN PATIENTS WITH LERICHE'S SYNDROME.....	182	Harustovich V.A.	186
Козырева А.В., Бондаренко Р.В., Ермина М.У., Хвостова М.С.	182	КОГНИТИВНЫЕ НАРУШЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕНЕСШИХ ИНСУЛЬТ С ТЯЖЕЛЫМ СОМАТИЧЕСКИМ ПАТОЛОГИЕЙ.....	186
К СРАВНИТЕЛЬНОЙ ОЦЕНКЕ МЕТОДОВ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ МИКРОСПОРИИ.....	182	Alioglu A.X., Nozdrukhina N.V., Garabova N.I., Burzhunova M.G.	186
Titova A.A., Shveц К.Ю., Адиятуллин И.И., Ситникова А.О.	182	POST-STROKE COGNITIVE IMPAIRMENT IN PATIENTS WITH CONCOMITANT SOMATIC PATHOLOGY.....	186
COMPARATIVE EVALUATION OF METHODS OF LABORATORY DIAGNOSTICS MICROSPORIA.....	182	Alioglu A. H., Nozdrukhina N.V., Garabova N.I., Burzhunova M.G.	186
Titova A.A., Shvets K.Yu., Idrayatullin I.I., Sitnikova A.O.	182		
КАКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГЕМОДИНАМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ СЛЕДУЕТ СЧИТАТЬ ОПАСНЫМИ У БОЛЬНЫХ РАСПРОСТРАНЕННЫМ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ И МОЖНО ЛИ ИХ ПРЕДУПРЕДИТЬ?.....	183	КОРРЕКЦИЯ ГИПЕРТОНИЧЕСКОГО КРИЗА АЛЬФА АДРЕНОБЛОКАТОРАМИ У БОЛЬНЫХ НА ЭТАПЕ ВВОДНОГО НАРКОЗА	187
Кебряков А.В., Белоказанцева В.В., Коплярова Н.С., Бондаренко П.Б., Ермина М.Ю., Иванов М.А.	183	Узоков А.Д., Маматова М.Б., Узокова Ш.Т.	187
WHAT CHANGES OF HEMODYNAMIC PARAMETERS SHOULD BE CONSIDERED HAZARDOUS IN PATIENTS WITH ADVANCED ATHEROSCLEROSIS, AND CAN THEY BE PREVENTED?	183	CORRECTION OF HYPERTENSIVE CRISIS OF ALF ADRENOBLOCKATORAMI AT PATIENTS AT THE STAGE OF THE INTRODUCTION ANAESTHESIA	187
Kebrayakov A.V., Belokazantseva V.V., Koplyarova N.S., Bondarenko P.B., Ermina M.Y., Ivanov M.A.	183	Uzokov A.D., Mamatova M.B., Uzokova Sh. T.	187
КАРИЕС ЗУБОВ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА.....	183	КОРРЕКЦИЯ ОСТАТОЧНОЙ АМЕТРОПИИ МЕТОДОМ PIGGYBACK IOL ИМПЛАНТАЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С ПСЕУДОФАКИЕЙ, РАНЕЕ ПЕРЕНЕСШИХ РАДИАЛЬНУЮ КЕРАТОТОМИЮ. КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ.....	187
Косырева Т.Ф., Давидян О.М., Ключанская А.Д.....	183	Селиванова Л.Ю., Джабер Д.Н., Карданова Л.О.	187
THE EARLY CHILDHOOD CARIOS.....	183	PIGGYBACK IOL IMPLANTATION FOR CORRECTION OF RESIDUAL AMETROPIA IN PSEUDOPHAKIC PATIENTS WITH PREVIOUS RADIAL KERATOTOMY. CLINICAL CASE REPORT	187
Kosyрева Т.Ф., Davidyan O.M., Klyuchanskaya A.D.	183	Selivanova L.U., Dzhaber D.N., Kardanova L.O.	187
КАЧЕСТВОМ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ И УДОВЛЕТВОРЕННОСТЬ ПАЦИЕНТОВ В УЗ «З ГОРОДСКАЯ КЛИНИЧЕСКАЯ БОЛЬНИЦА ГОРОДА МИНСКА ИМ. Е.В. КЛУМОВА».....	183	ЛАПАРОСКОПИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ В ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕНИИ ОСТРОГО АППЕНДИЦИТА.....	188
Король М.С.....	183	Прибыткин А.А.	188
QUALITY OF CARE AND PATIENT SATISFACTION IN KM "З CITY CLINICAL HOSPITAL OF MINSK CITY MI. EV KLUMOV"	183	LAPAROSCOPIC TECHNOLOGIES IN DIAGNOSTICS AND TREATMENT OF ACUTE APPENDICITIS	188
Korol M.S.	183	Pribytkin A.A.	188
КИШЕЧНАЯ ПЛАСТИКА МОЧЕТОЧНИКА.....	184	ЛЕГКО ЛИ ИДЕНТИФИЦИРОВАТЬ ДЕЛИРИЙ?	188
Мордовский А.В., Королев В.Ю.	184	Габриэла А.И., Царинова Д.В.	188
INTESTINAL PLASTIC URETER.....	184	IS IT EASY TO IDENTIFY DELIRIUM?	188
Mordovsky A.V., Korolev V.Y.	184	Gabreila A.I., Carionova D.V.	188
КЛИНИКА РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ ПАРАПСОРИАЗА И СВЯЗЬ С ГРИБОВИДНЫМ МИКОЗОМ.....	184	МЕДИЦИНСКИЕ АСПЕКТЫ ВНУТРИУТРОБНЫХ ИНФЕКЦИЙ ПЛОДА И РЕБЕНКА	189
Шимченко Ю.В., Машарова В.С.....	184	Kadomtsev D.V., Pasechnikova E.A., Golubev V.G.	189
CLINIC OF PARAPSORIASIS VARIOUS FORMS AND COMMUNICATE WITH MYCOSIS FUNGOIDES.....	184	MEDICAL ASPECTS OF FETAL INFECTIONS OF THE FETUS AND CHILD	189
Shimchenko Yu.V., Masharova V.S.	184	Kadomtsev D.V., Pasechnikova E.A., Golubev V.G.	189
КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЧЕРЕПНО- МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ ЛЕГКОЙ И СРЕДНЕЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ У ДЕТЕЙ.....	185	МЕТОД ОРТОДОНТИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ НА ЧАСТИЧНОЙ ДУГЕ	189
Lipova Yu.S., Lipova L.P.	185	Lipova Yu.S., Lipova L.P.	189
METHOD OF ORTHODONTIC TREATMENT FOR A PARTIAL ARC.....	189		

растворов и препаратов, улучшающих почечную перфузию (трентал, эуфиллин). Терапия проводилась на фоне постановки уретрального катетера Фоллея. На фоне терапии при динамическом ультразвуковом сканировании эхографические проявления инфильтративного пиелонефрита претерпевали обратное развитие. Эффективность предложенного подхода к тактике лечения, основанной на результатах высокоразрешающей ультразвуковой диагностики, оценивали по количеству оперативных вмешательств в случае неэффективности консервативного лечения. Из 135 пациентов стяжелыми формами пиелонефрита, находящихся на лечении в отделении урологии ДГКБ Св. Владимира, хирургическое лечение не понадобилось ни одному пациенту. При стандартных методиках обследования и лечения по данным отечественных и зарубежных источников, необходимость оперативного вмешательства у такой категории пациентов составляет более 20%.

Выводы: Ранняя комплексная диагностика с применением высокоразрешающих ультразвуковых методик позволяет оптимизировать подход к выбору индивидуальной тактики лечения, что существенно снижает риск формирования деструктивного процесса, необходимость хирургического лечения и значительно улучшает прогноз.

24-35

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ ДЛЯ ВИДОВОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ МИКРОБИОТИ ПОЛОСТИ РТА И ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ

Швец К.Ю.

БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, Уфа, Россия
Микробиологический факультет, Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии

Научный Руководитель(ли): проф. Мавзютов А.Р.

USE OF PCR IN REAL TIME FOR SPECIFIC CHARACTERISTICS MICROBIOTA OF THE ORAL CAVITY AND ESTIMATION OF THERAPY EFFICIENCY IN PERIODONTITIS

Швец К.Ю.

БАШКИРСТВА МЕДИЧНЫЙ УНІВЕРСИТЕТ, Уфа, Россия

THE FACULTY OF MICROBIOLOGY, DEPARTMENT OF FUNDAMENTAL AND APPLIED MICROBIOLOGY
SCIENTIFIC ADVISER(S): PROF. MAVZYUTOV A.R.

We examined 165 patients with periodontitis (monitoring group) and 62 patients without pathology of the periodontium (the comparison group). Investigation of saliva samples and periodontal content "pockets" using PCR in real time in order to identify species-specific DNA fragments *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus sobrinus*, *Treponema denticola*.

AIM. Evaluation of information content and diagnostic capabilities PCR in real time in the diagnosis of periodontitis.

MATERIALS AND METHODS.

The study included 165 patients (59 men and 106 women) aged 29 to 74 years who amounted to the monitoring group. The comparison group consisted of 62 healthy patients (24 men and 38 women) without concomitant diseases and periodontal pathologies. The material for molecular genetic research - the contents of the periodontal pocket teeth and oral fluid. The total DNA was isolated from clinical samples using an ion exchange resin Chelex100. For PCR in real time using our chosen pair of primers for species-specific DNA fragments *P. gingivalis*, *S. oralis*, *S. sanguis*, *S. sobrinus*, *T. denticola* and the reagents for PCR in real time SYBR Green I. Molecular genetic study was performed in patients before and after 10 days of treatment under the scheme.

RESULTS. At the molecular genetic study of the contents of periodontal pockets with periodontitis patients and healthy people were identified periodontal bacteria *P. gingivalis*, *S. oralis*, *S. sanguis*, *S. sobrinus*, *T. denticola*. Molecular genetic research has revealed a decrease incidence of periodontal microorganisms and changes in species composition of the microbiota in the group of patients treated with antibiotics. There was a statistically significant reduction in the incidence of *P. gingivalis* periodontal pocket (29,6%, $\chi^2 = 9,82$, $p = 0,001$) and in saliva (27,3%, $\chi^2 = 6,96$, $p = 0,001$), *S. oralis* - only in the periodontal pocket (20,6%, $\chi^2 = 9,07$, $p = 0,001$). Molecular genetic testing of clinical samples showed a decrease in the frequency of detection *P. gingivalis* in the periodontal pocket (27,3%, $\chi^2 = 8,16$, $p = 0,001$), *S. oralis* in saliva (26,9%, $\chi^2 = 9,36$, $p = 0,001$) and *S. sanguis* - in the periodontal pocket (23,8%, $\chi^2 = 7,69$, $p = 0,001$)

0,001) and the saliva (17,9%, $\chi^2 = 9,48$, $p = 0,001$) in the group patients treated with ultrasonic treatment with the device «Vector» («Durr Dental», Germany).

In the group of patients who received the combination treatment was observed decrease in the relative amount of *P. gingivalis* and periodontal pocket (30,3%, $\chi^2 = 10,89$, $P = 0,001$) and the saliva (33,3%, $\chi^2 = 13,63$, $p = 0,001$), *S. oralis* - in the periodontal pocket (31,2%, $\chi^2 = 21,63$, $p = 0,001$) and the saliva (30,8%, $\chi^2 = 11,37$, $p = 0,001$), *S. sanguis* - only saliva (38,1%, $\chi^2 = 11,38$, $p = 0,001$), *S. sobrinus* - in the periodontal pocket (31,1%, $\chi^2 = 13,08$, $p = 0,001$) and in saliva (21,1%, $\chi^2 = 14,04$, $p = 0,001$).

CONCLUSIONS. 1. PCR in real time can be used in the diagnosis of infectious and inflammatory periodontal diseases associated with pathogenic microflora of the mouth and to assess the effectiveness of therapy. 2. Combined treatment of periodontitis effectively reduces the acute inflammation and the frequency of occurrence of microorganisms *P. gingivalis*, *S. oralis*, *S. sanguis*, *S. sobrinus* in periodontal tissues.

24-36

ИСПЫТАНИЕ ЙОДОГЕНЕРАТОРА

Старцева Т.А., Савенкова И.В.

Российский Университет Дружбы Народов, Россия, Москва

Медицинский факультет, Кафедра микробиологии

Научный Руководитель(ли): Кандидат биологических наук Сачиккина Н.П.

IODINE GENERATOR TESTING

STARTEVA T.A., SAVENKOVA I.V.

PEOPLES' FRIENDSHIP UNIVERSITY OF RUSSIA, RUSSIA, MOSCOW

THE FACULTY OF MEDICINE, DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY

SCIENTIFIC ADVISER(S): MS, PhD ASSOCIATE PROFESSOR SACHIKKINA N.P.

Iodine generator-A device for iodization through inhalation. Since the problem of air purification in hospitals is very urgent, and lack of iodine in the atmosphere leads to disturbances in thyroid gland, we believe that the use of this device will help to solve both problems.

Purpose: study the possibility to reduce the concentration of bacteria in the air and surfaces of objects by means of use of iodine generator.

Materials and methods. The tests were carried out in a closed glass box. The bacteria of the genus *Staphylococcus* (museum and clinical) with known characteristics were used for testing. Glass Petri dishes 7 cm in diameter, filled with salt agar were used to cultivate the strains. The cultivation was performed in the form of a lawn by a sterile spatula, bringing bacteria concentration to 103 CFU / 1 cup. Cups with cultures were either immediately placed in an incubator and counted by means of control method, or kept close to iodine generator for certain period of time (experiment). The test was repeated, but with a UV lamp switched on, the treatment of cultures was performed both by UV radiance and iodine generator steam. The test was repeated, but direct rays of the UV lamp did not reach the dishes, even though it was placed nearby the iodine generator because cultures were covered with a lid. Some dishes with *staphylococcus* were placed nearby the UV lamp without exposure to iodine generator. The cultures were incubated at 37 °C for 24 hours. The number of colonies was counted.

We also determined the strains of *staphylococcus* most sensitive to the effect of KI aerosol particles. To do this, the basic test with the use of different cultures was performed. The efficiency of devices (E) was determined in accordance with the percentage of CFU content in the control (K) and experiment (E) = 100% (K0)/K.

Results: The number of bacteria exposed to impact of the iodine generator decreased by 35±5% within 3 hours of its continuous operation. Under larger concentrations no bacteriostatic effect is observed.

Conclusion: Prior to commencement of testing the iodine generator shall have been operating for min. 4 hours. Fewer amount of operation time was not effective, the increase in the operation time did not lead to alteration of test results (35±5%). The number of bacteria that survived in the course of experiment with the UV-lamp was inversely proportional to the number of hours the lamp had been operating. It was also found that the reduction in the number of bacteria CFU did not depend on the strains type.

24-37

ИССЛЕДОВАНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ КОРТИЗОЛА ПЛАЗМЫ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РАЗЛИЧНЫХ МЕСТНЫХ АНЕСТЕТИКОВ ВО ВРЕМЯ ТОНЗИЛЛЕКТОМИИ

Справка о проверке на Антиплагиат

Уважаемый пользователь!

Обращаем ваше внимание, что система Антиплагиат отвечает на вопрос, является ли тот или иной фрагмент текста заимствованным или нет. Ответ на вопрос, является ли заимствованный фрагмент именно плагиатом, а не законной цитатой, система оставляет на ваше усмотрение. Также важно отметить, что система находит источник заимствования, но не определяет, является ли он первоисточником

Информация о документе:

Имя исходного файла: Швец. Диплом_1.docx
Имя компании: Башкирский государственный медицинский университет
Тип документа: Прочее
Имя документа: Диплом Швец
Текстовые статистики:
Индекс читаемости: сложный
Неизвестные слова: в пределах нормы
Макс. длина слова: в пределах нормы
Большие слова: в пределах нормы

Оригинальные блоки: 79.69%

Заимствованные блоки: 20.31%

Заимствование из "белых" источников: 0%

Итоговая оценка оригинальности: **79,69%**



Отзыв научного руководителя
о прохождении дипломной практики
студентки 4 курса
медицинско-профилактического факультета с отделением микробиологии
ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России
Швец Ксении Юрьевны по теме:
**«КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ
ПАРОДОНТОПАТОГЕНОВ В ОЧАГАХ ПОРАЖЕНИЯ
ДО И ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ
В СТОМАТОЛОГИИ».**

Студентка Швец К.Ю. проходила практику в ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, в лаборатории молекулярной биологии и нанобиотехнологии. За время своей работы в лаборатории она показала себя как компетентный, грамотный, организованный и целеустремленный студент, подготовленный к самостоятельному проведению научных исследований. В процессе работы над дипломной работой Швец К.Ю. изучила большой объем научной литературы, овладела основными методиками проведения молекулярно-генетических и микробиологических исследований. Принимала активное участие в симпозиумах, выставках, научно-методических и научно-практических конференциях. Результаты проведенных исследований были опубликованы в научных журналах, рекомендованных ВАК Минздрава России, а также сборниках материалов всероссийских и международных конференций.

Результат дипломной практики Швец К.Ю. заслуживает отличной оценки.

Научный руководитель:
д.б.н., профессор
кафедры фундаментальной
и прикладной микробиологии

Бай Ал.Х. Баймиеев

РЕЦЕНЗИЯ

на дипломную работу студентки 4 курса
медицинско-профилактического факультета с отделением микробиологии
ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России
Швец Ксении Юрьевны.

Дипломная работа Швец К.Ю. «Количественная оценка содержания пародонтопатогенов в очагах поражения до и после лечения для оценки эффективности терапии в стоматологии» выполнена на актуальную тему, обусловленную высокой распространенностью среди населения воспалительных заболеваний пародонта и представляющих серьезную проблему. Автором проведена работа по разработке тест-системы и оптимизации условий проведения количественного анализа состава микробиоты полости рта при пародонтите с помощью молекулярно-генетических методов.

Швец К.Ю. собран и проанализирован большой объем современных литературных данных, что, во-многом, обеспечило высокий теоретический и методологический уровень проведенных и представленных в дипломной работе исследований.

Материал в дипломной работе структурирован традиционно, изложен логично, в стиле научных публикаций. Работа включает введение, литературный обзор, описание объектов и методов исследований, представление собственных данных и их обсуждения, заключение, выводы, список цитируемой литературы, приложения. Сформулированные в работе выводы достаточно обоснованы и представляют научно-практический интерес.

Дипломная работа Швец К.Ю. соответствует всем требованиям и заслуживает самой высокой оценки.

д.м.н., заведующий кафедрой
фундаментальной и прикладной
микробиологии ГБОУ ВПО БГМУ
Минздрава России



А.Р. Мавзютов

А.Р. Мавзютов

РЕЦЕНЗИЯ

на дипломную работу студентки 4 курса
медицинско-профилактического факультета с отделением микробиологии
ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России
Швец Ксении Юрьевны.

На рецензию представлена дипломная работа на тему «Количественная оценка содержания пародонтопатогенов в очагах поражения до и после лечения для оценки эффективности терапии в стоматологии».

Дипломная работа Швец К.Ю. выполнена на актуальную на сегодняшний день тему, поскольку воспалительные заболевания пародонта имеют высокую распространенность среди населения и представляют серьезную проблему. Автором проведена работа по оптимизации условий проведения количественного анализа состава микробиоты полости рта при пародонтите с помощью молекулярно-генетических методов исследования. Швец К.Ю. обработано большое количество научного материала на высоком теоретическом и методологическом уровне. Материал в дипломной работе логически структурирован, написан научным стилем изложения. Автором при написании дипломной работы сохранена традиционная структура, а именно наличие таких разделов, как введение, литературный обзор, описание объектов и методов исследований, представление собственных данных и их обсуждения, заключение, выводы, список цитируемой литературы, приложения. Сформулированные в работе выводы достаточно обоснованы и могут быть использованы в практической деятельности.

старший научный сотрудник

лаборатории молекулярной биологии

и нанобиотехнологии

ФГБУН Институт биохимии

и генетики УНЦ РАН, к.б.н.



Ю.М. Никоноров