

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИКО-СТОМАТОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ А.И. ЕВДОКИМОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

На правах рукописи

АРУТЮНЯН АЛЕКСАНДР АРТЕМОВИЧ

**МОНИТОРИНГ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ГЕНОВ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К
АНТИБИОТИКАМ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ПАРОДОНТИТОМ**

1.5.110 Микробиология (медицинские науки)

3.1.70' Стоматология (медицинские науки)

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:

Доктор медицинских наук, профессор
Ипполитов Евгений Валерьевич

Доктор медицинских наук
Саркисян Микаел Альбертович

Москва – 2023

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	16
ЭТИОТРОПНАЯ ТЕРАПИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ПАРОДОНТИТА. ПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ ГИГИЕНА И АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ ХИМИОТЕРАПИЯ КАК БАЗОВЫЕ КОМПОНЕНТЫ КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ	16
1.1. История вопроса и новые пародонтологические подходы.....	16
1.2. Пародонтит как очаг хронической инфекции с системным действием.....	21
1.3. Системная антибактериальная терапия пародонтита и её микробиологические последствия.....	24
1.4. Клиническое значение исследования микробиома и резистома пародонта.....	28
1.5. Проблема антибиотикорезистентности и современные подходы к тактике антимикробной терапии хронического пародонтита.....	34
Резюме главы 1.....	39
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ	41
2.1. Характеристика клинических групп.....	41
2.2. Методика клинического мониторинга.....	46
2.3. Методика микробиологического мониторинга.....	50
2.3.1. Взятие исследуемого материала.....	50
2.3.2. Определение количественных параметров оральной микробиоты путём традиционного культивирования.....	51
2.3.3. Определение генетических маркеров пародонтопатогенных бактерий с помощью молекулярно-биологического метода шахматной ДНК-ДНК гибридизации.....	52
2.3.4. Определение генетических маркеров резистентности к антибиотикам с помощью молекулярно-биологического метода.....	54
2.3.5. Определение чувствительности к антибактериальным препаратам диско- диффузионным методом.....	54
2.3.6. Биокультивирование микробных популяций.....	55
2.4. Методика консервативного пародонтологического лечения.....	61
2.5. Статистический анализ.....	61
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	64
3.1. Оценка распространённости генетических маркеров резистентности у штаммов микробиоты полости рта, выделенных у стоматологических пациентов разного профиля.....	64

3.2. Оценка чувствительности типовых штаммов оральной микробиоты к антибактериальным химиопрепаратам с помощью программируемого культивирования <i>in vitro</i>	71
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКИХ И КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	88
4.1. Индексная клиническая пародонтологическая характеристика пациентов групп сравнения до начала пародонтологического лечения.....	88
4.2. Сравнительный анализ результатов фенотипических (метод дисков) и генотипических методов (ПЦР-детекция) определения резистентности выделенных штаммов микробиоты.....	103
4.3. Мониторинг микробиологических параметров в процессе пародонтологического лечения пациентов групп сравнения.....	108
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	113
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	124
ВЫВОДЫ	125
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	127
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	128
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	129

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Сохранение здоровья зубов, тканей пародонта и слизистой оболочки полости рта является важным компонентом общего благополучия и здоровья человека, на что указывается в документах, таких как "Global goals for oral health 2020" Всемирной Ассоциации Стоматологов и декларациях ВОЗ [184]. Особо актуально совершенствование своевременного и адекватного этиопатогенетического лечения хронического генерализованного пародонтита (ХГП), как фактора предупреждения развития сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) [3, 9, 11, 77, 97, 223]. Этиология хронического генерализованного пародонтита связана с взаимодействием факторов микробной агрессии и иммунных механизмов, которые находятся в тесном взаимодействии с состоянием орального микробиома [20, 21, 75, 76, 99, 106, 189, 198, 229]. Высокие уровни бактерий, которые влияют на состояние пародонта, могут вызвать системный эффект и повысить возможность возникновения ИБС. Эти бактерии могут являться причиной атерогенеза напрямую или косвенно, увеличивая уровень циркулирующих цитокинов и воспалительных медиаторов. [2, 12, 26, 28, 39, 67, 94, 147, 267].

Ведущим этиологическим фактором воспаления при пародонтите является микробная биопленка, которая формируется с участием наиболее агрессивных штаммов бактерий пародонтопатогенов «красного/оранжевого комплекса» по Sochransky или 1-2 порядков, согласно отечественной классификации, обладающих широким набором факторов патогенности [14, 17, 36, 39, 65, 69, 102, 221, 245]. Образование патогенными микроорганизмами биопленки, защищающей их от воздействия не только иммунных сил организма, но и от антимикробного действия антибиотиков и других препаратов, создает возможности передачи ими генов антибиотикорезистентности в своем составе [35, 37, 56, 64, 73, 95].

Актуальность и необходимость изучения генетических аспектов этой проблемы отмечалась в литературе неоднократно [70, 96, 103, 105, 109]. Эти

процессы в лечении хронического генерализованного пародонтита мало изучены [31, 98]. Чтобы предотвратить формирование биопленки, необходимо воздействие на ранние этапы процесса созревания, такие как прикрепление планктонных клеток и образование микроколоний. Одним из неспецифических способов такого воздействия является ингибирование процессов адгезии, например, путем изменения поверхности прикрепления бактерий или нарушения структурной целостности и дезорганизации биопленки, благодаря чему бактерии освобождаются и становятся доступными для антибактериальных воздействий, например, с использованием ферментов [35, 90, 91]. Отсутствие фундаментальных исследований в этой области в стоматологии препятствует совершенствованию этиопатогенетического лечения ХГП.

Главный вызов в лечении инфекционных заболеваний связан с возможностью бактерий формировать биопленки, что делает их устойчивыми к лекарственным препаратам и иммунной системе организма. В связи с этим Всемирная организация здравоохранения составила список антибиотикорезистентных возбудителей, которые представляют наибольшую угрозу. Этот список, опубликованный в феврале 2017 года, включает 12 видов бактерий, включая карбапенемрезистентных представителей семейств *Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter spp.* и *Pseudomonas spp.*, а также *Streptococcus pneumoniae*, нечувствительные к пенициллину. Рост числа инфекций, вызываемых резистентными к антибиотикам микроорганизмами с применением генетических методов идентификации отмечен в лечебно-профилактических учреждениях различных регионов России [4, 15, 33, 86].

Следовательно, в настоящее время генерализованный пародонтит является сложной и во многих отношениях нерешенной проблемой для стоматологии, так как существует возрастание устойчивости бактерий к антибиотикам и увеличение числа штаммов, резистентных к данным препаратам. Поиск альтернативных методов борьбы с возбудителями, формирующими биопленки, является важным медицинским вопросом.

На начальных этапах лечения пародонтита базовое пародонтологическое лечение включает профессиональную гигиену полости рта и лекарственную терапию с целью уменьшения бактериальной обсемененности и снижения воспаления [4, 6, 8, 18, 30, 32, 58, 74, 221]. Использование антибиотиков необходимо при лечении данной патологии, но возрастающая антибиотикорезистентность препятствует успешному лечению, и к тому же мало изучены механизмы ее возникновения и методы ее профилактики в стоматологии. Необходимо более широкое использование новейших методов генотипического определения резистентности, так как традиционный диско-диффузионный метод не позволяет полноценно судить о механизмах генетического кодирования устойчивости [54, 64, 90, 91, 108, 118].

Учитывая важность оценки генетического профиля резистентности патогенной микробиоты к антимикробным препаратам в терапии пародонтита, требующей рациональных подходов, мы провели представляемое нами исследование.

Степень разработанности темы исследований

По результатам исследований микробиоты при воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области и пародонта, проведенных в последние годы российскими и зарубежными учеными, были выявлены новые механизмы устойчивости к антимикробным препаратам у представителей анаэробной микрофлоры. В настоящее время наблюдается учащение случаев выявления резистентных штаммов бактерий рода *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus* и *Clostridium* к антибактериальным препаратам группы имидазола и линкосамидам, хотя еще некоторое время назад они являлись препаратами выбора.

Кроме того, в крупных мегаполисах все чаще встречаются полирезистентные штаммы семейства энтеробактерий (например, *Klebsiella spp.*), некоторые из которых являются колонизаторами ротовой полости [104]. В цитируемой работе авторами представлены угрожающие данные по нарастанию

числа резистентных штаммов возбудителей, в том числе, и анаэробных, выделенных при гнойно-воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области за последние 30 лет [89].

Вопрос распространённости генов, кодирующих резистентность к антибиотикам при других стоматологических заболеваниях, в том числе при пародонтите, в отечественной литературе освещён недостаточно [40, 104, 131]. Остаётся открытым также и состояние резистентности штаммов оральной микробиоты у практически здоровых молодых людей с точки зрения стоматологии.

Разнообразие антимикробных препаратов, широко применяемых в медицине и ветеринарии, а также в пищевой промышленности, приводит к появлению и распространению большого количества микроорганизмов, устойчивых к лекарственным препаратам с комбинированными механизмами лекарственной устойчивости. К таким механизмам относят транспозоны и плазмиды, которые являются «островами резистентности» к антибактериальным препаратам. Одной из наиболее частых причин резистентности считается способность бактерий к продукции пенициллинсвязывающих белков и различных вариантов β -лактамаз – ферментов и, как следствие, наличие мишени и последующее разрушение химиотерапевтических препаратов, содержащих в своей структуре β -лактамное кольцо. Кроме этого, для некоторых классов современных антибиотиков достаточно хорошо изучена способность микроорганизмов активно выводить антибиотик из клетки – эффлюкс. Подробно описаны механизмы инактивации связей β -лактамного кольца (ферментативного разрушения или модификации), снижение проницаемости внешних структур микробной клетки, а также блокирование этапа метаболизма для биосинтеза белка-мишени с формированием обходного пути («шунт») и т.д.

В то же время, широкое применение ПЦР и внедрение в клиническую практику методов определения генетической предрасположенности микроорганизмов к антибиотикам (ОАО "Литех", ОАО НПФ "Генлаб" и др.)

позволило бы применять их при подборе адекватного и эффективного антибактериального лечения. Однако, достаточной базы данных о генетических маркерах резистентности возбудителей пародонтита и сопутствующей микробиоты в практических лечебно-профилактических учреждениях стоматологии нет, что затрудняет проведение обоснованного рационального выбора необходимых препаратов.

Цель работы

Обосновать рациональное применение антибактериальной химиотерапии с учётом выявления генетических маркеров антибиотикорезистентности на основании мониторинга данных фенотипических и генотипических методов исследования на различных схемах пародонтологического лечения.

Задачи исследования

1. Провести сравнительный анализ фенотипических и генотипических маркеров резистентности приоритетных видов микроорганизмов, выделенных из биотопа пародонтального кармана, для формирования математической базы данных усреднённого резистома для популяции Московского региона Российской Федерации.
2. Оценить исходный пародонтологический статус пациентов до назначения антибактериальной химиотерапии в комплексном лечении данного контингента пациентов и выделить приоритетные виды микроорганизмов, присутствующих в биотопе пародонтального кармана.
3. Мониторировать показатели частоты выявления резистентности к бета-лактамам антибиотикам и тетрациклинам в процессе пародонтологического лечения пациентов с использованием схем системной антибактериальной терапии первого выбора (амоксциллин/клавуланат) и альтернативной (доксциклин).
4. Оценить эффективность использования различных схем пародонтологического лечения с использованием системной антибактериальной терапии и без антибактериальной терапии (только

профессиональная гигиена с процедурой полировки корней зубов и орошением хлоргексидином).

5. Установить частоту выявления штаммов микробиоты, резистентных к использованным антибиотикам в отдаленные сроки (1 год) после проведенного лечения соответствующими фармакологическими препаратами.

Научная новизна

Впервые автором получены новые данные по сравнительным результатам мониторинга устойчивости резидентных и пародонтопатогенных видов микроорганизмов (микробиоты) полости рта к антибиотикам, включая используемые в настоящей работе для лечения пациентов (амоксциллин/клавуланат натрия; доксициклин, форма «Солютаб»).

Впервые, по данным диско-диффузионного и молекулярно-генетического методов исследования, выявлены группы генов, кодирующих резистентность патогенных представителей микробиоты полости рта к антибиотикам *in vitro*.

Впервые уточнены механизмы возникновения резистентности микробиоты полости рта при хроническом генерализованном пародонтите к антибактериальным препаратам (плазмидные или хромосомные) и на основании данных молекулярно-генетического метода исследования (ПЦР) усовершенствованы показания для проведения диагностики лекарственной устойчивости у этих пациентов.

Теоретическая и практическая значимость работы

Усовершенствованы показания к применению антибактериальных препаратов при пародонтите в фазу обострения, ремиссию и послеоперационный период на основании данных о механизмах резистентности и патогенезе микробиоценоза полости рта с помощью ПЦР.

На основании молекулярно-биологических исследований, включающих оценку генома резистентности к антибактериальным препаратам, разработаны

и предложены алгоритмы для выявления этиологической причины пародонтита.

Актуализированы и систематизированы данные по чувствительности пародонтопатогенных бактерий к антибактериальным препаратам, в том числе и резидентных, определена встречаемость антибиотикорезистентных штаммов пародонтопатогенных бактерий, выделенных при пародонтитах и, создана математическая база данных усреднённого резистома.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту

1. Математическая база данных усреднённого резистома для популяции Московского региона Российской Федерации характеризуется относительно высоким уровнем резистентности патогенной микробиоты полости рта по генетическим маркерам CTX-M, blaDHA, Erm и более низким по TetM и TetQ, характеризующим устойчивость к различным классам антимикробных препаратов.
2. Амоксициллин/клавуланат натрия и доксициклин имеют преимущества в терапии обострений хронического пародонтита, воздействуя на разные механизмы развития микробных популяций, включая варианты устойчивых представителей пародонтопатогенной микробиоты полости рта.
3. Комплексное лечение пациентов с хроническим пародонтитом должно включать сочетание мероприятий профессиональной гигиены полости рта, полировки корней зубов с применением курсов системной антибактериальной терапии препаратами выбора – амоксициллин/клавуланат натрия или доксициклин/соллютаб.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования внедрены в практическую работу врачей-стоматологов в стоматологической поликлинике № 48 г. Москвы Департамента здравоохранения РФ.

Результаты исследования применяются в образовательном процессе со студентами и ординаторами кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии, отражены 2-х учебных пособиях: 1) Лабораторный практикум по микробиологии полости рта с формируемыми компетенциями. – Ч.2. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия / Царев В.Н., Давыдова М.М., Николаева Е.Н., Ипполитов Е.В., Арутюнян А.А. и др. – М.: МГМСУ, 2018. – 76 с.; 2) Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия / Царев В.Н., Николаева Е.Н., Ипполитов Е.В., Арутюнян А.А. и др. – М.: Практическая медицина, 2022. – 80 с.

Личный вклад автора в исследование

Автором самостоятельно проведен детальный анализ современной специальной отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме и сформулирована основная идея работы. Освоены методики микробиологического и молекулярно-биологического исследования, необходимые для её реализации. Лично проведены взятие материала от больных для лабораторных исследований, лабораторное обследование и пародонтологическое лечение большинства больных с пародонтитом (80 %), а также самостоятельно проведен анализ и статистическая обработка данных, составлен текст научной работы, включая рекомендации.

Апробация работы

Результаты исследования доложены на IV Национальном конгрессе бактериологов и международном симпозиуме «Микроорганизмы и биосфера «MICROBIOS-2018», г. Омск, 12-13 сентября 2018; научно-практической конференции с международным участием, посвященной 75-й годовщине Победы советского народа в Великой Отечественной войне, г. Москва, 2020; Международном научном университетском форуме «International University Science Forum (Canada, Toronto), May 27, 2020; VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации», 26.11.2021г.; на 1 Международном Конгрессе по медицинской микробиологии и

инфектологии, Москва, 2023; на совместном заседании сотрудников кафедр микробиологии, вирусологии, иммунологии; пропедевтики стоматологических заболеваний стоматологического факультета; лаборатории молекулярно-биологических исследований Научно-исследовательского медико-стоматологического института (НИМСИ) ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова, и кафедры терапевтической стоматологии стоматологического факультета ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова МЗ РФ 17.01.2023.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 13 печатных работ, в том числе 6 публикаций – в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России.

В изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России:

1. Плахтий, Л.Я. Структура микробных ассоциаций при осложнениях дентальной имплантации и выбор антибиотика с учетом резистентности выделенных штаммов / Л.Я. Плахтий, Е.И. Гатиева, Т.В. Царева, А.Ч. Цховребов, С.Т. Ильясова, А.А. Арутюнян // Эндодонтия Today. – 2019. – Т. 17, № 1. – С. 21-25.
2. Цициашвили, А.М. Динамика микробиоценоза при хирургическом лечении пациентов с использованием дентальных имплантатов в условиях ограниченного объема костной ткани / А.М. Цициашвили, А.М. Панин, Е.Н. Николаева, А.А. Арутюнян, М.С. Подпорин, В.Н. Царев // Стоматология для всех. – 2019. – № 4 (89). – С. 52-58.
3. Ипполитов, Е.В. Клинико-иммунологический мониторинг содержания цитокинов десневой жидкости у пациентов с периимплантитом при фотодинамической терапии / Е.В. Ипполитов, С.Т. Ильясова, Г.Д. Ахмедов, А.А. Арутюнян, В.Н. Царев // Медицинский алфавит. – Стоматология. – 2020. – № 12. – С. 15-18.

4. Ушаков, Р.В. Комбинированная антимикробная химиотерапия (фторхинолоны и имидазолы) в комплексном лечении воспалительных заболеваний пародонта / Р.В. Ушаков, Н.Н. Нуруев, Т.В. Ушакова, В.М. Карпова, А.А. Арутюнян, А.А. Лабазанов, В.Н. Царев // Клиническая стоматология. – 2021. – № 1 (97). – С. 60-65.
5. Царев, В.Н. Параметрическая оценка активности лактоферрина в эксперименте и при клиническом применении / В.Н. Царев, М.С. Подпорин, Е.Р. Садчикова, Ю.А. Трефилова, А.А. Арутюнян, А.В. Ежова, И.Л. Гольдман // Стоматология для всех. – 2021. – №4 (97) – С. 59-65.
6. Арутюнян, А.А. Распространенность устойчивости к антибиотикам среди штаммов бактерий, выделенных при хроническом пародонтите и у здоровых людей / А.А. Арутюнян, Т.В. Царева, Е.В. Ипполитов, М.А. Саркисян, А.Г. Пономарева // Российская стоматология – 2023. – Т. 16, №1 – С. 19-23.

В других изданиях, включая международные:

7. Арутюнян, А.А., Обоснование антибактериальной химиотерапии в пародонтологии на основании оценки антибиотикорезистентности по данным разных методов исследования / А.А. Арутюнян, Е.В. Ипполитов, М.А. Саркисян, Т.В. Царева, А.Г. Пономарева, Л.К. Есян // Bulletin of stomatology maxillofacial surgery. – 2023. – Vol.19, №1. – С. 170-176.
8. Арутюнян, А.А., Проблема антибиотикорезистентности в стоматологии (пародонтологии) на современном этапе (Обзор литературы) / А.А. Арутюнян, М.А. Саркисян, А.Г. Пономарева, Л.К. Есян // Bulletin of Stomatology and Maxillofacial Surgery. – 2023. – Vol.19, №1. – С. 177-183.
9. Царев, В.Н. Генетические аспекты антибиотикорезистентности биопленко-формирующих штаммов клинических изолятов патогенов / В.Н. Царев, Е.В. Ипполитов, А.А. Арутюнян, А.А. Лабазанов // Материалы IV Национального конгресса бактериологов и

международного симпозиума «Микроорганизмы и биосфера «MICROBIOS-2018» г. Омск 12-13 сентября. – 2018. – С. 76.

10. Ippolitov, E.V. Comparative monitoring of gingival fluid cytokines in patients with periimplantitis during with antibacterial and photodynamic therapy / E.V. Ippolitov, S.T. Iliasova, A.A. Arutyunian, G.D. Ahmedov, V.N. Tsarev // Science. Education. Practice: materials of the International University Science Forum (Canada, Toronto), May 27. – 2020. – P. 128-136 – Infinity Publishing. S67 ISBN 978-5-905695-36-0
11. Арутюнян, А.А. Обоснование рациональной химиотерапии в пародонтологии на основании результатов изучения молекулярных маркеров антибиотикорезистентности. В сб.: Материалы межвузовской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 75-й годовщине Победы советского народа в Великой Отечественной войне. – 2020. – С. 107-112.
12. Царев, В.Н. Клиническая эффективность антимикробного пептида лактоферрина при местном применении в виде геля для пародонтологического лечения / В.Н. Царев, М.С. Подпорин, Ю.А. Трефилова, А.А. Арутюнян, Е.В. Ипполитов // Сб. материалов VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной Году науки и технологий. Орехово-Зуево. – 2021. – С. 255-257.
13. Мунгалов, В.Г. Определение генетических маркеров резистентности к антибиотикам у анаэробных возбудителей одонтогенных инфекций / В.Г. Мунгалов, А.А. Арутюнян, Т.В. Царева, Е.В. Ипполитов // Материалы Первого Международного Конгресса по медицинской микробиологии и инфектологии, Москва. – 2023. – С. 16-18.

Объем и структура диссертации

Работа построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, двух глав собственных исследований (лабораторно-экспериментальной и клинико-лабораторной), заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Работа изложена на 167 страницах машинописного компьютерного текста, Times New Roman 14. Диссертация иллюстрирована 29 таблицами, 34 рисунками и фотографиями. Проанализировано 283 источника литературы, в том числе 118 отечественных и 165 зарубежных авторов.

Диссертационное исследование выполнено в соответствии с научноотраслевыми программами: 30.04 «Вопросы хирургической стоматологии и обезболивания» и 11.01 «Медицинская микробиология». Регистрационный номер темы НИР — АААА-А17-117091840021-2

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

ЭТИОТРОПНАЯ ТЕРАПИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ПАРОДОНТИТА. ПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ ГИГИЕНА И АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ ХИМИОТЕРАПИЯ КАК БАЗОВЫЕ КОМПОНЕНТЫ КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ

1.1. История вопроса и новые пародонтологические подходы

К концу XX века с использованием микроскопической техники высокого разрешения, включая иммунофлюоресцентную и сканирующую электронную микроскопию, было убедительно показано, что воспаление пародонта инициируется специфической, преимущественно анаэробной, микробиотой, которая не только стойко колонизирует над- и поддесневую биоплёнку, но и является причиной рецидивов заболевания [46, 110, 129, 194, 208, 221, 222, 253, 259]. В этих работах отражена роль бактерий, так называемых пародонтопатогенных видов, как ведущих факторов этиологии и патогенеза пародонтита.

В обзорах ведущих отечественных специалистов-микробиологов с начала 2000-х гг. приводятся многочисленные доказательства этого положения [60, 61, 62, 75, 102, 104, 223]. В частности, описываются факты передачи пародонтопатогенных бактерий *P. gingivalis* и *A. actinomycetemcomitans* от человека к человеку как типичных инфекционных агентов, но ещё и обладающих способностью к внутриклеточному паразитизму и персистенции в десневом эпителии, в том числе, в период ремиссии [61, 62]. В последующем способность к внутриклеточной инвазии была доказана и для других пародонтопатогенных видов, а разделение на пародонтопатогены I и II порядка, принятое на I съезде пародонтологов России в 2006 г., определяется сочетанием трёх основных факторов – контагиозности, внутриклеточного паразитизма и токсигенности. Соответственно, к пародонтопатогенам I порядка были отнесены представители видов, имеющих полный набор этих факторов: *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia* и *P. gingivalis* [10, 13, 92, 93, 101].

Инициация воспалительно-деструктивных процессов под действием экзотоксинов и ферментов агрессии пародонтопатогенных бактерий играет важную роль в патогенезе воспалительно-деструктивных изменений в пародонте и резорбции альвеолярной костной ткани [23, 24, 221].

Преобладание анаэробных представителей микробиоты *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *P. intermedia* и *F. nucleatum*, *P. micra* различается в зависимости от клинической выраженности воспалительных и деструктивных процессов, резорбции костной ткани, степени прогрессирования [61, 62, 280]. По данным исследований профессора Е.Н. Николаевой с соавт. (2008, 2011) частота пародонтопатогенов I порядка выше при начальных стадиях развития хронического генерализованного пародонтита. При тяжелой степени поражения пародонта более широко представлены пародонтопатогены II порядка и стрептококково-энтерококковые ассоциации, поддерживающие гнойное воспаление [60, 61, 62].

Для ХГП тяжелой степени, характерно наличие пародонтопатогенов *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *P. intermedia*, причём в ассоциациях с другими менее вирулентными пародонтопатогенными видами, а также представителями *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, грибами рода *Candida* [37, 61, 62, 99, 102, 187, 260, 262]. Это подтверждают литературные данные о выделении представителей I порядка или «красного комплекса» при тяжелой степени – до 67,5%, в то время как при средней степени показатели достоверно выше – до 75% [22, 32, 87, 280]. По данным количественной ПЦР, при пародонтите тяжелой степени резко возрастает не только частота выявления, но и количественное содержание в ПК *P. gingivalis* и *T. forsythia* [14, 190].

Профессор О.О. Янушевич с соавторами (2015) при исследовании *A. actinomycetemcomitans* и ассоциации с другими пародонтопатогенами по данным количественной ПЦР отмечает взаимосвязь со степенью прогрессирования пародонтита и обращает внимание на значимую роль *T. denticola* и её ассоциации с *P. gingivalis*, и в меньшей степени с *T. forsythia* [115].

Таким образом, при лёгкой и средней степени ХГП выявляется более специфичная пародонтопатогенная микробиота, определяющая этиологию процесса, хотя в тоже время имеются и иные литературные данные. Однако этим не исчерпывается роль пародонтопатогенной микробиоты в инфекционно-воспалительной патологии челюстно-лицевой области. Анаэробные бактерии, такие как *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. denticola*, *F. nucleatum*, *W. recta*, *P. nigrescens*, *P. micra* и *E. nodatum* вызывают не только заболевания пародонта, но также и одонтогенные абсцессы и инфекции у онкологических и гематологических пациентов, включая абсцессы головного мозга. Некоторые виды этих бактерий выделяются из мокроты в отделениях ОРИТ при аспирационной пневмонии [1, 89, 94, 95, 202].

С самого начала изучения вопроса было обращено внимание на то, что важным патогенетическим фактором развития патологии пародонта является формирование микробной биопленки, которая колонизируется перечисленными пародонтопатогенными видами [194, 222, 259]. Для предотвращения образования биоплёнки должны быть нарушены ранние стадии её формирования, а именно адгезия планктонных клеток и образование микроколоний [36, 37, 39, 136, 194, 221].

Изменение процесса прикрепления бактерий к биотическим поверхностям сопровождается нарушением структурной целостности биопленки с последующим высвобождением бактерий, которые в этот период чувствительны к антибактериальным воздействиям. К этим способам относят ингибирование процессов адгезии, деструкцию матрикса или механическое удаление биоплёнки, что уже является непосредственной компетенцией стоматологов – пародонтологов. Последнее явилось основанием для дискуссии в научных кругах на рубеже XX-XXI веков по вопросу о соотношении методов профессиональной гигиены и системной антибактериальной химиотерапии в комплексном пародонтологическом лечении. Пусковым моментом стали публикации ряда известных авторов в ведущем журнале *Journal of Clinical Periodontology*. «Никогда прежде ни один журнал не принимал столько участия

в работе нашей группы», - писал главный редактор издания, - «как это сделано в статье N.J. Lopez с соавт. (2006) [208]; хотя мы согласны с замечанием А. Mombelli в его гостевой передовице (2006), что данная статья бросает вызов некоторым парадигмам современной клинической пародонтологии, тем не менее, нужно сделать несколько дополнительных замечаний, касающихся технических и философских аспектов проблемы» [220]. Большинство американских и европейских исследователей утверждали, что развивающиеся страны не имеют финансовых и гуманитарных ресурсов для обеспечения традиционной терапией в виде качественной профессиональной гигиены с использованием Пьезона, пескоструйной техники, шлифования корней зубов root planing (SRP) и, наконец, выполнения пародонтологических реконструктивных операций. Это способствовало тому, что антибиотики оставались единственно доступным терапевтическим средством, то есть являлись более дешевой и потому неизбежной альтернативой [157, 165, 219].

Данная дискуссия продолжается и по сей день с некоторым «перевесом» в ту или иную сторону, что на самом деле связано с тем, что никакая профессиональная гигиена в настоящее время не может «убрать» внутриклеточно расположенных эндосимбионтов с одной стороны, а антибиотики без высококвалифицированной пародонтологической помощи не могут обеспечить полноценный лечебный эффект из-за сохраняющейся структуры микробной биоплёнки [35, 69, 107, 108, 109, 110].

Соответственно, антибактериальная терапия наряду с профессиональной гигиеной была введена, как важный компонент комплексного лечения заболеваний пародонта, также и в отечественный стандарт лечения [50, 90, 91, 116, 117, 118]. Сохраняет свою актуальность и практическое значение вопрос об обоснованном выборе лекарственных средств антимикробного действия, а также их эффективности в отношении эрадикации локальной микробиоты пародонтального кармана при данной патологии [8, 9, 46, 64, 74, 75, 206, 281]. Для устранения обострения воспалительного процесса, особенно при агрессивном течении ХГП, необходимым является использование

антибиотиков системного действия для уничтожения патогенной микрофлоры [64, 90, 91, 165, 219].

Многие вопросы лечения и профилактики ХП остаются до конца нерешенной проблемой, нет четких указаний по применению противомикробных средств в терапии хронического пародонтита, в том числе и при других ситуациях, возникающих в процессе реконструктивного или ортопедического лечения [7, 27, 33, 55, 63, 75, 230].

Так, необходимость комплексной профилактики развития воспалительных заболеваний пародонта у пациентов, проходящих ортодонтическое лечение, отмечает Ю.И. Юсупова (2018) [112]. Очевидно, что динамика клинических параметров и состояния поддесневой микробиоты могут подвергаться регрессу под действием профессионального удаления наддесневой биопленки, что объясняет наблюдаемые результаты [58, 64, 143, 149].

Однако, возвращаясь к вопросу, поднятому А. Mombelli в 2006 г. в статье «Лечение антибиотиками – ересь или реальность?» (*Journal of Clinical Periodontology*), сегодня можно считать, что антибиотики, как единственное терапевтическое средство для лечения пародонтита, — это действительно ересь [220]. Но, с другой стороны, без антибиотиков или их аналогов добиться стойкого успеха и отсутствия рецидивов заболевания также нельзя. Именно с позиций современной клинической микробиологии это выглядит слишком наивно и непрофессионально [18, 19, 25, 90, 91].

На самом деле, ещё в первых исследованиях по системно назначаемым антибиотикам в качестве единственного терапевтического средства N.J. Lopez с соавт. (2006) протестировали сочетание механического и антибиотического лечения, противопоставив его механическому лечению, как единственному средству лечения [208]. Следует обратить внимание на то, что полировка над- и поддесневых областей, которое выполняется до назначения пациентам антибиотиков, является на самом деле пародонтологическим вмешательством. И, в настоящее время, дискуссия уже продолжается в рамках единства двух

методов лечения, необходимости их сочетания. Их категорически нельзя рассматривать как альтернативные методы. Безусловно, важен эффективный контроль состояния пародонта, так как всё больше фактов указывает на то, что пародонтит негативно сказывается на системном здоровье пациентов [29, 67, 68, 77, 209, 247].

Таким образом, экономический и социальный факторы в аспекте доступности высококвалифицированной пародонтологической помощи играют немаловажную роль и определяют более широкое использование антибиотиков в развивающихся странах в качестве единственной альтернативы, которая, естественно, не может полностью заменить существующие приёмы высокотехнологичной профессиональной гигиены и порождает проблемы, связанные с развитием антибиотикорезистентности. Отсутствие достаточно глубоких фундаментальных исследований в этой области препятствует совершенствованию этиотропного и патогенетического лечения ХП. Проблема усугубляется не только способностью микробиоты полости рта формировать биопленки, что приводит к повышению устойчивости к лекарственным препаратам и факторам иммунной системы инфицируемого хозяина, но и появлением за последние десятилетия штаммов пародонтопатогенных микроорганизмов, генетически устойчивых к антимикробным препаратам.

1.2. Пародонтит как очаг хронической инфекции с системным действием

В настоящее время воспалительные заболевания пародонтального комплекса рассматриваются как хроническая рецидивирующая патология, влияющая на весь организм в целом. По мнению многих авторов считается, что пародонтит является важным фактором риска развития сердечно-сосудистой патологии. Вместе с тем, вопрос о причинно-следственной взаимосвязи этой коморбидной патологии и заболеваний пародонта до конца не изучен [27, 29, 41, 45, 241].

Профессор А.И. Грудянов с соавт. (2015), опираясь на огромный собственный опыт и данные Ассоциации пародонтологии России, отмечает существование взаимосвязи воспалительных заболеваний пародонта и сердечно-сосудистой патологии [23]. Такую же точку зрения поддерживают в своих публикациях президент ассоциации, профессор Л.Ю. Орехова и главный внештатный стоматолог Минздрава РФ, академик РАН О.О. Янушевич [65, 117]. Взаимоотношения между болезнями пародонта и ССЗ – это, безусловно, вопрос взаимосвязи и взаимообусловленности этих заболеваний на уровне глубоких биохимических, иммунологических, патофизиологических процессов, определяющих индивидуальные особенности их течения у каждого конкретного больного [2, 23, 75, 85, 118].

При этом исследователи находят всё больше подтверждений значения пародонтопатогенных бактерий I и II порядка в развитии атеросклероза и сопряжённой сердечно-сосудистой патологии [3, 94, 97]. Так, М.П. Пименова (2012, 2014) в своих исследованиях на базе лаборатории молекулярно-биологических исследований НИМСИ МГМСУ им. А.И. Евдокимова, подтвердила результаты некоторых зарубежных авторов по обнаружению ДНК пародонтопатогенных микроорганизмов, таких как *P. gingivalis*, *P. intermedia* и *T. forsythia* в атеросклеротических бляшках, что указывает на возможность проникновения в сосуды данных возбудителей из полости рта [67, 68].

В последующих исследованиях, выполненных на той же базе Е.Н. Николаевой и М.В. Витович (М.В. Кузнецовой) (2019-2023) при многоплановом исследовании пациентов с аортокоронарным шунтированием при остром инфаркте миокарда в ГНЦ сердечно-сосудистой хирургии им. Бакулева не только обнаружили ДНК, но также выделили чистые культуры пародонтопатогенных возбудителей [3, 47, 94], используя способ моделирования микробных биоплёнок, разработанный Е.В. Ипполитовым с соавт. (2017) [66]. Оказалось, что выраженность патологии пародонта у больных острым инфарктом миокарда умеренно коррелирует с наличием пародонтопатогенных видов *T. forsythia*, *P. gingivalis* и *T. denticola*.

Пародонтит на фоне соматических патологий протекает тяжелее и сам может рассматриваться как процесс, усугубляющий течение сердечно-сосудистой патологии, и, возможно, предрасполагающий к возникновению сосудистых осложнений [2, 42]. Тяжесть течения пародонтита у пациентов с ИБС, особенно при развитии таких осложнений как острый инфаркт миокарда или инсульт, выше. Тесная функциональная связь между пораженными органами обуславливает взаимоотношающее течение сочетанной патологии [41, 45, 67, 94, 111].

Рядом исследователей показаны взаимосвязи пародонтита, гигиенического статуса зубов, клинических признаков поражения пародонта, степени тяжести процесса с наличием ИБС. Очевидно, что хронический генерализованный пародонтит и ишемическая болезнь сердца имеют морфофункциональные взаимосвязи [28, 81].

Ревматоидные полиартриты, эндокардиты, нефриты, гепатиты обусловлены наличием в организме хронических очагов инфекции полости рта [12, 77, 82, 92, 133, 158, 169, 174, 188]. Описаны хронические системные заболевания, сопровождающиеся воспалительной патологией пародонта [106]. Соматические болезни, такие как сахарный диабет (СД), болезни органов пищеварения, системный остеопороз, заболевания дыхательных путей, в свою очередь, вносят существенный вклад в этиопатогенез болезней пародонта [11, 12, 85, 134, 277].

По мнению профессора Л.М. Цепова степень тяжести ХП у лиц с соматической патологией зависит от таких параметров как, возраст пациента, длительность и тяжесть течения самого соматического заболевания и обусловлена нарушением метаболических и иммунных процессов, что ускоряет реализацию действия имеющихся пародонтопатогенных факторов [106].

Таким образом, системные эффекты, вызываемые пародонтопатогенной микробиотой, доказательства внутриклеточного паразитизма, причём не только в десневом эпителии, но и в макрофагах, эндотелии кровеносных сосудов, возможности персистенции и диссеминации по сосудистому руслу позволяют

по-новому подойти к проблеме системной антимикробной терапии таких пациентов и актуализировать её необходимость.

1.3. Системная антибактериальная терапия пародонтита и её микробиологические последствия

Использование системных антибиотиков для уничтожения патогенной микрофлоры, особенно в группах пациентов с отягощенным соматическим анамнезом или при агрессивном течении пародонтита, необходимо для снятия обострения воспалительного процесса в тканях пародонта и достижения ремиссии [5, 13, 14, 15, 16, 64].

По мнению профессора В.Н. Царева, при правильном назначении схем антимикробной терапии, которые должны учитывать возможность действия химиопрепаратов на биопленки и внутриклеточно локализованные формы бактерий, возможна полная эрадикация ключевых пародонтопатогенных видов [92, 98]. Детальный анализ возможностей антимикробной терапии с учётом классов антимикробных препаратов, особенностей их антимикробного и иммуностропного действия представлен в монографии академика РАН Н.Д. Ющука, И.П. Балмасовой и В.Н. Царева (2013) [113]. Однако, следует учитывать, что разные классы антибиотиков имеют существенные различия по эффективности действия и перспективам применения из-за разных механизмов развития антибиотикорезистентности [83, 84, 86, 88, 90, 91, 123, 204, 213].

Тем не менее, ранее отмечалось, что лекарственные формы системного действия следует назначать вместо профессиональной гигиены [179, 263]. В настоящее время многие авторы утверждают, что профессиональная гигиена — это необходимый метод в комплексном лечении пародонтитов, однако, не исключающий, а дополняющий системную антибактериальную терапию [13, 14, 15, 16], хотя имеется и альтернативная точка зрения [125].

Особый упор в современных схемах терапии до последнего времени делали на комбинированное применение метронидазола и амоксициллина, особенно при запущенных формах хронического и агрессивного пародонтита

[138, 177, 275,]. Приводимые доказательства указывают на преимущества системного назначения антибиотиков с учетом индивидуальности пациента. Галабуева А.И. (2005) в своей кандидатской диссертации, отмечает высокую чувствительность парадонтопатогенной микрофлоры пародантального кармана больных к макролидам, линкозаминам, цефалоспорином при использовании их местно, наряду с проведением профессиональной гигиены [16]. Наибольшей эффективностью в отношении часто встречающихся возбудителей хронических пародонтитов обладают амоксициллин/клавуланат и моксифлоксацин [22, 37, 140, 178, 218].

В течение последних 20 лет основной группой фармпрепаратов, показанных для лечения хронического пародонтита были представители β -лактамных антибиотиков, прежде всего амоксициллин и амоксициллин/клавулановая кислота, которые входили практически во все зарубежные и отечественные схемы консервативного лечения. Однако в последнее время их эффективность заметно снизилась из-за распространения генетических механизмов устойчивости к ним. Многочисленные классы ферментов бета-лактамаз - ведущий механизм развития резистентности микрофлоры к этим антибиотикам [71, 86, 99, 101].

Учитывая противонаэробную активность производных имидазола, многие исследователи рекомендовали также сочетание метронидазола, орнидазола и тинидазола с β -лактамными антибиотиками – пенициллинами и цефалоспорином, включая создание комбинированных лекарственных форм [13, 14, 15, 16, 90, 91, 117, 165, 177, 208, 209, 275].

В ряде исследований комбинация амоксициллина и метронидазола была проанализирована, так как обычно она используется для лечения пародонтита с участием *A. actinomycetemcomitans*, и было показано, что эта комбинация достаточно эффективна при лечении ассоциированных с *A. actinomycetemcomitans* заболеваний пародонта [264, 275]. Синергетическое взаимодействие, при котором амоксициллин усиливает метронидазол в отношении *A. actinomycetemcomitans* было зарегистрировано, однако,

существуют опасения, что штаммы *A. actinomycetemcomitans* довольно быстро развивают устойчивость как к метронидазолу, так и амоксициллину. МПК 12,0 мг / л, полученная в этом исследовании для соотношения амоксициллина и метронидазола 1:1, соответствует ранее опубликованным данным об уменьшении глубины ПК и эффективной эрадикации пародонтопатогенных бактерий. Значения МПК для метронидазола составляли от 64 мг/л до 40 мг/л [127, 128, 239, 249, 282].

Вторая по частоте использования при пародонтите после β -лактамов антибиотиков — это группа тетрациклинов. Данная группа в консервативной терапии применяется с конца прошлого века, она продемонстрировала широкий спектр активности на пародонтопатогены, сопутствующую микробиоту и способность ингибирования эндогенных ферментов, играющих роль в патогенезе резорбции альвеолярной кости и разрушении тканей пародонта в целом. Антибиотики этой группы показали высокую эффективность при клиническом применении, но в начале 21 века уступили место β -лактамам антибиотикам, как менее токсичным и биодоступным препаратам [90, 91]. Так, при сравнительной оценке чувствительности основных возбудителей инфекционных процессов при хроническом пародонтите наиболее эффективным препаратом до последнего времени считался амоксициллин/клавуланат [22, 90, 91].

В литературе описан ряд эмпирических протоколов для системной антибактериальной терапии агрессивных форм пародонтита. Эти протоколы в основном основаны на применении доксициклина [126] или комбинации амоксициллина и метронидазола [275]. Менее клинически обоснованные протоколы включают амоксициллин [242], клиндамицин или метронидазол [251] в виде монотерапии. Следует подчеркнуть, что в настоящее время не существует общепринятых протоколов для лечения *A. actinomycetemcomitans* - ассоциированного пародонтита [225].

Высокая биодоступность доксициклина в полости рта, превышающая в 7-20 раз другие антибиотики, и выраженное антимикробное действие препарата в

отношении бактерий *A. actinomycetemcomitans* обуславливает его широкое применение при хроническом пародонтите. Противовоспалительные свойства доксициклина в сочетании с антиколлагеназным действием, ингибирование процессов костной резорбции дополняют перечень преимуществ этого препарата именно при ХГП [14, 212, 278]. Однако, свойства микробиоты полости рта образовывать биопленки на поверхности зубов вызывают необходимость дополнительной подготовки полости рта с использованием определенных антибиотиков [37].

С некоторыми трудностями и сопротивлением со стороны контролирующих органов вошли в практику применения при хроническом пародонтите фторхинолоны. С одной стороны, благодаря медленной выработке механизмов резистентности, благоприятному фармакокинетическому профилю и хорошей биодоступности при пероральном приеме они заняли определённое место в качестве препаратов выбора в лечении не только многих инфекционных заболеваний, пневмоний, но и пародонтита. С другой стороны, применение ципрофлоксацина, левофлоксацина и моксифлоксацина – основных представителей этой группы на отечественном фармрынке ограничивается некоторыми нежелательными побочными явлениями, такими как дисбиоз нарушение формирования костной ткани, что не даёт возможность применять их у детей и подростков [37, 43, 48, 54, 90, 91, 92, 114].

В контексте политики охраны здоровья для развивающихся стран, Lopez N.J. с соавт. (2006) правы, когда упоминают, что существует необходимость найти недорогие средства контроля пародонтальной инфекции там, где доступ к высокопрофессиональному подходу ограничен. Упор на антибиотики, тем не менее, может в реальности переключить внимание населения на самолечение и профилактические процедуры [208].

Классическим примером может служить туберкулез, который несмотря на то, что эта инфекция вызывается бациллами, является также результатом недостатка гигиены и асоциальных условий жизни [173]. Не следует забывать о

том, что, несмотря на широкое распространение и доступность антибиотиков, нам все еще приходится вспоминать о туберкулезе.

Что касается микробиоты в ротовой полости у жителей развивающихся стран, было показано, что ее состав сложен и включает даже необычные микроорганизмы [152, 155, 255]. Одним из возможных объяснений этих фактов является неограниченное применение антибиотиков в этих странах.

Самое важное то, что появление мультирезистентных бактериальных штаммов является угрожающей жизни проблемой в медицинских учреждениях во всем мире. В развивающихся странах эта проблема может оказаться гораздо более серьезной из-за финансовых ограничений. Последствия подхода, ориентирующегося на определенное население и фокусирующегося на системном назначении антибиотиков для лечения хронического пародонтита, могут на самом деле стать фактором еще более тяжелых форм прогрессирующего заболевания. С другой стороны, если мы работаем над улучшением таких социальных факторов, как доходы, образование, жилищные условия, диета, безработица и условия труда, мы можем оказывать влияние на пародонтит и ряд связанных с ним системных заболеваний [12, 139, 223]. Такой подход не будет оказывать обратного влияния на население, не будет приводить к возникновению резистентности микробиоты и будет иметь позитивный эффект в отношении здоровья в целом и качества жизни.

1.4. Клиническое значение исследования микробиома и резистома пародонта

Представители орального микробиома могут вызывать полимикробные заболевания, оппортунистические инфекции полости рта и даже внеротовые инфекции. Основным патологическим процессом зубочелюстной системы, по мнению ведущих отечественных и зарубежных исследователей, следует признать генерализованный пародонтит.

В настоящее время повсеместное распространение антибиотикорезистентности стало основной проблемой патологии, как общей

инфекционной, так и в современной стоматологии. Так, в списке антибиотикорезистентных возбудителей, составленном и опубликованном в феврале 2017 года Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ), отмечены двенадцать основных видов бактерий, распространение которых вызывает особые опасения, так как они устойчивы ко многим антибиотикам, включая последние поколения препаратов (поли- и панрезистентность). Они относятся к таксонам *Acinetobacter spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Enterobacteriaceae spp.*, альфа-зеленящих *Streptococcus spp.*, коагулазопозитивных *Staphylococcus spp.*, представителей класса *Bacteroidetes* и *Clostridium spp.* Что касается двух последних таксономических групп, то они являются облигатно-анаэробными, причём отмечается, что исследование резистентности анаэробной микробиоты, в том числе пародонтопатогенной, находится в начальной фазе [8, 9, 10, 12, 32, 33, 92].

Устойчивость микробов к химиопрепаратам может реализовываться через механизмы накопления изменений в генах хромосом, плазмид, транспозонов, в результате рекомбинативной, реже – мутационной изменчивости. Результатом является изменение спектра и активности ферментов и клеточных структур. Кроме того, важную роль играет и бесконтрольное применение антибиотиков в разных сферах, что, в свою очередь, как известно, приводит к селекции новых резистентных штаммов [25, 30, 54, 86, 120].

Антимикробная резистентность, обусловленная бета-лактамазами, является основным фактором снижения эффективности применения бета-лактамных антибиотиков и распространения устойчивых штаммов [96]. Так, Кузьмина А.В. (2018) выявляет медицинские ошибки при применении бета-лактамных антибиотиков [49], которые приводят к развитию резистентности микробиома патогенных микроорганизмов в полости рта.

Применение антибиотиков во всех областях медицины иногда не обосновано, что привело к увеличению антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов и возникла проблема нерационального применения антибиотиков в пародонтологии [15, 83, 196]. В частности, исследователи

констатируют наличие механизмов множественной устойчивости бактерий к антибиотикам. Множественная лекарственная резистентность, ассоциированная, в том числе, и с микробными биоплёнками, имеет тенденцию к неуклонному росту.

Следовательно, разработка методов и альтернативных средств борьбы с микроорганизмами, образующими биопленки, в настоящее время является актуальной медицинской задачей, решение которой может помочь в разработке программ лечения антибиотиками [35, 136].

При изучении генов резистентности пародонтопатогенной микробиоты за последние годы установлен ряд важных фактов. Так, новый метод определения генов устойчивости к карбапенемам, используя мультиплексную ПЦР, предлагает Д.С. Тихомиров [84]. Молекулярно-генетический мониторинг резистентности микроорганизмов к антибиотикам представляет В.Б. Туркутюков [86].

За последние десятилетия накоплено достаточно данных о генетических механизмах кодирования резистентности, в том числе и у пародонтопатогенных микробов. Например, гены *sfxA1* и *sfxA2* были изолированы от очагов инфекции полости рта, а также от других анаэробных пародонтопатогенных микроорганизмов, выделенных из инфекционных очагов [186, 261]. Эти гены несут ответственность за устойчивость к пенициллинам и цефалоспорином.

Гены, кодирующие тетрациклин-резистентность – *tet (B, M, Q)* выявлены у *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* и *T. forsythia* [37, 79, 96].

Установлено, что *Capnocytophaga spp.*, выделенные из пародонтальных карманов являются носителями генов, кодирующих синтез бета-лактамаз *sfxA* и др. [180]. Экспрессия генов *sfxA* может быть связана с географическим положением, определяющим происхождение соответствующих ферментов [172].

Гены *sfxA2* и *sfxA3* были обнаружены у анаэробных бактерий, изолированных от пациентов из Франции, Великобритании, Норвегии, Аргентины и Соединенных Штатов Америки [180, 214], тогда как *sfxA6* были

обнаружены только у анаэробных бактерий, выделенные от пациентов в Аргентине [166]. В этом исследовании *Prevotella spp.* и другие близкородственные бактериоиды несут ген *sfxA* в 43% и 75%, соответственно.

С каждым годом совершенствуется ПЦР–диагностика и другие молекулярно-генетические методики, что создаёт возможности для полноценной диагностики и выбора полноценного лечения. Как известно, ПЦР-диагностика позволяет в более короткие сроки, с меньшими трудозатратами и с большей точностью определить наличие генетического материала трудно культивируемых анаэробных возбудителей хронических пародонтитов [22, 80].

Таким образом, при хроническом пародонтите возможно получить не только молекулярно-генетическую характеристику видового состава микробиоты слюны и десневых карманов, но и генетический спектр антимикробной резистентности, и, соответственно, разработать обоснованные и эффективные варианты лечения.

Важным механизмом, способствующим распространению резистентности в популяциях, являются микробные биопленки, которые способствуют горизонтальной передаче генов резистентности между различными видами микроорганизмов, входящими в ассоциации, особенно при воздействии антибиотиков [254].

Известно, что в североамериканской, французской и норвежской популяциях [172], присутствовали гены *sfxA* у *Pseudomonas aeruginosa*, и, видимо, распространились и на бактерии полости рта, включая бактериоиды, в том числе на *Prevotella spp.* и *Carnocytophaga spp.* [162, 171, 180]. Наличие этих генов, ответственных за резистентность к пенициллинам и цефалоспорином, вызывает беспокойство, потому что это легко может распространиться на высоковирулентные патогены.

Кроме того, вид *Carnocytophaga*, выделенный из пародонтального кармана, обладал бета-лактамазами расширенного спектра действия, охватывающего все поколения цефалоспоринов, включая 3-4 поколение [167, 180]. Гены *sfxA* и *sfxA2* были изолированы от анаэробных бактерий из очагов

инфекции полости рта, а также от этиологически значимых микроорганизмов [186].

Повышенное наличие образцов с тетрациклин-устойчивыми пародонтопатогенными микроорганизмами объяснимо с точки зрения того, что было широко распространено применение тетрациклина на рубеже двух столетий в той или иной стране. Так, уже в начале века van Winkelhoff A.J. с соавт. (2005) сообщает о повышении устойчивости штаммов к тетрациклину у пациентов в Испании, где данная схема была ведущей, в отличие от Голландии и др. стран Европы [263].

Пародонтопатогены II порядка могут вызывать также и экстраоральные инфекции, которые требуют лечения антибиотиками. Например, представитель *Capnocytophaga*, выделенный у больных лейкозом и нейтропенией, содержал ген *sfxA3*, кодирующий синтез бета-лактамаз [215, 216]. Ген *sfxA*, определяющий резистентность *Prevotella spp.*, был обнаружен у пациентов с периодонтальными кистами [250, 261].

Наличие этих генов резистентности в составе микробиома полости рта объясняется тем, что комменсалы или резиденты будут служить резервуарами устойчивости к антибиотикам [274].

У штаммов-продуцентов бета-лактамаз проводили популяционные исследования *sfxA2* генов. У *Prevotella spp.* было установлено преобладание гена *sfxA* в Северной Америке, *sfxA2* во Франции [214] и обоих генов - в Соединенном Королевстве Великобритании [186]. Горизонтальный перенос генов мог бы объяснить распространение близкородственных последовательностей генов при пародонтитах [167]. Хотя ген *sfxA3* по данным ряда авторов вначале был найден в основном у *Capnocytophaga spp.* [216], в дальнейшем он был обнаружен у превотелл и бактероидов [180]. Интересно, что хотя ген *sfxA6* и был изначально обнаружен у превотелл, далее он оказался у основного пародонтопатогенного вида *Porphyromonas spp.* Ранее об этом не сообщалось. В последнем исследовании микробиота биотопа пародонтального кармана у 75% больных несла два вида генов устойчивости, и только 50,6% из

них несли гены *sfxA*. Однако, как показали исследования последних лет, пародонтопатогенные бактерии быстро приспосабливаются к генетическому переносу в процессе рекомбинативной изменчивости [139].

Метагеномный анализ показал, что бактерии полости рта играют важную роль в горизонтальном переносе генов резистентности, и это повышает их шансы на выживаемость, увеличивает вирулентность, изменяет метаболизм и характер лекарственной устойчивости [95, 96, 206]. Как плазмидный, так и хромосомный перенос устойчивости к антибиотикам установлен от резидентных до пародонтопатогенных бактерий, о чём уже сообщалось рядом исследователей [279]. Эти бактерии, могут внести существенный вклад в формирование устойчивости к антибиотикам, механизм действия которой связан с блокадой синтеза пептидогликана [207]. Ген *sfxA* содержат *Bacteroides spp.*, что предполагает наличие этого молекулярного маркера в биоплёнке, что и было выявлено с помощью более надежных методов разведения в бульоне в 53 % и 59 % для амоксициллина и пенициллина, соответственно [248].

Серьёзная ситуация может быть связана с прогрессирующим распространением гена *Bla*. Это предполагает, что могут быть и другие гены, ответственные за выработку бета-лактамаз расширенного спектра. В проведённых исследованиях изучены *sfxA*, *Bla* и *TEM* гены, потому что именно эти гены характеризовали резистентность оральной микробиоты. Другие гены, такие как *SerA/CblA*, встречаются редко [172]. Об этом явлении сообщалось также и в других исследованиях [274, 279].

Возможно, что при продукции в небольших количествах эти ферменты могут внести свой вклад в устойчивость к антибиотикам или играть физиологическую роль в метаболизме пептидогликана [207]. Это показано для гена *sfxA*, который содержат *Bacteroides spp.*

Таким образом, при оценке культивируемой микробиоты полости рта у пациентов с хроническим пародонтитом, достаточно часто определяют гены *sfxA2*, *sfxA3* и *sfxA*, ответственные за устойчивость к пенициллинам и

цефалоспорином. Ген *sfxA6* был найден у основных пародонтопатогенов - *Prevotella* и *Porphyromonas spp.*, что имеет эпидемиологические последствия, учитывая способность этих бактерий к передаче от человека к человеку. Установлено, что 56 % изолятов, несущих гены *sfxA*, одновременно имели резистентность и к другим классам антибиотиков [139]. Поэтому, закономерен вопрос о распространении мультирезистентности не только у пародонтопатогенов, но и представителей стабилизирующей микробиоты – стрептококков, лактобацилл, нейссерий [4, 12, 37, 40, 48].

В настоящее время нет достаточной базы данных о генетических маркерах резистентности возбудителей пародонтита и сопутствующей резидентной микробиоты в практических лечебно-профилактических учреждениях стоматологического профиля. Статистически обоснованная информация о сопоставлении данных фенотипического и генотипического определения устойчивости так же отсутствует, что затрудняет проведение обоснованного рационального выбора необходимых антибактериальных препаратов. Надо учитывать, что микроорганизмы, обитающие в окружающей среде, несут в себе огромное количество разнообразных генов антибиотикорезистентности, и необходимо создание молекулярно-генетического мониторинга резистентности микроорганизмов к антибиотикам [15, 86].

1.5. Проблема антибиотикорезистентности и современные подходы к тактике антимикробной терапии хронического пародонтита

Антибиотикорезистентность в настоящее время представляет собой весьма актуальную проблему, но в стоматологии она изучена мало и недостаточно. Увеличение количества антибиотикорезистентных штаммов поставило перед врачами, в том числе и стоматологами, актуальную задачу разработки новых способов лечения антибиотиками с учетом генетических основ патогенеза. Необходимость изучения генетических аспектов этой

проблемы, вопросов предрасположенности к тем или иным вариантам развития патологии пародонта отмечалась в литературе неоднократно [48, 70, 89, 90, 91].

В современных исследованиях широко обсуждается вопрос о более широком использовании новейших методов генотипического определения резистентности, поскольку традиционный диско-диффузионный метод не позволяет судить о механизмах генетического кодирования устойчивости [185, 191, 211].

Рост числа инфекций, вызываемых резистентными к антибиотикам микроорганизмами, приводит к необходимости проведения генетических исследований этих процессов, что требует серьёзных фундаментальных исследований в этой области в стоматологии.

Для повышения эффекта антибактериального воздействия антибиотиков на микробные биоплёнки Т.С. Ильиной и Ю.М. Романовой (2021) предложено использование ферментов [35].

Технологии профессиональной гигиены и root planning дают значимый клинический эффект, однако необходимость использования антимикробной химиотерапии может повысить эффективность лечения у лиц с быстро прогрессирующим пародонтитом [252].

Антимикробная терапия, обычно назначаемая системно, предлагает несколько преимуществ в обработке очагов инфекции при заболевании пародонта. Она может действовать не только против патогенов, которые вторглись в мягкие ткани, но также может ингибировать микроорганизмы в других местах, которые относительно недоступны и находятся, например, в глубоких, узких пародонтальных карманах или вообще расположены внутриклеточно.

Поэтому ограничиться только местной антимикробной терапией недостаточно и необходимо системное введение антибактериальных средств. Установлено, что эрадикация пародонтопатогенов существенно снижает возможность реколонизации пародонтальных карманов представителями этих видов [217, 232, 265].

Данные о чувствительности к фторхинолонам у основных штаммов пародонтопатогенов представлены системно в работе Е.В. Ипполитова (2009) [38]. Он продемонстрировал высокую клиническую эффективность гемифлоксацина и моксифлоксацина при хроническом генерализованном пародонтите легкой и средней степеней тяжести воспалительного процесса в тканях пародонта.

С использованием оригинальных ПЦР тест-систем выявлены разнообразные генетические детерминанты, обуславливающие формирование устойчивости к бета-лактамным антибиотикам исследуемых грамотрицательных микроорганизмов. Выявление большого количества представителей пародонтопатогенной флоры, как фактора риска развития осложнений, методом ПЦР в реальном времени, дает возможность принять решение о включении антибактериальных препаратов в индивидуальный план лечения [32].

В патогенезе воспалительных заболеваний полости рта биопленка, обеспечивающая недоступность к действию антибиотиков, играет важную роль в патогенезе и развитии заболевания. Способы ее устранения мало изучены [69]. Средств, обеспечивающих полное и окончательное удаление биопленки из полости рта, не существует, как считает автор. Однако с помощью гигиены полости рта можно достичь нарушения целостности структуры биопленки и восстановить состав нормальной микрофлоры [69].

Способность к образованию биопленок, имеет важное значение для бактерии. Отсутствие возможности закрепиться и начать рост в виде биопленки приводит к быстрому очищению с помощью текучих сред ротовой полости и других противомикробных средств [224].

При воздействии антибиотиков, биопленки способствуют горизонтальной передаче генов резистентности между различными видами микроорганизмов. Защита бактерий от факторов иммунной системы и уменьшение проницаемости антибиотиков и других противомикробных средств, путем образования биопленок, осложняет лечение пародонтита [104, 109].

Также при пародонтите наблюдается рассредоточение планктонных бактериальных клеток в отдаленные участки, которые могут помочь реинфекции, её диссеминации и генерализации патологического процесса [37, 102, 225].

Современные методы комплексного лечения воспалительных заболеваний пародонта подразумевают различные методы механического удаления биопленок в рамках профессиональной гигиены [14, 72, 231], а также местное применение антисептиков [210].

Клинические изоляты *A. actinomycetemcomitans* известны по их способности образовывать чрезвычайно плотные, хорошо прикреплённые биопленки *in vitro* и, очевидно, в пародонтальном кармане тоже [225]. Воспалительный иммунный ответ хозяина в этих случаях не очень эффективен и даже, убивая бактерии внутри биопленки, может привести к повреждению окружающих тканей за счёт постоянного высвобождения различных медиаторов воспаления.

Установлено, что клиническая эффективность противомикробных средств в полости рта во многом зависит от их способности проникать или разрушать биоплёнки, в частности формируемые *A. actinomycetemcomitans*. Как известно, определение чувствительности микробных культур к пероральным противомикробным препаратам проводят на планктонных бактериальных суспензиях *in vitro*, однако, результаты этого метода плохо предсказуемы в плане прогноза клинической эффективности [225].

Совсем недавно исследователи предложили использовать биопленочные культуры при тестировании пероральных противомикробных препаратов для выявления повышенной устойчивости к антимикробным агентам [37, 258].

Цели подобных исследований *in vitro* заключались в оценке эффективности разных препаратов, в частности доксициклина, в сравнении с комбинацией амоксициллина с метронидазолом в отношении *A. actinomycetemcomitans* JP2 в моделях биопленки по сравнению с планктонным ростом. В этом исследовании *in vitro* два обычно назначаемых антибиотика в

соответствии с протоколом были проверены на их эффективность против *A. actinomycetemcomitans* JP2 в статической 96-луночной планшетке с формированием биопленочной фазы [258].

Было предложено, что *A. actinomycetemcomitans* можно сгруппировать в три основных филогенетических линии: штаммы серотипа b, штаммы серотипа c и штаммы серотипа a, d, e и f. Распределение *A. actinomycetemcomitans* на серотипы, по-видимому, связано с географическим положением и этнической принадлежностью [181, 192].

Разные серотипы имеют различную вирулентность, и в следующих исследованиях было показано, что клон JP2 штамма серотипа b имеет повышенную вирулентность. Этот клон характеризуется 530 п.н. делецией в области оперона/промотора гена лейкотоксина, который дает значительно повышенную продукцию лейкотоксина. Клон JP2 приписывается потомкам населения Северной Африки, но также распространен у пациентов из других географических мест [182]. Было показано, что *A. actinomycetemcomitans* JP2 определяет инициацию воспаления тканей пародонта, потерю прикрепления, и эрадикация штамма JP2 обеспечивает лучшие результаты лечения пародонта [137, 153].

Даже высокие МПК таких препаратов как, амоксициллин / метронидазол в соотношении 1:1, которые составили более 20 мг / л и которые вряд ли будут достижимы клинически, не препятствовали образованию биоплёнок [141]. Следовательно, эффективность использования амоксициллина в отношении биопленок является сомнительной, что требует подбора других антибиотиков, способных проникать в биопленки.

Из исследованных антибиотиков, в этом направлении, доксициклин дал наилучшие результаты, подавляя как планктонные клетки, так и рост биопленки при относительно низких концентрациях. В частности, Eick S. с соавт. (2004) сообщили, что доксициклин подавлял планктонный рост *A. actinomycetemcomitans* в МПК от 2 мг/л [161], в то время как, R. Rajukanta с соавт. (1993) сообщали, что МПК доксициклина в диапазоне от 0,25 до 2,0 мг/л

с использованием агара эффективна в отношении различных клинических штаммов [227].

Rajukanta R. с соавт. (1993) продемонстрировали активность доксициклина 2,1 мг/л в отношении статических 24-часовых биопленок, полученных в этом исследовании, что является клинически достижимой концентрацией. Было показано, что доза доксициклина по стандарту GCF для того, чтобы достичь концентрацию до 10 мг/мл, должна составлять не менее 200 мг на пероральную дозу [227], но обычно сообщалось о концентрации 2,4 - 2,5 мг / л [203, 257]. При этом концентрация антибиотика представляет собой максимально возможную в пародонтальном кармане, которая является целью антибиотической активности. Эффективность использования доксициклина в сочетании с пародонтологическим лечением показана в ряде работ зарубежных авторов первого десятилетия 21 века [146, 212, 272].

Антибиотики не позволяют полностью устранить пародонтальные патогены из пародонтальных карманов [276]. Одной из причин неудач может быть появление устойчивости патогена в результате широкого и нерационального использования антибиотиков в медицине [15, 34, 59, 263, 270, 271, 272].

Резюме главы 1

Изучение генетических маркеров антибиотикорезистентности у определенных парадонтопатогенов следует считать крайне актуальной задачей, а также необходимо определить их дальнейшее практическое использование в стоматологии. В результате деструкции биопленки парадонтопатогенные бактерии становятся более доступными для антибиотиков, что является базовым моментом для одного из основных и перспективных методов борьбы с антибиотикорезистентностью микробиоты полости рта.

Как показывают данные анализа отечественной и зарубежной литературы, чувствительность к антимикробным препаратам у циркулирующих микробных ассоциаций, включая основные парадонтопатогенные виды,

представляет собой сложный многокомпонентный и динамичный процесс, она постоянно меняется, что требует подбора новых схем применения препаратов, нередко с учётом региональных и социальных особенностей. Очевидно, что клинические исследования должны проводиться для того, чтобы подтвердить эффективность терапии теми или иными классами антибиотиков. К сожалению, в Российской Федерации проведено недостаточно полноценных клинических исследований с использованием доксициклина при комплексном лечении пародонтита, несмотря на его широкое клиническое использование при различной другой патологии.

Учитывая, что в Российской Федерации зарегистрирована и используется новая, хорошо растворимая, лекарственная форма доксициклина «Солютаб» («Юнидокс Солютаб», НПФ «Astellas») с доказанными хорошими фармакологическими параметрами всасывания в желудочно-кишечном тракте и биодоступности, мы включили в нашу работу клинико-микробиологическую оценку этого препарата.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Характеристика клинических групп

В ходе проведенной научно-исследовательской работы за период с 2016 год по 2021 год было обследовано 123 пациента с воспалительными процессами в тканях пародонта, из которых нами было отобрано 90 человек для дальнейшего участия в исследовании (клиническая группа). Всем пациентам был поставлен диагноз – хронический пародонтит (K05.3), была отмечена средняя степень тяжести хронического пародонтита в фазе обострения (средний возраст пациентов, участвующих в исследовании – $42,5 \pm 9,5$ лет).

Для решения основной задачи - выявления распространённости генов резистентности, материал также забирали у 33 пациентов с пародонтитом в стадии ремиссии, которые обращались по поводу дентальной имплантации. Контрольную группу составляли 30 пациентов с интактным пародонтом, у которых тоже исследовали гены резистентности.

Клиническое обследование и лечение пациентов проводилось на базе клинического центра стоматологии ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова (Долгоруковская, д. 4) и в стоматологических отделениях ЛПУ г. Москвы (№ 48), частных кабинетах г. Москвы и Московской области, а микробиологическое – на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии и в лаборатории молекулярно-биологических исследований НИМСИ ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России.

Распределение пациентов клинической группы по полу и возрасту представлено в таблице 1.

Таблица 1 – Гендерная и возрастная разбивка по клинической группе

Всего	пол		возраст		
	мужчины	женщины	20-35	36-45	46-60
90	43	47	12	53	25

Прежде чем принять участие в исследовании, все пациенты были проинформированы о содержании и задачах исследования, от каждого из них было получено письменное информированное согласие. Протокол исследования был утвержден Межвузовским этическим комитетом г. Москвы.

Клиническое обследование пациентов определяло применение и характеристику следующих показателей: тенденция характера течения заболевания, оценка формы и тяжести, характеристика и детализированный разбор патогенетических предпосылок к развитию пародонтита (общие и местные факторы). Для решения сложных и нестандартных форм течения заболевания привлекались для консультации специалисты других специальностей.

В ходе сбора анамнеза устанавливалось с какого момента определялся начальный этап пародонтального заболевания, отмечает ли пациент присутствие связи воспалительного процесса в пародонте с наличием обострения какого-либо хронического заболевания, приемом лекарственных препаратов, с возникновением стрессовых ситуаций, а также учитывался факт наследственной отягощенности. Если пациент ранее проходил лечение, то выяснялся результат проведенных медицинских вмешательств, был ли он положительный, удовлетворительный или отрицательный. Оценивалась приверженность пациента к соблюдению рекомендаций врача (комплаентность).

Критерии включения, исключения и невключения в исследование.

Критерии включения для субъектов включали пациентов мужского и женского пола (43 и 47 человек соответственно) с числом присутствующих зубов (≥ 20 единиц), не включая третьи моляры и зубы с ортодонтическими приспособлениями, мостами, коронками или имплантатами. Основанием для включения пациентов в исследование был также ранее нелеченый хронический пародонтит, возраст от 20 до 60 лет и без каких-либо системных заболеваний (оценка производилась с помощью анкеты). Пародонтит средней степени тяжести определялся как величина потери прикрепления (индекс Clinical

Attachment Loss (CAL) – от 3 до 4 мм), подвижность зубов (I стадия, характеризующаяся смещением зубов в двух направлениях не более чем на 1 мм (вперед-назад и вправо-влево), кровоточивость десны при зондировании, резорбция костной ткани альвеолярного отростка на ½ длины. Так же, для подтверждения этиологической картины заболевания и дальнейшего мониторинга, использовались следующие показатели: гигиенический статус – «индекс гигиены полости рта ОНI-S» (J.C. Green, J.R. Vermillion, 1964), папиллярно-маргинально-альвеолярный – «Papillary-marginal-alveolar (PMA)» (C. Parma, 1960), индекс кровоточивости десен при зондировании – «Papilla Bleeding Index (PBI)» (Saxer, Muhlemann, 1975), индекс пародонтальный – «Periodontal index (PI)» (A.L. Russel, 1956), определение величины потери прикрепления (Clinical Attachment Loss – CAL), определение подвижности зубов (классификация Д.А. Энтина 1954). Состояние альвеолярной кости трактовалось с использованием методики ортопантомографии.

Критерии невключения для субъектов включали системные заболевания (сахарный диабет, рак, синдром иммунодефицита человека, метаболические заболевания костей или нарушения, затрудняющие заживление ран, лучевая или иммуносупрессивная терапия), беременность или период лактации, применение системных антибактериальных препаратов в течение предыдущих 2 месяцев и подтвержденная аллергическая реакция на антибактериальные препараты в анамнезе: амксициллин, тетрациклин, доксициклин. Так же в исследование не включались пациенты, системно принимающие нестероидные противовоспалительные препараты, и те, у которых проводилась пародонтальная терапия в течение предыдущего года.

После того, как исследование было объяснено, включая преимущества, риски и альтернативные методы лечения, пациенты подписали форму информированного согласия, в которой указывалось, что они согласны участвовать в исследовании.

Критерии исключения:

1. Лица, которые не смогли, не хотели совершить все необходимые визиты к врачу-стоматологу или отказались от дальнейшего сотрудничества в процессе проводимого исследования;
2. Лица, у которых в процессе проводимого лечения развились психогенные и психосоматические расстройства;
3. Лица, у которых в процессе проведения исследования выявлялись противопоказания к каким-либо видам обследования, при отсутствии таковых на этапе предварительного отбора;
4. Лица, у которых в процессе проведения исследования выявлялись беременность и период лактации, а также аллергическая реакция к используемым в ходе исследования антибактериальным препаратам;
5. Лица, у которых в процессе проводимого лечения общесоматическая патология перешла в стадию декомпенсации;
6. Лица, которые не соблюдали требования протокола исследования.

Двадцать семь пациентов, не соответствующих критериям включения, и шесть пациентов, не согласившихся участвовать, не были включены в исследование. Девяносто пациентов случайным образом были рандомизированы на три группы: основная - с ХП в стадии обострения (1), группа сравнения - с ХП в стадии ремиссии (2), контрольная - с интактным пародонтом (3). В каждой группе количество пациентов составило – 30 человек.

Во время базового визита все пациенты прошли полное стоматологическое обследование для получения первичной документации, включая историю болезни, стоматологический анамнез, полное пародонтологическое картирование, панорамные рентгенограммы и комплексный план лечения.

Проводился внешний осмотр кожи лица, красной каймы губ, пальпировались околоушные слюнные железы. При характеристике местного статуса в зубной формуле отражали: наличие кариеса зубов и его осложнений, некачественных пломб, нарушение межзубных контактных пунктов,

некариозные поражения зубов (клиновидные дефекты, эрозию, гипоплазию эмали), наличие травматических узлов, степень истирания эмалевых бугров, наличие и качество ортопедических конструкций, учитывали вид окклюзии, наличие трем, диастем, нарушение положения зубов в зубных рядах.

После проведения первоначальных (фоновых) клинических и микробиологических оценок и получения усреднённых показателей однородности групп сравнения были выбраны разные схемы пародонтологического лечения. Всем пациентам проводили профессиональную гигиену полости рта с удалением над- и поддесневых отложений, использованием ультразвукового аппарата Piezon Master 700 (EMS, Швейцария) и выполнением процедуры полировки корней зубов – Scaling and root planing (SRP). Процедуру профессиональной гигиены проводили под местной анестезией в течение приблизительно 1 часа. Процедура SRP проводилась с использованием пародонтальных скейлеров и пародонтальных кюрет, и подразумевала комплекс мероприятий, включающий удаление зубного налета и камня, а затем сглаживание или строгание (открытых) поверхностей корня, удаляя слой цемента или дентина, имеющий признаки наличия бактериальной биопленки – основного этиологического фактора, вызывающего воспаление.

Пациенты группы 1, включённые в дальнейшее этапное исследование в процессе лечения были распределены на 3 подгруппы по 30 человек : 1-получали системную антибактериальную терапию доксициклином, форма «Солютаб» (*Doxusycline*; фармгруппа (ФГ) – тетрациклины) по 400 мг в день в течение 14 дней внутрь, начиная с первого дня профессиональной гигиены); 2-получали системную антибактериальную терапию амоксициллина/клавуланатом натрия (*Amoxicillinum + Acidum clavulanicum*; фармгруппа (ФГ) – пенициллины в комбинациях) – 0,875/125 мг в день в течение 14 дней, начиная с первого дня профессиональной гигиены); 3-получала только профессиональную гигиену полости рта с процедурой полировки корней зубов SRP (контрольная группа), соответственно.

Кроме того, пациентам всех групп сравнения давали инструкцию полоскать рот два раза в день 0,12 % раствором хлоргексидина биглюконата (*chlorhexidine bigluconate*) в течение двух недель. Во время контрольных визитов для выполнения медицинского ухода никакого поддесневого вмешательства, кроме клинических измерений, пациентам не проводили.

Кратность исследований. Все виды клинических исследований, а также рентгенологические (ортопантомография) и лабораторные (микробиологические) исследования в соответствии с существующими рекомендациями проводили в начале исследования (фоновые показатели), затем через 3, 6 и 12 месяцев после проводимой терапии [118].

2.2. Методика клинического мониторинга

Для обследования пациентов использовали традиционные методы сбора анамнеза, внешнего и внутриротового осмотра, объективного клинического обследования пациентов (объективное пальпаторное и инструментальное обследование) с определением индексной оценки состояния зубов и тканей пародонта по стандартным критериям [50, 51].

В частности, определяли индекс гигиены, индекс РМА, пародонтальный индекс – PI, прикрепление десны (CAL), измеряемое посредством периодонтального зонда. У всех пациентов на всех зубах была также выполнена оценка присутствия или отсутствия видимых бляшек и кровотечений на зонде при обследовании 4-х патологических очагов из 4-х сектантов полости рта вокруг каждого зуба, за исключением третьих моляров (индекс кровоточивости РВІ). Для определения подвижности зубов использовался метод мануального определения подвижности зубов.

Характеристика и описание применяемых стоматологических индексов в исследовании:

1. Индекс Clinical Attachment Loss (CAL) – уровень клинического прикрепления десны. Определение данного показателя выражается в миллиметрах и подразумевает клиническое расстояние между нижней точкой

пародонтального кармана (дно пародонтального кармана) и приграничной линии по периметру зуба, где эмаль, покрывающая коронку, встречается с цементом корня и шейки зуба (цементно-эмалевая граница). Показатели измеряли с помощью пародонтологического зонда, при искусственном освещении, с занесением результатов в таблицу.

Интерпретация: легкая (до 3 мм), средняя (3–5 мм), тяжелая (6 и более мм);

2. Индекс гигиены полости рта – ОНI-S (J.C. Green, J.R. Vermillion, 1964). Данный индекс используется с целью обособленного разграничения количества мягкого и твердого зубного налета. Для правильного использования данного индекса обследуют 6 зубов: вестибулярная поверхность – 31, 26, 11, 16; язычные поверхности – 46, 36. Оценка проводилась с использованием красящих растворов (например, растворы Шиллера-Писарева, фуксина) (рисунок 1).

Интерпретация: зубной налет: 0 – не определяется, 1 - мягкий зубной налет определяется не более чем на 1/3 поверхности зуба, 2 - мягкий зубной налет определяется и покрывает более 1/3, но менее 2/3 поверхности зуба, 3 – мягкий зубной налет, покрывающий более 2/3 поверхности зуба; зубной камень: 0 – не определяется, 1 – наддесневой зубной камень определяется и покрывает не более 1/3 поверхности зуба, 2 – наддесневой зубной камень определяется и покрывает более 1/3, но менее 2/3 поверхности зуба. Возможно наличие отдельных отложений поддесневого зубного камня в пришеечной области зуба, 3 – наддесневой зубной камень определяется и покрывает более 2/3 поверхности зуба, или значительные отложения поддесневого камня вокруг пришеечной области зуба.

$$\text{OHИ-S} = \left(\frac{\sum \text{зн}}{n} \right) + \frac{\sum \text{зк}}{n}$$

где - сумма значений: зн – зубной налет; зк – зубной камень; n - количество зубов.

Интерпретация результатов: от 0 до 0,6 - хорошая гигиена полости рта; от 0,7 до 1,6 – удовлетворительная гигиена полости рта; от 1,7 до 2,5 –

неудовлетворительная гигиена полости рта; более 2,6 – плохая гигиена полости рта.

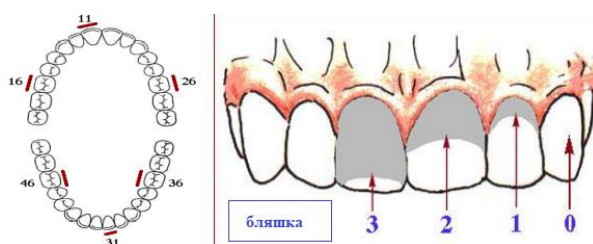


Рисунок 1 – Оценка индекса гигиены полости рта – ОНI-S (J.C. Green, J.R. Vermillion 1964)

3. Индекс папиллярно-маргинально-альвеолярный – РМА (С. Parma, 1960) – является одним из базовых индексов воспаления в тканях пародонта и регистрации динамичной тенденции протекания патологического процесса. Данный показатель может быть выражен как в абсолютных цифрах, так и в процентах. Оценивается состояние десны у каждого зуба (рисунок 2): Р (воспаление сосочка) – 1 балл, М (воспаление краевой десны) – 2 балла, А (воспаление альвеолярной десны) – 3 балла.

Интерпретация: до 30% - легкая степень гингивита, от 30% до 60% - средняя степень гингивита, более 60% - тяжелая степень гингивита.

$$РМА = \frac{\sum x \cdot 100}{3 \times n} \%$$

где \sum - сумма наивысших баллов у каждого зуба; n – число обследуемых зубов.

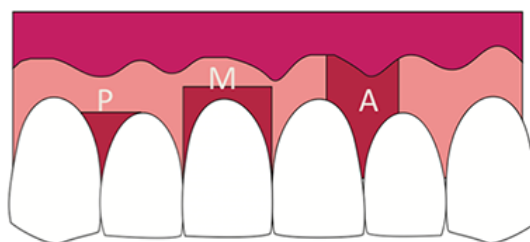


Рисунок 2 – Оценка РМА (С. Parma 1960)

4. Индекс кровоточивости десен при зондировании – РВИ (Saxer&Muhlemann, 1975) – возникновение кровоточивости определяли через 15–25 секунд после осторожного зондирования медиальной и дистальной поверхности десневого сосочка (рисунок 3). Зондирование осуществляется на язычной поверхности зубов первого и третьего квадрантов и на вестибулярной

поверхности зубов второго и четвертого квадрантов. Значение индекса определяют для каждого квадранта и затем выводят среднее значение для всего прикуса.

Интерпретация: 0 – кровоточивость отсутствует, 1 – (grade – Point) – появление отдельных точечных кровотечений, 2 – (grade – Line/Point) – наличие тонкой линии крови или нескольких точечных кровотечений (вид линейного кровотечения по маргинальному краю), 3 – (grade – Triangle) – заполнение кровью межзубного десневого треугольника, 4 – (grade – Drops) – сразу после зондирования отмечается сильная кровоточивость, капля крови закрывает часть поверхности зуба или десны.



Рисунок 3 – Оценка PBI (Saxer&Muhlemann 1975)

5. Индекс пародонтальный – PI (A.L. Russel, 1956) – применение данного индекса дает возможность охарактеризовать наличие гингивита и прочей симптоматики патологической картины пародонта. Методика определения подразумевает балльную оценку (от 0 до 8), характерную для каждого зуба, отражающую состояние тканей пародонта. Состояние тканей пародонта регистрировали возле каждого зуба (за исключением третьих моляров), присваивая наивысший балл. В сомнительных случаях проставлялся низший балл (рисунок 4).

Интерпретация: 0 – воспаление десны отсутствует, 1 – наличие легкой степени гингивита, воспаление не окружает весь зуб, 2 – гингивит, воспаление окружает весь зуб, однако повреждения эпителиального прикрепления нет, 6 – гингивит с образованием пародонтального кармана, жевательная функция зуба не нарушена, зуб устойчив, 8 – выраженная деструкция тканей пародонта, жевательная функция зуба нарушена, зуб легко подвижен, может быть смещен.

$$PI = \frac{\text{сумма оценок каждого зуба}}{n}$$

где n – число обследуемых зубов.

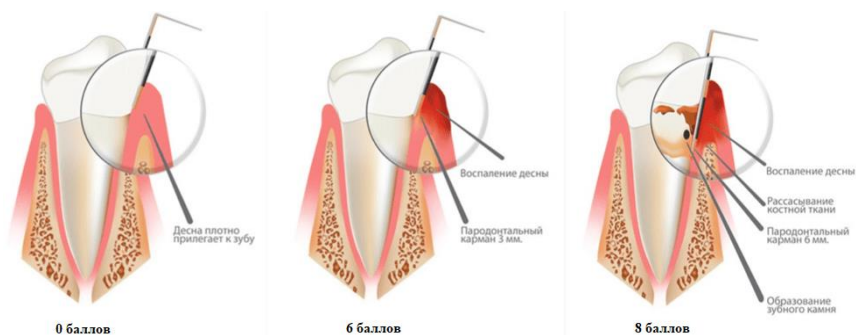


Рисунок – 4. Оценка PI (A.L. Russel, 1956)

2.3. Методика микробиологического мониторинга

2.3.1. Взятие исследуемого материала

С использованием современных методов выделения, культивирования и идентификации микроорганизмов в аэробных и анаэробных условиях [100] проводили исследование следующих видов материала:

1. Соскоб поддесневой биоплёнки из пародонтального кармана. Материал забирали с помощью стандартного стерильного тампона и переносили в пробирку транспортной системы Эймса с консервирующим буферным раствором для сохранения жизнеспособности микроорганизмов и их соотношения в исследуемом материале. Взятие патологического материала выполняли из области 4-х зубов по одному из 4-х сектантов ротовой полости и помещали в одну пробирку для получения усреднённых данных с помощью количественного посева по Мельникову-Царёву на 5 % кровяной гемин-агар и последующего культивирования в анаэробных условиях (бескислородная газовая смесь с содержанием 80 % азота, 10 % углекислого газа, 10 % водорода).

2. Экссудат пародонтального кармана. Материал забирали с помощью стандартного стерильного бумажного пина (эндодонтического абсорбера, стандарт №30) в пробирку типа Eppendorff, содержащую 0,5 мл стерильного изотонического раствора хлорида натрия. Взятие патологического материала выполняли из области 4-х зубов по одному из 4-х сектантов ротовой полости и

помещали в одну пробирку для получения усреднённых данных с помощью мультиплексной/шахматной ПЦР.

2.3.2. Определение количественных параметров оральной микробиоты путём традиционного культивирования

В каждой группе, для микробиологического мониторинга были выбраны четыре не прилегающие друг к другу пародонтальных кармана с глубиной PPD в диапазоне от 3 до 5 мм. У каждого пациента брались образцы отдельных поддесневых бляшек с 4 выбранных лож с использованием стерильных микрощёточек, в начале исследования, через 1 неделю, через 3, 6 и 12 месяцев после терапии. Посев проводили на 3 набора питательных сред, содержащих: 2% триптиказо-соевого агара (BBL, Becton Dickinson, Cockeysville, MD, USA), 5% бараньей крови (Fazenda Pig, Rio de Janeiro, RJ, Brazil), 1% дрожжевого экстракта (BBL), 5 мг/мл гемина (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA), 0,3 мг/мл менадиона K3 и 10 мг/мл азот-ацетилмурановой кислоты (Sigma), с добавлением 4 мг/мл тетрациклина HCl (Sigma) или без него. Образцы выдерживались в анаэробной атмосфере в течение 7–10 дней.

Колонии на средах, содержащих тетрациклин и без тетрациклина подвергались отдельному обсчету для определения процента устойчивых микроорганизмов в исследуемом образце с использованием автоматического подсчёта на аппарате Scan-500 (производство фирмы «Interscience»). Методика соответствовала отечественной программе СКАТ и Стандартам Клинической Лаборатории Национального Комитета (NCCLS) [71, 163]. Бактериальные колонии на пластинах, содержащих антибиотик, смывались 1 мл буферного раствора TE (10mM Tris-HCL, 1mM EDTA, pH 7,6). Эти суспензии помещались в отдельные пробирки Эппендорфа, обработанные ультразвуком в течение 10 секунд, и адаптированные по оптической плотности на значение 1,0 (10^9 клеток). Десять мл суспензии (10^7 клеток) извлекали и помещали в другую пробирку, содержащую 140 мл буферного раствора TE и 100 мл NaOH (0,5M).

2.3.3. Определение генетических маркеров пародонтопатогенных бактерий с помощью молекулярно-биологического метода шахматной ДНК-ДНК гибридизации

Бактериальные колонии, полученные на питательных средах, содержащих антибиотик, смывались 1 мл буферного раствора ТЕ (10mM Tris-HCL, 1mM EDTA, pH 7,6). Эти суспензии помещались в отдельные пробирки Эппендорфа, обработанные ультразвуком в течение 10 секунд, и адаптированные по оптической плотности на значение 1,0 (10^9 клеток). Десять мл суспензии (10^7 клеток) извлекали и помещали в другую пробирку, содержащую 140 мл буферного раствора ТЕ и 100 мл NaOH (0,5M). Присутствие 33 видов поддесневых микроорганизмов определяли методом шахматной гибридизации ДНК-ДНК [222, 253].

При тестировании клинических изолятов, для выявления устойчивых к тетрациклину штаммов в качестве референс штаммов оральной микробиоты в нашей работе мы использовали штаммы основных видов пародонтопатогенных бактерий I порядка: *A. actinomycetemcomitans* серотип b tox+ ATCC 29523, *P. gingivalis* ATCC 33277, *T. forsythensis* (*B. forsythus*) ATCC 43037.

Для выявления резистентности пародонтопатогенных бактерий II порядка нами были использованы штаммы следующих микроорганизмов: *P. intermedia* ATCC 25611, *P. nigrescens* ATCC 33563, *P. melaninogenica* ATCC 25845, *F. periodonticum* ATCC 33693, *F. nucleatum* ss. *nucleatum* ATCC 25586, *F. nucleatum* ss. *polymorphum* ATCC 10953, *F. nucleatum* ss. *vincentii* ATCC 49256, *A. israelii* ATCC 12102, *A. naeslundii* R ATCC 12104, *P. micra* ATCC 33270, *C. gingivalis* ATCC 33624, *C. rectus* ATCC 33238, *C. showae* ATCC 51146, *E. corrodens* ATCC 23834, *S. noxia* ATCC 43541 и *Streptococcus intermedius* ATCC 27335.

Для оценки устойчивости представителей условно-патогенных микроорганизмов были выбраны следующие штаммы: *A. actinomycetemcomitans* серотип a ATCC 43718, *A. naeslundii* S (*A. viscosus*) ATCC 43146, *A. odontolyticus* ATCC 17929, *A. gerencseriae* ATCC 23860, *G. morbillorum* ATCC 27824, *S. anginosus* ATCC 33397, *S. constellatus* ATCC 27823.

Кроме того, были использованы штаммы резидентных или стабилизирующих видов для оценки устойчивости у представителей нормобиоты полости рта: *S. sanguis* ATCC 10556, *S. oralis* ATCC 35037, *S. gordonii* ATCC 10558, *S. mitis* ATCC 49456, *L. buccalis* ATCC 14201, *N. mucosa* ATCC 19696 и *V. parvula* ATCC 10790.

Все образцы подвергались лизису и денатурации ДНК и размещались отдельными рядами на нейлоновой мембране (Boehringer Mannheim, Indianapolis, IN, USA) с помощью устройств шахматной жидкостной гибридизации (слот-блоттинга) (Minislot 30, Miniblotter 45, Immunetics, Cambridge, MA, USA).

Тридцать три пробы с полным геномом ДНК, помеченные дигоксигенином (Boehringer Mannheim), были подвергнуты гибридизации при температуре 90° по рядам образцов блюшек в мини-устройствах гибридизации. Брались сочетания проб для серотипов а и в *Actionobacillus actinomycetemcomitans*. После гибридизации мембраны очень тщательно промывались, и связанные пробы отмечались с помощью реакции антител, сопряженных с фосфатазой, на диоксигенин и хемилюминесценции (Boehringer Mannheim). Сигналы отмечались на рентгеновских пленках и оценивались визуально путем сравнения со стандартами в 10^5 и 10^6 бактериальных клеток для тестовой выборки микроорганизмов на той же самой мембране. Чувствительность этого исследования регулировалась таким образом, что она позволяла обнаружить 10^4 клеток данного вида микроорганизмов путем регулировки концентрации каждой пробы ДНК. Эта процедура выполнялась для того, чтобы обеспечить одинаковую чувствительность обнаружения для каждого вида микроорганизмов. Отсутствие какого-либо сигнала записывалось как ноль, хотя, возможно, сигналы в диапазонах от 1 до 1000 могли присутствовать.

Детекцию генетических маркеров ДНК основных видов пародонтопатогенных бактерий (I - II порядка) в экссудате пародонтального

кармана проводили традиционным методом мультиплексной ПЦР (НПФ «ГенЛаб», Россия).

2.3.4. Определение генетических маркеров резистентности к антибиотикам с помощью молекулярно-биологического метода

Для проведения данного исследования использовали традиционную постановку полимеразной цепной реакции в комплектации OneStep производства НПФ «Литех» (РФ) для обнаружения генетически обусловленной устойчивости микроорганизмов к антибиотикам. Взятие исследуемого материала и выделение ДНК проводили аналогично постановке ПЦР для выявления пародонтопатогенных бактерий. Осуществляли идентификацию генов хромосомных участков *Mec*, *VanA*, *VanB*, *CTX-M*, *blaDHA*, *Sx-m*, *Erm*, *Mef*, а также *Tet* и интегронов *Int*.

Анализируемые пробы помещали в прогретый термоциклер (амплификатор «Терцик МС-2» («ДНК-технология», РФ) и осуществляли амплификацию по стандартным программам термоциклера: 93°, пауза; 93°, 30 сек, 59°, 30 сек, 72°, 30 сек (35 циклов) на наличие генов — маркеров резистентности к цефалоспорином *CTX-M*, *blaDHA* или 94°, пауза; 94°, 1 мин 30 сек (1 цикл); 94°, 10 сек, 64°, 10 сек, 72°, 40 сек (40 циклов); 72°, 2 мин (1 цикл) — к цефалоспорином *Mec A*; ванкомицину и тейкопланину *Van A* и *Van B* [37].

2.3.5. Определение чувствительности к антибактериальным препаратам диско-диффузионным методом

Для определения чувствительного фенотипа было проведено исследование, с использованием стандартного протокола диско-диффузионного метода Кирби - Бауэра. Культуральная взвесь была разведена до концентрации 10⁸ КОЕ/мл в соответствии со стандартом мутности MacFarland, после чего проведен посев «газоном» на специальную среду (HiMedia Labs Ltd., Индия), дополненную 5% крови и стимуляторами роста (солянокислый гемин, менадион) для анаэробных бактерий пародонтопатогенной группы.

Стандартные диски с антибиотиками были нанесены с помощью автоматического диспенсера в пластиковые чашки Петри с указанной средой. Результаты были учтены после инкубации в термостате при 37°C в течение 24 часов (для анаэробов - в анаэростате до 7 суток), с помощью автоматического счетчика колоний Scan 500 (производство фирмы "Interscience") с компьютерной регистрацией данных для быстрого учета результатов и документирования полученных данных.

2.3.6. Биокультивирование микробных популяций

Характеристика приоритетных групп возбудителей

Этиологическим фактором развития пародонтита остается микробная инвазия с приоритетом преобладания пародонтопатогенной флоры. Для экспериментального исследований были выбраны следующие приоритетные штаммы:

- **Грамположительные бактерии**

1) Стрептококки. Приоритетный вид – *S. intermedius*. Это аэротолерантная анаэробная комменсальная бактерия, входящая в группу *Streptococcus anginosus*. Удвоение клеток происходит вдоль одной оси, что приводит к расположению в мазке в виде цепочек. Являются неспорообразующими и неподвижными представителями. Являясь системным патогеном, вызывает тяжелые инфекции человека, включая эндокардит, пневмонию и тканевые абсцессы. Он играет первостепенную роль в качестве инициатора биопленки, являясь ранним колонизатором поверхности дентальных имплантатов, особенно при заболеваниях, связанных с биопленкой, таких как пародонтит.

- **Грамотрицательные бактерии**

1) Фузобактерии. Приоритетный вид – *F. nucleatum*. Анаэробная культура, является грамотрицательным, неспорообразующим и обычно неподвижным видом, который принимает форму сужающегося стержня, и обладает уникальными метаболическими способностями. *F. nucleatum* играет

неотъемлемую и полезную роль в биопленках, которые способствуют как поддержанию здоровья тканей пародонта, так и развитию болезней. В биопленке зубного налета *F. nucleatum* выполняет структурно-поддерживающую функцию в качестве связующего организма, соединяя первичных колонизаторов (например, *Streptococcus spp.*) с анаэробными представителями вторичных колонизаторов, с которыми она также может связываться, включая *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* и *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Благодаря своей удлинённой форме *F. nucleatum* может взаимодействовать со многими другими микробными клетками. При совместном культивировании *S. sanguis* и *F. nucleatum*, представители рода стрептококка могут собираться в высокоупорядоченные кукурузоподобные структуры, в которых свыше десяти клеток *S. sanguis* могут быть привязаны к одной клетке *F. nucleatum*. Таким образом, форма длинного стержня *F. nucleatum* имеет решающее значение для облегчения структурных взаимоотношений, которые являются ключевыми для полимикробных биопленок и взаимодействий между микроорганизмами.

2) Превотеллы. Приоритетный вид – *P. intermedia*. Строгие анаэробные бактерии, не образующие спор. В ротовой полости данный вид чаще связан с хроническим пародонтитом, инфекциями пульпы, периодонтальными и пародонтальными абсцессами. Клинические изоляты *P. intermedia* способны к спонтанному продуцированию экзополисахаридов, а также благодаря данным компонентам образуют сетчатые структуры вокруг своих клеток даже в условиях планктонного роста, что способствует повышению вирулентных характеристик. *P. intermedia* часто выявляется при хроническом пародонтите, агрессивном пародонтите и при остром язвенно-некротическом гингивите. Более того, присутствие связки *F. nucleatum* и *P. intermedia* в поддесневой биопленке играет важную роль в коагрегации с другими пародонтальными бактериями при реколонизации во время развития зубных биопленок после их эрадикации.

Эксперимент проводили с использованием автоматического ферментативного культиватора (рисунок 5) – RTS (Biosan, Латвийская республика) с реализацией метода неинвазивной оценки оптической плотности (OD). Регистрация ключевых значений OD проводилась в соответствии с измерительной шкалой мутности по Мак-Фарланду.



Рисунок 5 – Запараллеленная система программируемых культиваторов автоматического типа «RTS-1» (Biosan, Латвия)

За основу разработанного дизайна проводимых экспериментов была положена модификация метода серийных разведений в жидкой питательной среде по Вилкинсу-Чалгрону (HiMedia, Индия). Для обеспечения процесса разнонаправленного анализа культивируемых микробных агентов, были использованы бактериальные взвеси моновидового и комбинированного типа (таблица 2).

Таблица 2 – Видовой состав моновидовой и комбинированной культуры

I	II	III
<i>Streptococcus sanguis</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
		<i>Prevotella intermedia</i>

Приготовление микробных взвесей исследуемых культур было выполнено с использованием коллекционных штаммов микроорганизмов из биоресурсной коллекции Научно-исследовательского медико-стоматологического института при МГМСУ им. А.И. Евдокимова с использованием стерильного физиологического раствора. Полученную взвесь фильтровали через стерильный ватно-марлевый фильтр и разводили стерильным физиологическим раствором до концентрации $\sim 2 \times 10^9$ клеток в 1 мл, соответствующей по мутности 20 единицам мутности отраслевого стандартного образца ОСО 42-28-84-11 (20 МЕ) или 6 единицам по стандарту Мак-Фарланда, определяемым с помощью денситометра (МУК 4.2.1890—04) [57]. Для эксперимента использовалось разведение рабочей взвеси до 0,5 единиц по стандарту Мак-Фарланда, что соответствовало $\sim 1 \times 10^8$ клеток в 1 мл. Поверочные измерения показателя оптической плотности проводили с использованием денситометра DEN-1B (рисунок 6) (Biosan, Латвийская республика).



Рисунок 6 – Аппаратное измерение показателя оптической плотности DEN-1B (Biosan, Латвия).

Применяемый экспериментальный анализ подразумевал исследование бактерицидной активности сыворотки крови. Данный анализ подразумевал обоснование состояния комплекса гуморальных факторов защиты организма и

при использовании антибактериальной терапии позволял провести мониторинг ее активности.

Взяты образцы венозной крови для дальнейшего получения сыворотки, у пациентов из первой группы (применение антибактериального препарата Doxusycline; фармгруппа – тетрациклины) и второй группы (применение препарата Amoxicillinum + Acidum clavulanicum; фармгруппа – пенициллины в комбинациях).

Взятие венозной крови осуществлялся на третий день приема препарата, натощак, в амбулаторных условиях, с соблюдением всех норм асептики. Пациентам перед проведением процедуры в доступной форме разъяснялся порядок проведения процедуры, а также перед забором крови, от пациента было получено информированное согласие на проведение данной манипуляции. В случае отказа пациента от данной процедуры, регистрировался факт отказа, и, повторно, случайным образом выбирался другой пациент из исследуемой группы.

Забор крови проводили в специализированные контейнеры производства VACUETTE® для сыворотки с гелем, 5 мл. (рисунок 7). Сразу после взятия пробы её несколько раз переворачивали для активного взаимодействия компонентов, время образования сгустка 30-60 минут. Используемый гель из олефинолигомера во время центрифугирования способствовал образованию устойчивого барьера между сывороткой и клеточными элементами. Пробирки доставляли в лабораторию в течение двух часов, где в результате центрифугирования отделяли плазму крови.



Рисунок 7 – Вакуумные пробирки для забора крови.

Дизайн эксперимента подразумевал последовательное добавление всех необходимых компонентов в центрифужные пробирки с мембранным фильтром для необходимости регуляции газового обмена. Использовались стерильные пробирки объемом 50 мл (ТТР, Швейцария). Дизайн экспериментального анализа подразумевал процесс культивирования в четырех параллелях (таблица 3):

Таблица 3 – Дизайн экспериментального анализа культивирования в четырех параллелях.

пробирка	Описание пробирки	Бульон (мл)	Взвесь (мл)	плазма (мл)	Σ объем (мл)
I	Отрицательный контроль (контроль стерильности бульона)	20	х	х	20
II	Положительный контроль (контроль развития культуры)	20	1	х	26
III	АМС (исследуемый образец при добавлении 1 мл плазмы)	20	1	1	22
IV	ДО (исследуемый образец при добавлении 1 мл плазмы)	20	1	1	22

Культивирование монокультуры проводилось по периодическому процессу, а при культивировании микробного консорциума в процессе эксперимента было добавлено дополнительное количество (5 мл) стерильного бульона, с целью восполнения его питательной активности и создания благоприятных условий для жизнедеятельности культуры в различных фазах культивирования.

Для подтверждения жизнеспособности культуры, а также корреляции оптической плотности с количественной характеристикой культивируемой комбинации, по ходу регистрации ключевых точек оптической плотности проводились высевы 1 мл взвеси на плотную питательную среду.

Настройки процесса автоматического культивирования:

Температурный порог: 37,2°C; вращение ротора: 1450 min⁻¹; частота регистрации значения OD: 2 ч⁻¹; реверс: 3 сек; объем субстрата в пробирке: 20-22 мл; длина волны: 850 нм. Продолжительность эксперимента – 48 часов.

2.4. Методика консервативного пародонтологического лечения

Выбранные для исследования пациенты, как уже отмечалось, были распределены на три группы, по 30 человек в каждой группе. После проведения первоначальных (фоновых) клинических и микробиологических оценок и получения усреднённых показателей однородности групп сравнения были выбраны разные схемы пародонтологического лечения. Всем пациентам проводили профессиональную гигиену полости рта с удалением над- и поддесневых отложений, использованием ультразвукового аппарата Пьезон-Мастера и выполнением процедуры полировки корней зубов – root planing (SRP). Процедуру профессиональной гигиены проводили под местной анестезией в течение приблизительно 1 часа. Пациенты групп 1 и 2 получали системную антибактериальную терапию доксициклином и амоксициллина/клавуланатом натрия соответственно.

Кроме того, пациентам всех групп сравнения давали инструкцию полоскать рот два раза в день 0,12 % раствором хлоргексидина биглюконата в течение двух недель. Во время контрольных визитов для выполнения медицинского ухода никакого поддесневого вмешательства, кроме клинических измерений, пациентам не проводили.

2.5. Статистический анализ

При статистической обработке полученных результатов использовались методы описательной статистики. Параметрические методики анализа не использовались, так как предварительный этап оценки показателей не подтвердил наличие нормального распределения данных (закон по Гауссу).

В исследовании были применены непараметрические методы анализа для количественных данных, такие как критерий Краскела-Уоллиса с

апостериорными сравнениями через критерий Данна с поправкой Холма и критерий Фридмана с апостериорными сравнениями через критерий Уилкоксона с поправкой Холма, когда различия были статистически значимы на уровне 5% ($p < 0,05$).

Нормальность распределения данных была проверена с использованием критерия Шапиро-Уилка (число объектов статистического анализа > 50) или с использованием критерия Колмогорова-Смирнова (число объектов статистического анализа < 50).

В случае отсутствия нормального распределения, количественные данные описывались медианой и нижним и верхним квартилями. Категориальные данные описывались через абсолютные значения и процентные доли. Критерий Краскела-Уоллиса использовался для сравнения трех и более групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, а апостериорные сравнения проводились через критерий Данна с поправкой Холма. Данный критерий дает возможность провести множественные сравнения так, чтобы вероятность хотя бы одного неверного заключения оставалась на первоначальном выбранном уровне значимости.

Критерий Краскела-Уоллиса вычислялся после ранжирования всех элементов анализируемых совокупностей по следующей формуле:

$$H = \frac{12}{n(n+1)} \sum_{i=1}^k \frac{R_i^2}{n_i} - 3(n+1)$$

где H – критерий Краскела-Уоллиса, n – общее число исследуемых, R_i – сумма рангов исследуемых, относящихся к определенной выборке, k – число сопоставляемых выборок.

В случае обнаружения статистически значимых различий между группами, дополнительно проводилось парное сравнение совокупностей при помощи апостериорного критерия Данна.

При сравнении трех и более зависимых совокупностей, распределение которых отличалось от нормального, использовался непараметрический

критерий Фридмана с апостериорными сравнениями с помощью критерия Уилкоксона с поправкой Холма.

Критерий Фридмана подразумевает собой непараметрический аналог дисперсионного анализа повторных измерений, связанных с одним и тем же индивидуумом. Результаты наблюдения у каждого больного в данном случае будут упорядочиваться.

Критерий Фридмана вычислялся по следующей формуле (для 3-х и более связанных выборок):

$$X_r^2 = \frac{12}{nk(k+1)} \sum_{i=1}^k R_i^2 - 3n(k+1)$$

где n – размер выборки, k – количество измерений, R_i – сумма рангов.

Для выравнивания кривой развития при методике экспериментального культивирования использовался метод наименьших квадратов регрессионного анализа, включающий построение параболы третьего порядка, с оценкой критерия F-распределения и коэффициента корреляции линейной связи между двумя переменными X и Y . Для нахождения наименьшего квадратного отклонения некоторых функций от искомым переменных применялся метод наименьших квадратов.

Тест χ^2 использовали для анализа индексных значений между группами, получавшими различное лечение, а также и внутри каждой группы. Абсолютные цифры и относительные значения (проценты), характерные для десневых биотопов вычисляли на исходном уровне, спустя 3, 6 и 12 месяцев после лечения и анализировались непараметрическим z-тестом.

Статистический анализ проводился с использованием программы StatTech v. 2.1.0 (разработчик - ООО "Статтех", Россия) – программа зарегистрирована Федеральной службой по интеллектуальной собственности, номер регистрации 2020615715, дата регистрации 29.05.2020; Microsoft Office 16.38 (Microsoft Corp.).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Оценка распространённости генетических маркеров резистентности у штаммов микробиоты полости рта, выделенных у стоматологических пациентов разного профиля

Оценку микробного состава полости рта осуществляли с использованием культурального и молекулярного исследования у всех обследованных пациентов, соответственно критериям включения/исключения, указанным в главе 2. При этом отбор клинических изолятов микробиоты осуществляли по 3 направлениям:

1- пациенты с хроническим генерализованным пародонтитом в стадии обострения (ХПО), обратившиеся к врачу-стоматологу для проведения соответствующего пародонтологического лечения (в свою очередь, эта группа в дальнейшем была подразделена на 3 клинически значимые подгруппы в зависимости от характера проводимого лечения и проведения углублённого мониторинга резистентности в динамике в процессе лечебных мероприятий) – 90 пациентов;

2- пациенты с хроническим генерализованным пародонтитом в стадии ремиссии (ХПР), обратившиеся к стоматологу для проведения дентальной имплантации – 33 пациента;

3- практически здоровые пациенты с интактным пародонтом, обратившиеся к стоматологу с профилактической целью – 30 человек.

После проведения предварительной идентификации штаммов, выделенных при культуральном исследовании, осуществляли молекулярно-генетическое исследование путём RT-PCR с использованием генетических праймеров для выявления соответствующих R-генов. В молекулярно-генетическое исследование были включены следующие идентифицированные в нашей лаборатории штаммы-клинические изоляты, соответственно перечисленным группам (таблица 4).

Таблица 4 – Количественная характеристика идентифицированных штаммов, выделенных от обследованных пациентов, соответственно основной группировке

№	Клинико-лабораторная группа	Количество штаммов, абс.	Относительное число, %
1	Хронический пародонтит, стадия обострения	40	25,0
2	Хронический пародонтит, стадия ремиссии	78	48,1
3	Практически здоровые пациенты	44	27,2
	Всего	162	100,0

Для оценки распространённости генетических маркеров резистентности в данных группах, проводили идентичное исследование на предмет обнаружения R-генов с учётом результатов определения чувствительности диско-диффузионным методом. Учитывая клинические задачи по выбору варианта антимикробной терапии, поставленные в нашей работе, мы использовали методику отбора штаммов, доминирующих по фенотипическим проявлениям устойчивости к следующим группам препаратов: бета-лактамам антибиотикам (ампициллин, амоксициллин/клавуланат), имидазолам (метронидазол), гликопептидам (ванкомицин) и тетрациклинам (доксциклин). Это позволило дополнительно разделить штаммы одного вида, различающиеся по фенотипическим проявлениям устойчивости, и затем проанализировать различия их индивидуальных генотипов (резистоста).

В качестве контролируемых генетических детерминант для оценки резистоста были использованы *Vla* DNA – к пенициллинам, CTX -M и *Mec A* – к цефалоспорином 1 и 2 типа, к *ErmB* и *Mef* – к макролидам, линкосамидам и стрептограминам, *Van A, B* – к гликопептидам, *Tet M, Q* – к тетрациклинам, включая INT – плазмиды интегринов.

Результаты исследования в группе пациентов с хроническим пародонтитом в стадии обострения, представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Результаты выявления генов резистентности к антибиотикам в группе пациентов с хроническим пародонтитом в стадии обострения (n=78)

Гены Штаммы	Bla DHA	CTX - M	VanA, B	ERM	Mef	Mec A	Tet M	TetQ	INT	N
<i>S. sanguis</i>	3	0	6	3	3	1	3	0	1	7
<i>S. sanguis</i> <i>R-A</i>	11	12	8	11	5	4	4	4	5	14
<i>S. sanguis</i> <i>R-A;Ac</i>	3	1	2	4	1	1	4	2	4	4
<i>Staphylococcus spp. R-A</i>	0	0	3	1	3	0	0	0	0	3
<i>Staph. spp.</i> <i>R-A,Ac</i>	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1
<i>P. intermedia</i>	1	0	0	2	2	0	2	1	2	6
<i>P. intermedia</i> <i>R-mt</i>	0	1	2	1	3	0	2	0	3	5
<i>P. intermedia</i> <i>R-A</i>	1	2	1	2	3	1	1	0	1	3
<i>P. oralis</i> <i>R-mt</i>	2	1	2	3	2	0	1	2	0	4
<i>P. gingivalis</i>	4	0	1	2	3	1	1	0	1	5
<i>P. gingivalis</i> <i>R-mt</i>	3	1	1	2	2	2	2	1	2	3
<i>P. gingiv/pre</i> <i>R-A</i>	3	2	0	2	3	1	2	1	3	3
<i>F.necroforum</i>	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
<i>F.nucleatum</i>	0	0	0	3	2	0	0	0	0	3
<i>F. alocis</i>	0	1	0	2	1	0	0	0	0	2
<i>Actinomyces</i> <i>spp.</i>	0	0	1	0	0	0	0	1	0	2
<i>Aggregatibact</i> <i>actinomycet.</i>	1	1	0	0	1	0	0	0	0	2
<i>Klebsiella</i> <i>spp.</i>	1	0	2	1	1	1	1	0	1	3
<i>Klebsiella</i> <i>Do -R</i>	2	0	2	1	2	1	2	1	2	2
<i>Citrobacter</i>	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1
<i>Enterococcus</i> <i>R-A,Ac,V</i>	0	1	2	0	2	1	1	0	1	4
Всего абс %	37 47,3	25 32,1	34 43,6	41 52,6	43 55,1	14 17,9	27 34,6	14 17,9	27 34,6	78 100

По данным диско-диффузионного метода определения чувствительности среди *S. sanguis* из 25 штаммов выделили 7 чувствительных к аминопенициллинам, и в 2,5 раза больше – устойчивых (18 штаммов), причём из них 4 штамма были устойчивы к бета-лактамазозащищённым препаратам. Соответственно, среди фенотипически устойчивых штаммов определяли достаточно значительное количество генетических маркеров *Bla* DNA, CTX-M и *Mec A*, ответственных за резистенность к бета-лактамам антибиотикам. Однако, среди них также определены генетические детерминанты, кодирующие устойчивость к макролидам, гликопептидам и, в меньшей степени, к тетрациклинам (Tet M и INT у 20-25% штаммов).

Сходная ситуация наблюдалась со штаммами *Staphylococcus spp.*, однако их выделено в 6 раз меньше, чем стрептококков (только один штамм был фенотипически устойчивым к бета-лактамазозащищённым препаратам и у него определены детерминанты *Bla* DNA, CTX-M и *Mec A*.

Для анаэробных видов *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *P. oralis* основным фенотипическим признаком была резистентность к метронидазолу, которая выявлена в значительном числе случаев - примерно у 50% этих штаммов. В тоже время у другой части штаммов (примерно у 20%), фенотипически выявлена устойчивость к аминопенициллинам (6 штаммов из 29). Примечательно, что у значительной части этих штаммов выявлены генетические маркеры резистентности *Bla* DNA, CTX-M и *Mec A*, *ErmB* и *Mef*, *Van A*, *B* и, в меньшей степени, к тетрациклинам (Tet M и INT, в основном у *P. gingivalis*). Это имеет принципиальное значение, так как *P. gingivalis* является основным пародонтопатогенным видом.

Что касается остальных видов, представленных в таблице, то они выделены в единичных случаях и довольно редко имели факторы резистентности (за исключением 2-х штаммов *Klebsiella spp.* и 2-х штаммов *E. faecium*).

Анализ частоты выявления генетических маркеров резистентности в целом показал, что наиболее часто у представителей оральной микробиоты

выявляли маркеры ErmB и Mef, Van A, B (40-50%), а также Vla DNA. Выявление CTX-M, Tet M и INT находилось на среднем уровне (примерно у 1/3 штаммов). Минимальный уровень выявления генетических маркеров резистентности отмечен для маркеров Mec A и Tet Q (17,4%).

Во второй группе сравнения у пациентов с хроническим пародонтитом в стадии ремиссии выявлены схожие тенденции, которые, по-видимому, определялись частым и бесконтрольным использованием антибиотиков разных групп для лечения обострений в анамнезе. Вместе с тем выявлен ряд принципиальных отличий (таблица 6).

В частности, максимальный уровень выявления высокой частоты резистентности отмечен не только для ErmB и Mef, Van A, B, но также и для Vla DNA (40-50%). Напротив, довольно низкой была частота CTX-M и Mec A (10%), TetQ (20%).

Таким образом, полученные нами данные позволяют сделать предварительное заключение о том, что генетические механизмы резистентности к цефалоспорином 2 типа и тетрациклином, по-видимому, не были в достаточной степени реализованы у обследуемого контингента пациентов, страдающих хроническим пародонтитом. Особенно, это касается относительно низкого уровня резистентности к тетрациклином по сравнению с другими антибактериальными препаратами. Это явилось одним из аргументов для возвращения к схемам лечения с использованием доксициклина, как одного из наиболее адекватных современных препаратов тетрациклинового ряда.

Таблица 6 – Результаты выявления генов резистентности к антибиотикам в группе пациентов с хроническим пародонтитом в стадии ремиссии, подготовленных для дентальной имплантации (n=40)

Гены Штаммы	Bla DHA	CTX -M	VanA, B	ERM	Mef	Mec A	Tet M	Tet Q	INT	N
<i>S. sanguis</i>	1	0	2	1	1	0	0	0	0	3
<i>S. sanguis</i> <i>R-A</i>	4	0	2	2	2	0	1	2	2	4
<i>S. sanguis</i> <i>R-A;Ac</i>	1	0	0	0	1	0	1	1	1	1
<i>Staphylococcus</i> <i>spp. R- A</i>	0	0	3	0	3	0	2	0	1	3
<i>Staph. spp.</i> <i>R-A,Ac</i>	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1
<i>P. intermedia</i>	1	0	1	3	2	0	0	0	0	4
<i>P. intermedia</i> <i>R-mt</i>	0	0	2	2	3	0	1	0	1	4
<i>P. intermedia</i> <i>R -A</i>	2	0	0	2	2	0	1	0	1	2
<i>P. oralis</i> <i>R-mt</i>	0	0	1	0	2	0	1	1	1	2
<i>P. gingivalis</i>	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1
<i>P. gingivalis</i> <i>R-mt</i>	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>P. gingiv/pre</i> <i>R-A</i>	2	1	0	2	2	1	2	0	1	2
<i>F.necroforum</i>	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1
<i>F.nucleatum</i>	1	0	1	2	1	0	0	0	0	2
<i>F. alocis</i>	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1
<i>Actinomyces</i> <i>spp.</i>	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>Aggregatibact</i> <i>actinomycet.</i>	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>Klebsiella</i> <i>spp.</i>	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1
<i>Klebsiella</i> <i>R -Do</i>	1	0	1	0	2	1	1	0	2	2
<i>Citrobacter</i>	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1
<i>Enterococcus</i> <i>R-A,Ac,V</i>	0	0	2	0	2	1	0	0	0	2
Всего абс %	17 42,5	4 10,0	20 50,0	15 37,5	32 41,0	4 10,0	14 35,0	8 20,0	15 37,5	40 100

Интересные результаты получены при анализе распространённости резистентности в группе 3 у стоматологических пациентов с интактным пародонтом (таблица 7).

Таблица 7 – Результаты выявления генов резистентности к антибиотикам в группе пациентов с интактным пародонтом, обратившихся к врачу-стоматологу с профилактической целью (n=40)

Гены Штаммы	Bla DHA	CTX -M	VanA, B	ERM	Mef	Mec A	Tet M	Tet Q	INT	N
<i>S. sanguis</i>	1	0	2	1	1	0	2	0	1	4
<i>S. sanguis</i> <i>R-A</i>	3	0	2	2	1	0	2	1	3	7
<i>S. sanguis</i> <i>R-A;Ac</i>	1	0	0	0	1	0	1	0	2	3
<i>Staphylococcus spp. R-A</i>	1	0	3	0	3	0	1	0	1	4
<i>Staph. spp.</i> <i>R-A,Ac</i>	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1
<i>P. intermedia</i>	1	0	1	1	1	0	0	0	0	5
<i>P. inter R-mt</i>										0
<i>P. inter R-A</i>										0
<i>P. oralis</i> <i>R-mt</i>	0	0	1	0	1	0	0	0	1	2
<i>P. gingivalis</i>	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1
<i>P. gingivalis</i> <i>R-mt</i>	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1
<i>P. gingiv/pre</i> <i>R-A</i>										0
<i>F.necroforum</i>	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1
<i>F.nucleatum</i>	1	0	1	2	0	0	0	0	0	1
<i>F. alocis</i>										
<i>Actinomyces</i>	1	1	0	0	0	0	2	0	2	5
<i>Aggregatibact</i> <i>actinomycet.</i>										0
<i>Klebsiella</i> <i>spp.</i>	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1
<i>Klebsiella</i> <i>R-Do</i>	1	0	1	0	2	1	1	0	2	2
<i>Citrobacter</i>										0
<i>Enterococcus</i> <i>R-A,Ac,V</i>	0	1	2	0	2	1	0	0	1	1
<i>Veillonella</i>	0	0	0	0	0	1	1	0	0	4
Всего абс	11	2	17	9	16	3	14	1	15	44
%	25,0	4,5	38,6	20,5	36,3	6,8	31,8	2,3	34,0	100

Примечательно, что ни для одного из определённых генов не отмечено столь высокой частоты выявления, как в группах 1 и 2 (при хроническом пародонтите). Наиболее часто, у 1/3 пациентов определяли генетические детерминанты Van A, B и Mef, несколько ниже – для Tet M и INT. Минимальная частота установлена для CTX-M и Mec A (4-6%), TetQ (2,3%).

Распространенность и значимые различия изученных генов и устойчивости между двумя группами показаны на рисунке 8.

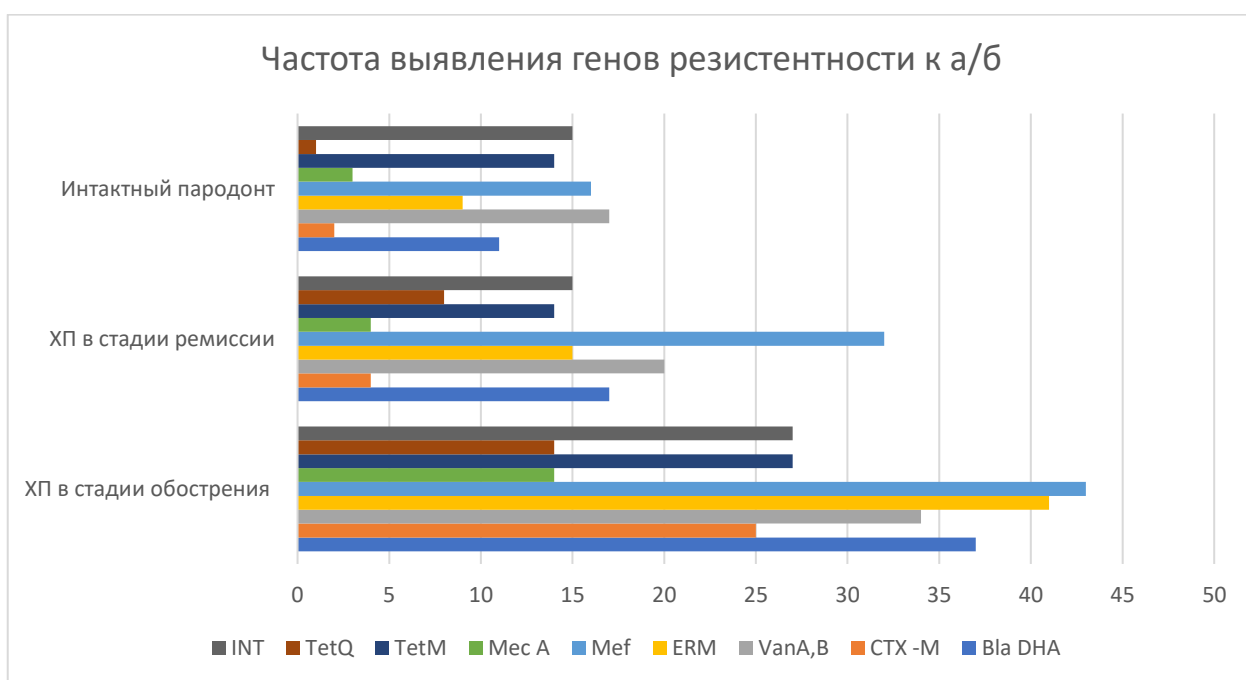


Рисунок 8 – Сравнительная частота выявления генетических маркеров резистентности к основным антибактериальным химиопрепаратам в группах пациентов с хроническим пародонтитом и практически здоровых.

3.2. Оценка чувствительности типовых штаммов оральной микробиоты к антибактериальным химиопрепаратам с помощью программируемого культивирования *in vitro*

Методика программируемого автоматического культивирования предполагала определение характера развития бактериальных клеток (монокультура и консорциум) в сочетании с отягощающим фактором. Анализ

полученных результатов проводился в обособленных параллелях, в основе которых был отражен процесс изменения оптической плотности. Для наглядности отображения данных был сформирован линейный график, отражающий степень развития микробных культур в каждом конкретном случае.

Кривая построения бактериальных клеток подразумевала наличие определённых фаз и периодов развития культуры, которые были отличны относительно друг друга. Измерение индивидуальных показателей кривой развития позволяло определить темпы роста, время задержки и максимальную микробную концентрацию. При необходимости применялась трактовка и обоснование дополнительных временных шкал, таких как: скорость замедления роста по мере истощения питательных ресурсов в пробирке; зависимость времени запаздывания развития от первоначальной концентрации популяции; перекрестное питание и диауксия (особенно между разными видами) (рисунок 9).

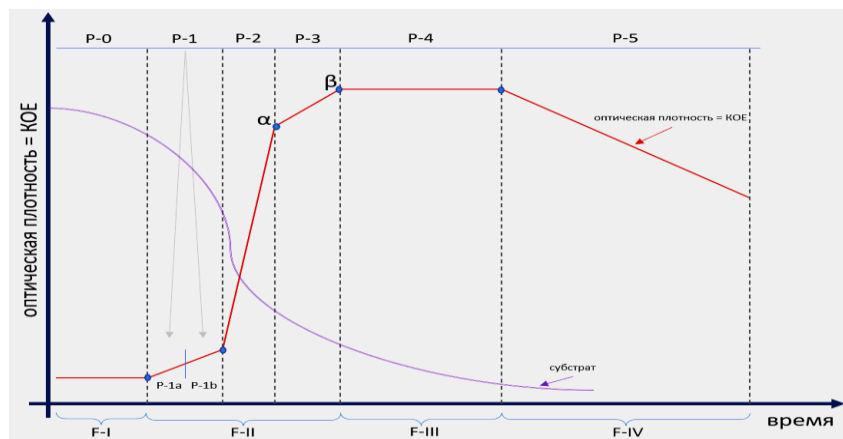


Рисунок 9 – Схема периодического культивирования микробной популяции. Обозначения: **F-I** – лаг-фаза, **F-II** – лог-фаза, **F-III** – стационарная фаза, **F-IV** – фаза отмирания; **P-0** – начальный адаптивный период, **P-1** – начальное развитие (**P-1a** – начальный рост, **P-1b** – начальная генерация), **P-2** – истинное логарифмическое развитие (геометрическая прогрессия генерации), **P-3** – период отрицательного ускорения, **P-4** – период стационарного равновесия, **P-5** – период отмирания; **α** – максимальное значение в окончании геометрической прогрессии, **β** – M-концентрация.

Статистический анализ заключался в построении зависимости между имеющимися показателями (регрессия), с обязательной проверкой адекватности полученных результатов, для подтверждения возможности использовать указанную зависимость. Был применен критерий Фишера (F-тест).

$$F_{\text{расчетн}} = \frac{\sum(Y_{i\text{расчетн}} - Y_{\text{среднее,расчетн}})^2}{m} \times \frac{n - m - 1}{\sum(Y_i - Y_{i\text{расчетн}})^2}$$

где, при условии: $F_{\text{расчетн}} > F_{\text{табл}}$ – полученная зависимость правильно отражает исходные данные.

По результатам проведенного культивирования клинического изолята *S. intermedius* (рисунок 10, таблица 8) в контрольной пробирке, адаптивная фаза отмечалась до 4 часа эксперимента. Начальное изменение оптической плотности было отмечено на промежутке 4–6 час культивирования, что было обусловлено первоначальным ростом популяции. Период P-1b – начальная генерация, был отмечен пороговым значением $1,11 \pm 0,3$ mcf к 10 часу эксперимента, по достижению которого, клетки перешли в логарифмическое ускорение.

В процессе «генеративного взрыва» отмечена стабильная геометрическая прогрессия развития культуры, что способствовало накоплению биохимически активных клеток и достижению по окончании периода «P-2» альфа показателя – $5,7 \pm 0,3$ mcf (16 час). Период отрицательного ускорения отмечался на протяжении 4 часов (до 20 часа), с достижением максимального показателя оптической плотности в отметке $6,34 \pm 0,3$ mcf. Фаза стационарного нахождения культуры не отмечалась наличием прироста биомассы; средний показатель оптической плотности на промежутке 20–28 час – $6,32 \pm 0,3$ mcf. После 28 часа культивирования отмечалась картина логарифмического спада, связанного с исчерпанием питательных ресурсов бульона. Тип культивирования – периодический. Время культивирования – 48 часов.

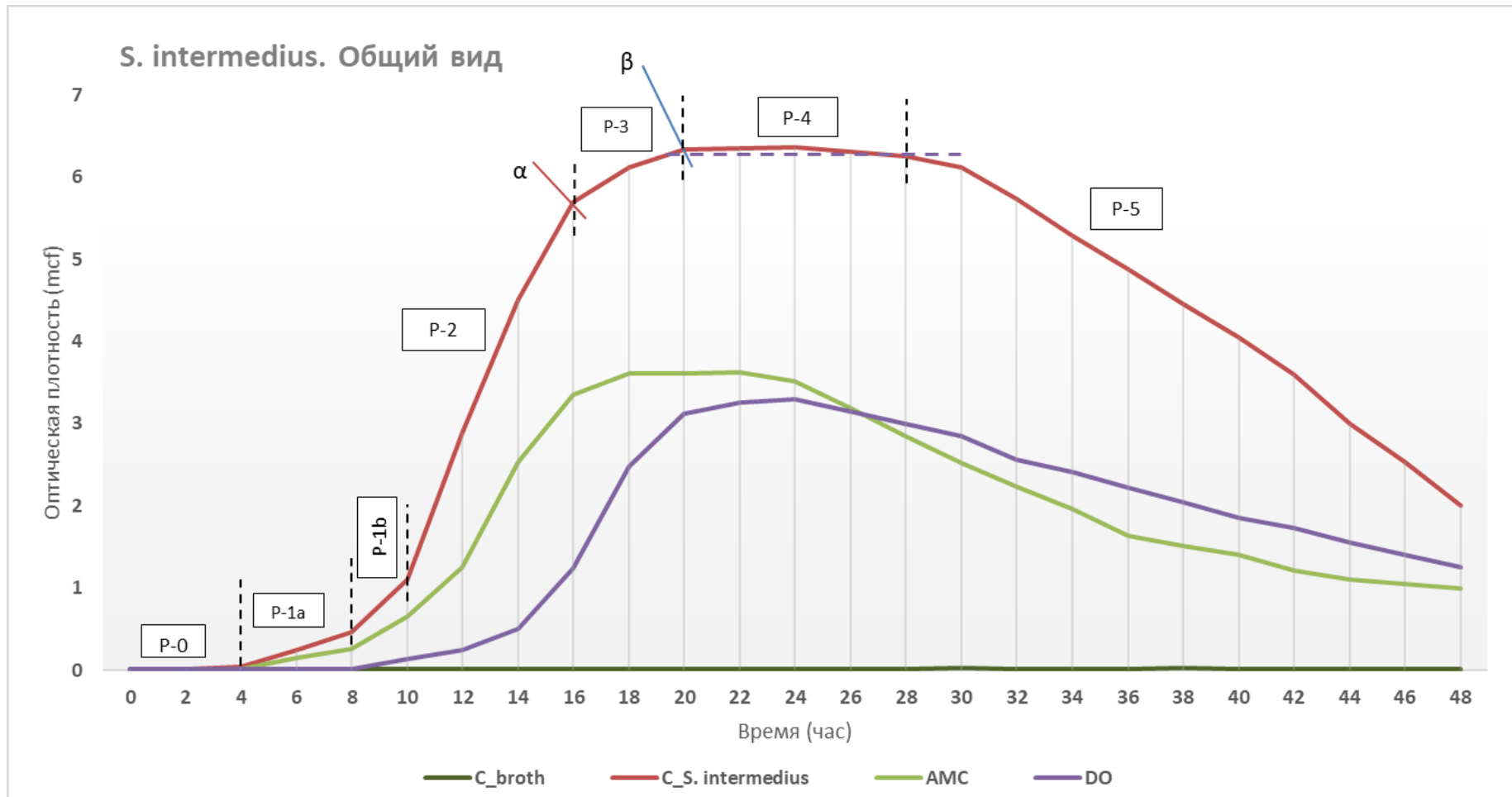


Рисунок 10 – Программируемое автоматическое культивирование *S. intermedius*.

Таблица 8 – Ключевые точки развития *S. intermedius* (время, показатель оптической плотности при $Y=A+Bx+Cx^2+Dx^3+Ex^4$)

образец		<i>S. intermedius</i>		АМС		DO	
	показатель мутности	OD (mcf)	время (час)	OD (mcf)	время (час)	OD (mcf)	время (час)
	временной этап развития популяции						
I	Лаг-фаза	0,05	4	0,02	4	0,02	8
II	Лог-фаза	1,11	10	1,26	12	0,51	14
III	показатель α	5,7	16	3,35	16	2,48	18
IV	показатель β	6,34	20	3,61	18	3,12	20
V	стационарная фаза	6,32	20-28	3,62	18-22	3,21	20-26

* - $\pm 0,3$ mcf

По результатам проведенного анализа исследуемых образцов с добавлением образцов сыворотки крови пациентов из групп, принимавших антибактериальные препараты Амоксициллин + Ацидус клавулановый – 0,875/125 мг (АМС) и Дохусуцилин – 400 мг (DO) соответственно, отмечалась измененная тенденция по построению кривой развития. В сравнении с контрольным образцом, в исследуемом образце АМС отмечалось изменение скорости бактериального прироста в начальных периодах развития. Более медленная первоначальная генерация популяции привела к тому, что наступление периода геометрической прогрессии было соответственно позже (12 час), но при этом достижение показателя α mcf было одновременным относительно контрольного образца (16 час). Оптическая плотность в данной ключевой точке составила $3,35 \pm 0,3$ mcf, что на 41,23% ниже, чем в предыдущем образце. Период отрицательного ускорения был коротким, с постепенно нарастающей биомассой при достижении М-концентрации. Усредненное значение показателя мутности бульона в стационарной фазе – $3,62 \pm 0,3$ mcf (18–22 час).

В исследуемом образце, где применялся препарат Дохусуцилин отмечалась пролонгация адаптивной фазы развития клеток до 8 часа эксперимента, что на 4 часа дольше относительно предыдущих образцов. Также была отмечена очень

длительная тенденция по начальному генеративному ускорению клеток, что существенно тормозило наступление логарифмического развития (рисунок 11).

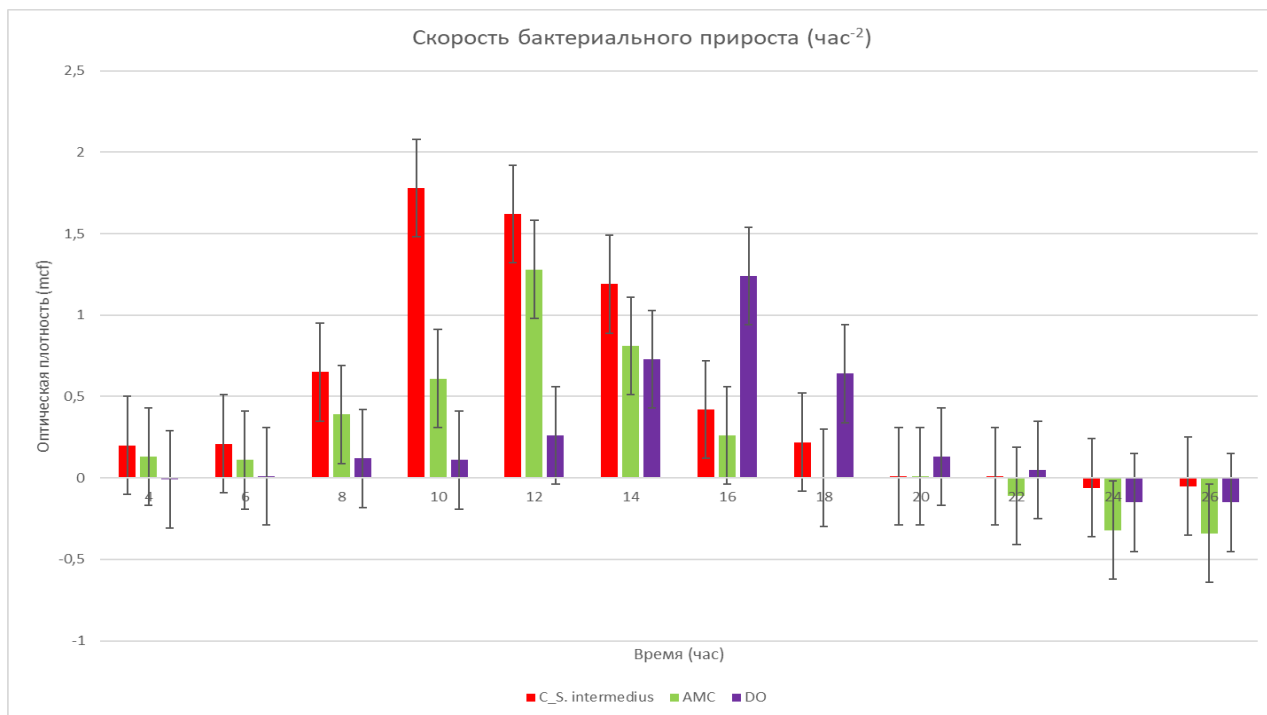


Рисунок 11– Динамика изменения показателя оптической плотности при культивировании *S. intermedius*.

Начало периода P-2 было отмечено только к 14 часу эксперимента, с последующим пиковым показателем оптической плотности в окончании данного отрезка к 18 часу – $2,48 \pm 0,3$ mcf. М-концентрация (показатель β по оптической плотности) была достигнута к 20 часу культивирования, что было сравнимо с контрольной пробиркой, однако, оптическая плотность была ниже на 50,79%, при этом, статистической разницы оптического значения в данной ключевой точки с группой AMC не наблюдалось (таблица 9, рисунок 12а и 12б)

Таблица 9 – Относительная и абсолютная разница значений ключевых точек культивирования *S. intermedius*.

	контроль	AMC	DO	абс. откл	отн. откл
пок. альфа	5,70	3,35		-2,35	-41,23%
пок. бета	6,34	3,61		-2,73	-43,06%
среднее	6,32	3,62		-2,70	-42,72%
пок. альфа	5,70		2,48	-3,22	-56,49%
пок. бета	6,34		3,12	-3,22	-50,79%
среднее	6,32		3,21	-3,11	-49,21%

Рисунок 12а

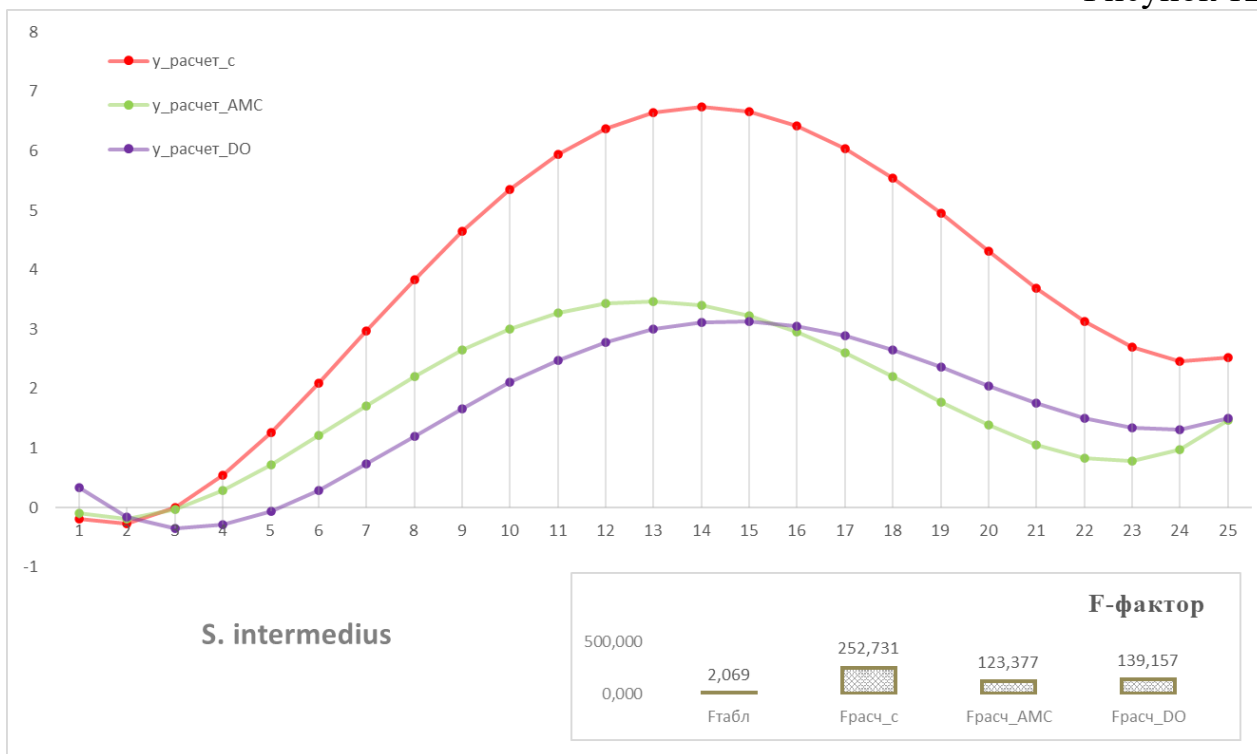


Рисунок 12б

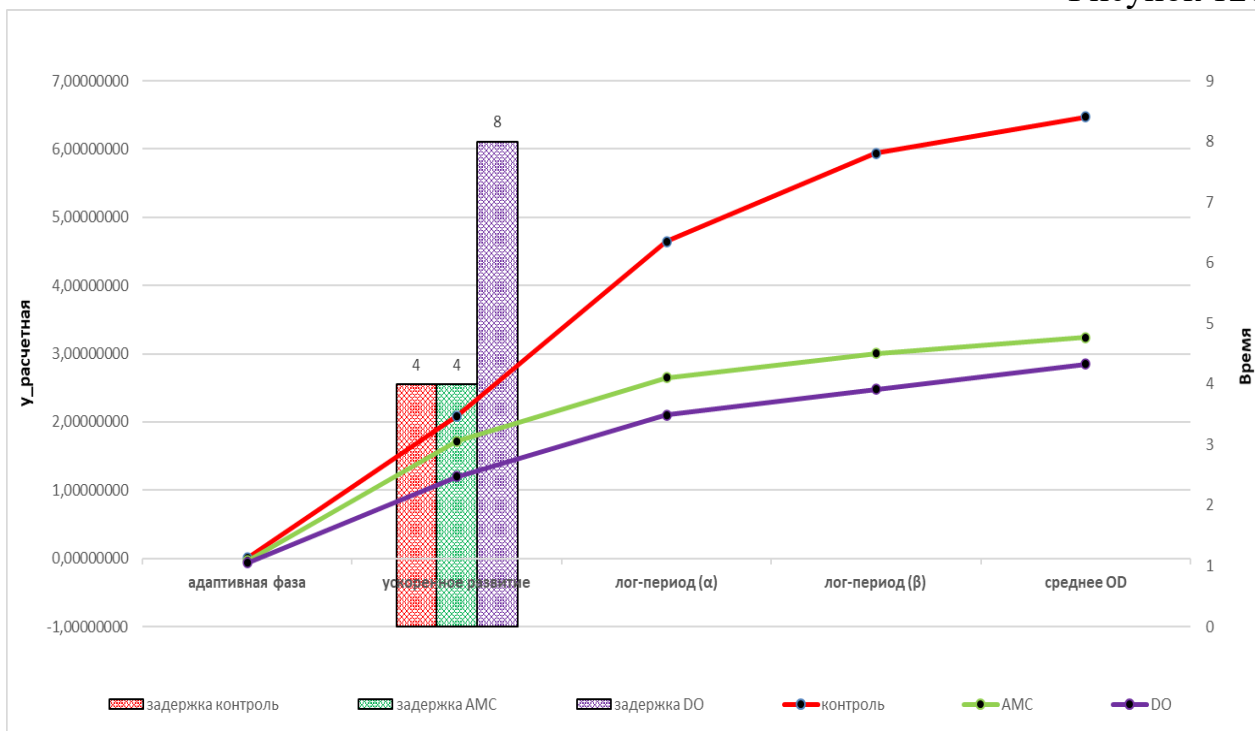


Рисунок 12 (а, б) – Статистическая обработка при *S. intermedius*. Построение параболы четвертого порядка. Критерий Фишера ($F_{расчет.} > F_{табл.}$).

Вместе с тем, представленные результаты эксперимента позволяют сделать заключение, что в отношении клинического изолята *S. intermedius* (пародонтопатогенный вид II порядка) наблюдается более выраженное пролонгирование фазы адаптации культивируемого штамма, соответственно, наступления фазы логарифмического роста и более низкая амплитуда стационарной фазы под действием доксициклина, что подтверждает его более выраженную активность в отношении данного вида микроорганизма (рисунок 10).

При анализе проведенного процесса культивирования клинического изолята *F. nucleatum* (рисунок 13, таблица 10) в контрольной пробирке, лаг-фаза продолжалась до 4 часа культивирования. Период ускоренного развития (P-1) был непродолжительным, и к 6 часу эксперимента отмечался экспоненциальный подъем оптической плотности. При сохраняющейся картине генеративного прироста и при отсутствии тенденции диауксийного характера развития, показатель α был достигнут к 12 часу развития микробной популяции, с показателем оптической плотности – $4,56 \pm 0,3$ mcf. На промежутке 12–18 отмечался затяжной период падения генеративной активности. Скорость размножения бактерий снижалась, что обуславливало выравнивание баланса между делящимися и погибающими клетками. Обеспечение формирования максимальной валовой клеточной концентрации отражалось в достижении оптической плотности показателя β к 18 часу эксперимента – $5,24 \pm 0,3$ mcf. Стационарная фаза прослеживалась с наличием небольшого колебания оптического числа, и непродолжительностью течения. Средний показатель оптической плотности в периоде P-4 (18–22 час) – $5,22 \pm 0,3$ mcf. Начиная с 23 часа отмечалась фаза отмирания клеток. На данном этапе культивирования отмечалось прогрессивное превосходство числа погибающих клеток над количеством вновь рождающихся. Тип культивирования – периодический. Время культивирования – 48 часов.

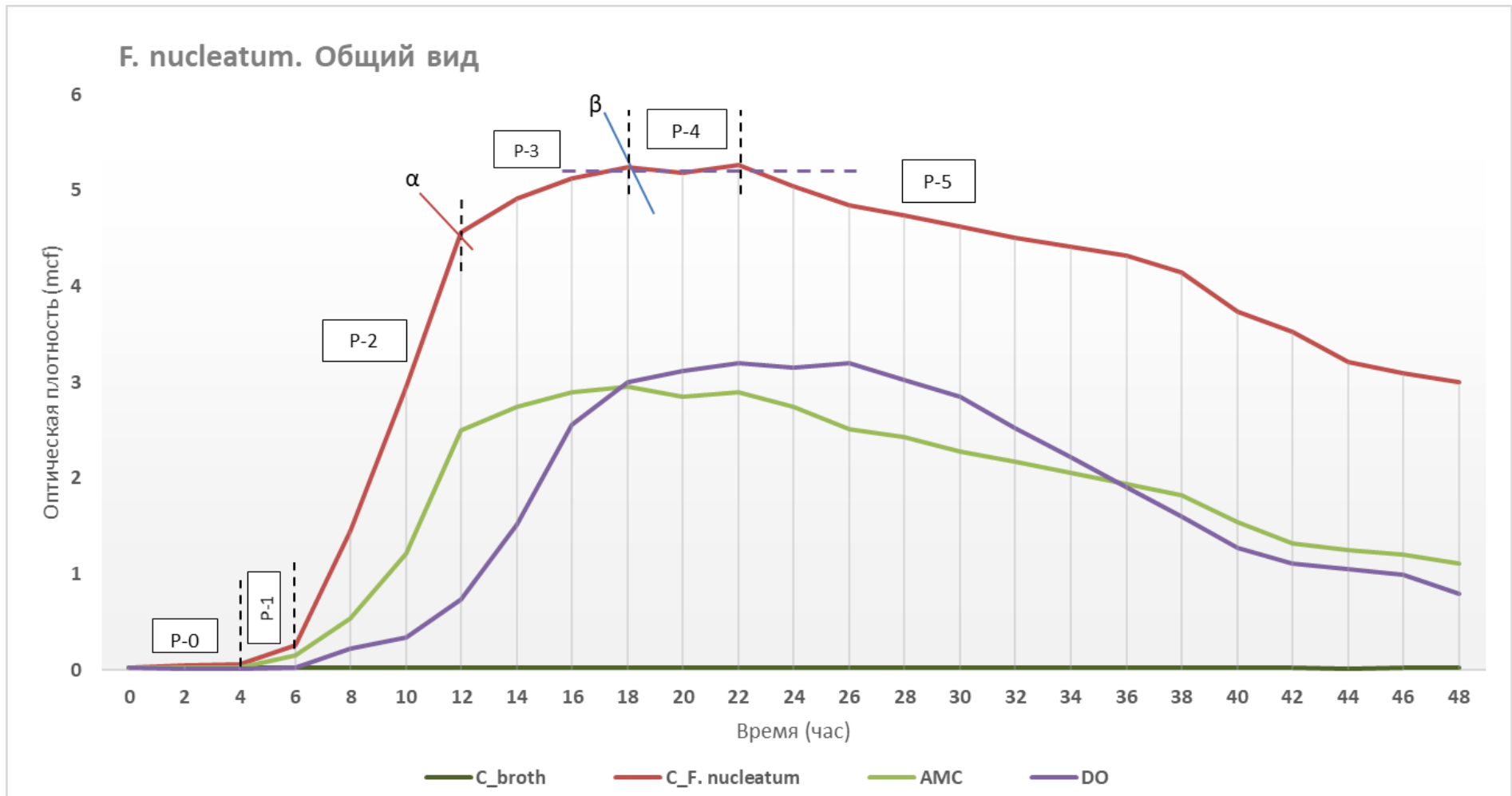


Рисунок 13 – Программируемое автоматическое культивирование *F. nucleatum*.

Таблица 10 – Ключевые точки развития *F. nucleatum* (время, показатель оптической плотности при $Y=A+Bx+Cx^2+Dx^3+Ex^4$)

образец		<i>F. nucleatum</i>		АМС		ДО	
	показатель мутности	OD (mcf)	время (час)	OD (mcf)	время (час)	OD (mcf)	время (час)
	временной этап развития популяции						
I	Лаг-фаза	0,06	4	0,03	4	0,03	6
II	Лог-фаза	0,26	6	0,54	8	0,74	12
III	показатель α	4,56	12	2,5	12	2,56	16
IV	показатель β	5,24	18	2,9	16	3,00	18
V	стационарная фаза	5,22	18-22	2,92	16-22	3,13	18-26

* - $\pm 0,3$ mcf

По результатам проведенного анализа исследуемых образцов с добавлением сыворотки крови пациентов из групп принимавших антибактериальные препараты Амохусциллин + Ацидум клавуланисум – 0,875/125 мг (АМС) и Дохусуcline – 400 мг (ДО), соответственно, так же, как и в предыдущем эксперименте, отмечались изменения в кинетике формирования оптической кривой развития по сравнению с контрольной группой. Для обоих образцов отмечалось изменение скорости бактериального прироста (рисунок 14), причем для образца ДО это было выражено как в периоде ускоренного развития (6–12 час), так и на протяжении истинного логарифмического подъема (12–16 час). При анализе группы, где применялся антибактериальный препарат Амохусциллин + Ацидум клавуланисум не отмечалась пролонгация адаптивного периода, следовательно, и логарифмический скачок наступил раньше, чем в группе с препаратом Дохусуcline (4 и 6 час соответственно). Показатель α : группа АМС – $2,5 \pm 0,3$ mcf (12 час), группа ДО – $2,56 \pm 0,3$ mcf (16 час). При их статистическом сравнении в данной ключевой точке культивирования не прослеживалось достоверной разницы (рисунок 15а и 15б), однако, разница в наступлении экспоненциальной фазы (при её сохраненной продолжительности) влияла на время достижения М-концентрации (показателя β) и выход культуры в стационарное равновесие (16 и 18 час соответственно). Суммарный средний

показатель оптической плотности в стационарной фазе для двух образцов – $\Sigma 3,03 \pm 0,3$ мсф, что на 58% ниже относительно контрольного образца (таблица 11).

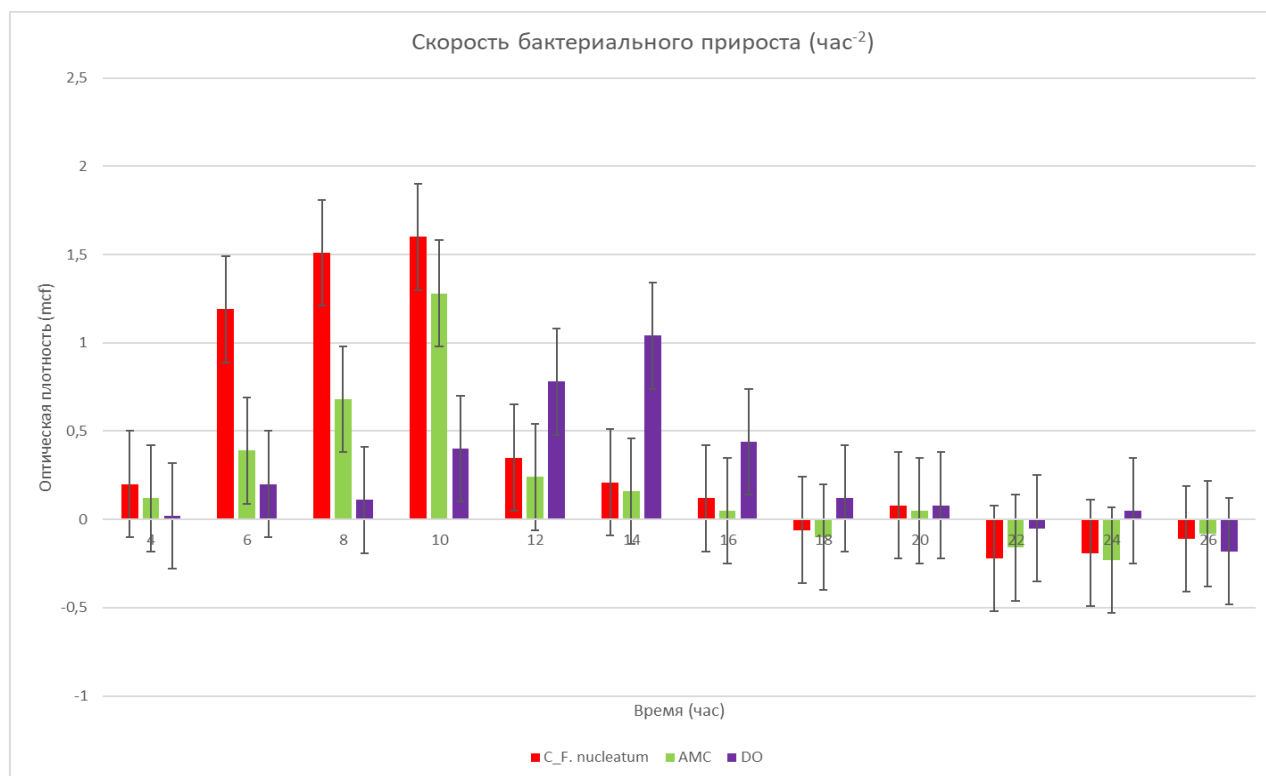
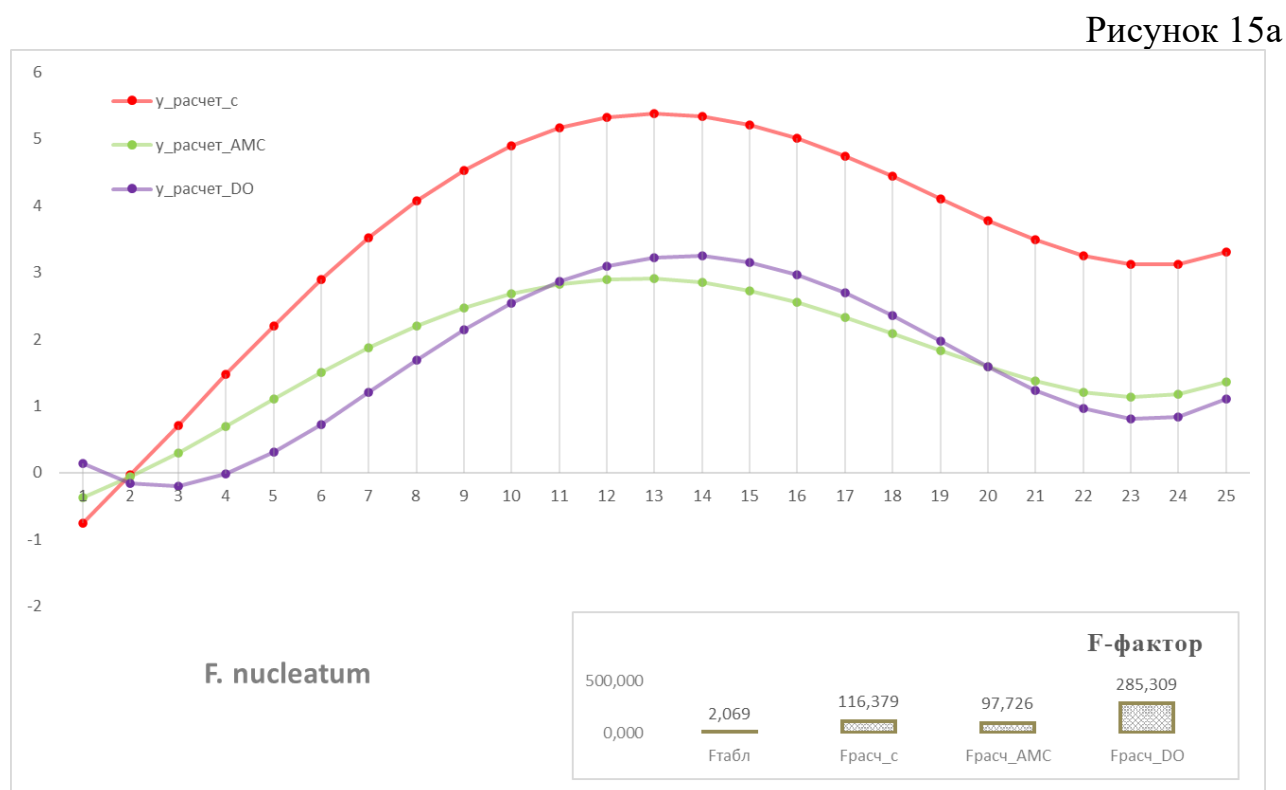


Рисунок 14 – Динамика изменения показателя оптической плотности при культивировании *F. nucleatum*.



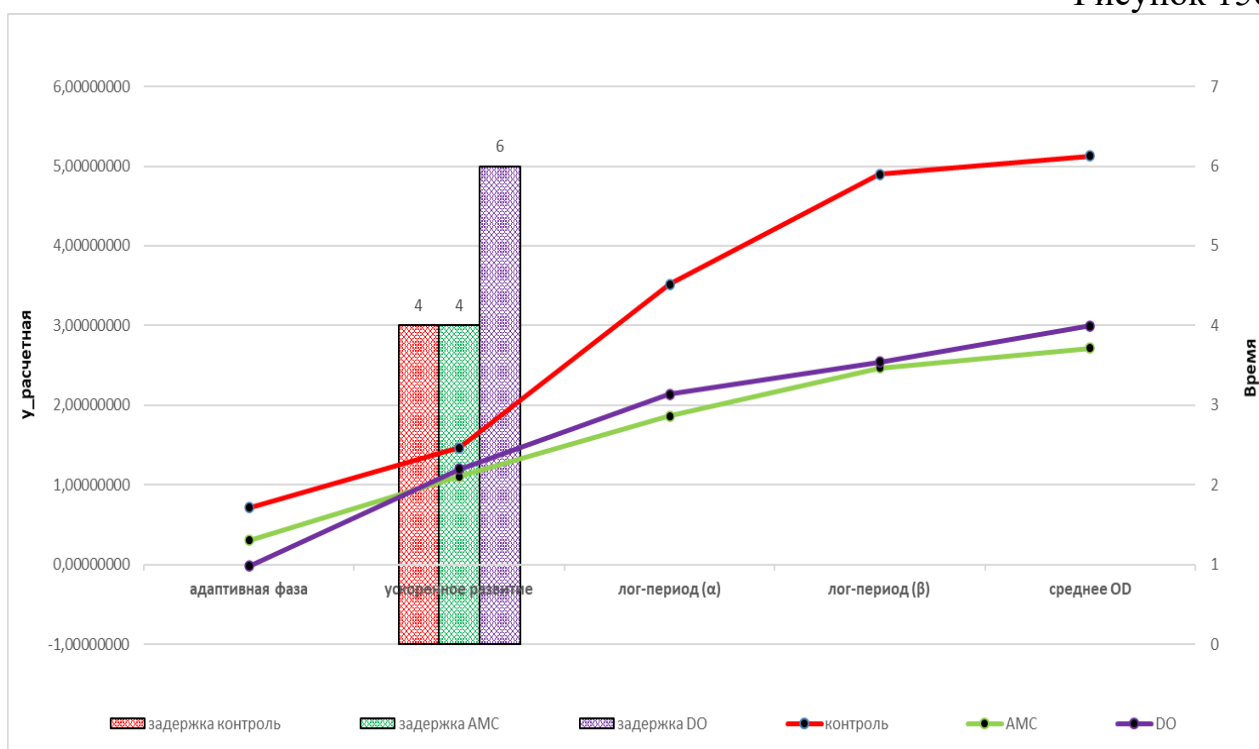


Рисунок 15 (а, б) – Статистическая обработка при *F. nucleatum*. Построение параболы четвертого порядка. Критерий Фишера ($F_{\text{расчет.}} > F_{\text{табл.}}$).

Таблица 11 – Относительная и абсолютная разница значений ключевых точек культивирования *F. nucleatum*.

	контроль	AMC	DO	абс. откл	отн. откл
пок. альфа	4,56	2,50		-2,06	-45,18%
пок. бета	5,24	2,90		-2,34	-44,66%
среднее	5,22	2,92		-2,30	-44,06%
пок. альфа	4,56		2,56	-2,00	-43,86%
пок. бета	5,24		3,00	-2,24	-42,75%
среднее	5,22		3,13	-2,09	-40,04%

Представленные результаты статистического анализа результатов эксперимента позволяют сделать заключение, что в отношении клинического изолята *F. nucleatum* (пародонтопатогенный вид II порядка), наблюдается более выраженное пролонгирование фазы адаптации культивируемого штамма, под действием доксициклина, но других статистически достоверных подтверждений более выраженной активности доксициклина по сравнению с

амоксициллином/клавуланатом к штамму *F. nucleatum* не выявлено (рисунок 13).

В результате проведенного эксперимента по автоматическому культивированию микробного консорциума *F. nucleatum* + *P. intermedia* (рисунок 16, таблица 12) в контрольной пробирке, отмечалась хорошо просматриваемая адаптивная фаза развития (время от момента посева бактерий в питательный бульон до их первоначального этапа развития). Данная фаза подразумевает подстройку ферментативных систем под последующий процесс генеративной активности. Первоначальные признаки изменения оптической плотности были отмечены с 8 часа эксперимента, где просматривалось два характерных периода: P-1a (8–11 час) – период первоначального роста, P-1b (11–14 час) – период первоначальной генерации. Показатель оптической плотности культуры перед переходом в экспоненциальный скачок – $0,85 \pm 0,3$ mcf (14 час). Логарифмический период прослеживался на промежутке 14–22 час, где с 20 часа отмечалось снижение генеративной активности и переход культуры в отрицательное ускорение. Показатель оптической плотности в ключевой точке α – $5,24 \pm 0,3$ mcf (20 час), при M-концентрации (показатель β) – $5,71 \pm 0,3$ mcf (22 час). Стационарная фаза без видимых колебаний оптического значения, продолжительностью 8 часов, со средним показателем оптической плотности – $5,79 \pm 0,3$ mcf. Тип культивирования – полупериодический. Время культивирования – 60 часов.

В результате культивирования в исследуемых группах, по сравнению с предыдущими экспериментами, между антибактериальными препаратами АМС и ДО отмечалась как бактериостатическая, так и частично бактерицидная разница. При применении препарата Doxycycline адаптивная фаза была пролонгирована относительно контроля на 4 часа, а относительно препарата Amoxicillinum + Acidum clavulanicum была отмечена более низкая скорость бактериального прироста в периодах первоначального развития (рисунок 17).

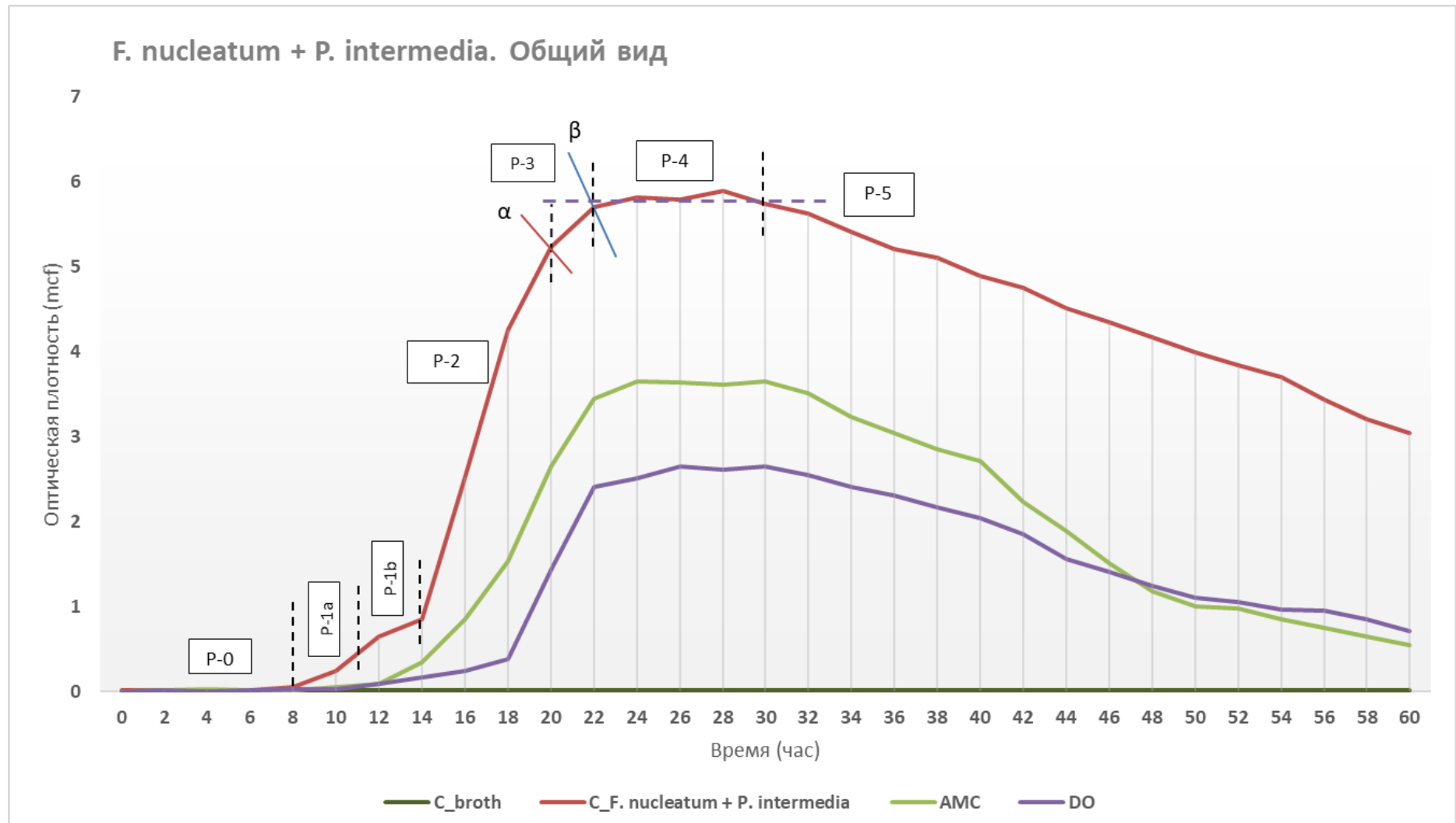


Рисунок 16 – Программируемое автоматическое культивирование консорциума *F. nucleatum* + *P. intermedia*.

Таблица 12 – Ключевые точки развития консорциума *F. nucleatum* + *P. intermedia* (время, показатель оптической плотности при $Y=A+Bx+Cx^2+Dx^3+Ex^4$)

образец	показатель мутности временной этап развития популяции	<i>F. nucleatum</i> + <i>P. intermedia</i>		АМС		DO	
		OD (mcf)	время (час)	OD (mcf)	время (час)	OD (mcf)	время (час)
I	Лаг-фаза	0,05	8	0,09	12	0,09	12
II	Лог-фаза	0,85	14	0,34	14	0,39	18
III	показатель α	5,24	20	3,45	22	2,41	22
IV	показатель β	5,71	22	3,65	24	2,65	26
V	стабионарная фаза	5,79	22-30	3,64	24-30	2,63	26-30

* - $\pm 0,3$ mcf

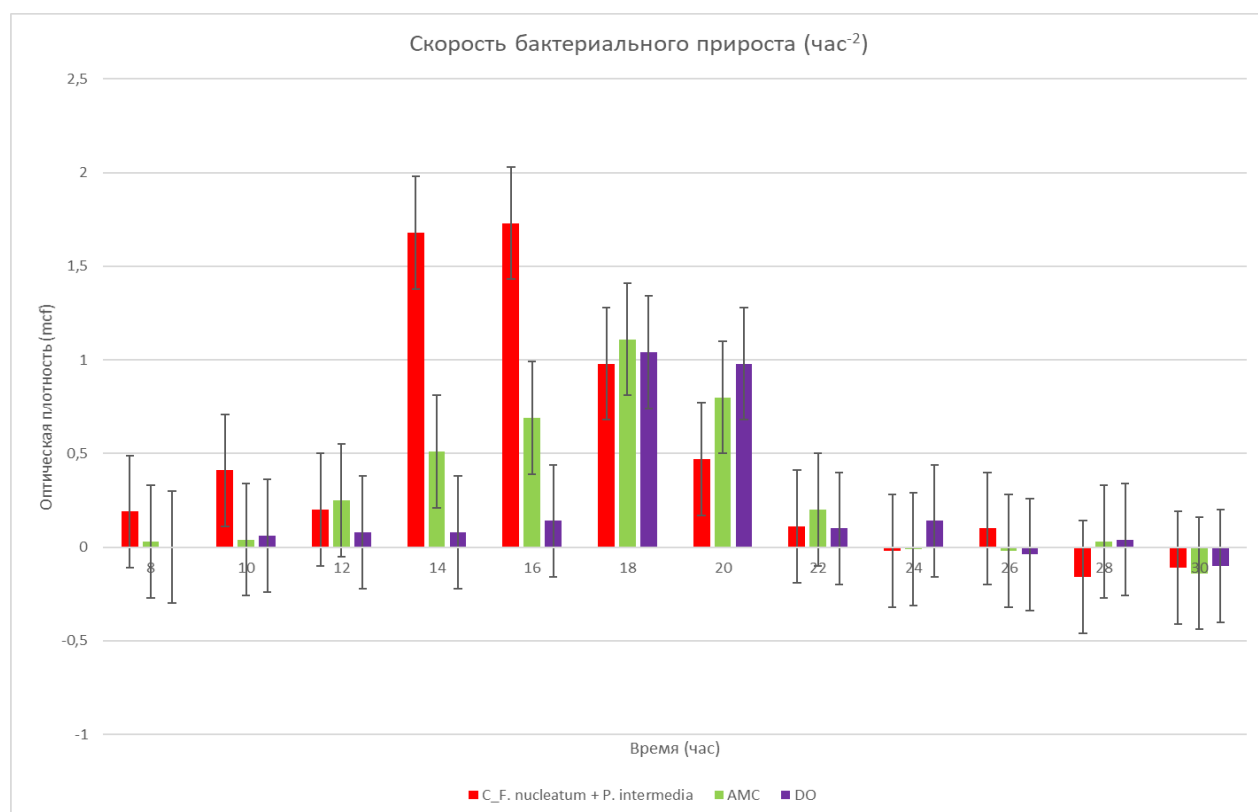


Рисунок 17 – Динамика изменения показателя оптической плотности при культивировании консорциума *F. nucleatum* + *P. intermedia*.

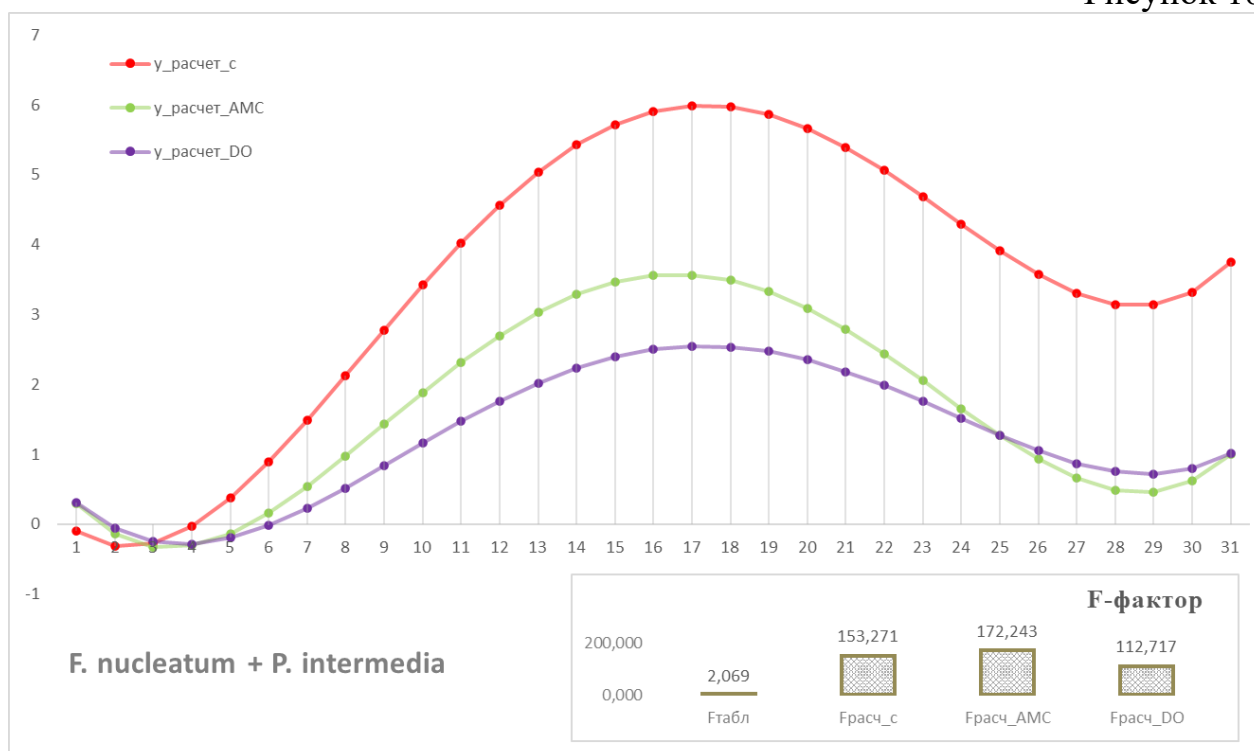
При применении DO логарифмический скачок наблюдался с 18 часа эксперимента, с достижением пика оптического значения ($2,65 \pm 0,3$ mcf) к 26 часу культивирования, что на 53,59% ниже относительно контроля, и на 27,4% ниже относительно препарата АМС (таблица 13).

Таблица 13 – Относительная и абсолютная разница значений ключевых точек культивирования консорциума *F. nucleatum* + *P. intermedia*.

	контроль	АМС	DO	абс. откл	отн. откл
пок. альфа	5,24	3,45		-1,79	-34,16%
пок. бета	5,71	3,65		-2,06	-36,08%
среднее	5,79	3,64		-2,15	-37,13%
пок. альфа	5,24		2,41	-2,83	-54,01%
пок. бета	5,71		2,65	-3,06	-53,59%
среднее	5,79		2,63	-3,16	-54,58%

Ключевые значения показателя оптической плотности для препарата АМС (рисунок 18а и 18б): окончание периода ускоренного развития – $0,34 \pm 0,3$ мсф (14 час), показатель α – $3,45 \pm 0,3$ мсф (22 час), показатель β – $3,65 \pm 0,3$ мсф (24 час). Характер стационарного развития клеток в образцах, где применялись антибактериальные препарат был идентичным. Без существенных изменений оптической плотности, около 30 часа от начала эксперимента, клетки перешли в фазу отмирания. Средний показатель оптической плотности в стационарном равновесии: группа АМС – $3,64 \pm 0,3$ мсф (24–30 час), группа DO – $2,63 \pm 0,3$ мсф (26–30 час).

Рисунок 18а



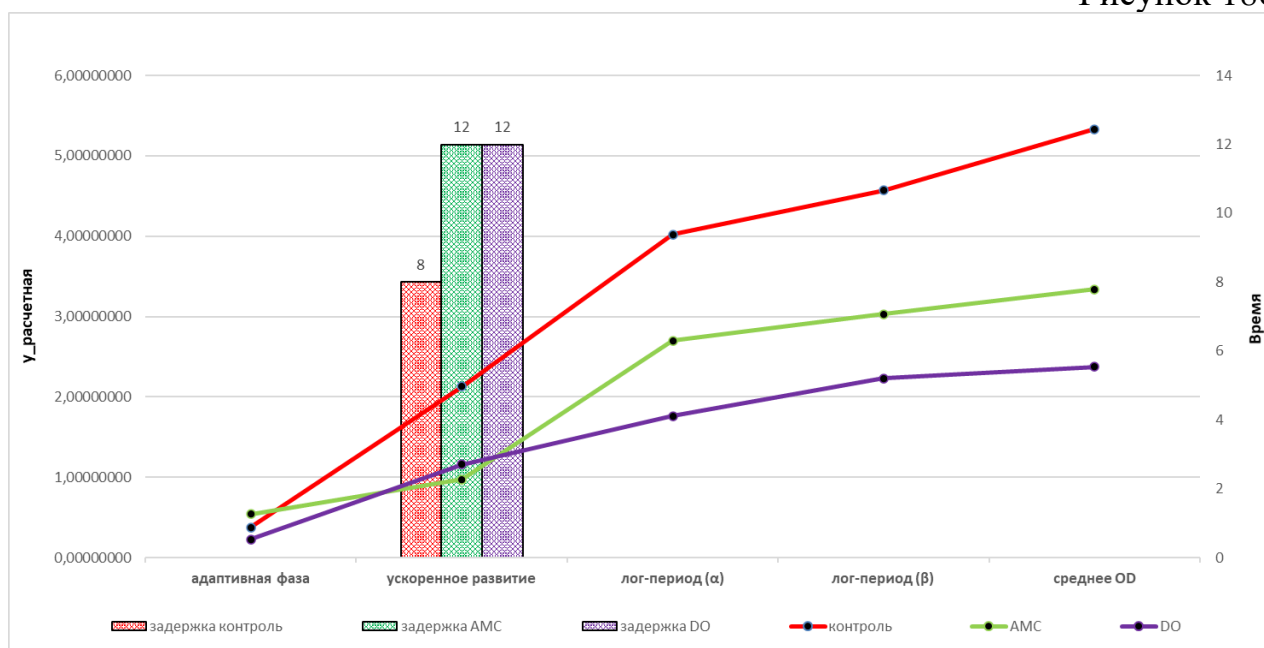


Рисунок 18 (а, б) – Статистическая обработка при *F. nucleatum* + *P. intermedia*. Построение параболы четвертого порядка. Критерий Фишера ($F_{\text{расчет.}} > F_{\text{табл.}}$).

Представленные результаты эксперимента программируемого культивирования консорциума грамотрицательных пародонтопатогенных видов *F. nucleatum* + *P. intermedia* позволяют сделать заключение, что в отношении данного консорциума пародонтопатогенных видов II порядка наблюдается более выраженное пролонгирование фазы адаптации, и, соответственно, наступления фазы логарифмического роста, а также наблюдается достоверно более низкая амплитуда развития смешанной популяции в стационарной фазе под действием доксициклина, что подтверждает его более выраженную активность в отношении ведущих грамотрицательных пародонтопатогенных видов II порядка *F. nucleatum* + *P. intermedia* (рисунок 16).

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКИХ И КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

4.1. Индексная клиническая пародонтологическая характеристика пациентов групп сравнения до начала пародонтологического лечения

Пациенты, выбранные для клинического наблюдения и клинико-лабораторного контроля в динамике случайным образом, были распределены на 3 группы, по 30 человек в каждой группе. После проведения первоначальных (фоновых) клинических и микробиологических оценок и получения усреднённых показателей однородности групп сравнения были сформированы следующие группы и выбраны соответствующие схемы пародонтологического лечения, в том числе с приемом антибиотиков (АБ):

- **подгруппа 1 - пациенты с хроническим пародонитом (ХП)**, которые получали профессиональную гигиену полости рта с процедурой полировки корней зубов SRP плюс системное назначение доксициклина по 400 мг в день в течение 14 дней внутрь, начиная с первого дня профессиональной гигиены;
- **подгруппа 2 - пациенты с хроническим пародонитом (ХП)**, которые получали профессиональную гигиену полости рта с процедурой полировки корней зубов SRP плюс системное назначение амоксициллина/клавуланата по 0,875/125 мг в день в течение 14 дней внутрь по существующему международному стандарту;
- **подгруппа 3 - пациенты с хроническим пародонитом (ХП)**, которые получали только профессиональную гигиену полости рта с процедурой полировки корней зубов SRP (контрольная группа).

Кроме того, пациентам всех групп сравнения (кроме контрольной) давали инструкцию полоскать рот два раза в день 0,12 % раствором хлоргексидина в течение двух недель. Процедуру профессиональной гигиены проводили под местной анестезией в течение приблизительно 1 часа. Она включала процедуру полировки корней - root planning (SRP). Во время контрольных визитов для

выполнения медицинского ухода никакого поддесневого вмешательства, кроме клинических измерений пациентам не проводили.

Для подтверждения этиологической картины заболевания и дальнейшего мониторинга, использовались следующие показатели: гигиенический статус – «индекс гигиены полости рта ОНI-S» (J.C. Green, J.R. Vermillion, 1964), папиллярно-маргинально-альвеолярный – «Papillary-marginal-alveolar (PMA)» (C. Parma, 1960), индекс кровоточивости десен при зондировании – «Papilla Bleeding Index (PBI)» (Saxer, Muhlemann, 1975), индекс пародонтальный – «Periodontal index (PI)» (A.L. Russel, 1956), определение величины потери прикрепления (Clinical Attachment Loss – CAL).

Одним из основных индексов по оценке тяжести заболевания тканей пародонта является индекс PMA, который позволяет судить о протяженности и тяжести гингивита и пародонтита (таблица 14, таблица 15).

Таблица 14 - Описательная статистика количественных переменных (PMA)

Показатели	Me	Q ₁ – Q ₃	n	min	max
Первичный прием (%)	51,000	46,000 – 55,000	90	32,000	60,000
третий месяц наблюдений (%)	21,000	19,000 – 24,750	90	11,000	39,000
шестой месяц наблюдений (%)	23,500	21,000 – 26,000	90	15,000	41,000
двенадцатый месяц наблюдений (%)	28,500	25,000 – 32,000	90	18,000	48,000

Таблица 15 - Описательная статистика категориальных переменных (PMA)

Показатель	Категории	Абс.	%
группа	отсутствие антибиотика	30	33,3
	применение АМС	30	33,3
	применение ДО	30	33,3

Также был проведен анализ динамики данного индекса (рисунок 19), в зависимости от исследуемых групп (таблица 16).



Рисунок 19 – Анализ индекса папиллярно-маргинально-альвеолярный – PMA (С. Parma, 1960)

Таблица 16 – Анализ динамики группы «Papillary-marginal-alveolar» в зависимости от исследуемых групп (PMA)

Группа по приёму АБ	Этапы наблюдения							
	первичный прием		третий месяц наблюдений		шестой месяц наблюдений		двенадцатый месяц наблюдений	
	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃
Без АБ	50,500 (n=30)	48,000 – 54,000	23,500 (n=30)	20,250 – 28,750	25,000 (n=30)	21,500 – 30,000	28,500 (n=30)	26,000 – 33,750
АМС	54,000 (n=30)	40,500 – 56,000	21,500 (n=30)	18,250 – 24,000	22,500 (n=30)	20,250 – 25,000	29,500 (n=30)	26,250 – 34,750
ДО	49,000 (n=30)	46,000 – 55,750	19,000 (n=30)	18,000 – 21,750	23,000 (n=30)	20,250 – 25,750	26,000 (n=30)	23,000 – 29,000
p	0,525		<ul style="list-style-type: none"> • суммарно по группе – 0,001* • применение АМС – отсутствие антибиотика = 0,047* • применение ДО – отсутствие антибиотика <0,001 	<ul style="list-style-type: none"> • суммарно по группе – 0,025* • применение АМС – отсутствие антибиотика = 0,034* 	<ul style="list-style-type: none"> • суммарно по группе – 0,003* • применение ДО – отсутствие антибиотика = 0,011* • применение ДО – применение АМС = 0,005* 			

* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

При сравнении индексного процентного показателя на этапе первичного приема пациентов нам не удалось выявить значимых различий ($p = 0,525$). В ходе анализа значения индекса на этапе третьего месяца наблюдений нами были установлены статистически значимые различия ($p = 0,001$) для препарата Амохусиллин + Ацидум клавуланicum (АМС) и Дохусуcline в форме «Солютаб» (DO). В соответствии с представленной таблицей на этапе шестого месяца наблюдений нами были установлены статистически значимые различия ($p = 0,025$), которые также были справедливы для препарата АМС. Дальнейший проведенный анализ показал, что при анализе показателя на этапе двенадцатого месяца наблюдений нами были установлены статистически значимые различия ($p = 0,003$): была отмечена достоверная разница как в отношении снижения индексного значения обеих исследуемых групп относительно контроля, а также разница между антибактериальными препаратами АМС и DO.

Используемый метод – критерий Краскела–Уоллиса.

При применении критерия Фридмана, в группе, где не применялась антибактериальная терапия нами были установлены статистически значимые изменения ($p < 0,001$). Аналогичные достоверные различия отмечались и в исследуемых группах при применении антибиотиков (рисунок 20).

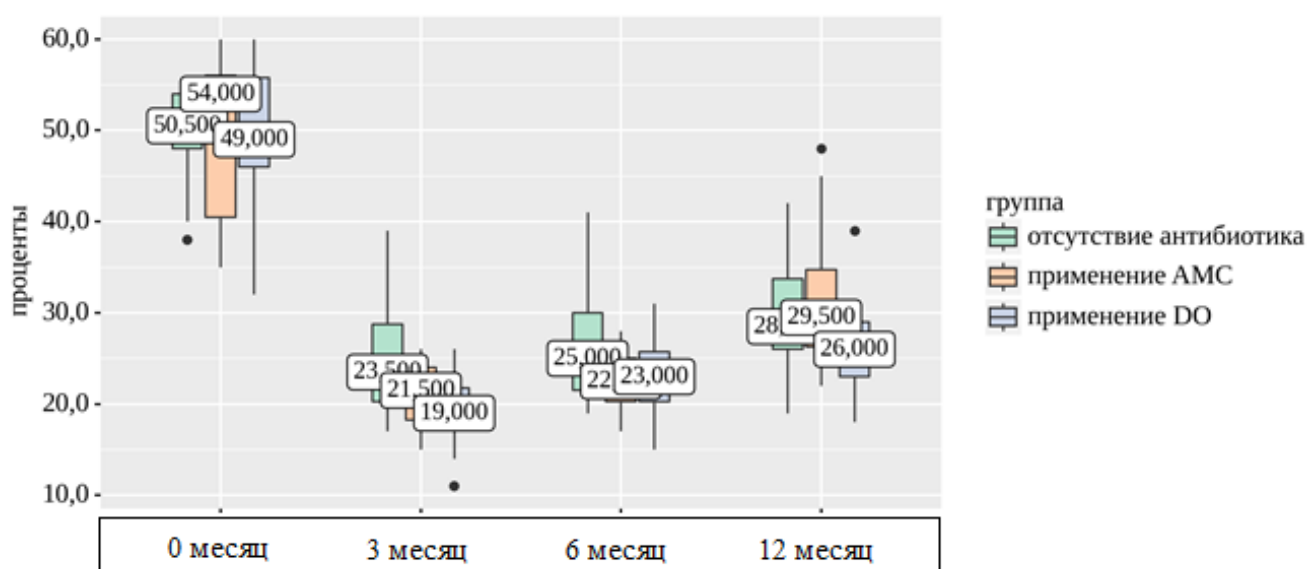


Рисунок 20 – Анализ динамики группы «Papillary-marginal-alveolar»

Пародонтальный индекс (PI) дает возможность учесть наличие как гингивита, так и других симптомов патологии пародонта: подвижность зубов, глубину зубодесневого кармана и др. (таблица 17, таблица 18).

Таблица 17 - Описательная статистика количественных переменных (PI)

Показатели	Me	Q ₁ – Q ₃	n	min	max
Первичный прием (%)	3,600	3,025 – 3,800	90	1,200	4,100
третий месяц наблюдений (%)	1,400	1,200 – 1,600	90	0,500	2,500
шестой месяц наблюдений (%)	1,800	1,600 – 2,100	90	1,000	3,000
двенадцатый месяц наблюдений (%)	2,500	2,000 – 3,200	90	1,200	3,900

Таблица 18 - Описательная статистика категориальных переменных (PI)

Показатель	Категории	Абс.	%
группа	отсутствие антибиотика	30	33,3
	применение АМС	30	33,3
	применение ДО	30	33,3

Была выявлена характерная картина при оценке данного индекса (рисунок 21), с анализом в зависимости от исследуемых групп (таблица 19).



Рисунок 21 – Анализ пародонтального индекса – PI (A.L. Russel, 1956)

Таблица 19 – Анализ динамики индекса «Periodontal index (PI)» в зависимости от исследуемых групп (PI)

Группа по приёму АБ	Этапы наблюдения							
	первичный прием		третий месяц наблюдений		шестой месяц наблюдений		двенадцатый месяц наблюдений	
	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃
Без АБ	3,600 (n=30)	3,500 – 3,700	1,500 (n=30)	1,400 – 1,700	2,100 (n=30)	1,900 – 2,375	3,200 (n=30)	2,900 – 3,400
АМС	3,800 (n=30)	2,275 – 3,900	1,400 (n=30)	1,100 – 1,775	1,800 (n=30)	1,600 – 2,075	2,600 (n=30)	2,100 – 3,450
DO	3,450 (n=30)	2,925 – 3,800	1,250 (n=30)	1,100 – 1,500	1,600 (n=30)	1,400 – 1,875	1,950 (n=30)	1,600 – 2,200
p	0,505		<ul style="list-style-type: none"> • суммарно по группе – 0,004* • применение DO – отсутствие антибиотика = 0,003* 		<ul style="list-style-type: none"> • суммарно по группе – 0,001* • применение АМС – отсутствие антибиотика = 0,005* • применение DO – отсутствие антибиотика < 0,001 • применение DO – применение АМС = 0,032* 		<ul style="list-style-type: none"> • суммарно по группе – 0,001* • применение АМС – отсутствие антибиотика = 0,044* • применение DO – отсутствие антибиотика < 0,001 • применение DO – применение АМС < 0,001 	

* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

При сравнении балльного показателя на этапе первичного приема не удалось выявить статистически значимых различий (p = 0,505), все полученные индексы в группах были сравнимо идентичными. Анализируя динамику индекса, спустя 90 суток после первичного приема, были установлены статистически значимые различия во всей группе сравнения (p = 0,004). Значимая достоверность отмечалась при применении препарата Doxycycline (DO). При анализе показателя спустя полгода наблюдений также были установлены статистически значимые различия (p < 0,001). При применении обоих антибиотиков отмечалось хоть и отличное, но несущественное изменение балльного значения, при этом в контрольной группе просматривалась тенденция к ухудшению как клинической картины, так и

показателей пародонтального индекса. Проведенный анализ показал, что при анализе показателя на этапе годового мониторинга были выявлены статистически значимые различия ($p < 0,001$) в отношении препарата Doxycycline (DO). При применении препарата Amoxicillinum + Acidum clavulanicum (АМС) хоть и отмечалась значимая разница при статистической обработке, однако наибольшее количество показателей индекса находилось выше медианной линии, что косвенно подтверждало имеющийся значительный разброс значений, а также процент тех пациентов, у которых индексный показатель был сравним с первоначальными значениями. Используемый метод – критерий Краскела–Уоллиса (рисунок 22).

При использовании непараметрического аналога однофакторного дисперсионного анализа для повторных измерений (используемый метод: критерий Фридмана) были отмечены статистически значимые изменения ($p < 0,001$) во всех анализируемых группах.

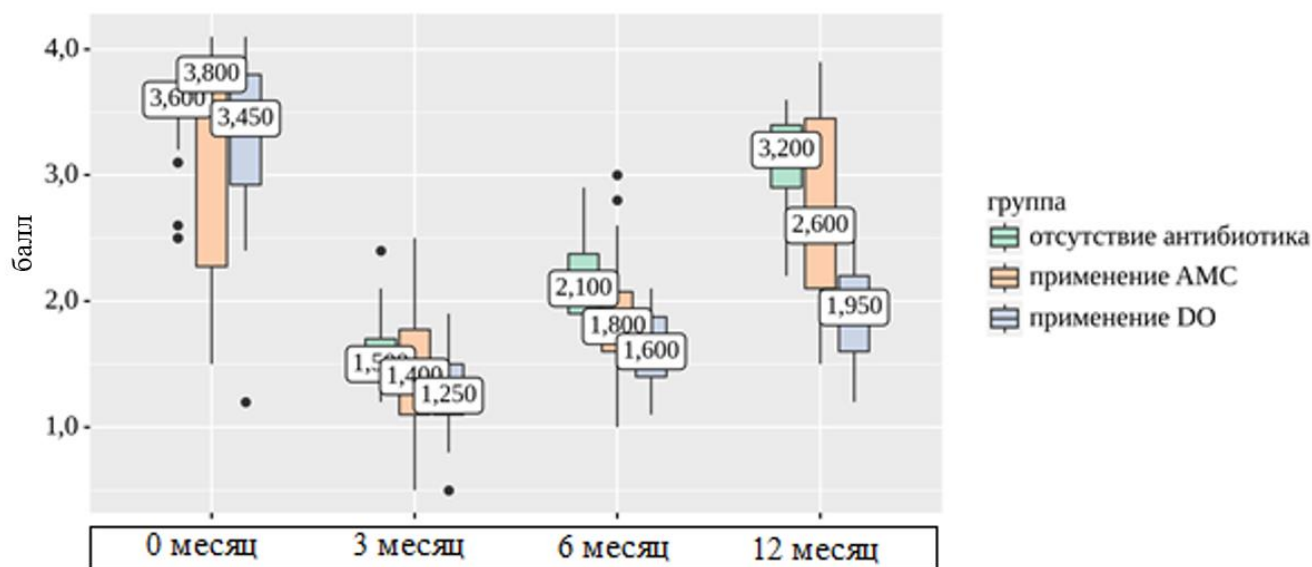


Рисунок 22 – Анализ динамики группы «Periodontal index (PI)»

Определение величины потери прикрепления десны является преобладающим клиническим проявлением и детерминантой заболеваний пародонта (таблица. 20, таблица 21).

Таблица 20 - Описательная статистика количественных переменных (CAL)

Показатели	Me	Q ₁ – Q ₃	n	min	max
Первичный прием (%)	4,100	3,800 – 4,500	90	3,000	4,700
третий месяц наблюдений (%)	3,500	3,100 – 3,800	90	2,300	4,300
шестой месяц наблюдений (%)	3,700	3,200 – 4,075	90	2,400	4,600
двенадцатый месяц наблюдений (%)	4,000	3,500 – 4,200	90	2,600	4,600

Таблица 21 - Описательная статистика категориальных переменных (CAL)

Показатель	Категории	Абс.	%
группа	отсутствие антибиотика	30	33,3
	применение АМС	30	33,3
	применение ДО	30	33,3

Протоколирование уровня прикрепления десны, в зависимости от исследуемых групп (таблица 22), было необходимо для оценки степени разрушения пародонта, которое фактически произошло и имело важное значение при постановке диагноза (рисунок 23).

Таблица 22 – Анализ динамики индекса «Clinical Attachment Loss (CAL)» в зависимости от исследуемых групп

Группа по приёму АБ	Этапы наблюдения							
	первичный прием		третий месяц наблюдений		шестой месяц наблюдений		двенадцатый месяц наблюдений	
	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃
Без АБ	4,200 (n=30)	3,800 – 4,500	3,700 (n=30)	3,325 – 4,000	3,900 (n=30)	3,500 – 4,200	4,100 (n=30)	3,700 – 4,300
АМС	4,100 (n=30)	3,825 – 4,200	3,400 (n=30)	2,850 – 3,700	3,650 (n=30)	3,125 – 4,075	4,000 (n=30)	3,725 – 4,175
ДО	4,150 (n=30)	3,725 – 4,500	3,500 (n=30)	3,025 – 3,700	3,550 (n=30)	3,200 – 3,875	3,700 (n=30)	3,250 – 4,100
p	0,326		<ul style="list-style-type: none"> • суммарно по группе – 0,022* • применение АМС – отсутствие антибиотика = 0,023* 		<ul style="list-style-type: none"> • суммарно по группе – 0,046* • применение ДО – отсутствие антибиотика = 0,040* 		0,108	

* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

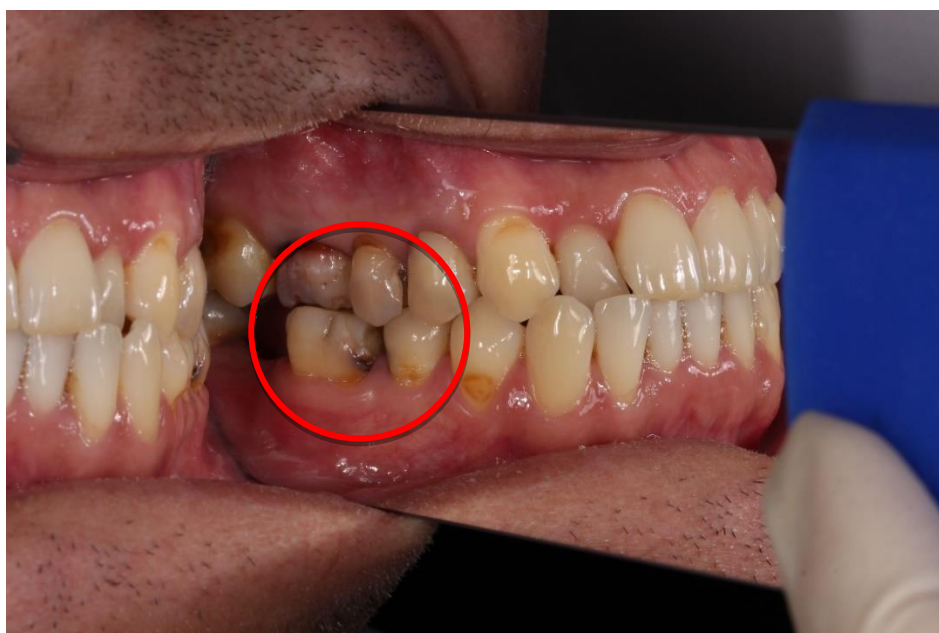


Рисунок 23 – Анализ индекса величины потери прикрепления – CAL (2.5, 2.6)

При сравнении полученных показателей на этапе после первоначального стоматологического приема пациентов нам не удалось установить статистически значимых различий ($p = 0,326$). Спустя три месяца после проведенного лечения, у пациентов, принимавших по инструкции препарат Амоксициллин + Ацидус клавулановый (АМС), были выявлены статистически значимые различия ($p = 0,022$). При приеме препарата Дохусуцилин (ДО) также отмечались изменения индекса потери прикрепления в положительную сторону, однако, разница в сравнении с контролем была менее заметной и оценивалась единичными случаями. В ходе анализа показателей спустя шесть месяцев, для препарата Дохусуцилин (ДО) отмечалась уверенная тенденция к стабилизации индексного значения. Пороговые значения разброса квартиля были сопоставимы с показателями третьего месяца, что также было подтверждено значимостью достоверной разницы ($p = 0,046$). При анализе группы с применением препарата Амоксициллин + Ацидус клавулановый (АМС) не отмечалось достоверной разницы относительно контроля. Более половины случаев изменения индексного показателя лежали выше медианы полученных значений и приближались к сопоставимым значениям контрольной группы. При сравнении показателей спустя двенадцать месяцев после проведенного

лечения нам не удалось установить статистически значимых различий ($p = 0,108$). При этом, при применении препарата Doxycycline (DO) было сохранено большее количество случаев стабилизации положительной динамики индекса CAL, а при применении препарата Amoxicillinum + Acidum clavulanicum (AMC) отмечалось почти полноправное идентичное совпадение клинической картины индекса CAL с контрольной группой. Используемый метод – критерий Краскела–Уоллиса (рисунок 24).

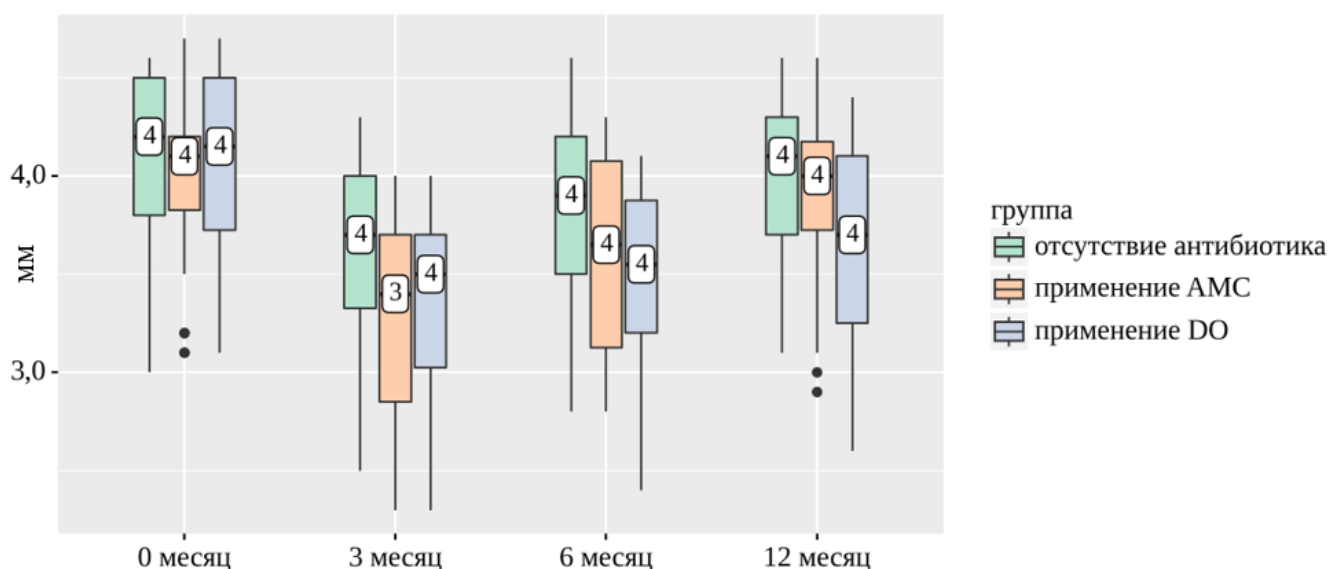


Рисунок 24 – Анализ динамики группы «Clinical Attachment Loss (CAL)»

Индекс РВІ позволял определить возникновение кровоточивости сосочков после осторожного зондирования десневой борозды (таблица 23, таблица 24).

Таблица 23 - Описательная статистика количественных переменных (РВІ)

Показатели	Me	Q ₁ – Q ₃	n	min	max
Первичный прием (%)	2,000	1,600 – 2,300	90	0,600	2,800
третий месяц наблюдений (%)	1,100	0,700 – 1,300	90	0,400	1,600
шестой месяц наблюдений (%)	1,300	1,025 – 1,600	90	0,400	2,000
двенадцатый месяц наблюдений (%)	1,600	1,300 – 1,900	90	0,600	2,700

Таблица 24 - Описательная статистика категориальных переменных (РВІ)

Показатель	Категории	Абс.	%
группа	отсутствие антибиотика	30	33,3
	применение АМС	30	33,3
	применение DO	30	33,3

В зависимости от исследуемых групп (таблица 25), нами был проведен анализ динамики данного индекса (рисунок 25), в модификации Sacher, Muhlemann, 1975.

Таблица 25 – Анализ динамики индекса «Papilla Bleeding Index (PBI)» в зависимости от исследуемых групп

Группа по приёму АБ	Этапы наблюдения							
	первичный прием		третий месяц наблюдений		шестой месяц наблюдений		двенадцатый месяц наблюдений	
	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃
Без АБ	2,050 (n=30)	1,800 – 2,200	1,000 (n=30)	0,625 – 1,200	1,700 (n=30)	1,200 – 1,875	1,900 (n=30)	1,525 – 2,100
АМС	2,100 (n=30)	1,225 – 2,500	1,050 (n=30)	0,625 – 1,375	1,200 (n=30)	0,900 – 1,475	1,700 (n=30)	1,325 – 1,900
DO	1,900 (n=30)	1,525 – 2,200	1,100 (n=30)	0,800 – 1,200	1,200 (n=30)	1,100 – 1,475	1,400 (n=30)	1,125 – 1,500
p	0,688		0,733		<ul style="list-style-type: none"> • суммарно по группе – 0,001* • применение АМС – отсутствие антибиотика <0,001 • применение DO – отсутствие антибиотика = 0,002* 		<ul style="list-style-type: none"> • суммарно по группе – 0,001* • применение DO – отсутствие антибиотика <0,001 • применение DO – применение АМС = 0,029* 	

* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)



Рисунок 25 – Анализ индекса кровоточивости десен при зондировании – PBI (1.1, 2.1, 2.2, 2.3)

По результатам проведенного анализа индекса Papilla Bleeding Index (PBI) на ключевых этапах осмотра пациентов (после первичного приема и спустя 3 месяца) не было выявлено статистически значимых различий ($p = 0,688$ и $p = 0,733$, соответственно). При анализе показателей индекса на шестой месяц наблюдений отмечались статистически достоверные различия по всей группе сравнения ($p < 0,001$). Между группами, где пациентами применялись антибактериальные препараты, не отмечалось статистической разницы, но при этом суммарный средний индексный показатель был существенно ниже относительно контрольной группы сравнения. При анализе показателей спустя год после проведенного лечения были выявлены статистически значимые различия суммарно по всей группе ($p < 0,001$). Отмечались существенные различия между группами, где применялись антибактериальные препараты: индексные значения PBI в группе, где применялся Doxycycline (DO), были достоверно ниже (при $p = 0,029$) относительно группы, где применялся препарат Amoxicillinum + Acidum clavulanicum (AMC). Используемый метод – критерий Краскела–Уоллиса (рисунок 26).

При использовании непараметрического аналога однофакторного дисперсионного анализа для повторных измерений (используемый метод: критерий Фридмана) были отмечены статистически значимые изменения ($p < 0,001$) во всех анализируемых группах.

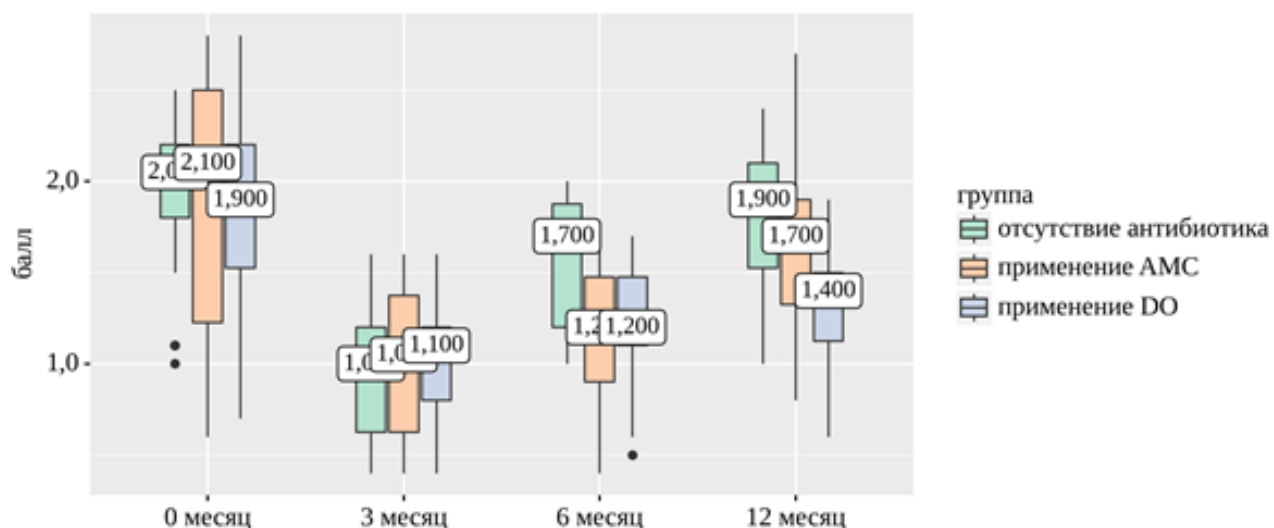


Рисунок 26 – Анализ динамики группы «Papilla Bleeding Index (PBI)»

Индекс ОНІ-S используется для выявления зубного налета и зубного камня (таблица 26, таблица 27).

Таблица 26 – Описательная статистика количественных переменных (ОНІ-S)

Показатели	Me	Q ₁ – Q ₃	n	min	max
Первичный прием (%)	2,150	1,800 – 2,500	90	1,200	2,800
третий месяц наблюдений (%)	1,100	0,800 – 1,400	90	0,500	1,700
шестой месяц наблюдений (%)	1,500	1,200 – 1,700	90	0,500	2,200
двенадцатый месяц наблюдений (%)	1,700	1,500 – 2,100	90	0,700	2,500

Таблица 27 – Описательная статистика категориальных переменных (ОНІ-S)

Показатель	Категории	Абс.	%
группа	отсутствие антибиотика	30	33,3
	применение АМС	30	33,3
	применение ДО	30	33,3

Был проведен анализ динамики гигиенического статуса пациентов (рисунок 27), а также представлена зависимость от исследуемых групп (таблица 28).



Рисунок 27 – Проведение и анализ гигиенического индекса – ОНI-S
(J.C. Green, J.R. Vermillion, 1964).

Таблица 28 – Анализ динамики гигиенический статус – «индекс гигиены полости рта ОНI-S» (J.C. Green, J.R. Vermillion, 1964) в зависимости от исследуемых групп

Группа по приёму АБ	Этапы наблюдения							
	первичный прием		третий месяц наблюдений		шестой месяц наблюдений		двенадцатый месяц наблюдений	
	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃
Без АБ	2,200 (n=30)	1,925 – 2,500	1,150 (n=30)	0,925 – 1,500	1,600 (n=30)	1,425 – 1,875	2,000 (n=30)	1,625 – 2,200
АМС	2,200 (n=30)	1,625 – 2,475	1,050 (n=30)	0,625 – 1,100	1,450 (n=30)	1,125 – 1,700	2,000 (n=30)	1,500 – 2,100
ДО	2,000 (n=30)	1,600 – 2,600	1,000 (n=30)	0,800 – 1,275	1,200 (n=30)	1,100 – 1,600	1,500 (n=30)	1,225 – 1,600
p	0,742		<ul style="list-style-type: none"> суммарно по группе – 0,043* применение АМС – отсутствие антибиотика = 0,043* 		<ul style="list-style-type: none"> суммарно по группе – 0,002* применение ДО – отсутствие антибиотика = 0,001* 		<ul style="list-style-type: none"> суммарно по группе – 0,001* применение ДО – отсутствие антибиотика <0,001 применение ДО – применение АМС <0,001 	

* – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

В соответствии с представленной таблицей статистически достоверных различий между группами после первичного стоматологического приема не выявлено (p = 0,742). Дальнейший проведенный анализ показал, что при

сравнении показателей индекса ОНІ-S спустя три месяца после проведенного лечения, были выявлены существенные статистические различия между пациентами контрольной группы и группы, где применялся препарат Amoxicillinum + Acidum clavulanicum (АМС) ($p = 0,043$). При сравнении АМС и DO, в последнем отмечался более высокий процент индексных показателей выше медианы, что понижало шансы восприимчивости достоверности значений. Спустя шесть месяцев после проведенного лечения отмечалось постепенное ухудшение индексных показателей во всех группах, однако, при сравнении исследуемых групп с применением антибактериальных препаратов отмечалась противоположная картина относительно третьего месяца наблюдений: достоверно значимые результаты были получены в отношении группы с применением DO по сравнению с отсутствием ($p = 0,001$). Данная тенденция была сохранена и спустя год, где индексные значения ОНІ-S при применении препарат Doxycycline (DO) были достоверно ниже относительно сравнений внутри группы: применение DO по сравнению с отсутствием приёма антибиотика $<0,001$; применение DO – по сравнению с группой, где применяли АМС $<0,001$. Используемый метод – критерий Краскела–Уоллиса (рисунок 28).

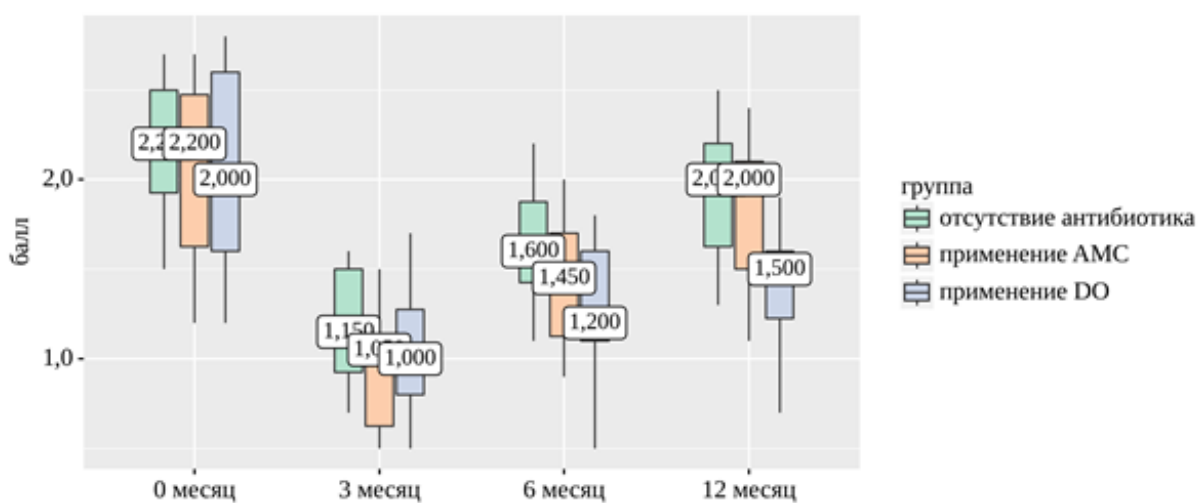


Рисунок 28 – Анализ динамики группы «индекс гигиены полости рта ОНІ-S»

4.2. Сравнительный анализ результатов фенотипических (метод дисков) и генотипических методов (ПЦР-детекция) определения резистентности выделенных штаммов микробиоты

В динамике лечения у больных хроническим генерализованным пародонтитом в стадии обострения из пародонтальных карманов были выделены штаммы факультативно- и облигатно-анаэробных бактерий (всего 57 штаммов), у которых проведено сравнение фенотипических и генотипических свойств по параметру антибиотикорезистентности. Эта процедура была необходима для дополнения данных об общем профиле резистентности у пациентов – так называемого резистома, как совокупного усреднённого генома и фенотипа контингента пациентов Московского региона России, которые были представлены в главе 3. Эти фоновые данные явились отправным моментом для дальнейшего мониторинга изменения частоты выявления резистентных штаммов в группах сравнения, различающихся по характеру проводимой антибактериальной терапии.

Проведение исследования для определения чувствительного фенотипа осуществляли по стандартному протоколу диско-диффузионного метода Кирби-Бауэра. Концентрация культуральной взвеси составляла 10^8 КОЕ/мл по стандарту мутности MacFarland. Посев проводили «газоном» на специальную среду (Himedia Labs Ltd., Индия) для анаэробных бактерий пародонтопатогенной группы – с добавлением 5 % крови и стимуляторов роста (солянокислый гемин, менадион).

В результате исследования, проведенного через 1-2 недели после завершения курса антимикробной терапии (контрольный срок пародонтологического лечения – 1 месяц), выполняли исследование маркеров резистентности к антибактериальным химиопрепаратам по данным фенотипического и генотипического исследования, которое охватывало 57 штаммов бактерий, которые первоначально отбирали по результатам выявленной устойчивости к стандартному набору антибиотиков.

Все протестированные штаммы были резистентны хотя бы к одному из антибактериальных химиопрепаратов по данным метода диффузии в агаре (метода дисков). По существующим стандартам оценивали величину зон торможения роста вокруг дисков с метронидазолом, ампициллином, амоксициллином, амоксициллином/клавуланатом натрия, клиндамицином, рокситромицином, азитромицином, ципрофлоксацином и доксициклином.

Для выявления метициллинрезистентных штаммов использовали диски с метициллином (10 мкг). В результате было установлено, что устойчивость штаммов пародонтопатогенных видов к метициллину составляла 54,5 % (были устойчивыми 12 штаммов из 22), причём их основная часть по данным метода дисков была представлена пигментообразующими анаэробами *P. gingivalis* и *P. intermedia*.

Из 57 исследуемых штаммов (суммарно анаэробной и аэробной группы бактерий) метициллинрезистентными были 26,3 %; (15 штаммов, включая единичные штаммы *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus spp.* MRSA и MRSE). Значительная часть штаммов была устойчива к амоксициллину – 15,8 % (9 штаммов); к амоксициллину/клавуланату натрия – 8,8% (5 штаммов), что указывало на наличие бета-лактамаз расширенного спектра. Полученные данные подтверждают явное снижение частоты выявленной резистентности в зависимости от степени защищённости препарата от бета-лактамаз и других факторов, кодирующих механизмы антибиотикорезистентности.

При оценке фенотипического проявления устойчивости к антибактериальным химиопрепаратам широкого спектра по данным метода дисков получены следующие результаты. Устойчивость к доксициклину выявили в 8,8 % случаев (7 штаммов, в том числе: у *Klebsiella spp.* (4 штамма), *Enterococcus faecium* (2 штамма), *Staphylococcus aureus* (1 штамм)). Устойчивость к фторхинолонам практически не выявлялась, за исключением *Klebsiella pneumonia* (у 1 штамма выявлена устойчивость к ципрофлоксацину).

Следовательно, полученные нами результаты подтверждают, что у пародонтопатогенных анаэробных бактерий, в отличие от санитарно-значимых микробов группы ESCAPE патогенов в фенотипическом тесте (метод дисков) резистентности к доксициклину и ципрофлоксацину не выявляли.

Вышеизложенное определило необходимость проведения параллельного исследования кодирования генотипических маркеров резистентности или R-генов у выделенных штаммов с изученными фенотипическими характеристиками устойчивости к антибиотикам (таблица 29).

Таблица 29 – Генотипическая характеристика маркеров резистентности к антибактериальным химиопрепаратам выделенных видов микробов

(количество штаммов – абс/%)

R-ген Вид	Bla DHA	CTX-M	Erm	Mef	Van A,B	MecA	Tet M	Tet Q	INT
<i>P. gingivalis</i> (n=9)	2 (22,2)	2 (22,2)	3 (33,3)	4 (44,4)	3 (33,3)	1 (11,1)	3 (33,3)	1 (11,1)	3 (33,3)
<i>P. intermedia</i> (n=13)	1 (7,7)	1 (7,7)	7 (53,9)	8 (61,5)	3 (23,1)	0 (0)	3 (23,1)	0 (0)	7 (53,9)
<i>Klebsiella spp.</i> (n=8)	1 (33,3)	1 (12,5)	1 (12,5)	3 (37,5)	2 (25,0)	0 (0)	2 (25,0)	1 (12,5)	1 (12,5)
<i>S. sanguinis</i> (n=9)	5 (55,5)	2 (22,2)	3 (33,3)	7 (77,8)	4 (44,4)	2 (22,2)	4 (44,4)	1 (11,1)	3 (33,3)
<i>S. salivarius</i> (n=7)	0 (0)	1 (14,3)	1 (14,3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (14,3)
<i>Enterococcus spp.</i> (n=5)	0 (0)	1 (20,0)	1 (20,0)	0 (0)	1 (20,0)	1 (20,0)	1 (20,0)	0 (0)	1 (20,0)
<i>Staphylococcus spp.</i> (n=9)	0 (0)	2 (22,2)	1 (11,1)	4 (44,4)	3 (33,3)	1 (11,1)	3 (33,3)	2 (22,2)	1 (11,1)
Итого (n=57)	9 (15,8)	10 (17,5)	17 (29,8)	26 (45,6)	16 (28,1)	5 (8,8)	16 (28,1)	5 (8,8)	17 (29,8)

По результатам ПЦР было установлено, что представители анаэробных грамотрицательных пародонтопатогенных видов обладают довольно широким набором генетических маркеров резистентности (рисунок 29). Так, у *P. gingivalis* были выявлены в пределах от 22 до 44% для бета-лактамных химиопрепаратов и большинства других препаратов, применяемых при системной (или местной) химиотерапии пародонтита (макролиды, линкосамиды, гликопептиды). Показатель резистентности к тетрациклинам оказался ниже – 11% для гена **TetQ**, 33 % – для **TetM**, а также для интегронов (INT). У другого пародонтопатогенного вида – *P. intermedia* R-гены выявлены несколько чаще – до 54-61 %, в том числе к макролидам и линкосамидам. Показатель резистентности к тетрациклинам, напротив, оказался существенно ниже – 0 % для гена **TetQ**, 23 % – для **TetM**, но был высоким для интегронов (53,9 %).

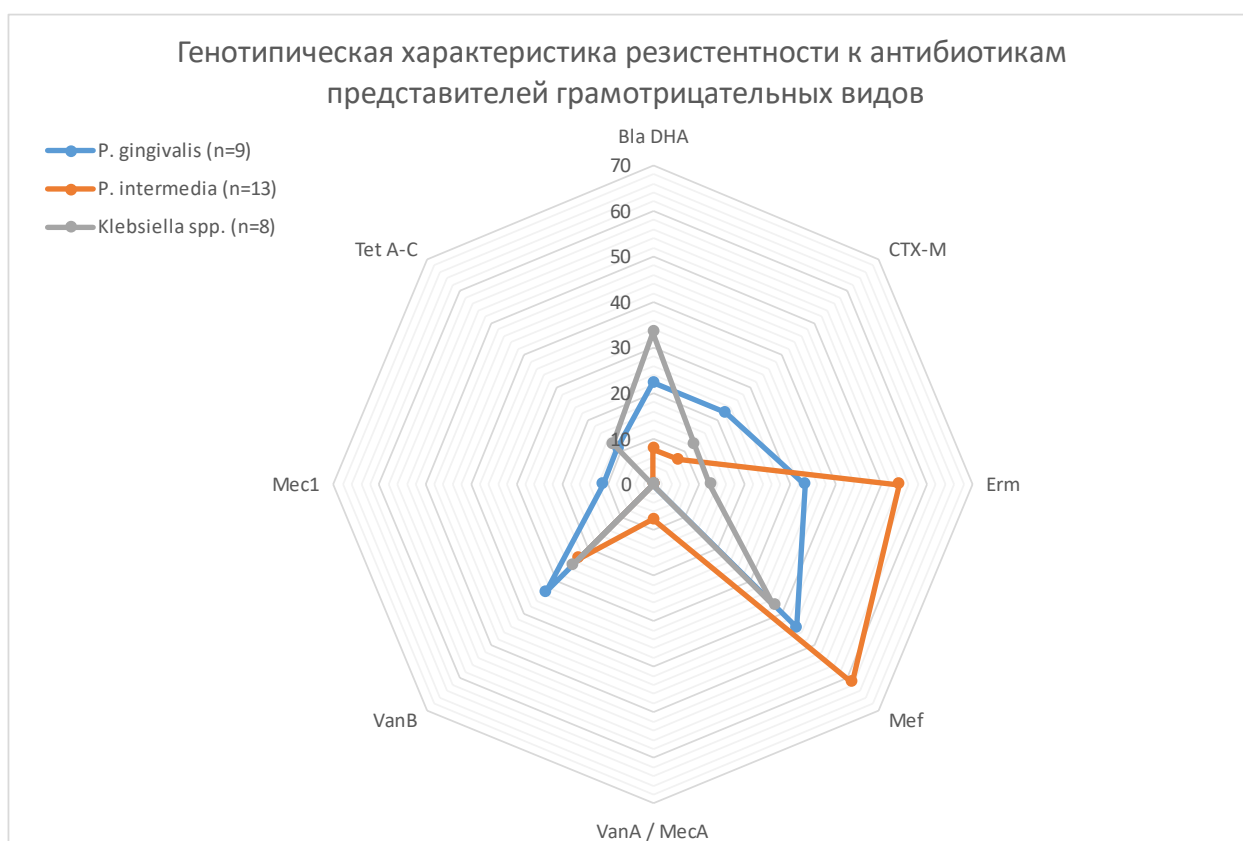


Рисунок 29 – Генетические маркеры резистентности к антибиотикам представителей грамотрицательных видов полости рта

Из грамположительных видов, потенциально являющихся этиологическим фактором воспаления, наиболее широкий спектр маркеров резистентности выявлен у *S. sanguis* от 22 до 77 % – для бета-лактамных химиопрепаратов и большинства других препаратов, применяемых при системной (или местной) химиотерапии пародонтита (макролиды, линкосамиды, гликопептиды). Показатель резистентности к тетрациклинам, как и у грамотрицательных штаммов был ниже – 11% для гена Tet Q, 44 % – для Tet M, а также для интегронов (33%). Близкие показатели уровня устойчивости отмечены у *Staphylococcus spp.*, существенно ниже – у другого орального стрептококка – *S. salivarius* (не более 14 %, причём для единичных генов) и *Enterococcus spp.* (не более 22 %, однако, для большинства генов) (рисунок 30).

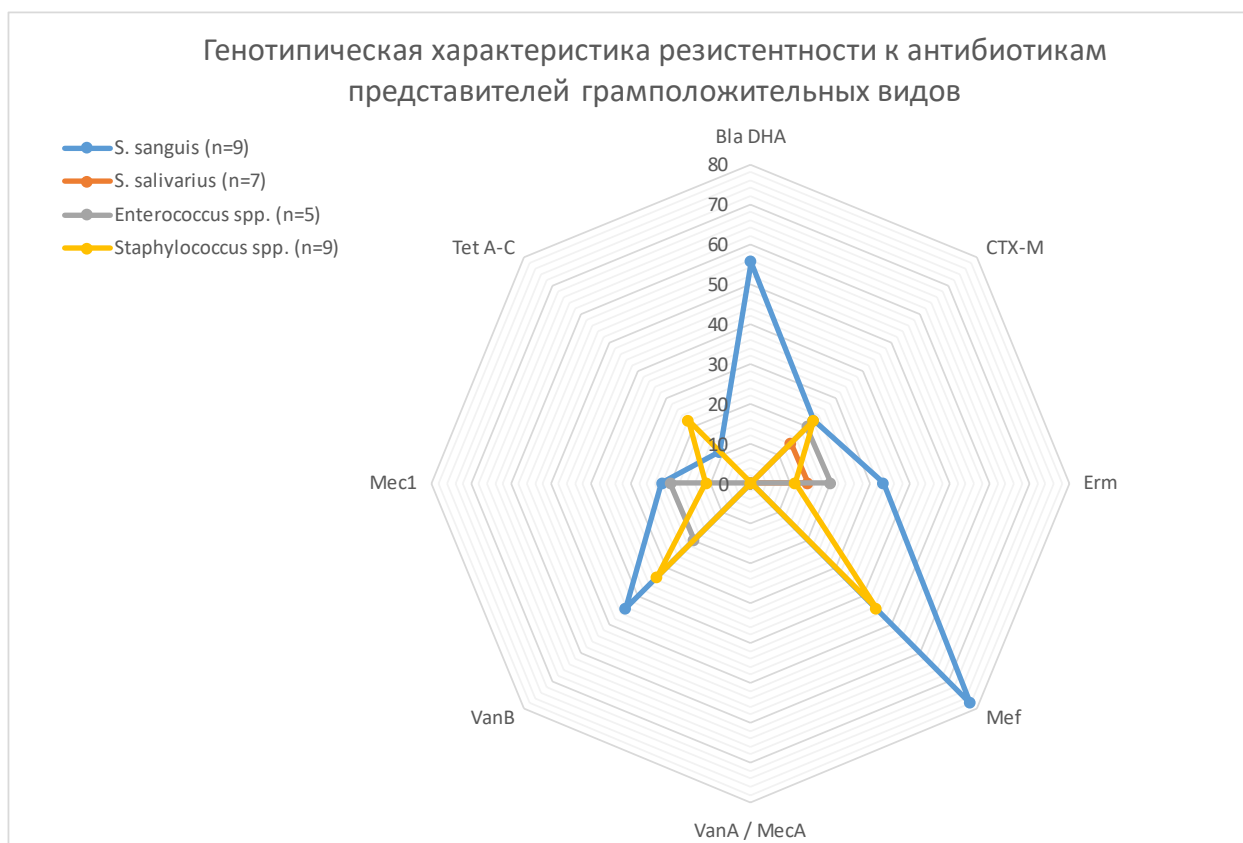


Рисунок 30 – Генетические маркеры резистентности к антибиотикам представителей грамположительных видов полости рта

Итоговые (суммарные для всех штаммов) результаты оценки генотипических маркеров резистентности (см. таблицу 30) показывают, что

частота выявления маркеров резистентности к бета-лактамам была относительно невысокой и составила 15-17%. Более высокой была частота выявления маркеров для линкосамидов, макролидов, а также гликопептидов – 28-45 %. Выявление генов резистентности к тетрациклинам было минимальным для маркерного гена Tet Q – 8,8 %, и в 3 раза выше для Tet M и INT – 28 и 29% соответственно.

Таким образом, полученные результаты диско-диффузионного метода в сочетании с результатами ПЦР-детекции генов резистентности позволили нам обосновать рациональный алгоритм антибактериальной химиотерапии при проведении пародонтологического лечения пациентов, основанный на сочетании профессиональной гигиены полости рта с последовательным применением курсов амоксициллина / клавуланата натрия для блокирования бета-лактамазопозитивных штаммов, или курсов доксициклина в форме «Солютаб» (или ципрофлоксацин, как альтернативный препарат).

4.3. Мониторинг микробиологических параметров в процессе пародонтологического лечения пациентов групп сравнения

Выбор антибиотика для антибактериальной химиотерапии в комплексном лечении пародонтита является довольно сложной задачей ввиду широкого распространения резистентности как среди пародонтопатогенных анаэробных, так и аэробных видов микроорганизмов, о чём свидетельствует высокая частота выявления генов резистентности, показанная в настоящем исследовании.

При оценке чувствительности к дискам 4 мг/мл DO и АМС резистентных клинических изолятов, выделенных до начала пародонтологического лечения, практически не выявляли (рисунок 31). Средний показатель (%) микроорганизмов, устойчивых к 4 мг/мл DO, в 3-х группах сравнения мониторировали в установленные контрольные сроки.

В начале исследования (исходные показатели) между группами не было отмечено никаких существенных различий в величине среднего процента устойчивых штаммов, хотя для пациентов в контрольной группе (получавших

только процедуру SRP) был характерен наиболее низкий показатель (7 %) устойчивых штаммов. Через один месяц на фоне проводимого пародонтологического лечения, сопровождавшегося системным применением антибиотиков разных групп – Do и АМС, уже определялись существенные различия между группами ($p=0,015$), которые далее (через 6 месяцев) нарастали ($p=0,023$; тест Крускала – Уоллиса). У пациентов группы 1 (получавших системное лечение доксициклином), установлена существенно более высокая частота устойчивых микроорганизмов, чем в двух других группах, через 1 неделю после терапии, в то время как группа, проходящая лечение амоксициллин/клавуланатом, демонстрировала статистически достоверный наименьший процент устойчивых штаммов через 6 месяцев. Через 3 и 6 месяцев частота выявления устойчивых штаммов к доксициклину в группе 1 была достоверно выше по сравнению с другими группами. В тоже время на 12 месяц исследования различия между группами 2 и 3 не были статистически значимыми ($p>0,05$).

Как видно из представленных данных на рисунке 31, средний процент устойчивых штаммов не претерпел значимых различий в образцах материала пациентов в контрольной группе 3 (без антибиотикотерапии) в течение всего периода наблюдений ($p=0,582$; тест Фридмана). Напротив, пациенты, получавшие системное лечение антибиотиками, показали заметное увеличение процента устойчивых штаммов через 1 месяц (особенно выраженное в группе 1, что объяснимо, так как использовали соответствующий класс фармпрепаратов – тетрациклины) и постепенное возвращение на исходный уровень после терапии, продолжавшейся в течение одного года ($p=0,147$; тест Фридмана).

Значительные изменения в течение всего времени обследования наблюдали также и в группе 2, получавшей лечение антибиотиком другой группы (амоксициллин/клавуланат). Средний процент устойчивых микроорганизмов повысился в группе 2 приблизительно до 43 % через 1 месяц, затем значительно упал ниже исходного уровня через 6 и 12 месяцев после лечения ($p=0,001$; тест Фридмана).

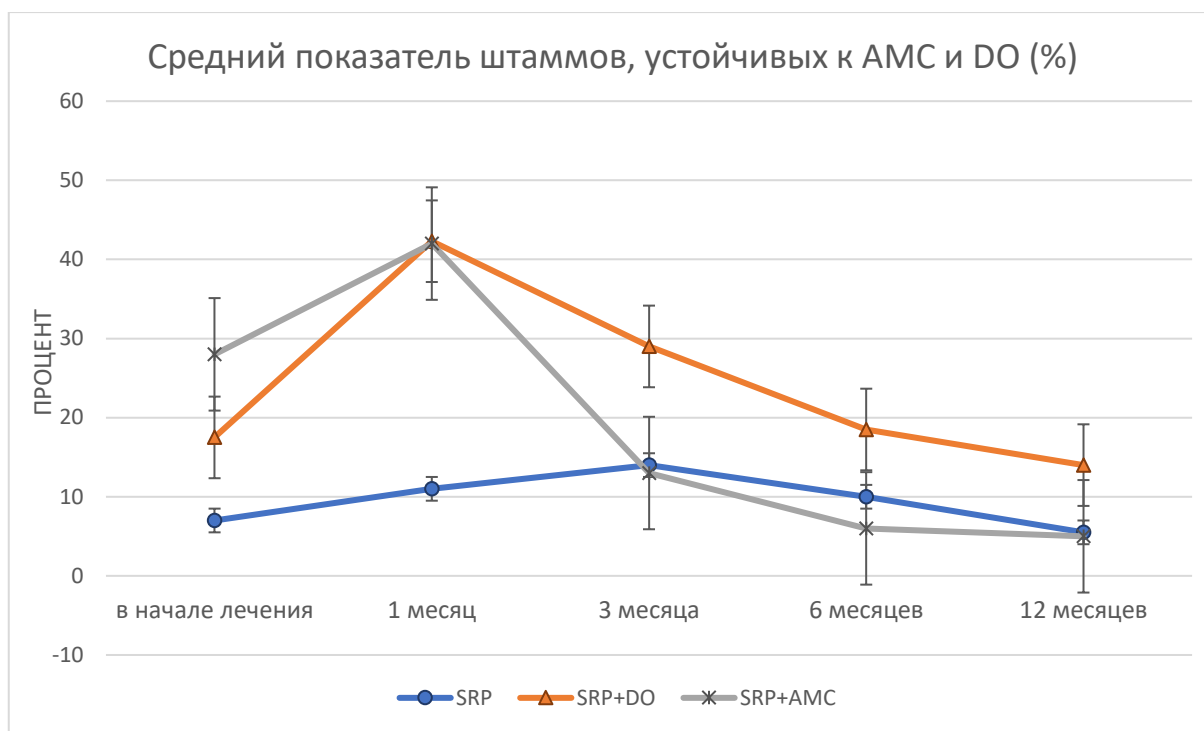


Рисунок 31 – Динамика среднего показателя штаммов (суммарно), устойчивых к 4 мг/мл DO и AMC в образцах бляшек у пациентов из группы 1 (процедура полировки поверхности корней + Do), группы 2 (процедура полировки поверхности корней + системное лечение AMC), группы 3 (только процедура полировки поверхности корней) в начале лечения (0), через 1 месяц, через 3, 6 и 12 месяцев.

Через один год, после проведённого комплексного лечения мы провели выборочный контроль динамики показателей резистоста пародонтопатогенов I порядка. При этом было установлено, что представители грамотрицательной пародонтопатогенной микробиоты I порядка *T. forsythia* и *A. actinomycetemcomitans* не были обнаружены ни в одной из групп сравнения.

Напротив, устойчивые штаммы ведущего пародонтопатогенного вида I порядка *P. gingivalis* (рисунок 32) были выявлены повторно в 11,1% в группе 1, получавшей системное лечение доксициклином, и также в группе 2, получавшей системное лечение амоксициллина/клавуланатом, но в 2 раза чаще (22,3 % случаев) у пациентов в группе 3 без антибиотикотерапии, однако различия были недостоверны ($p \geq 0,05$).

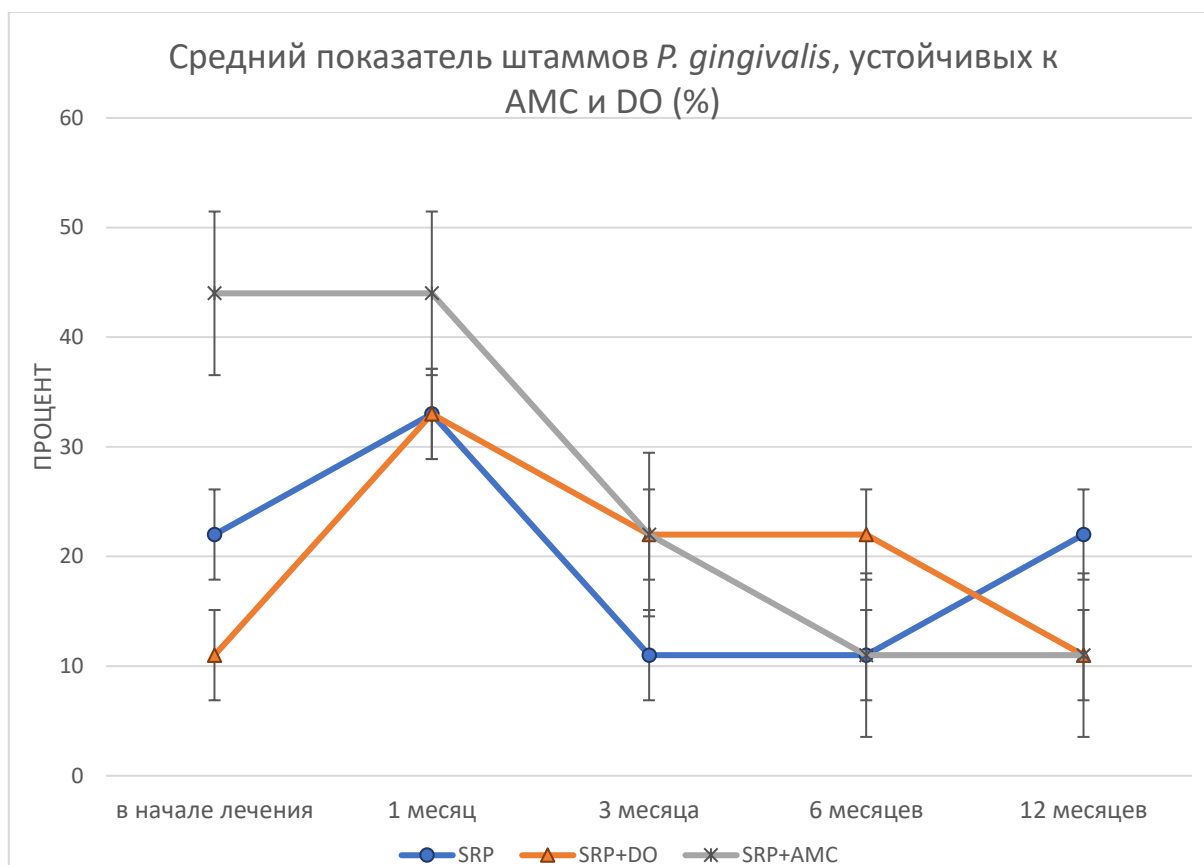


Рисунок 32 – Динамика среднего показателя штаммов *P. gingivalis*, устойчивых к 4 мг/мл DO и АМС в образцах бляшек у пациентов из группы 1 (процедура полировки поверхности корней + Do), группы 2 (процедура полировки поверхности корней + системное лечение АМС), группы 3 (только процедура полировки поверхности корней) в начале лечения (0), через 1 месяц, через 3, 6 и 12 месяцев.

В тоже время устойчивые штаммы ведущего представителя грамположительной микробиоты рта – *S. sanguis* оказались преобладающими при лечении амоксициллина/клавуланатом (33,3 %), что оказалось в 3 раза выше, чем в контрольной группе и при лечении доксициклином ($p \leq 0,05$) (рисунок 33).

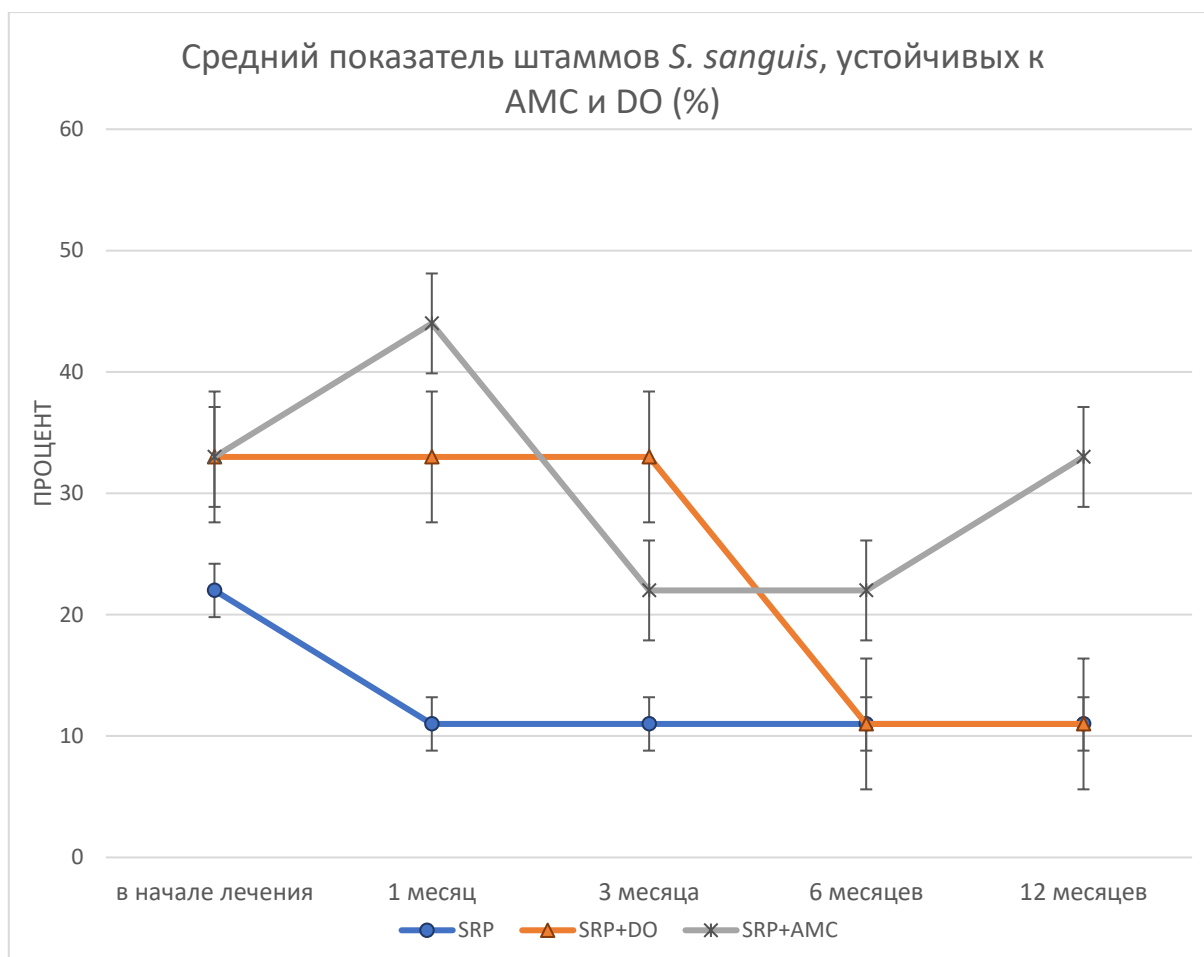


Рисунок 33 – Динамика среднего показателя штаммов *S. sanguis*, устойчивых к 4 мг/мл DO и АМС в образцах бляшек у пациентов из группы 1 (процедура полировки поверхности корней + Do), группы 2 (процедура полировки поверхности корней + системное лечение АМС), группы 3 (только процедура полировки поверхности корней) в начале лечения (0), через 1 месяц, через 3, 6 и 12 месяцев.

Существенные отличия за весь период наблюдения явно видны, если сравнить показатели через 1 месяц и через 1 год. Выявленные различия, на наш взгляд, можно объяснить сопряжённостью генетических механизмов передачи R-генов резистентности при селекционном отборе плазмид или других мобильных генетических элементов, которые могут нести R-гены к другим препаратам, различиями этих механизмов у грамположительных и грамотрицательных бактерий.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Сопrotивляемость бактериальных патогенов к антибиотикам, или антибиотикорезистентность, стала глобальной угрозой для здоровья человека [88]. Этот показатель варьирует в разных странах и регионах, и зависит от использования антибиотиков, климата, вакцинации и миграции [135, 148, 176]. В России проводились многоцентровые микробиологические исследования для анализа антибиотикорезистентности *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae* и *Moraxella catarrhalis* с 1999 по 2018 годы. Используя данные этих исследований и «Карт антибиотикорезистентности России», выявлены тенденции и определены эффективные антибиотики для борьбы с респираторными инфекциями. В настоящее время самыми эффективными антибиотиками являются амоксициллин / амоксициллин+клавулановая кислота, парентеральные цефалоспорины третьего поколения (цефотаксим и цефтриаксон) и респираторные фторхинолоны (левофлоксацин и моксифлоксацин). В последнее время отмечается увеличение уровня антибиотикорезистентности основных возбудителей респираторных инфекций, включая резистентность *S. pyogenes* к макролидам, увеличение числа штаммов *H. influenzae*, резистентных к аминопенициллинам и продуцирующих β -лактамазы, а также повышение уровня резистентности пневмококков к макролидам и распространение штаммов *S. pneumoniae* с пенициллинрезистентностью в некоторых регионах. Регулярный эпидемиологический мониторинг уровня антибиотикорезистентности является необходимым в России [78].

Рациональным методом применения антибиотиков для лечения хронического генерализованного пародонтита является быстрое подавление колонизационной активности пародонтопатогенных бактерий и создание оптимальных условий для активации нормальной резидентной флоры, не наносящих вреда макроорганизму. Тем не менее, из-за чрезмерного использования, а также неправильного использования антибиотиков, во всем

мире сопротивление микробиоты к антибиотикам становится серьезной медицинской проблемой [15, 52, 59, 270].

В последние два десятилетия прошлого века в большинстве случаев применения антибиотиков для лечения воспалительных заболеваний пародонта использовалась тетрациклиновая группа [14, 16, 263, 270], однако в дальнейшем отмечены случаи высокой частоты резистентности к данному препарату [256].

Как свидетельствуют данные литературы, полученные в многочисленных исследованиях на рубеже XX - XXI веков устойчивость к тетрациклинам повысилась у микробиоты, выделенной из пародонтальных карманов и СОР [272]. По сообщениям некоторых исследователей данная проблема имеется и может быть одной из причин неудачного лечения пародонтита с помощью этого препарата, хотя известны случаи неудачного лечения и с использованием других антибиотиков [132, 220, 276].

Учитывая это в рамках данного исследования (в течение 1 года) мы изучили изменения устойчивости к двум основным антибактериальным препаратам в микробиоте, выделенной из образцов биопленки десен пациентов, проходящих лечение от пародонтита при системном назначении доксициклина в форме «Солютаб» или амоксициллина/клавуланата в сочетании с терапевтической процедурой SRP.

Интересным и новым явлением, наблюдаемым для обоих протоколов антибиотиков, проверенных в этом исследовании, было повышение формирования биопленки с участием *A. actinomycetemcomitans* в ответ на более низкие концентрации антибиотика. Аналогичное явление увеличения биомассы ранее было описано для вновь образованной биопленки *Staphylococcus epidermidis* в присутствии ванкомицина [141]. Авторы предположили, что это было из-за утолщения стафилококковой клеточной стенки в ответ на антибиотик. Альтернативным объяснением является то, что воздействие низких концентраций ванкомицина влияет на экспрессию генов, участвующих в биопленке. В поддержку этой гипотезы говорит тот факт, что

субингибирующие концентрации тетрациклина усиливали экспрессию оперона *icaADBC*, приводящего к синтезу полисахаридного образования межклеточного адгезина и биопленки *S. epidermidis* [225]. Следовательно, возможно, что антибиотики, протестированные в настоящем исследовании, имеют аналогичный эффект на экспрессию генов *A. actinomycetemcomitans*, которые участвуют в формировании биопленки.

Ввиду беспорядочного применения тетрациклина в России, как и во многих других странах, мы рассчитывали на более высокий процент микроорганизмов, устойчивых к тетрациклину в нашей стране до применения антибиотиков. Однако наши данные показали, что начальный средний процент штаммов, устойчивых к 4 мг/мл тетрациклину, составляет от 8% до 15% во всех трех группах. Эти результаты соответствуют предыдущим исследованиям J.M. Lacroix и C.B. Walker (1995), которые также выявили средний процент штаммов в размере 12-15% [199]. И наоборот, другие исследования, в период предпочтения тетрациклинов, продемонстрировали более низкий процент (1–7%) штаммов, устойчивых к тетрациклину, у здоровых пациентов, не страдающих пародонтитом, и у пациентов, страдающих пародонтитом, но не проходящих лечения антибиотиками [163, 164, 175, 271].

В настоящем исследовании мы проводили комплексную оценку фонового резистоста у двух групп больных хроническим генерализованным пародонтитом и группе практически здоровых стоматологических пациентов.

В результате, молекулярно-генетически было идентифицировано свыше 200 штаммов оральной микробиоты, выделенной от 90 больных и 30 здоровых субъектов, в том числе 57, выделенных при повторном исследовании на фоне лечения доксициклином (рисунок 34).

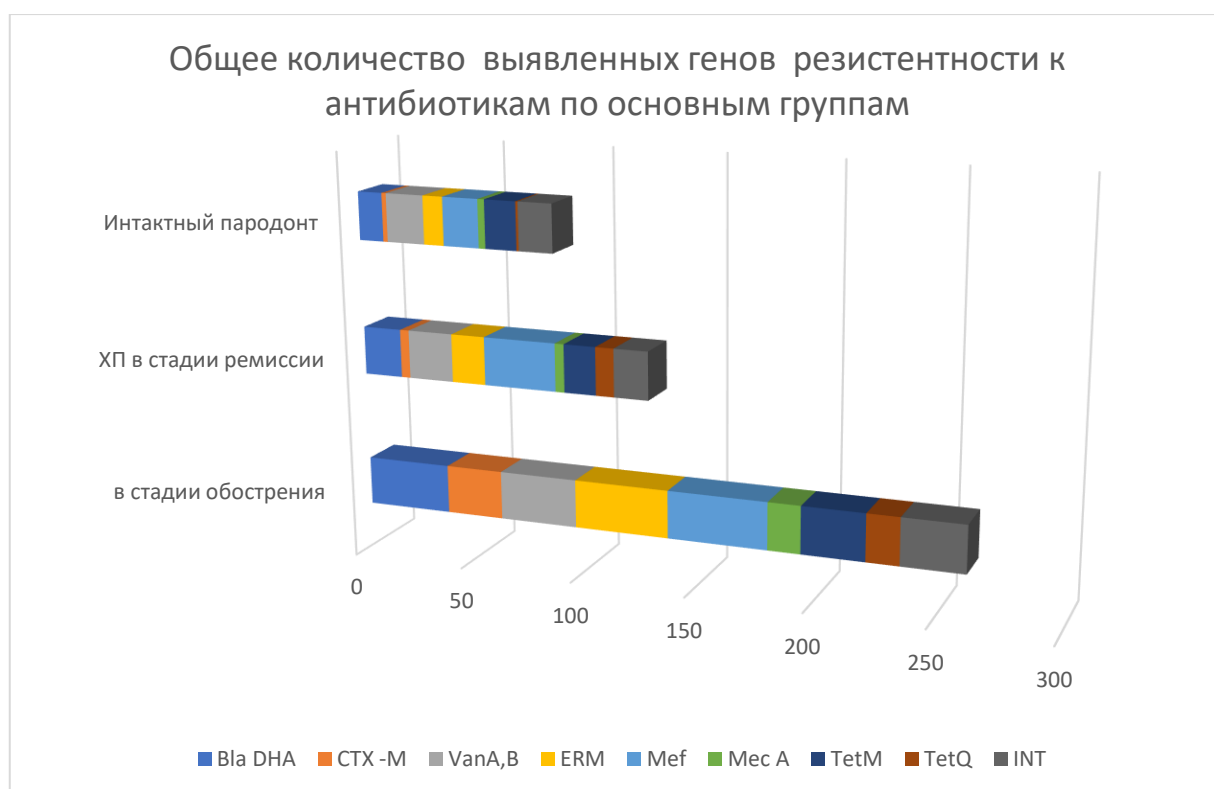


Рисунок 34 – Общая сравнительная частота выявления общих генетических маркеров резистентности к основным антибактериальным химиопрепаратам в группах пациентов с хроническим пародонтитом и практически здоровых

В результате исследования было установлено, что генетические маркеры резистентности к тетрациклинам встречаются реже, чем маркеры устойчивости к другим антибактериальным препаратам. В обеих группах сравнения (обострение и ремиссия ХП) выявлена множественная лекарственная устойчивость, охватывающая бета-лактамы, макролиды, ванкомицин, а также метронидазол. На этом фоне распространённость генов семейства Tet оказалась менее выраженной. Чаще всего определяли ген Tet M (34,7% при ХП в стадии обострения, 35% при ХП в стадии ремиссии), и примерно в 3 раза реже - Tet Q.

Количество бактерий, как в целом, так и устойчивых, по группам 1, 2 и 3 соответственно, закономерно снижалось, но при ХГП было в 10-12 раз выше, чем у практически здоровых. Это согласуется с исследованиями [124, 145], в

которых бактериальная нагрузка в пародонтальном кармане у пациентов с пародонтитом была выше, чем у здоровых людей с интактным пародонтом.

Учитывая изменения в профиле устойчивости после лечения, в нашем исследовании мы не наблюдали в итоге (через 1 год) достоверного увеличения доли устойчивых к доксициклину штаммов после системного назначения антибиотика, как это было, например, зафиксировано другими авторами в эпоху широкого применения препаратов тетрациклина в пародонтологии на рубеже XX-XXI веков [163, 164, 175, 272]. Интересно, что группы, получавшие местную терапевтическую тетрациклиновую процедуру, по данным этих исследователей, показали существенное сокращение среднего числа штаммов, устойчивых к тетрациклину, в то время как группа, получавшая тетрациклин системно, дала наивысший процент при наблюдении в течение года после проведённого лечения. На наш взгляд, эти данные являются весьма дискуссионными.

Существует ряд принципов антибактериальной терапии, которые были разработаны клиническими микробиологами и химиотерапевтами. Эти принципы предписывают учитывать различные факторы при назначении антибиотиков, поскольку эффективность терапии может зависеть от многих моментов. Одним из таких факторов является уровень резистентности ведущих патогенов в конкретном регионе России. Не менее важным фактором являются индивидуальные риски, в том числе - наличие у больного резистентной флоры, включая устойчивость к лекарствам и β -лактамазопродуцирующим возбудителям. Учитывая все эти моменты, можно повысить эффективность антибактериальной терапии и предотвратить возможные проблемы при лечении [44, 53, 92].

Соблюдение принципов антибактериальной терапии помогает избежать различных проблем, связанных с неэффективностью лечения и увеличением количества случаев резистентности. Кроме того, правильный выбор антибиотиков может существенно повысить эффективность лечения и ускорить

выздоровление пациента. Поэтому врачи всегда должны учитывать множество факторов при выборе антибиотиков для пациентов [43, 89].

Исследования указывают, что воздействие сдерживающих инфекцию концентраций тетрациклина, особенно в течение длительных периодов времени, представляют повышенный риск развития устойчивости у бактерий [195]. Предполагается, что после системного применения тетрациклина менее высокие концентрации препарата в других областях полости рта, таких как язык, щеки, миндалины, наддесневые бляшки и слюна [243], могут способствовать укреплению устойчивых микроорганизмов в этих биотопах. Следовательно, здесь могут поселиться микробы, способные успешно сопротивляться лечению тетрациклином, что может привести к восстановлению патогенных микроорганизмов пародонта [246]. Как считают Feres M. и соавт. этот процесс может быть связан со значительным повышением устойчивости к тетрациклину таких бактерий, как *Streptococcus spp.*, *Veillonella spp.* и *Actinomyces spp.* благодаря их высокому уровню естественной устойчивости [163].

С другой стороны, стоит отметить, что в некоторых случаях амоксициллин/клавуланат может оказаться наиболее эффективным в снижении доли устойчивых микроорганизмов в пародонтальном кармане. Это связано с высокой концентрацией антибиотика, которая создается при использовании данного препарата. Тем не менее, результаты исследований показали, что при профессиональной гигиене с полировкой поверхности корней не наблюдается значительных изменений в доле тетрациклин-устойчивых микроорганизмов у пациентов. Хотя через 3 месяца возможно наблюдается небольшое повышение доли стабилизирующих микроорганизмов [154].

В нашем исследовании, тетрациклин-устойчивые штаммы идентифицировали с помощью ПЦР-диагностики со штаммами, выделенными в условиях диско-диффузионной селекции на среде, содержащей 4 мг/л доксициклина, не выявлено существенных отличий у разных групп. Как до, так и после лечения доминирующими микроорганизмами были *Streptococcus spp.*,

P. intermedia, *P. gingivalis*, *P. micros*, *Actinomyces spp.* и *A. actinomycetemcomitans*.

У здоровых пациентов с интактным пародонтом, кроме этого, определяли *V. parvula*, *S. salivarius*, *Neisseria spp.* Полученные результаты в целом соответствуют данным, сообщаемым в исследованиях различных авторов [122, 163, 175, 226].

Согласно нашим исследованиям, природная устойчивость к тетрациклину у микроорганизмов *Actinomyces spp.*, *Streptococcus spp.* и *Veillonella spp.* обусловлена наличием генетических факторов резистентности (типа Tet M, Q и INT). Это в известной степени соответствует предположению, что тетрациклин оказывает благотворное влияние при лечении пародонтита, благоприятствуя колонизации поддесневого ложа микробиотой, способствующей нормализации микробиоценоза в данной области [272].

Чтобы предотвратить образование биопленки, необходимо нарушить начальные этапы процесса, такие как адгезия планктонных клеток и образование микроколоний. Неспецифические методы, например, изменение поверхности для прикрепления бактерий, могут использоваться для ингибирования процесса адгезии. Один из перспективных способов борьбы с биопленками — это нарушение структурной целостности биопленки с последующим высвобождением бактерий, которые могут быть подвергнуты антибактериальному воздействию, такому как биоцидные препараты или антибиотики, а также воздействию ферментами [35].

В наших исследованиях при дополнительной шлифовке, предотвращающей фиксацию биопленки, лечение доксициклином и амоксиклавом было более эффективным в отличие от исследований отоларингологии, где применялись только эти антибиотики [78].

С другой стороны, существуют исследования, сообщающие о резистентности к тетрациклину пародонтопатогенных микроорганизмов, таких как *Peptostreptococcus*, *Prevotella*, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Selenomonas* и

Eubacterium, которые могут вызывать воспалительные заболевания челюстно-лицевой области [199, 200, 238].

Лечение инфекций верхних дыхательных путей становится все более проблематичным в связи с повышением устойчивости возбудителей болезни к макролидам. В связи с этим, использование макролидов не рекомендуется в качестве первого выбора при эмпирической терапии. Вместо этого, амоксициллин следует назначать только пациентам, которые не имеют факторов риска заражения лекарственно-устойчивыми и/или β -лактамазапродуцирующими возбудителями. В случае наличия указанных факторов, обычно используется сочетание амоксициллина и клавулановой кислоты в качестве препарата выбора [78].

Интересным фактом, наблюдаемым в нашем исследовании, стало высокое преобладание предполагаемых тетрациклин-устойчивых патогенных микроорганизмов (включая *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* и *P. intermedia*) до назначения антибиотика для лечения. Хотя некоторые исследователи описывали относительно высокую в лабораторных условиях восприимчивость микроорганизмов вида *A. actinomycetemcomitans* к тетрациклину [271], другие авторы обнаружили повышенное развитие устойчивости этого вида микроорганизмов [240]. Кроме того, в штаммах *Actinobacillus* и *P. gingivalis* обнаружено множество генов, чувствительных к тетрациклину, включая tet(B), tet(M), tet(Q) и новый tet(W) [122, 234].

Данная информация противоречит результатам других исследований, которые не обнаружили наличия устойчивых штаммов бактерий *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia* или *P. gingivalis* до и после применения местного и системного лечения тетрациклином. Однако, возможно, это можно объяснить тем, что первые работы в данной области были проведены до широкого применения тетрациклиновых препаратов [163, 175, 205, 272].

Весьма показательными в этом плане являются исследования последних лет, проведённые в Испании, в которых установлен умеренный уровень резистентности к тетрациклину, причём частота обнаружения тех или иных

генов семейства *tet*, а также интеграз *INT* сильно варьировала. Хотя процентное соотношение всех устойчивых к тетрациклину стрептококков было одинаковым в сравниваемых группах субъектов (ХП в стадии обострения и группа с интактным пародонтом), различия наблюдались на уровне видов *S. sanguinis*, *S. oralis*, которые в нашем исследовании были значительно более распространены при ХП в стадии обострения, и ранее были связаны с комменсальными биопленками [121, 144, 159, 168, 194, 233, 268], однако роль этих видов при пародонтите остаётся открытой [119, 283].

В последние годы много обсуждается стабилизирующая роль бактерий *Gemella haemolysans*, которые были описаны метагеномными исследованиями, как один из первых ранних колонизаторов биопленки полости рта [183, 193] и, следовательно, как часть стабилизирующей микробиоты [170].

В наших исследованиях изоляты родов *Porphyromonas* и *Prevotella* встречались с большей частотой в группе с ХП в стадии обострения, чем ремиссии (в 2 раза), однако генетический профиль их резистентности был сходным. Вместе с тем, обнаружение, хоть и немногочисленных, но устойчивых к тетрациклинам представителей этих видов, наблюдаемое преимущественно при ХП в стадии ремиссии, заслуживают упоминания, поскольку в большинстве отчетов основное внимание уделяется именно этим микроорганизмам [156, 201].

До настоящего времени было довольно мало известно о распространенности устойчивости у других пародонтопатогенных видов II порядка, в частности представителей рода *Fusobacterium* и близких к ним *Filifactor alocis*.

По нашим данным для них была характерна устойчивость не только к макролидам (что известно давно), но также и к бета-лактамам, о чём свидетельствовали выявленные гены *Bla*, кодирующие бета-лактамазы расширенного спектра. Напротив, детерминант, кодирующий резистентность к тетрациклинам не выявлено, что объясняет отсутствие этих видов при повторных исследованиях в процессе лечения доксициклином. В единичных

исследованиях показано, что эти организмы чувствительны к тетрациклинам, при концентрациях менее 8 мкг/мл [197, 266, 269].

В цитируемой нами работе испанских авторов показано, что гены tet (W), tet (O), tet (32), tet (B), tet (Q) и tet (K), более распространены среди представителей родов *Eubacterium*, *Gemella*, *Haemophilus*, *Veillonella*, *Butyrivibrio* и *Prevotella*, которые составляют комменсальную часть микробиоты полости рта (согласно базе данных генов устойчивости к тетрациклинам, доступной на <http://faculty.washington.edu/marynr/>, об этом ранее не сообщалось). Например, обнаружение гена tet (B) у стрептококков, как недавно описано [130], или нового tet (Q) гена, описанные в ротовой среде [273], показывают, что еще многое предстоит раскрыть в отношении распространения генов устойчивости к тетрациклинам.

Так, например, показано, что распространенность гена tet (M) среди практически здоровых людей в нашем исследовании была примерно в 2 раза ниже (37% против 65,85%), чем было описано ранее [160, 185, 269]. Тем не менее, распространенность этого гена при пародонтите в стадии обострения соответствовала тому, что другие авторы обнаружили у пациентов из Греции и США [142, 160, 185, 191], а также процентным показателям, обнаруженным у пациентов из Доминиканской Республики [151].

Все эти особенности могут быть объяснены географическими ограничениями популяций, участвующих в исследованиях, или методологическими подходами, такими как объединение образцов, ДНК или различиями в критериях отбора изолятов. Как обсуждалось ранее, виды стрептококков значительно различались у здоровых и больных ХП, что может быть причиной различий в распространенности tet (M) между сравниваемыми группами.

Большинство изолятов, устойчивых к тетрациклину, полученных в нашем исследовании, показали устойчивость также к другим антибиотикам. Устойчивость к двум противомикробным препаратам, помимо тетрациклина, была наиболее распространенной картиной, и большая часть

этой множественной лекарственной устойчивости была связана с присутствием транспозонов типа INT [150].

Как свидетельствуют данные литературы, транспозоны семейства Tn916/1545 часто встречаются в микробиоте полости рта [237]. Эти транспозоны обычно несут гены устойчивости к тетрациклинам, а в некоторых случаях и гены, которые придают устойчивость к макролидам и/или аминогликозидам [150, 236]. Чтобы оценить наличие этих транспозонов среди изолятов, мы использовали ПЦР для скрининга гена INT, который кодирует интегразу, расположенную на 3'-концах этих транспозонов [234], гена tet(M) и гена erm(B), который придает устойчивость к макролидам и часто встречается в этих конъюгативных элементах [244]. Результаты показали высокую распространенность обоих генов в обеих группах, хотя они были значительно более распространены у больных в стадии обострения.

Уровни множественной лекарственной устойчивости были высокими и сходными в обеих популяциях, подтверждая, что устойчивая к тетрациклину поддесневая микробиота является важным резервуаром устойчивости к противомикробным препаратам, что может быть особенно заметно у субъектов, которые мало получали антибиотикотерапию или не получали ее вообще. Высокая распространенность изолятов, устойчивых к антибиотикам, которые обычно не используются и, следовательно, не подвергаются селективному давлению, может быть связана с низкими затратами на приспособляемость, связанными с приобретением и поддержанием некоторых мобильных генетических элементов, несущих гены устойчивости к антибиотикам [228, 235].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, можно заключить, что системная антибиотикотерапия (доксциклином, группа тетрациклинов, и в меньшей степени амоксициллином/клавуланатом, группа бета-лактамов) в сочетании с профессиональной гигиеной и полировкой корней зубов SRP приводит в начале к нестойкому повышению процента устойчивых микроорганизмов, вероятно, из-за селекции по природе своей устойчивых видов микроорганизмов, обитающих в ротовой полости, которое нормализуется через год (возвращается к исходному уровню).

Кроме того, высокое преобладание устойчивых пародонтопатогенных микроорганизмов до начала лечения предполагает, что доксициклин следует назначать с осторожностью и ограничить его применение теми пациентами, которые не поддаются обычному лечению или представляют более агрессивную форму заболевания. Тем не менее, обе лечебные процедуры антибактериальной химиотерапии со временем приводили к уменьшению устойчивых пародонтопатогенных микроорганизмов. В частности, присутствие устойчивых микроорганизмов вида *A. actinomycetemcomitans* существенно уменьшалось в группе, получавшей лечение амоксициллином/клавуланатом по сравнению с системной тетрациклиновой терапией. Использование амоксициллина/клавуланата следует признать одной из предпочтительных схем антибактериальной химиотерапии пародонтита в фазе обострения.

Однако применение доксициклина в форме «Солютаб» также следует считать вполне оправданным, так как до начала антимикробной терапии частота выявления генов, ответственных за резистентность к антибиотикам данной фармакологической группы существенно ниже, чем частота выявления генов резистентности к бета-лактамам антибиотикам. В пользу предпочтительного применения доксициклина говорит также способность препарата активно проникать в биоплёнки и создавать концентрации внутриклеточно, поэтому препарат эффективен при переходе в ремиссию.

ВЫВОДЫ

1. Сравнительный анализ фенотипических и генотипических маркеров резистентности приоритетных видов микроорганизмов, выделенных из биотопа пародонтального кармана, позволил сформировать популяционную базу данных усреднённого резистома на примере Московского региона Российской Федерации, для которого характерен относительно высокий уровень резистентности по генетическим маркерам CTX-M, blaDHA (15,8-17,5 %) и низкий, по TetA-C и Mec (до 8,8 %). Это позволило обосновать рациональный алгоритм выбора антибактериальной химиотерапии (амокксициллин/клавуланат натрия или доксициклин/соллютаб) в сочетании с проведением традиционного пародонтологического лечения пациентов. В Московском регионе определялась высокая частота выявления генов, кодирующих устойчивость к таким препаратам как макролиды и линкосамиды (29,8-45,6%). Микроорганизмы *Streptococcus spp.*, *Veillonella parvula*, *Peptostreptococcus*, *Prevotella intermedia* и *A. actinomycetemcomitans* доминировали среди устойчивых штаммов.
2. Оценка исходного пародонтологического статуса по установленным международным критериям до назначения антибактериальной химиотерапии (в комплексном лечении пациентов) показала, что он соответствовал хроническому пародонтиту средней степени тяжести в фазе обострения, а инфекционное происхождение процесса подтверждалось выделением из биотопа пародонтального кармана приоритетных пародонтопатогенов I порядка (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans*) и II порядка (*P. intermedia*, *P. micra*, *T. denticola*, *E. corrodens*, *F. nucleatum*), а также их консорциумов.
3. Оценка показателей мониторинга частоты выявления резистентности к применяемым антибиотикам в процессе пародонтологического лечения пациентов с использованием различных схем системной

антибактериальной терапии препаратов выбора - амоксициллин/клавуланат и доксициклин в форме «Солютаб», позволила выявить динамику изменения резистоста, характеризующуюся нарастанием частоты резистентности к тетрациклинам в большей степени, чем к амоксициллину/клавуланату ($p < 0,05$). Вместе с тем, после завершения химиотерапии показатели выявления резистентных штаммов выравнивались и уже на 6-м месяце статистически не отличались в группах сравнения ($p > 0,05$).

4. Пародонтологическое лечение с использованием различных схем системной антибактериальной терапии продемонстрировало более благоприятную динамику значений микробиологических параметров, статистически достоверно отличающуюся от контрольной группы, пациентам которой проводили только профессиональную гигиену с процедурой полировки корней зубов и орошением 0,12% раствором хлоргексидина.
5. При контроле резистоста, через один год после проведённого лечения, пародонтопатогены I порядка *T. forsythia* и *A. actinomycetemcomitans* не были обнаружены ни в одной из групп. Штаммы *P. gingivalis*, устойчивые к доксициклину или амоксициллину/клавуланату, были выявлены в единичных случаях и достоверно не отличались от контрольной группы.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Трудоемкость и специфичность молекулярно-генетического исследования имеют несомненные преимущества перед традиционным диско-диффузионным методом исследования. ПЦР позволяет быстро получить ответ и, исходя из полученных данных, назначить одну из альтернативных схем системной антибиотикотерапии (амоксциллин/клавуланат или доксициклин в форме «солютаб»).
2. Пародонтологическое лечение с использованием схем системной антибактериальной терапии должно быть обосновано результатами ПЦР-диагностики или диско-диффузионного метода определения чувствительности к антибиотикам. Для лабораторно обоснованного применения антибиотиков в комплексном лечении пародонтита следует внедрять в практику и более широко использовать определение генетических маркеров, кодирующих резистентность к бета-лактамам антибиотикам, макролидам, линкосамидам и тетрациклинам с помощью полимеразной цепной реакции.
3. При оценке результатов лабораторных исследований врач – стоматолог должен учитывать, что традиционный фенотипический метод определения чувствительности уступает по чувствительности и специфичности молекулярно-генетическому исследованию (ПЦР).
4. Применение доксициклина в растворимой лекарственной форме «Солютаб» при комплексном лечении воспалительных заболеваний пародонта рекомендуется проводить по схеме: 400 мг 1 раз в сутки в течение 10 дней.
5. Применение амоксициллина/клавуланата при комплексном лечении воспалительных заболеваний пародонта рекомендуется проводить по схеме: 875/125 мг 1 раз в сутки в течение 10 дней.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АБ – антибиотик
- АБТ – антибактериальная химиотерапия
- АФК – активные формы кислорода
- ИФА – иммуноферментный анализ
- ИБС – ишемическая болезнь сердца
- МПК – минимальная подавляющая концентрация
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- ПК – пародонтальный карман
- СКАТ – стратегия антимикробной химиотерапии
- ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания
- СД – сахарный диабет
- ФГ – фармгруппа
- ХП – хронический (генерализованный) пародонтит
- ХПО – хронический пародонтит в стадии обострения
- ХПР – хронический пародонтит в стадии ремиссии
- АМС – амоксициллин/клавуланат
- ДО – доксициклин/солютаб
- CAL – величина потери прикрепления (Clinical Attachment Loss)
- MRSA – метициллин-резистентный *Staphylococcus aureus*
- MRSE – метициллин-резистентный *Staphylococcus epidermidis*
- OD – оптическая плотность
- ОHI-S – индекс гигиены полости рта
- PBI – индекс кровоточивости (Papilla Bleeding Index)
- PI – пародонтальный индекс (Periodontal Index)
- PMA – папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс (Papillary-marginal-alveolar Index)
- SRP – Scaling and root planing
- VRE – ванкомицин-резистентный *Enterococcus spp.*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авдеев, С.Н. Аспирационная пневмония: современные подходы к диагностике и терапии / С.Н. Авдеев // Пульмонология. – 2009– № 2. – С. 5–19.
2. Авраамова, Т.В. Взаимосвязь воспалительных заболеваний пародонта с факторами риска развития сердечно-сосудистых заболеваний : автореферат дисс. ...кандидата медицинских наук: 14.01.14 / Авраамова Тамара Васильевна. – Москва, 2015. – 25 с.
3. Алшибая, М.М. Пародонтопатогенная микрофлора в атеросклеротической бляшке у пациента с сердечно-сосудистым заболеванием / М.М. Алшибая, М.В. Витович, Е.Н. Николаева, В.Н. Царев // Атеросклероз и дислипидемии. – 2019. – Т. 4, № 37. – С. 64–68.
4. Анисимова, Е.А. Антибиотикорезистентность лактобацилл: генетические детерминанты и возможные пути их распространения в кишечном микробиоме : автореферат дисс. ...кандидата биологических наук: 03.02.03 / Анисимова Елизавета Алексеевна. – Казань, 2021. – 25 с.
5. Апенченко, Ю.С. Микробиоценоз верхних отделов пищеварительного тракта у детей с ГЭРБ и хроническим гастроуденитом / Ю.С. Апенченко, В.М. Червинец, И.И. Иванова, Н.В. Басалаева, Е.А. Беляева // Клиническая лабораторная диагностика. – 2013. – № 4. – С. 40–43.
6. Арзуканян, А.В. Оптимизация протокола гигиенического ухода за полостью рта у пациентов с заболеваниями слизистой оболочки : автореферат дисс. ...кандидата медицинских наук: 14.01.14 / Арзуканян Алина Владимировна. – Москва, 2021. – 24 с.
7. Арутюнов, С.Д. Персистенция микробных биопленок на конструкционных материалах, используемых в практике ортопедической стоматологии, как фактор их биодеструкции / С.Д. Арутюнов, Е.В. Царева, Е.В. Ипполитов // Российская стоматология. – 2017. – Т. 10, № 1. – С. 66-67.

8. Атрушкевич, В.Г. Особенности микробиоценоза зубного налета у пациентов с агрессивным и хроническим генерализованным пародонтитом / В.Г. Атрушкевич, Е.А. Тихомирова, И.В. Зудина // Кремлевская медицина. Клинический вестник. – 2018. – Т. 1, № 2 – С. 88–97.
9. Базикян Э.А. Индексная оценка гигиенического состояния полости рта у больных с приобретенными пороками сердца до и после проведения операций на открытом сердце / Э.А. Базикян, М.А. Саркисян, Д.С. Ревазова // Хирург. – 2009. – № 3. – С. 54–60.
10. Балмасова, И.П. *Filifactor alocis* и его роль в этиологии хронического пародонтита / И.П. Балмасова, В.Н. Царев, С.Д. Арутюнов, Э.А. Бабаев // Стоматология. – 2020. – Т. 99, № 3. – С. 78–82.
11. Балмасова, И.П. Заболевания пародонта и атеросклероз: микрoэкологические, метаболические и иммунологические механизмы взаимосвязи / И.П. Балмасова, В.Н. Царев, Е.Н. Ющук, А.С. Доровских, Е.С. Малова, К.Г. Караков, К.С. Эльбекьян, С.Д. Арутюнов // Иммунология. – 2020. – Т. 41, № 4. – С. 370–380.
12. Балмасова, И.П. Микрoэкология пародонта. Взаимосвязь системных и локальных эффектов (монография) / И.П. Балмасова, В.Н. Царев, О.О. Янушевич, И.В. Маев, А.М. Мкртумян, С.Д. Арутюнов – М.: Практическая медицина, 2021. – 264 с.
13. Барер, Г. М. Особенности микробной колонизации десны при сочетанной патологии пародонта и сахарного диабета 1 типа / Г. М. Барер, В. Н. Царёв, Е. Н. Николаева, С. Рамин // «Cathedra» — стоматологическое образование. – 2004. – Т. 4, № 11 – С. 26–29.
14. Беркутова, И.С. Комплексное лечение хронического генерализованного пародонтита с применением современных антибактериальных препаратов : автореферат дисс. ...кандидата медицинских наук: 14.01.14 / Беркутова Ирина Сергеевна. – Москва, 2015. – 24 с.

15. Виноградова, К.А. Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам: резистомы, её объём, разнообразие и развитие / К.А. Виноградова, В.Г. Булгакова, А.Н. Полин, П.А. Кожевин // Антибиотики и химиотерапия. – 2013. – Т. 58, № 5-6. – С. 38–48.
16. Галабуева А.И. Дифференцированное применение антибиотиков в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита : автореферат дисс. ...кандидата медицинских наук: 14.00.21; 03.00.07 // Галабуева Аза Ильинична. – Москва, 2005. – 22с.
17. Герасимова, Л.П. Особенности состояния стоматологического и микробиологического статуса полости рта у лиц с воспалительными заболеваниями пародонта в зависимости от возраста / Л.П. Герасимова, И.Н. Усманова, И.Р. Усманов, Р.Ф. Хуснарязанова, М.А.М. АльКофиш // Уральский медицинский журнал. – 2017. – № 7. – С. 5–9.
18. Гонтарев, С.Н. Современные методы лечения пародонтита (обзор литературы) / С.Н. Гонтарев, И.С. Гонтарева, Р.А. Давтян, М. Ясин, Ю.С. Сумченко // Вестник новых медицинских технологий. – 2020. – № 5. – С. 8–16.
19. Горбунова, И.Л. Обоснование эффективности местной антибактериальной терапии в комплексном лечении больных хроническим генерализованным пародонтитом / И.Л. Горбунова. И.П. Ивашкеева, К.А. Ефименко Д.О. Колобова, А.А. Баранник, А.С. Дервянко // Уральский медицинский журнал. – 2018. – № 1. – С. 34–38.
20. Григорович, Э.Ш. Клинические варианты хронического генерализованного пародонтита, генетический полиморфизм и системная продукция воспалительных цитокинов / Э.Ш. Григорович, Е.Г. Поморгайло, Е.Ю. Хомутова, С.С. Степанов // Стоматология. – 2015. – № 5. – С. 11–17.
21. Григорович, Э.Ш. Особенности клинического течения хронического генерализованного пародонтита и полиморфизм генов ключевых

- воспалительных цитокинов IL-1 β , IL-1RN, TNF α , IL-4 // Э.Ш. Григорович // Уральский медицинский журнал. – 2015. – № 6 (129). – С. 26–32.
22. Григорян, В.А. Особенности клинического выбора антибактериальных средств терапии хронического генерализованного пародонтита по результатам микробиологического и молекулярно-генетического исследования / В.А. Григорян, М.Г. Перикова, С.В. Сирак, Е.В. Щетинин, А.А. Долгалев, Д.В. Бобрышев, А.А. Ремизова, М. Г. Дзгоева // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2019. – Т. 14, № 4 – С. 649–653.
23. Грудянов, А.И. Вопросы взаимосвязи воспалительных заболеваний пародонта и сердечно-сосудистой патологии / А.И. Грудянов, О.Н. Ткачева, Т.В. Аврамова, Н.Т. Хватова // Стоматология. – 2015. – Т. 94, № 3. – С. 50–55.
24. Грудянов, А.И. Классификация заболеваний пародонта и периимплантатных тканей (Евро-Перио, 2018). Достоинства и недостатки / А.И. Грудянов, Е.В. Фоменко // Стоматология. – 2021. – Т. 100, № 2. – С. 76–85.
25. Еловикова, Т.М. Применение антибактериальных препаратов при агрессивных формах пародонтита / Т.М. Еловикова, Е.Ф. Гайсина, А.С. Приходкин // Проблемы стоматологии. – 2019. – № 15 (1). – С. 10-15.
26. Еремин, А.В. Заболевания пародонта при кардиоваскулярной патологии / А.В. Еремин, А.В. Лепилин, Т.Е. Липатова // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2019. – Т. 15, № 2. – С. 246–251.
27. Еремин, А.В. Обоснование тактики ортопедического лечения пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом и сердечно-сосудистыми заболеваниями : автореферат дисс. ...доктора медицинских наук: 14.01.14 / Еремин Андрей Вячеславович. – Москва, 2022. – 46 с.
28. Еремин, А.В. Хронический генерализованный пародонтит и ишемическая болезнь сердца: морфофункциональные взаимосвязи / А.В. Еремин, А.В.

- Лепилин, Т.Е. Липатова, И.М. Кветной // Российский стоматологический журнал. – 2020. – Т. 24, № 4. – С. 219–224.
29. Журбенко, В.А. Роль соматической патологии в развитии заболеваний тканей пародонта / В.А. Журбенко // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – № 1-1. – С. 92.
30. Заболевания пародонта. Современный взгляд на клинко-диагностические и лечебные аспекты : учебное пособие / О.О. Янушевич, В.М. Гринин, В.А. Почтаренко и др. – Москва : ГЭОТАР–Медиа, 2010. – 160 с.
31. Землянко, О.М. Механизмы множественной устойчивости бактерий к антибиотикам / О.М. Землянко, Т.М. Рогоза, Г.А. Журавлева // Экологическая генетика. – 2018. – Т. 16, № 3. – С. 4–17.
32. Зорина, О.А. Сравнительная характеристика микробиоценозов пародонтальных карманов при хроническом генерализованном и агрессивном пародонтите до и после комплексного лечения / О.А. Зорина, И.С. Беркутова, Б.А. Рехвиашвили, Н.К. Аймадинова // Российский стоматологический журнал. – 2013. – № 1. – С. 27–31.
33. Иванов, А.В. Клинико-лабораторное и функциональное обоснование эффективности применения противомикробных средств в комплексном лечении хронического пародонтита : автореферат дисс. ...кандидата медицинских наук: 3.1.7 / Иванов Андриан Владимирович. – Москва, 2021. – 23 с.
34. Ильина, С.В. Нерациональное использование антибиотиков в медицине / С.В. Ильина // Педиатрическая фармакология. – 2017. – Т. 14, № 6. – С. 508–514.
35. Ильина, Т.С. Бактериальные биопленки: роль в хронических инфекционных процессах и поиск средств борьбы с ними / Т.С. Ильина, Ю.М. Романова // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2021. – Т. 39, № 2. – С. 14–24.

- 36.Ипполитов, Е.В. Биопленка полости рта – индукторы сигнальных систем врожденного иммунитета / Е.В. Ипполитов, Е.Н. Николаева, В.Н. Царев // Стоматология. – 2017. – Т. 96, № 4. – С. 58–62.
37. Ипполитов, Е.В. Мониторинг формирования микробной биопленки и оптимизация диагностики воспалительных заболеваний пародонта : автореферат дис. ... доктора медицинских наук: 03.02.03, 14.03.09 / Ипполитов Евгений Валерьевич. – Москва, 2016. – 48 с.
- 38.Ипполитов, Е.В. Обоснование применения фторхинолонов IV поколения при лечении больных пародонтитом : автореферат дисс. ...кандидата медицинских наук: 14.00.21, 03.00.07 / Ипполитов Евгений Валерьевич. – Москва, 2009. – 26 с.
- 39.Ипполитов, Е.В. Особенности морфологии биопленки пародонта при воспалительных заболеваниях десен (хронический катаральный гингивит, хронический пародонтит, кандидо-ассоциированный пародонтит) по данным электронной микроскопии / Е.В. Ипполитов, Л.В. Диденко, В.Н. Царёв // Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – Т. 60, № 12. – С. 59–64.
- 40.Кабанова, А.А. Резистентность к антибиотикам основных возбудителей инфекционно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области, выявленная в стационарах областных центров республики Беларусь / А.А. Кабанова // Журнал Гродненского медицинского Университета. – 2017. – № 2. – С. 186–191.
- 41.Катола, В.М. Влияния микробиоты полости рта на развитие воспаления и соматических заболеваний / В.М. Катола, С.В. Тарасенко, В.Е. Комогорцева // Российский стоматологический журнал. – 2018. – Т. 22, № 3. – С. 162–165.
- 42.Кильмухаметова, Ю.Х. Заболевания пародонта на фоне соматических патологий / Ю.Х. Кильмухаметова, В.М. Батиг, И.И. Абрамчук // Молодой ученый. – 2017. – № 26 (160). – С. 57–62.

43. Козлов, Р.С. Стратегия использования антимикробных препаратов как попытка Ренессанса антибиотиков / Р.С. Козлов, А.В. Голуб // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2011. – Т. 4, № 13. – С. 322–334.
44. Козлов, Р.С. Эмпирическая антибактериальная терапия инфекций дыхательных путей с учетом факторов риска резистентной флоры. Резолюция совета экспертов / Р.С. Козлов, С.К. Зырянов, А.И. Синопальников, С.В. Рязанцев, Е.А. Стырт // Справочник поликлинического врача. – 2018. – № 1. – С. 6–10.
45. Копецкий, И.С. Взаимосвязь воспалительных заболеваний пародонта и общесоматических заболеваний / И.С. Копецкий, Л.В. Побожьева, Ю.В. Шевелюк // Лечебное дело. – 2019. – № 2. – С. 7–12.
46. Костригина, Е.Д. Современный взгляд на этиопатогенез пародонтита (обзор литературы) / Е.Д. Костригина, Л.А. Зюлькина, П.В. Иванов // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2017. – № 3 (43). – С. 118–128.
47. Кузнецова, М.В. Диагностическое значение выявления морфологических и молекулярных маркеров микробиоты при кардиоваскулярной патологии : автореферат дисс. ...кандидата медицинских наук: 1.5.11, 3.1.20 // Кузнецова Марина Вадимовна. – Москва, 2023. – 25с
48. Кузьмин, В.Н. Антибиотикорезистентность как эпидемиологическая проблема инфекционно-воспалительных заболеваний в современных условиях / В.Н. Кузьмин // Медицинский оппонент. – 2020. – Т. 3, № 11. – С. 20–26.
49. Кузьмина, А.В. Медицинские ошибки при применении бета-лактамов антибиотиков : автореферат дисс. ...кандидата медицинских наук: 14.03.06 / Кузьмина Анна Вячеславовна. – Москва, 2018. – 24 с.
50. Кузьмина, Э.М. Профилактическая стоматология / Э.М. Кузьмина, О.О. Янушевич // Учебник для медицинских вузов / под ред. Э.М. Кузьминой, О.О. Янушевича. – М.: Практическая медицина, 2016. – 544с.

51. Кузьмина, Э.М., Стоматологическая заболеваемость населения России / Э.М. Кузьмина, О.О. Янушевич, И.Н. Кузьмина // Эпидемиологическое стоматологическое обследование населения России. – М.: МГМСУ, 2019. – 304с.
52. Лазарева, А.В. Микробиологическая характеристика, механизмы устойчивости к антибиотикам и молекулярная эпидемиология резистентных форм респираторных патогенов и госпитальных грамотрицательных бактерий : автореферат дисс. ...доктора медицинских наук: 03.02.03 / Лазарева Анна Валерьевна. – Москва, 2018. – 48 с.
53. Лобзин, Ю.В. Резолюция экспертного совета «Принципы рациональной антибиотикотерапии респираторных инфекций у детей. Сохраним антибиотики для будущих поколений» / Ю.В. Лобзин, Н.И. Брико, Р.С. Козлов и др. // Педиатрия. Приложение к журналу. – 2018. – № 3. – С. 10–15.
54. Макеева, И.М. Чувствительность микробных ассоциаций экссудата пародонтального кармана и одонтогенного очага к антибактериальным препаратам / И.М. Макеева, Ф.Ю. Даурова, С.Ф. Бякова, Е.В. Ипполитов, М.С. Гостев, А.О. Поликушина, Е.А. Шубин // Стоматология. – 2016. – Т. 95, № 3. – С. 26–30.
55. Моисеева Н.С. Клиническая оценка эффективности применения лечебно-профилактических средств в комплексной профилактике заболеваний пародонта / Н.С. Моисеева, А.А. Кунин // Пародонтология. – 2018. – Т. 23, № 1. – С. 19–21.
56. Мудрак, Д.А. Молекулярно-генетические особенности устойчивости к бета-лактамам антибиотикам грамотрицательных микроорганизмов - возбудителей нозокомиальных инфекций : автореферат дисс. ...кандидата биологических наук: 03.02.03, 03.01.03 / Мудрак Дарья Евгеньевна. – Москва, 2010. – 21с.
57. МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические указания : 4.2 Методы

контроля. Биологические и микробиологические факторы : утверждены и введены в действие Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, Первым заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации Г. Г. Онищенко от 4 марта 2004 г. : введены взамен Методических указаний по определению чувствительности микроорганизмов к антибиотикам методом диффузии в агар с использованием дисков, утвержден Заместителем Главного государственного санитарного врача СССР В. Е. Ковшило 10 марта 113 1983 г. N 2675-83 / разработаны Центральным научно-исследовательским институтом эпидемиологии [и др.] – Москва : Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 91с. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200038583> (дата обращения: 21.12.2020). – Текст: электронный

58. Намханов, В.В. Роль гигиены полости рта при воспалительных заболеваниях пародонта / В.В. Намханов, Ю.Л. Писаревский // Вестник Бурятского государственного университета. Медицина и фармация. – 2021. – № 1. – С. 62–65.
59. Настуева, А. М. Оценка риска развития осложнений при одонтогенных гнойно-воспалительных заболеваниях : автореферат дисс. ... кандидата медицинских наук: 14.01.14 / Настуева Аминат Мухамедовна. – Москва, 2017. – 24 с.
60. Николаева, Е.Н. Молекулярно-генетические маркеры риска генерализованного пародонтита и их применение в диагностике : автореферат дисс. ... доктора медицинских наук: 03.00.07, 14.00.36 / Николаева Елена Николаевна. – Москва, 2008. – 48 с.
61. Николаева, Е.Н. Пародонтопатогенные бактерии – индикаторы риска возникновения и развития пародонтита (часть 1) / Е.Н. Николаева, В.Н. Царев, Е.В. Ипполитов // Стоматология для всех. – 2011. – №3. – С. 4–9.

62. Николаева, Е.Н. Пародонтопатогенные бактерии – индикаторы риска возникновения и развития пародонтита (часть 2) / Е.Н. Николаева, В.Н. Царев, Е.В. Ипполитов // Стоматология для всех. – 2011. – №4. – С. 4–7.
63. Олейник, О.И. Современные аспекты вторичной профилактики заболеваний пародонта / О.И. Олейник, К.П. Кубышкина, Н.В. Чиркова, Н.А. Полушкина // Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья. – 2017. – № 69. – С. 73–78.
64. Орехова, Л.Ю. Актуальная антибиотикотерапия в пародонтологии / Л.Ю. Орехова, Е.С. Лобода, Е.В. Косова, В.Ю. Вашнева, А.А. Петров // Пародонтология. – 2020. – Т. 25, № 3. – С. 217–223.
65. Орехова, Л.Ю. Стоматологическое здоровье и полиморбидность: анализ современных подходов к лечению стоматологических заболеваний / Л.Ю. Орехова, В.Г. Атрушкевич, Д.В. Михальченко, И.А. Горбачева, Н.В. Лапина // Пародонтология. – 2017. – № 3 (83). – С. 15–17.
66. Патент РФ на изобретение № 2619169 С1 Российская Федерация, МПК С12N 1/20, С12N 11/02. Способ формирования смешанной биопленки пародонтопатогенных анаэробных бактерий в условиях текучих сред *in vitro* / Е.В. Ипполитов, В.Н. Царев, С.Д. Арутюнов, А.Г. Степанов, М.С. Подпорин, В.Г. Шишова, Т.Т. Малазония; заявитель. – № 2015149913 от 20.11.2015; опубл. 12.05.2017. Бюллетень. – 2017. – №.14 – 6 с.
67. Пименова, М.П. Особенности течения хронических воспалительных заболеваний тканей пародонта у больных острым инфарктом миокарда / М.П. Пименова, С.Д. Арутюнов // Российский стоматологический журнал. – 2014. – Т. 18, №3. – С. 42–46.
68. Пименова, М.П. Хронические заболевания тканей пародонта как риск возникновения и течения острого инфаркта миокарда / М.П. Пименова // Dental Forum. – 2012. – № 3. – С.81.
69. Побожьева, Л.В. Роль биопленки в патогенезе воспалительных заболеваний полости рта и способы ее устранения / Л.В. Побожьева, И.С. Копецкий // Лечебное дело. – 2012. – № 2. – С. 9–13.

70. Почтаренко, В.А. Генетика и пародонтология. Трудности большого пути / В.А. Почтаренко, О.О. Янушевич // Стоматология для всех. International Dental Review. – 2008. – № 4. – С. 4–6.
71. Программа СКАТ (стратегия контроля антимикробной терапии) при оказании стационарной медицинской помощи. Российские клинические рекомендации / под ред. С.В. Яковлева, Н.И. Брико, С.В. Сидоренко, Д.Н. Проценко. – М.:2018. – 153с. (С. 21-32)
72. Рассказова, В.В. Современные методы комплексного лечения воспалительных заболеваний пародонта (обзор литературы) / В.В. Рассказова, П.Н. Войтова // Молодой ученый. – 2019. – № 24 (262). – С. 37–39.
73. Романова, Ю.М. Биоплёнки патогенных бактерий и их роль в хронизации инфекционного процесса. Поиск средств борьбы с биоплёнками / Ю.М. Романова, Л.В. Диденко, Э.Р. Толордава, А.Л. Гинцбург // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2011. – № 10. – С. 31–39.
74. Румянцев, В.А. Динамика морфофункционального состояния тканей пародонта при лечении больных хроническим пародонтитом методом аутосеротерапии / В.А. Румянцев, Е.Н. Егорова, Е.И. Будашова, Ш.Л. Шиманский, Ю.И. Юсупова, С.А. Донсков, И.Е. Маркин // Обозрение. Стоматология. – 2018. – №1 (93). – С. 22–23.
75. Румянцев, В.А. Модуляция иммунного ответа в пародонтологии и имплантологии: потенциал противовоспалительной, антибактериальной терапии и перспективные лекарственные формы (обзор литературы) / В.А. Румянцев, Д.Р. Авакова, А.В. Блинова // Пародонтология. – 2019. – Т. 24, № 4. – С. 372–377.
76. Румянцев, В.А. Современная концепция поляризации макрофагов и ее значение для пародонтологии (обзор литературы) / В.А. Румянцев, Ш.Л. Шиманский, Е.И. Будашова, Ю.И. Юсупова, В.С. Афоненкова, Д.А. Моисеев // Пародонтология. – 2018. – № 3. – С. 64–69.

77. Саркисян, М.А. Разработка принципов комплексного стоматологического лечения и реабилитации у лиц, перенесших оперативное вмешательство на открытом сердце : автореферат дис. ... доктора медицинских наук: 14.00.21, 14.00.44 / Саркисян Микаел Альбертович. – Москва, 2009. – 50 с.
78. Стецюк, О.У. Антибиотикорезистентность основных возбудителей ЛОР-заболеваний / О.У. Стецюк, И.В. Андреева, О.А. Егорова // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2019. – Т. 3, № 9-2. – С. 78–83.
79. Супотницкий, М.В. Механизмы развития резистентности к антибиотикам у бактерий / М.В. Супотницкий // Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2011. – № 2 (42). – С. 4–11.
80. Тамарова, Э.Р. Молекулярно-генетическая характеристика видового состава микробиоты слюны и десневых карманов при пародонтите / Э.Р. Тамарова, А.Х. Баймиев, К.Ю. Швец, А.Р. Мавзютов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – № 60 (12). – С. 56–59.
81. Тамбовцева, Н.В. Особенности стоматологического статуса и оптимизация лечения воспалительных заболеваний пародонта у пациентов с ишемической болезнью сердца : автореферат дисс. ... кандидата медицинских наук: 14.01.14 / Тамбовцева Наталия Викторовна. – Москва, 2017. – 24 с.
82. Тарасенко, С.В. Характеристика микробиоценоза пародонтальных карманов больных ревматоидным артритом / С.В. Тарасенко, А.А. Макаревич // Российский стоматологический журнал. – 2018. – Т. 22, № 5. – С. 245–248.
83. Таточенко, В.К. Резистентность к антибиотикам и как ее преодолеть. Комментарий к статье С.В. Ильиной «Нерациональное использование антибиотиков в медицине: кризис антибиотикорезистентности, и что мы можем сделать» / В.К. Таточенко // Педиатрическая фармакология. – 2017. – Т. 14, № 6. – С. 514–519.

84. Тихомиров, Д.С. Мультиплексная ПЦР как новый метод определения генов устойчивости к карбапенемам / Д.С. Тихомиров, С.А. Катрыш, Ю.А. Савочкина, Т.А. Гаранжа, Т.А. Туполева, Ф.П. Филатов, Г.М. Галстян // Гематология и трансфузиология. – 2014. – Т. 59, № S1. – С. 123.
85. Трухан, Д.И. Пародонтит и сердечно-сосудистые заболевания: параллельно или в одной связке? / Д.И. Трухан, Л.Ю. Трухан // Consilium Medicum. – 2015. – Т. 17, № 5. – С. 73–79.
86. Туркутюков, В.Б. Молекулярно-генетический мониторинг резистентности микроорганизмов к антибиотикам / В.Б. Туркутюков // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2011. – № 2. – С. 28–31.
87. Усманова, И.Н. Взаимосвязь клинических и морфологических изменений с факторами риска развития воспалительных заболеваний пародонта у лиц молодого возраста / И.Н. Усманова, Л.П. Герасимова, М.Ф. Кабирова, И.Р. Усманов, М.А.М. Аль-Кофиш, А.И. Лебедева, Р.Ф. Хуснаризанова // Клиническая стоматология. – 2017. – Т. 4, № 84. – С. 34–39.
88. Устойчивость к антибиотикам. Информационный бюллетень ВОЗ. 5 февраля 2018 г. (Электронный ресурс). URL: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance> (дата обращения: 10.10.2019).
89. Ушаков, Р.В. Обоснование алгоритмов антимикробной химиотерапии в комплексном лечении флегмон головы и шеи / Р.В. Ушаков, В.Н. Царев, Т.Г. Робустова, Е.В. Ипполитов, А.А. Лабазанов // Клиническая стоматология. – 2021. – Т. 24, № 3. – С. 69-76.
90. Ушаков, Р.В. Алгоритм антимикробной химиотерапии при пародонтите / Р.В. Ушаков, В.Н. Царев, Н.Н. Нуруев // Стоматология для всех. – 2021. – №1 (94). – С. 40–44.
91. Ушаков, Р.В. Антимикробная терапия в стоматологии. Принципы и алгоритмы / Р.В. Ушаков, В.Н. Царёв // Руководство для врачей. – М.: Практическая медицина, 2019. – 240с.
92. Царёв, В. Н. Воспалительные заболевания пародонта / В. Н. Царёв, Е. В. Ипполитов // Руководство по медицинской микробиологии / под ред. А.

- С. Лабинской, Е. Г. Волиной, Е. П. Ковалёвой. – М.: БИНОМ, 2014. – 3 кн. – Т. 2. – С. 224–230.
93. Царёв, В. Н. Технологии генодиагностики в отечественной стоматологии / В. Н. Царёв, Е. Н. Николаева // Стоматология. – 2007. – № 5. – С. 82–87.
94. Царев, В.Н. Биопленкообразующие бактерии в атеросклеротических бляшках у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями и хроническим пародонтитом / В.Н. Царев, Е.Н. Николаева, М.В. Витович, М.И. Митерева, М.С. Подпорин // Клиническая стоматология. – 2020. – № 2 (94). – С. 40–45.
95. Царев, В.Н. Генетические аспекты антибиотикорезистентности биопленко-формирующих штаммов клинических изолятов патогенов / В.Н. Царев, Е.В. Ипполитов, А.А. Арутюнян, А.А. Лабазанов // Материалы IV Национального конгресса бактериологов и международного симпозиума «Микроорганизмы и биосфера «MICROBIOS-2018» г. Омск 12-13 сентября 2018. – С. 76.
96. Царёв, В.Н. Генетические маркеры резистентности к антибиотикам штаммов анаэробных бактерий биоплёнки / В.Н. Царев, Е.В. Ипполитов, Е.Н. Николаева, А.А. Лабазанов // Dental Forum. – 2017. – № 1. – С. 24–26.
97. Царев, В.Н. Значение пародонтопатогенных бактерий 1 порядка в развитии атеросклероза и сердечно-сосудистой патологии (обзор литературы) / В.Н. Царев, М.А. Саркисян, А.Г. Пономарева, Е.В. Ипполитов, М.В. Витович, Е.Н. Николаева, М.М. Алшибая / Medicine Science and Education Scientific and Informational journal. – 2018. – № 25. – С. 157–165.
98. Царев, В.Н. Микробиология, вирусология, иммунология полости рта / В.Н. Царев // Учебник для стоматологических факультетов медицинских вузов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. – 720с.
99. Царёв, В.Н. Микробиота и иммунные процессы при одонтогенной инфекции / В.Н. Царев, Р.В. Ушаков, Е.Н. Николаева // В кн.:

- Микробиология, вирусология, иммунология полости рта (2-е издание) / под ред. В.Н. Царёва. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. – С. 567–611.
100. Царев, В.Н. Микрофлора и иммунные процессы при заболеваниях пародонта / В.Н. Царев, Е.Н. Николаева, Е.В. Ипполитов // Микробиология, вирусология, иммунология полости рта / под ред. В.Н. Царева – М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2013. – С. 381–450.
101. Царев, В.Н. Обоснование антимикробной терапии при заболеваниях пародонта / в кн.: Терапевтическая стоматология. Болезни пародонта (Ч.2) / под ред. Г.М. Барер – М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2021. – С. 189–199.
102. Царев, В.Н. Пародонтопатогенные бактерии - основной фактор возникновения и развития пародонтита / В.Н. Царев, Е.Н. Николаева, Е.В. Ипполитов // Журнал микробиологии. – 2017. – № 5. – С. 101–112.
103. Царев, В.Н. Проблема устойчивости возбудителей одонтогенной инфекции к антибиотикам и разработка экспресс-метода выявления резистентных штаммов / В.Н. Царев, А.А. Лабазанов, Е.В. Ипполитов, В.В. Шулаков, Е.П. Пашков // Клиническая стоматология. – 2016. – Т. 80, № 4. – С. 46–51.
104. Царев, В.Н. Распространение генетических маркеров резистентности к антибиотикам у биопленко-формирующих штаммов облигатных и факультативных анаэробов / В.Н. Царев, Е.В. Ипполитов, Е.Н. Николаева // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2017. – № 2. – С. 74–80
105. Цепов, Л.М. Консервативные методы в профилактике и комплексной терапии воспалительных заболеваний пародонта (обзор литературы) / Л.М. Цепов, А.И. Николаев, Д.А. Наконечный, М.М. Нестерова // Пародонтология. – 2015. – № 1 (74). – С. 7–9.
106. Цепов, Л.М. Множественные хронические системные заболевания и патология пародонта / Л.М. Цепов, А.И. Николаев, М.М. Нестерова, Е.Л. Цепова, А.Л. Цепов // Пародонтология. – 2019. – Т. 24, № 2. – С. 127–131.

107. Цепов, Л.М. Применять ли антибиотики в комплексной терапии хронических воспалительных заболеваний пародонта? (обзор литературы) / Л.М. Цепов, А.И. Николаев, М.М. Нестерова, Е.В. Петрова, Н.С. Орехова, Т.Е. Щербакова, Н.С. Левченкова // Вятский медицинский вестник. – 2019. – № 2. – С. 93–98.
108. Цепов, Л.М. Современные подходы к лечению воспалительных генерализованных заболеваний пародонта (обзор литературы) / Л.М. Цепов, А.И. Николаев, Д.А. Наконечный, М.М. Нестерова // Пародонтология. – 2015. – № 2 (75). – С. 3–9.
109. Чеботарь, И.В. Антибиотикорезистентность биопленочных бактерий / И.В. Чеботарь, А.Н. Маянский, Е.Д. Кончакова, А.В. Лазарева, В.П. Чистякова // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2012. – Т. 14, № 1. – С. 51–58.
110. Червинец, В.М. Особенности микробиоты полости рта больных с хроническим генерализованным пародонтитом у жителей Тверского региона / В.М. Червинец, Ю.В. Червинец, А.В. Леонтьева, В.С. Беляев, Н.М. Стулов, А.А. Родионов, А.В. Червинец, А.В. Трошин, В.А. Румянцев // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и Технические Науки. – 2021. – № 8. – С. 16–23.
111. Шихнабиева, Э.Д. Коморбидность воспалительных заболеваний тканей пародонта и внутренней системы (обзор литературы) / Э.Д. Шихнабиева, Д.А. Шихнебиев // Cathedra. Стоматологическое образование. – 2020. – № 71. – С. 36–39.
112. Юсупова, Ю.И. Комплексная профилактика и лечение воспалительных заболеваний пародонта у пациентов, проходящих ортодонтическое лечение : автореферат дисс. ...кандидата медицинских наук: 14.01.14 // Юсупова Юлиана Ивановна. – Москва, 2018. – 25с.

113. Ющук, Н.Д. Антибиотики и противоинфекционный иммунитет / Н.Д. Ющук, И.П. Балмасова, В.Н. Царев / под ред. Н.Д. Ющука, И.П. Балмасовой, В.Н. Царёва. – М.: Практическая медицина, 2012. – 232 с.
114. Яковлев, С.В. Место фторхинолонов в лечении бактериальных инфекций / С.В. Яковлев // Лечащий врач. – 2008. – № 2. – С. 59-63.
115. Янушевич, О.О. Исследование *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* и комплекса *Treponema denticola* / *Tanarella forsythia* в качестве этиологического фактора хронического пародонтита методами количественной ПЦР / О.О. Янушевич, Р.А. Айвазова, А.В. Шиббаева, Д.В. Ребриков, Е.В. Трубникова, Ю.К. Кудыкина, М.В. Зылькова, Р.С. Зарипова, А.Б.Шевелев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2015. – № 10. – С. 502–504.
116. Янушевич, О.О. Классификация заболеваний пародонта. В кн.: Пародонтология: национальное руководство / под ред. О. О. Янушевича, Л. А. Дмитриевой. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2018. – 752с.
117. Янушевич, О.О. Микроэкология полости рта и инфекционно-воспалительные осложнения в хирургической стоматологии (монография) / О.О. Янушевич, Г.Д. Ахмедов, А.М. Панин, С.Д. Арутюнов, В.Н. Царёв. – М.: Практическая медицина, 2019. – 192с.
118. Янушевич, О.О. Пародонтология / О.О. Янушевич, Л.А. Дмитриева // Национальное руководство (2-е издание) / под ред. О.О. Янушевича, Л.А. Дмитриевой. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. – 752с.
119. 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 // Journal of clinical microbiology. – 2005. – № 43 (11). – P. 5721–5732.
120. Abbanat, D. New agents in development for the treatment of bacterial infections / D. Abbanat, B. Morrow, K. Bush // Current opinion in pharmacology. – 2008. – Т. 8, № 5. – P. 582–592.
121. Abiko, Y. Profiling of subgingival plaque biofilm microflora from periodontally healthy subjects and from subjects with periodontitis using

- quantitative real-time PCR / Y. Abiko, T. Sato, G. Mayanagi, N. Takahashi // Journal of periodontal research. – 2010. – № 45 (3). – P. 389–395.
122. Abu-Fanas, S.H. Identification, and susceptibility to seven antimicrobial agents, of 61 gram-negative anaerobic rods from periodontal pockets / S.H. Abu-Fanas, D.B. Drucker, P.S. Hull, J.C. Reeder, L.A. Ganguli // Journal of dentistry. – 1991. – T. 19, № 1. – P. 46–50.
123. Abushaheen M.A. Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance / M.A. Abushaheen, A.J. Fatani, M. Alosaimi, W. Mansy, M. George, S. Acharya et. al. // Disease-a-Month. – 2020. – T. 66, №. 6. – P. 100971.
124. Abusleme, L. The subgingival microbiome in health and periodontitis and its relationship with community biomass and inflammation / L. Abusleme, AK. Dupuy, N. Dutzan, N. Silva, JA. Burleson, LD. Strausbaugh, J. Gamonal, PI Diaz // Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology. – 2013. – № 7 (5). – P. 1016–1025.
125. Addy, M. Systemic antimicrobials in the treatment of chronic periodontal diseases: a dilemma / M. Addy, M.V. Martin // Oral Diseases. – 2003. – T. 9. – P. 38–44.
126. Akincibay, H. Systemic administration of doxycycline versus metronidazole plus amoxicillin in the treatment of localized aggressive periodontitis: a clinical and microbiologic study / H. Akincibay, S.O. Orsal, D. Sengun, T.F. Tozum. // Quintessence International. – 2008. – № 39. – P. 33–39.
127. Albandar, J.M. The 1-year treatment outcome of generalized chronic periodontitis may be enhanced by the systemic use of metronidazole alone or in combination with amoxicillin as adjuncts to scaling and root planing / J.M. Albandar // Journal of Evidence Based Dental Practice. – 2013. – T. 13, № 2. – P. 52–54.
128. Ardila, C.M. High resistance against clindamycin, metronidazole and amoxicillin in *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter*

- actinomycetemcomitans* isolates of periodontal disease / C.M. Ardila, M.A. Lopez, I.C. Guzman // *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*. – 2010. – № 15. – P. e947- e951.
129. Armitage, G.C. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions / Armitage G.C. // *Annals of Periodontology*. – 1999. – № 4 (1). – P. 1–6.
130. Arredondo, A. Detection and expression analysis of tet(B) in *Streptococcus oralis* / A. Arredondo, G. Álvarez, J. Nart, C. Mor, V. Blanc, R. Leon // *Journal of Oral Microbiology*. – 2019. – № 11 (1). – 7p.
131. Arredondo, A. Resistance to β -lactams and distribution of β -lactam resistance genes in subgingival microbiota from Spanish patients with periodontitis / A. Arredondo, V. Blanc, C. Mor, J. Nart, R. Leon // *Clinical oral investigations*. – 2020. – № 24 (12). – P. 4639–4648.
132. Asikainen, S. The immediate efficacy of adjunctive doxycycline in treatment of localized juvenile periodontitis / S. Asikainen, H. Jousimies-Somer, A. Kanervo, L. Saxen // *Archives of oral biology*. – 1990. – T. 35. – P. S231–S234.
133. Äyräväinen L. Periodontitis in early and chronic rheumatoid arthritis: a prospective follow-up study in Finnish population / L. Äyräväinen, M. Leirisalo-Repo, A. Kuuliala, K. Ahola, R. Koivuniemi, J.H. Meurman, A.M. Heikkinen // *BMJ open*. – 2017. – T. 7, № 1. – P. e011916.
134. Balmasova, I.P. Shielding of Cytokine Induction by the Periodontal Microbiome in Patients with Periodontitis Associated with Type 2 Diabetes Mellitus / I.P. Balmasova, Y.A. Lomakin, E.A. Babaev, V.N. Tsarev, A.G. Gabiboov // *Acta Naturae*. – 2019. – № 11 (4). – P. 79–87.
135. Baquero, F. Antibiotic consumption and resistance selection in *Streptococcus pneumoniae* / F. Baquero, G. Baquero-Artigao, R. Cantón, C. García-Rey // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2002. – Vol. 50, № 2. – P. 27–37.

136. Bastendorf, K. D. Mechanical removal of the biofilm: is the curette still the gold standard? / K.D. Bastendorf, N. Strafela-Bastendorf, A. Lussi // *Oral Biofilms*. – 2021. – № 29. – P. 105–118.
137. Belibasakis, G.N. Periodontal microbiology and microbial etiology of periodontal diseases: Historical concepts and contemporary perspectives / G.N. Belibasakis, D. Belstrøm, S. Eick, U.K. Gursøy, A. Johansson, E. Könönen // *Periodontology 2000*. – 2023. – P. 1–17.
138. Berglundh, T. The use of metronidazole and amoxicillin in the treatment of advanced periodontal disease: a prospective, controlled clinical trial / T. Berglundh, L. Krok, B. Liljenberg, E. Westfelt, G. Serino, J. Lindhe // *Journal of Clinical Periodontology*. – 1998. – T. 25, № 5. – P. 354–362.
139. Binta, B. Detection of cfxA2, cfxA3, and cfxA6 genes in beta-lactamase producing oral anaerobes / B. Binta, M. Patel // *Journal of Applied Oral Science*. – 2016. – № 24 (2). – P. 142–147.
140. Brook, I. Antimicrobials therapy of anaerobic infections / I. Brook // *Journal of Chemotherapy*. – 2016. – T. 28, № 3. – P. 143–150.
141. Cargill, J.S. Low concentrations of vancomycin stimulate biofilm formation in some clinical isolates of *Staphylococcus epidermidis* / J.S. Cargill, M. Upton // *Journal of Clinical Pathology*. – 2009. – № 62. – P.1112–1116.
142. Cassir, N. A new strategy to fight antimicrobial resistance: the revival of old antibiotics / N. Cassir, J-M. Rolain, P. Brouqui // *Frontiers in Microbiology*. – 2014. – № 5. – P. 551.
143. Chapple, I.L. Primary prevention of periodontitis: Managing gingivitis / I.L. Chapple, F. Van der Weijden, C. Doerfer, D. Herrera, L. Shapira, D. Polak, et al. // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2015. – № 42 (16). – P. S71–S76.
144. Chávez de Paz, L. Streptococci from root canals in teeth with apical periodontitis receiving endodontic treatment / L. Chávez de Paz, G. Svensäter, G. Dahlén, G. Bergenholtz // *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. – 2005. – № 100 (2) – P. 232–241.

145. Checchi, L. Bacteria prevalence in a large Italian population sample: a clinical and microbiological study / L. Checchi, M.R. Gatto, V. Checchi, F. Carinci // *Journal of Biological Regulators & Homeostatic*. – 2016. – № 30 (2). – P. 199–208.
146. Christersson, L.A. Suppression of subgingival *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in localized juvenile periodontitis by systemic tetracycline / L.A. Christersson, J.J. Zambon // *Journal of clinical periodontology*. – 1993. – T. 20, № 6. – P. 395–401.
147. Chukkapalli, S.S. Invasion of oral and aortic tissues by oral spirochete *Treponema denticola* in ApoE(-/-) mice causally links periodontal disease and atherosclerosis / S.S. Chukkapalli, M.F. Rivera, I.M. Velsko, J.Y. Lee, H. Chen, D. Zheng, I. Bhattacharyya, A.R. Lucas, L. Kesavalu // *American Society for Microbiology Journals*. – 2014. – Vol. 82, № 5. – P. 1959–1967.
148. Cizman, M. The relationship between trends in macrolide use and resistance to macrolides of common respiratory pathogens / M. Cizman, M. Pokorn, K. Seme A. Orazem, M. Paragi // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2001. – № 47. – P. 475–477.
149. Cobb, C.M. Consensus conference findings on supragingival and subgingival air polishing / C.M. Cobb, D.M. Daubert, K. Davis, J. Deming, T.F. Flemmig, A. Pattison et al. // *Compendium of continuing education in dentistry*. – 2017. – T. 38, № 2. – P. e1–e4.
150. Cochetti, I. Erm (B)-carrying elements in tetracycline-resistant pneumococci and correspondence between Tn 1545 and Tn 6003 / I. Cochetti, E. Tili, M. Mingoia, P.E. Varaldo, M.P. Montanari // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2008. – T. 52, № 4. – P. 1285–1290.
151. Collins, J.R. Periodontal pathogens and tetracycline resistance genes in subgingival biofilm of periodontally healthy and diseased Dominican adults / J.R. Collins, A. Arredondo, A. Roa, Y. Valdez, R. Leon, V. Blanc // *Clinical oral investigations*. – 2016. – № 20 (2). – P. 349–356.

152. Colombo, A.P.V. Subgingival microbiota of Brazilian subjects with untreated chronic periodontitis / A.P.V. Colombo, R.P. Teles, M.C. Torres, R. Souto, W. Rosalém Jr, M.C.S. Mendes, M. Uzeda // *Journal of periodontology*. – 2002. – T. 73, № 4. – P. 360–369.
153. Cortelli, S.C. Diminished treatment response of periodontally diseased patients infected with the JP2 clone of *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans* / S.C. Cortelli, F.O. Costa, T. Kawai, D.R. Aquino, G.C. Nobre Franco, K. Ohara // *Journal of Clinical microbiology*. – 2009. – T. 47, № 7. – P. 2018–2025.
154. Cugini, M.A. The effect of scaling and root planing on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases: 12-month results / M.A. Cugini, A.D. Haffajee, C. Smith, R.L. Jr. Kent, S.S. Socransky // *Journal of clinical periodontology*. – 2000. – T. 27, № 1. – P. 30–36.
155. da Silva-Boghossian, C.M. Association of red complex, *A. actinomycetemcomitans* and non-oral bacteria with periodontal diseases / C.M. da Silva-Boghossian, R.M. do Souto, R.R. Luiz, A.P.V. Colombo // *Archives of oral biology*. – 2011. – T. 56, № 9. – P. 899–906.
156. de Aquino, S.G. Periodontal pathogens directly promote autoimmune experimental arthritis by inducing a TLR2- and IL-1-Driven Th17 response / S.G. de Aquino, S. Abdollahi-Roodsaz, M.I. Koenders, F.A.J. Van de Loo, G.J.M Pruijn, R.J. Marijnissen, B. Walgreen, M.M. Helsen, L.A. Van den Berselaar, R.S. De Molon, M.J.A. Campos, F.Q. Cunha, J.A. Cirelli, W.B. Van den Berg // *Journal of Immunology*. – 2014. – № 192 (2). – P. 4103–4111.
157. Deas, D.E. Scaling and root planing vs. conservative surgery in the treatment of chronic periodontitis / D.E. Deas, A.J. Moritz, R.S. Jr Sagun, S.F. Gruwell, C.A. Powell // *Periodontology 2000*. – 2016. – T. 71, № 1. – P. 128–139.
158. Dhoondia, S. Comparative evaluation of serum total IgG aggressive and chronic periodontis patients-an immunoanalytical study / S. Dhoondia, A.

- Bhansali, S. Lathi //Journal of dental and medical sciences. – 2018. – T. 17, № 2. – P. 63–72.
159. Dhotre, S.V. Isolation of *Streptococcus tigurinus* - a novel member of *Streptococcus mitis* group from a case of periodontitis / S.V. Dhotre, G.T. Mehetre, M.S. Dharne, N.M. Suryawanshi, B.S. Nagoba // FEMS Microbiology Letters. – 2014. – № 357 (2). – P. 131–135.
160. Diaz, P.I. Subgingival microbiome shifts and community dynamics in periodontal diseases / P.I. Diaz, A. Hoare, B-Y. Hong // Journal of the California Dental Association. – 2016. – № 44 (7). – P. 21–35.
161. Eick, S. Efficacy of antibiotics against periodontopathogenic bacteria within epithelial cells: an in vitro study / S. Eick, W. Pfister //Journal of periodontology. – 2004. – T. 75, № 10. – P. 1327–1334.
162. Favari, M. Microbiological profile of untreated subjects with localized aggressive periodontitis / M. Favari, L.C. Figueiredo, P.M. Duarte, M.J. Mestnik, M.P.A. Mayer, M. Feres //Journal of clinical periodontology. – 2009. – T. 36, № 9. – P. 739–749.
163. Feres M. Systemic doxycycline administration in the treatment of periodontal infections (II) Effect on antibiotic resistance of subgingival species / M. Feres, A.D. Haffajee, C. Goncalves, K.A. Allard, S. Som, C. Smith et. al. // Journal of clinical periodontology. – 1999. – T. 26, № 12. – P. 784–792.
164. Feres, M. Antibiotic resistance of subgingival species during and after antibiotic therapy / M. Feres, A.D. Haffajee, K. Allard, S. Som, J.M. Goodson, S.S. Socransky //Journal of clinical periodontology. – 2002. – T. 29, № 8. – P. 724–735.
165. Feres-Filho, E.J. Treatment of chronic periodontitis with systemic antibiotics only / E.J. Feres-Filho, C.M. Silva, N. Giovannetti-Menezes, M. Cynesia Torres, A.T. Leao, C. Sansone // Journal of clinical periodontology. – 2006. – T. 33, № 12. – P. 936–937.
166. Fernandes-Canigia, L. Deection and genetic characterisation of b-lactamases in *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens* isolated from

- oral cavity infections and peritonsillar abscesses / L. Fernandes-Canigia, D. Cejas, G. Gutkind, M. Radice // *Anaerobe*. – 2015. – № 33. – P. 8–13.
167. Ferreira, L.Q. Association between the *cfxA* gene and transposon Tn 4555 in *Bacteroides distasonis* strains and other *Bacteroides* species / L.Q. Ferreira, K.E. Avelar, J.M. Vieira, G.R. de Paula, A.P. Colombo, R.M. Domingues, M.C. Ferreira // *Current microbiology*. – 2007. – T. 54. – P. 348–353.
168. Fine, D.H. A consortium of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Streptococcus parasanguinis*, and *Filifactor alocis* is present in sites prior to bone loss in a longitudinal study of localized aggressive periodontitis / D.H. Fine, K. Markowitz, K. Fairlie, D. Tischio-Bereski, J. Ferrendiz, D. Furgang, B.J. Paster, F.E. Dewhirst // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2013. – № 51 (9). – P. 2850–2861.
169. Furugen, R. Association of low fetuin-A levels with periodontitis in community-dwelling adults / R. Furugen, K. Kawasaki, M. Kitamura, T. Maeda, T. Saito, H. Hayashida, // *Journal of oral science*. – 2020. – № 62 (1). – P. 67–69.
170. García López, E. The versatility of opportunistic infections caused by *Gemella* isolates is supported by the carriage of virulence factors from multiple origins / E. García López, A.J. Martín-Galiano // *Frontiers in Microbiology*. – 2020. – № 11. – P. 524.
171. García, N. Genetic determinants for *cfxA* expression in *Bacteroides* strains isolated from human infections / N. García, G. Gutiérrez, M. Lorenzo, J.E. García, S. Píriz, A. Quesada // *Journal of antimicrobial chemotherapy*. – 2008. – T. 62, № 5. – P. 942–947.
172. Giraud-Morin, C. Sequence analysis of *cfxA2*-like β -lactamases in *Prevotella* species / C. Giraud-Morin, I. Madinier, T. Fosse // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2003. – T. 51, № 5. – P. 1293–1296.
173. Global Tuberculosis Report 2016. WHO/HTM/TB/2016.13. Geneva: World Health Organization, 2016. – 214 p.

174. González-Febles, J., Association between periodontitis and anti-citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis patients: a cross-sectional study / J. González-Febles, B. Rodríguez-Lozano, C. Sánchez-Piedra, J. Garnier-Rodríguez, S. Bustabad, M. Hernández-González, E. González-Dávila, M. Sanz, F. Díaz-González // *Arthritis research & therapy*, – 2020. – № 22 (1). – P. 27.
175. Goodson, J.M. Antibiotic resistance of the subgingival microbiota following local tetracycline therapy / J.M. Goodson, A. Tanner // *Oral microbiology and immunology*. – 1992. – T. 7, № 2. – P. 113–117.
176. Gracia, M. Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pyogenes* in central, eastern, and Baltic European countries, 2005 to 2006: the cefditoren surveillance program // M. Gracia, C. Díaz, P. Coronel, M. Gimeno, R. García-Rodas, V. Rodríguez-Cerrato, G. del Prado, L. Huelves, V. Ruiz, P.F.L. Naves, M-C. Ponte, J.J. Granizo, F. Soriano // *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. – 2009. – № 64. – P. 52–56.
177. Guerrero, A. Adjunctive benefits of systemic amoxicillin and metronidazole in non-surgical treatment of generalized aggressive periodontitis: a randomized placebo-controlled clinical trial / A. Guerrero, G.S. Griffiths, L. Nibali, J. Suvan, D.R. Moles, L. Laurell, M.S. Tonetti // *Journal of clinical periodontology*. – 2005. – T. 32, № 10. – P. 1096–1107.
178. Guzeldemir-Akcakanat, E. Systemic moxifloxacin vs amoxicillin/metronidazole adjunct to non-surgical treatment in generalized aggressive periodontitis / E. Guzeldemir-Akcakanat, C.A. Gurgan // *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*. – 2015. – T. 20, № 4. – P. e441.
179. Haffajee, A.D. Systemic antibiotics: to use or not to use in the treatment of periodontal infections. That is the question / A.D. Haffajee // *Journal of clinical periodontology*. – 2006. – T. 33, № 5. – P. 359–361.
180. Handal, T. Detection and characterization b-lactamase genes in subgingival bacteria from patients with refractory periodontitis. / T. Handal, I.

- Olsen, CB. Walker, DA Caugant // FEMS Microbiology Letters. – 2005. – № 242 (2) – P. 319–24.
181. Haubek, D. Microevolution and patterns of dissemination of the JP2 clone of *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans* / D. Haubek, K. Poulsen, M. Kilian // Infection and Immunity. – 2007. – T. 75, № 6. – P. 3080–3088.
182. Haubek, D. Risk of aggressive periodontitis in adolescent carriers of the JP2 clone of *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans* in Morocco: a prospective longitudinal cohort study / D. Haubek, O.K. Ennibi, K. Poulsen, M. Væth, S. Poulsen, M. Kilian // The Lancet. – 2008. – T. 371, № 9608. – P. 237–242.
183. Heller, D. Molecular characterization of the microbial diversity in the early In Vivo-Formed Dental Biofilm / D. Heller, EJ. Helmerhorst, AC. Gower, WL. Siqueira, BJ. Paster, FG. Oppenheim // Journal of Applied & Environmental Microbiology. – 2016. – № 82 (6). – P. 1881–1888.
184. Hobdell, M., Global goals for oral health 2020 / M. Hobdell, P.E. Petersen, J. Clarkson, N. Jonson // International dental journal. – 2003. – Vol. 53. – P. 285–288.
185. Ioannidis, I. Prevalence of tetM, tetQ, nim and blaTEM genes in the oral cavities of Greek subjects: a pilot study / I. Ioannidis, D. Sakellari, A. Spala, M. Arsenakis, A. Konstantinidis // Journal of clinical periodontology. – 2009. – T. 36, № 7. – P. 569–574.
186. Iwahara, K. Detection of cfxA and cfxA2, the β -lactamase genes of *Prevotella spp.*, in clinical samples from dentoalveolar infection by real-time PCR / K. Iwahara, T. Kuriyama, S. Shimura, D.W. Williams, M. Yanagisawa, K. Nakagawa, T. Karasawa // Journal of clinical microbiology. – 2006. – T. 44, № 1. – C. 172–176.
187. Jain, M.R. Comparison of Aerobic Bacteria in Saliva Samples of Chronic and Aggressive Periodontitis Patients-An in Vitro Study / M.R. Jain,

- S. Gheena, P. Gopinath // Research Journal of Pharmacy and Technology. – 2016. – T. 9, № 8. – P. 1183–1186.
188. Jerônimo L.S. Association Between Periodontitis and Nosocomial Pneumonia: A Systematic Review and Meta-analysis of Observational Studies. / L.S. Jerônimo, L.G. Abreu, F.A. Cunha, R.P. Esteves Lima // Dentists and Preventive Oral Health Care. – 2020. – №18 (1) – P. 11–17.
189. Kassebaum, N.J. Global burden of severe periodontitis in 1990–2010: A systematic review and meta-regression / N.J. Kassebaum, E. Bernabé, M. Dahiya, B. Bhandari, C.J. Murray, W. Marcenes // Journal of Dental Research. – 2014. – № 93 – P. 1045–1053.
190. Kim, E.H. Prediction of chronic periodontitis severity using machine learning models based on salivary bacterial copy number / E.H. Kim, S. Kim, H.J. Kim, H.O. Jeong, J. Lee et al. // Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. – 2020. – № 10. – P. 571515.
191. Kim, S.M. Characterization of antibiotic resistance determinants in oral biofilms / S.M. Kim, H.C. Kim, S. W. S. Lee //The Journal of Microbiology. – 2011. – T. 49. – P. 595–602.
192. Kim, T.S. Serotypes of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in patients with different ethnic backgrounds / T.S. Kim, P. Frank, P. Eickholz, S. Eick, C.K. Kim //Journal of periodontology. – 2009. – T. 80, № 12. – P. 2020–2027.
193. Kirst, M.E. Dysbiosis and alterations in predicted functions of the subgingival microbiome in chronic periodontitis / M.E. Kirst, E.C. Li, B. Alfant, Y.Y. Chi, C. Walker, I. Magnusson, G.P. Wang // Journal of Applied & Environmental Microbiology. – 2015. – № 81 (2). – P. 783–793.
194. Kolenbrander, P.E. Bacterial interactions and successions during plaque development / P.E. Kolenbrander, R.J. Palmer, A.H. Rickard et al. // Journal of Periodontology. – 2006. – № 42. – P. 47–79.

195. Kornman, K.S. The effect of long-term low-dose tetracycline therapy on the subgingival microflora in refractory adult periodontitis / K.S. Kornman, E.H. Karl // *Journal of Periodontology*. – 1982. – T. 53, № 10. – P. 604–610.
196. Koyuncuoglu, C.Z. Rational use of medicine in dentistry: do dentists prescribe antibiotics in appropriate indications? / C.Z. Koyuncuoglu, M. Aydin, N.I. Kirmizi, V. Aydin, M. Aksoy, F. Isli, A. Akici // *European journal of clinical pharmacology*. – 2017. – T. 73. – P. 1027–1032.
197. Kulik, E.M. Antimicrobial susceptibility of periodontopathogenic bacteria / E.M. Kulik, K. Lenkeit, S. Chenaux, J. Meyer // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2008. – № 61. – P. 1087–1091.
198. Kuzmina, E. A. Pilot Study Into the Effectiveness of Two Antimicrobial Mouthrinses in a Group of Russian Adults With Gingivitis. / E. Kuzmina, O. Yanushevitch, A. Lapatina, T. Smirnova, I. Kuzmina // *OHDMBSC*, September, 2010. – Vol. 9, № 3. – P. 131– 139.
199. Lacroix, J.M. Detection and incidence of the tetracycline resistance determinant tet (M) in the microflora associated with adult periodontitis / J.M. Lacroix, C.B. Walker // *Journal of periodontology*. – 1995. – T. 66, № 2. – P. 102– 108.
200. Lacroix, J.M. Detection and prevalence of the tetracycline resistance determinant Tet Q in the microbiota associated with adult periodontitis / J.M. Lacroix, C.B. Walker // *Oral microbiology and immunology*. – 1996. – T. 11, № 4. – P. 282– 288.
201. Larsen, J.M. The immune response to *Prevotella* bacteria in chronic inflammatory disease / J.M. Larsen // *Immunology*. – 2017. – № 151 (4). – P. 363–374.
202. Lauterbach, E. Bacteriology of aspiration pneumonia in patients with acute coma / E. Lauterbach, F. Voss, R. Gerigk, M. Lauterbach // *Journal of Internal and Emergency Medicine*. – 2014. – № 9. – P. 879–885.

203. Lavda, M. Distribution of systemic ciprofloxacin and doxycycline to gingiva and gingival crevicular fluid / M. Lavda, C.E. Clausnitzer, J.D. Walters // *Journal of periodontology*. – 2004. – T. 75, № 12. – P. 1663–1667.
204. Lin, J. Mechanisms of antibiotic resistance / J. Lin, K. Nishino, M.C. Roberts, M. Tolmasky, R.I. Aminov, L. Zhang // *Frontiers in microbiology*. – 2015. – T. 6. – P. 34.
205. Listgarten, M.A. Microbial composition and pattern of antibiotic resistance in subgingival microbial samples from patients with refractory periodontitis / M.A. Listgarten, C.H. Lai, V. Young // *Journal of periodontology*. – 1993. – T. 64, № 3. – P. 155–161.
206. Liu, L. The human microbiome: a hot spot of microbial horizontal gene transfer / L. Liu, X. Chen, G. Skogerbo, P. Zhang, R. Chen, S. He, D.W. Huang // *Genomics*. – 2012. – № 100 (5). – P. 265–270.
207. Livermore, D.M. Determinants of the activity of β -lactamase inhibitor combinations / D.M. Livermore // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 1993. – T. 31, № A. – P. 9–21.
208. Lo'pez, N.J. Effects of metronidazole plus amoxicillin as the only therapy on the microbiological and clinical parameters of untreated chronic periodontitis / N.J. Lo'pez, S.S. Socransky, I. Da Silva, M.R. Japlit, A.D. Haffajee, // *Journal of Clinical Periodontology* – 2006. – №33. – P. 648–660.
209. Lo'pez, N.J. Higher risk of preterm birth and low birth weight in women with periodontal disease / N. J. Lo'pez, P.C. Smith, J. Gutierrez // *Journal of Dental Research*. – 2002. – № 81. – P. 58–63.
210. Lollobrigida M. Antibacterial Activity and Impact of Different Antiseptics on Biofilm-Contaminated Implant Surfaces. / M. Lollobrigida, S. Filardo, R. Sessa, M. Di Pietro, G. Bozzuto, A. Molinari, L. Lamazza, I. Vozza, A. De Biase // *Applied Sciences*. – 2019. – № 9 (24). – P. 5467.
211. Lu, L. Occurrence and distribution of tetracycline antibiotics and resistance genes in longshore sediments of the three gorges reservoir, China /

- L. Lu, J. Liu, Z. Li, Z. Liu, J. Guo, Y. Xiao, J. Yang // *Frontiers in Microbiology*. – 2018. – № 9. – P. 1911.
212. Machtei, E.E. The use of 2 antibiotic regimens in aggressive periodontitis: comparison of changes in clinical parameters and gingival crevicular fluid biomarkers / E.E. Machtei, M.N. Younis // *Quintessence International*. – 2008. – T. 39, № 10. – P. 811–819.
213. MacLean, R.C. The evolution of antibiotic resistance / R.C. MacLean, A. San Millan // *Science*. – 2019. – T. 365, № 6458. – P. 1082–1083.
214. Madinier, I. Cloning and biochemical characterization of a class A beta-lactamase from *Prevotella intermedia*. / I. Madinier, T. Fosse, J. Giudicelli, R. Labia // *Antimicrob Agents Chemother*. – 2001. – № 45 (8). – P. 2386–2389.
215. Martino, R. Bacteremia caused by *Capnocytophaga* species in patients with neutropenia and cancer: results of a multicenter study / R. Martino, E. Rámila, J.A. Capdevila, A. Planes, M. Rovira, M.D. Ortega et al. // *Clinical infectious diseases*. – 2001. – № 33. – P. e20–22.
216. Matsumoto, T. First case of bacteremia due to chromosome-encoded CfxA3-beta-lactamase-producing *Capnocytophaga sputigena* in a pediatric patient with acute erythroblastic leukemia / T. Matsumoto, M. Matsubara, K. Oana, E. Kasuga, T. Suzuki, E. Hidaka et al. // *European journal of medical research*. – 2008. – T. 13, № 3. – P. 133.
217. Mdala, I. Multilevel analysis of clinical parameters in chronic periodontitis after root planing/scaling, surgery, and systemic and local antibiotics: 2-year results / I. Mdala, A.D. Haffajee, S.S. Socransky, B.F. de Blasio, M. Thoresen, I. Olsen, J.M. Goodson // *Journal of oral microbiology*. – 2012. – T. 4, № 1. – P. 17535.
218. Mochalov, I. Identification of Pathogenic Microflora and Its Sensitivity to Antibiotics in Cases of the Odontogenic Purulent Periostitis and Abscesses in the Oral Cavity / I. Mochalov, M. Kryvtsova, A. Chobey, M. Kulynych // *Prague Medical Report*. – 2023. – T. 124, № 1. – P. 16–32.

219. Mombelli, A. Antimicrobial advances in treating periodontal diseases / A. Mombelli // *Periodontal disease*. – 2012. – T. 15. – P. 133–148.
220. Mombelli, A. Heresy? Treatment of chronic periodontitis with systemic antibiotics only / A. Mombelli // *Journal of Clinical Periodontology* – 2006 – № 33. – P. 661–662.
221. Mombelli, A. Microbial colonization of the periodontal pocket and its significance for periodontal therapy / A. Mombelli // *Periodontology 2000*. – 2018. – № 76 (1). – P. 85–96.
222. Muller, H-P. *Parodontologie* / H-P. Muller. – Stuttgart, New York: Georg Thime Verlag. – 2004. – 256p.
223. Nikolaeva, E.N. Interrelation of Cardiovascular Diseases with Anaerobic Bacteria of Subgingival Biofilm / E.N. Nikolaeva, V.N. Tsarev, T.V. Tsareva, E.V. Ippolitov, S.D. Arutyunov // *Contemporary Clinical Dentistry*. – 2019. – №10 (4). – P. 637–642.
224. Niswade, G. Biofilm-The mystery of the oral cavity! / G. Niswade // *Journal of Positive School Psychology*. – 2022. – T. 6, № 2. – P. 6033–6038.
225. Oettinger-Barak, O. Antibiotic susceptibility of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* JP2 in a biofilm / O. Oettinger-Barak, S.G. Dashper, D.V. Catmull, G.G. Adams, M.N. Sela, E.E. Machtei, E.C. Reynolds // *Journal of Oral Microbiology*. – 2013. – №5. – P. 1–8.
226. Olsvik, B. Detection of tet (M) and tet (Q) using the polymerase chain reaction in bacteria isolated from patients with periodontal disease / B. Olsvik, I. Olsen, F.C. Tenover // *Oral microbiology and immunology*. – 1995. – T. 10, № 2. – P. 87–92.
227. Pajukanta, R. In vitro antimicrobial susceptibility of different serotypes of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* / R. Pajukanta, S. Asikainen, M. Saarela, S. Alaluusua, H. Jousimies-Somer // *European Journal of Oral Sciences*. – 1993. – T. 101, № 5. – P. 299–303.
228. Pallecchi, L. Antibiotic resistance in the absence of antimicrobial use: mechanisms and implications / L. Pallecchi, A. Bartoloni, F. Paradisi, G.M.

- Rossolini // Expert review of anti-infective therapy. – 2008. – T. 6, № 5. – P. 725–732.
229. Papapanou, P.N. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions / P.N. Papapanou, M. Sanz, N. Buduneli, T. Dietrich // Journal of Clinical Periodontology. – 2018. – № 45. – P. 162–170.
230. Rademacher, W.M.H. Antibiotic prophylaxis is not indicated prior to dental procedures for prevention of periprosthetic joint infections: A systematic review and new guidelines from the Dutch Orthopaedic and Dental Societies / W.M. Rademacher, G.H. Walenkamp, D.J.F. Moojen, J.G. Hendriks, T.A. Goedendorp, F.R. Rozema // Acta orthopaedica. – 2017. – T. 88, № 5. – P. 568–574.
231. Rajpaul, K. Biofilm in wound care / K. Rajpaul // British Journal of Community Nursing. – 2015. – № 20 (3). – 4 p.
232. Ramich, T. Subgingival plaque sampling after combined mechanical and antibiotic nonsurgical periodontal therapy / T. Ramich, B. Schacher, S. Scharf, L. Röllke, R. Arndt, P. Eickholz, K. Nickles // Clinical oral investigations. – 2015. – T. 19. – P. 27–34.
233. Rams, T.E. Antibiotic Susceptibility of Periodontal *Streptococcus constellatus* and *Streptococcus intermedius* Clinical Isolates / T.E. Rams, D. Feik, J.E. Mortensen, J.E. Degener, A.J. van Winkelhoff // Journal of Periodontology. – 2014. – № 85 (12). – P. 1792–1798.
234. Roberts, A.P. A modular master on the move: the Tn916 family of mobile genetic elements / A.P. Roberts, P. Mullany // Trends in microbiology. – 2009. – T. 17. – № 6. – P. 251–258.
235. Roberts, A.P. Oral biofilms: a reservoir of transferable, bacterial, antimicrobial resistance / A.P. Roberts, P. Mullany // Expert review of anti-infective therapy. – 2010. – T. 8, № 12. – P. 1441–1450.

236. Roberts, A.P. Tn 916-like genetic elements: a diverse group of modular mobile elements conferring antibiotic resistance / A.P. Roberts, P. Mullany // FEMS microbiology reviews. – 2011. – T. 35, № 5. – P. 856–871.
237. Roberts, A.P. Transfer of Tn 916-like elements in microcosm dental plaques / A.P. Roberts, G. Cheah, D. Ready, J. Pratten, M. Wilson, P. Mullany // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2001. – T. 45, № 10. – P. 2943–2946.
238. Roberts, M.C. Transferable tet M in *Fusobacterium nucleatum* / M.C. Roberts, J. Lansciardi // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 1990. – T. 34, № 9. – P. 1836–1838.
239. Rodrigues, A.S. Clinical and microbiologic evaluation, by real-time polymerase chain reaction, of non-surgical treatment of aggressive periodontitis associated with amoxicillin and metronidazole / A.S. Rodrigues, D.S. Lourenção, L.G. Lima Neto, C.M. Pannuti, R.D. Crespo Hirata, M.H. Hirata et al. // Journal of periodontology. – 2012. – T. 83, № 6. – P. 744–752.
240. Roe, D.E. Characterization of tetracycline resistance in *Actinobacillus actinomycetemcomitans* / D.E. Roe, P.H. Braham, A. Weinberg, M.C. Roberts // Oral microbiology and immunology. – 1995. – T. 10, № 4. – P. 227–232.
241. Romandini, M. Periodontitis, Edentulism, and Risk of Mortality: A Systematic Review with Meta-analyses / M. Romandini, G. Baima, G. Antonoglou, J. Bueno, E. Figuero, M. Sanz // Journal of Dental Research. – 2021. – Vol. 100 (1) – P. 37–49.
242. Rooney, J. Adjunctive effects to non-surgical periodontal therapy of systemic metronidazole and amoxycillin alone and combined: A placebo controlled study / J. Rooney, W.G. Wade, S.V. Sprague, R.G. Newcombe, M. Addy // Journal of clinical periodontology. – 2002. – T. 29, № 4. – P. 342–350.
243. Sakellari, D. Concentration of 3 tetracyclines in plasma, gingival crevice fluid and saliva / D. Sakellari, J.M. Goodson, S.S. Socransky, A. Kolokotronis, A. Konstantinidis // Journal of clinical periodontology. – 2000. – T. 27, № 1. – P. 53–60.

244. Santoro, F. Variation on a theme; an overview of the Tn916/Tn1545 family of mobile genetic elements in the oral and nasopharyngeal streptococci / F. Santoro, M.E. Vianna, A.P. Roberts // *Frontiers in microbiology*. – 2014. – № 5. – P. 535.
245. Sanz, M. Role of microbial biofilms in the maintenance of oral health and in the development of dental caries and periodontal diseases. Consensus report of group 1 of the joint EFP/ORCA workshop on the boundaries between caries and periodontal disease / M. Sanz, D. Beighton, MA. Curtis, JA. Cury, I. Dige, H. Dommisch, R. Ellwood, RA. Giacaman, D. Herrera, MC. Herzberg // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2017. – № 44 (S.18). – P. 5–11.
246. Sbordone, L. Recolonization of the subgingival microflora after scaling and root planing in human periodontitis / L. Sbordone, L. Ramaglia, E. Gulletta, V. Iacono // *Journal of Periodontology*. – 1990. – T. 61, № 9. – P. 579–584.
247. Scannapieco, F. Systemic effects of periodontal diseases / F. Scannapieco // *Dental Clinics of North America* – 2005. – № 49. – P. 533–550.
248. Schuetz, A.N. Antimicrobial resistance and susceptibility testing of anaerobic bacteria / A.N. Schuetz // *Clinical Infectious Diseases*. – 2014. – № 59 (5). – P. 698–705.
249. Sgolastra, F. Effectiveness of systemic amoxicillin/metronidazole as adjunctive therapy to scaling and root planing in the treatment of chronic periodontitis: A systematic review and meta-analysis / F. Sgolastra, R. Gatto, A. Petrucci, A. Monaco // *Journal of periodontology*. – 2012. – T. 83, № 10. – P. 1257–1269.
250. Sherrard, L.J. Mechanisms of reduced susceptibility and genotypic prediction of antibiotic resistance in *Prevotella* isolated from cystic fibroses and non- cystic fibroses patients / L.J. Sherrard, B. Schaible, K.A. Graham, S.J. McGrath, L. McIlteavey, J. Hatch, M.C. Wolfgang, M.S. Muhlebach, D.F. Gilpin, T. Schneiders, J.S. Elborn, M.M. Tunney // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2014. – № 69. – P. 2690–2698.

251. Sigusch, B. A 2-step non-surgical procedure and systemic antibiotics in the treatment rapidly progressive periodontitis / B. Sigusch, M. Beier, G. Klinger, W. Pfister, E. Glockmann // *Journal of Oral Microbiology*. – 2001. – № 72 (3). – P. 275–283.
252. Slots, J. Systemic antibiotics in periodontics (position paper) / J. Slots, H. Greenwell, J. Fiorellini, W. Giannobile, S. Offenbacher, C. Townsend // *J Periodontol*. – 2004. – T. 75. – P. 1553–1565.
253. Socransky, S.S. Microbial complexes in subgingival plaque / S.S. Socransky, A.D. Haffajee, M.A. Cugini, C. Smith, R.L. Kent Jr // *Journal of Clinical Periodontology*. – 1998. – № 25. – P. 134–144.
254. Sorg, R.A. Collective resistance in microbial communities by intracellular antibiotic deactivation / R.A. Sorg, L. Lin, G.S. van Doorn, M. Sorg, J. Olson, V. Nize, J-W. Veening // *Journal PLoS ONE Biology*. – 2017. – № 14. – 19 p.
255. Souto, R. Prevalence of " non-oral" pathogenic bacteria in subgingival biofilm of subjects with chronic periodontitis / R. Souto, A.F.B.D. Andrade, M. Uzeda, A.P.V. Colombo // *Brazilian Journal of Microbiology*. – 2006. – T. 37. – P. 208-215.
256. Speer, B.S. Bacterial resistance to tetracycline: mechanisms, transfer, and clinical significance / B.S. Speer, N.B. Shoemaker, A.A. Salyers // *Clinical microbiology reviews*. – 1992. – T. 5, № 4. – P. 387–399.
257. Stoller, N.H. The pharmacokinetic profile of a biodegradable controlled-release delivery system containing doxycycline compared to systemically delivered doxycycline in gingival crevicular fluid, saliva, and serum / N.H. Stoller, L.R. Johnson, S. Trapnell, C.Q. Harrold, S. Garrett // *Journal of periodontology*. – 1998. – T. 69, № 10. – P. 1085–1091.
258. Takayama, S. Effect of eel galectin AJL-1 on periodontopathic bacterial biofilm formation and their lipopolysaccharide-mediated inflammatory cytokine induction // S. Takayama, E. Saitoh, R. Kimizuka, S. Yamada, T.

- Kato // International Journal of Antimicrobial Agents. – 2009. – № 34 – P. 355–359.
259. Tanner, A. C. R. Clinical and other risk indicators for early periodontitis in adults / A. C. R. Tanner, R.Jr. Kent, T. Dyke Van, S.T Sonis, L.A. Murray // Journal of Periodontology. – 2005. – № 76 (4). – P. 573–581.
260. Thurnheer, T. Integration of non-oral bacteria into in vitro oral biofilms / T. Thurnheer, G.N. Belibasakis // Virulence. – 2015. – T. 6, № 3. – P. 258–264.
261. Tran, C.M. PCR-based detection of resistance genes in anaerobic bacteria isolated from intraabdominal infections / C.M. Tran, K. Tanaka, K. Watanabe // Journal of Infection and Chemotherapy. – 2013. – № 19 (2). – P. 279–290.
262. Unniachan, A.S. Association between *Candida* species and periodontal disease: A systematic review / A.S. Unniachan, N.K. Jayakumari, S. Sethuraman // Current Medical Mycology. – 2020. – T. 6, № 2. – P. 63–68.
263. Van Winkelhoff, A.J. Antibiotics in periodontics: are we getting somewhere? / A.J. Van Winkelhoff // Journal of clinical periodontology. – 2005. – T. 32, № 10. – P. 1094–1095.
264. Van Winkelhoff, A.J. *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus* and other putative periodontal pathogens in subjects with and without periodontal destruction / A.J. Van Winkelhoff, B.G. Loos, W.A. Van Der Reijden, U. Van Der Velden // Journal of clinical periodontology. – 2002. – T. 29, № 11. – P. 1023–1028.
265. Varela, V.M. Systemic antimicrobials adjunctive to a repeated mechanical and antiseptic therapy for aggressive periodontitis: a 6-month randomized controlled trial / V.M. Varela, D. Heller, M.X. Silva-Senem, M.C.M. Torres, A.P.V. Colombo, E.J. Feres-Filho // Journal of periodontology. – 2011. – T. 82, № 8. – P. 1121–1130.
266. Veloo, A.C.M. Antibiotic susceptibility profiles of oral pathogens / A.C.M. Veloo, K. Seme, E. Raangs, P. Rurenga, Z. Singadji, G. Wekema-

- Mulder, A.J. van Winkelhoff // *International Journal of Antimicrobial Agents*. – 2012. – № 40 (5). – P. 450–454.
267. Velsko, I.M. Active invasion of oral and aortic tissues by *Porphyromonas gingivalis* in mice causally links periodontitis and atherosclerosis / I.M. Velsko, S.S. Chukkapalli, M.F. Rivera, J.Y. Lee, H. Chen, D. Zheng, I. Bhattacharyya, P.R. Gangula, A.R. Lucas, L. Kesavalu // *Journal PLoS ONE*. – 2014. – Vol. 9, № 5. – 11 p.
268. Vieira Colombo, A.P. Periodontal-disease-associated biofilm: A reservoir for pathogens of medical importance / A.P. Vieira Colombo, C.B. Magalhães, F.A. Hartenbach, R.M. do Souto, C.M. da Silva-Boghossian // *Microbial Pathogenesis*. – 2016. – № 94. – P. 27–34.
269. Villedieu, A. Prevalence of tetracycline resistance genes in oral bacteria / A. Villedieu, M.L. Diaz-Torres, N. Hunt, R. McNab, D.A. Spratt, M. Wilson, P. Mullany // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2003. – T. 47, № 3. – P. 878–882.
270. Walker, C. Rationale for use of antibiotics in periodontics / C. Walker, K. Karpinia // *Journal of periodontology*. – 2002. – T. 73, № 10. – P. 1188–1196.
271. Walker, C.B. Antibiotic susceptibility testing of subgingival plaque samples / C.B. Walker, J.M. Gordon, S.S. Socransky // *Journal of Clinical Periodontology*. – 1983. – T. 10, № 4. – P. 422–432.
272. Walker, C.B. The effects of sustained release doxycycline on the anaerobic flora and antibiotic-resistant patterns in subgingival plaque and saliva / C.B. Walker, K.C. Godowski, L. Borden, J. Lennon, S. Nangó, C. Stone, S. Garrett // *Journal of periodontology*. – 2000. – T. 71, № 5. – P. 768–774.
273. Warburton, P.J. TetAB46, a predicted heterodimeric ABC transporter conferring tetracycline resistance in *Streptococcus australis* isolated from the oral cavity / P.J. Warburton, L. Ciric, A. Lerner, LA. Seville, AP. Roberts, P.

- Mullany, E. Allan // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2013. – № 68 (1). – P. 17–22.
274. Wilke, M.S. β -Lactam antibiotic resistance: a current structural perspective / M.S. Wilke, A.L. Lovering, N.C.J. Strynadka // *Current opinion in microbiology*. – 2005. – T. 8, № 5. – P. 525–533.
275. Winkel, E.G. Amoxicillin plus metronidazole in the treatment of adult periodontitis patients. A double-blind placebo-controlled study / E.G. Winkel, A.J. Van Winkelhoff, M.F. Timmerman, U. Van der Velden, G.A. Van der Weijden // *Journal Of Clinical Periodontology*. – 2001. – № 28. – P. 296–305.
276. Wong, M.Y. Microbiological response of localized sites with recurrent periodontitis in maintenance patients treated with tetracycline fibers / M.Y. Wong, C.L. Lu, C.M. Liu, L.T. Hou // *Journal of periodontology*. – 1999. – T. 70, № 8. – P. 861–868.
277. Wu, Y.Y. Diabetes mellitus related bone metabolism and periodontal disease / Y.Y. Wu, E. Xiao, D. Graves // *International Journal of Oral Science*. – 2015. – № 7. – P. 63–72.
278. Xajigeorgiou, C. Clinical and microbiological effects of different antimicrobials on generalized aggressive periodontitis / C. Xajigeorgiou, D. Sakellari, T. Slini, A. Baka, A. Konstantinidis, // *Journal of clinical periodontology*. – 2006. – T. 33, № 4. – P. 254–264.
279. Xie, Y. Antimicrobial resistance and prevalence of resistance genes of obligate anaerobes isolated from periodontal abscesses / Y. Xie, J. Chen, J. He, X. Miao, M. Xu, X. Wu, B. Xu, L. Yu, W. Zhang // *Journal of Periodontology*. – 2014. – № 85. – P. 327–334.
280. Xu, H. Comparative analysis of subgingival microbiota in patients with mild, moderate, and severe chronic periodontitis / H. Xu, Y. Qian, S. Jia, Z. Shi, Q. Zhong // *Oral Diseases*. – 2022. – 10.1111/odi.14373.
281. Yeung, C. Dental antimicrobial stewardship / C. Yeung // *British Dental Journal*. – 2021. – № 230. – P. 115–116.

282. Zandbergen, D. The clinical effect of scaling and root planing and the concomitant administration of systemic amoxicillin and metronidazole: a systematic review / D. Zandbergen, D.E. Slot, C.M. Cobb, F.A. Van der Weijden // *Journal of periodontology*. – 2013. – T. 84, № 3. – P. 332–351.
283. Zbinden, A. The novel species *Streptococcus tigurinus* and its association with oral infection / A. Zbinden, N. Bostanci, GN. Belibasakis // *Virulence*. – 2015. – № 6 (3). – P. 177–182.