

На правах рукописи

АРУТЮНЯН АЛЕКСАНДР АРТЕМОВИЧ

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

1.5.11. Микробиология (медицинские науки)

3.1.7. Стоматология (медицинские науки)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва — 2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО МГМСУ имени А.И. Евдокимова Минздрава России)

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор

Ипполитов Евгений Валерьевич

доктор медицинских наук

Саркисян Микаел Альбертович

Официальные оппоненты:

Кафтырева Лидия Алексеевна – доктор медицинских наук, федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт – Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, отдел микробиологии, руководитель отдела, лаборатория кишечных инфекций, заведующая лабораторией

Иванова Елена Владимировна – доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра терапевтической стоматологии имени профессора В.С. Иванова, профессор кафедры

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится « 03 » октября 2023 года в 14:00 часов на заседании диссертационного совета 21.2.016.06, созданного на базе ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, по адресу 127006, г. Москва, ул. Долгоруковская, д. 4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России (127206, г. Москва, ул. Вучетича, д.10, стр. 2) и на сайте <https://dissov.msmsu-portal.ru>

Автореферат разослан « ____ » _____ 2023 года

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук,
профессор

Атрушкевич Виктория Геннадьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Состояние зубов, тканей пародонта и слизистой оболочки рта является неотъемлемой частью общего здоровья и благополучия человека, что отражено в декларациях ВОЗ и Всемирной Ассоциации Стоматологов («Global goals for oral health», 2020). Совершенствование своевременного и адекватного лечения воспалительных заболеваний пародонта является крайне актуальной задачей (Кузьмина Э.М. с соавт., 2018; Янушевич О.О. с соавт., 2019).

Как известно, хронический генерализованный пародонтит (ХГП) в этиологическом плане является многофакторным процессом, в возникновении и развитии которого ведущую роль играет триггерное взаимодействие орального микробиома и иммунного статуса пациента (Атрушкевич В.Г. с соавт., 2017, Румянцев В.А. с соавт., 2018; Цепов Л.М. с соавт., 2019; Червинец В.М с соавт., 2021).

Ведущим этиологическим фактором воспаления при пародонтите является микробная биопленка, которая формируется с участием наиболее агрессивных штаммов бактерий-пародонтопатогенов «красного/оранжевого комплекса» по Socransky обладающих широким набором факторов патогенности (Socransky S.S. et al., 1998; Muller H-P., 2004; Thurnheer T., Belibasakis G.N., 2015; Mombelli A. et al, 2018) или I-II порядков, согласно отечественной классификации пародонтопатогенных видов бактерий (Барер Г.М., Царев В.Н. с соавт., 2004, 2006; Николаева Е.Н. с соавт., 2011; Зорина О.А. с соавт., 2013; Янушевич О.О. с соавт., 2019; Балмасова И.П. с соавт., 2021).

Образование патогенными микроорганизмами биопленки, защищающей их от воздействия, не только иммунных сил организма, но и от антимикробного действия антибиотиков и других фармпрепаратов создает возможности передачи генов антибиотикорезистентности (Ющук Н.Д., Балмасова И.П., Царев В.Н., 2012; Ипполитов Е.В., 2016, 2017; Царев В.Н. и др., 2016, 2021 Иванова Е.В. с соавт., 2022; Kolenbrander P.E. et al., 2006; Sanz M. et al., 2017).

Чтобы предотвратить формирование агрессивной микробной биопленки, необходимо воздействие на ранние этапы процесса созревания, такие как прикрепление бактериальных клеток (адгезия) и образование микроколоний. Отсутствие фундаментальных исследований в этой области стоматологии препятствует совершенствованию этиотропного лечения ХГП, а увеличение количества антибиотикорезистентных штаммов микробиома полости рта обуславливает актуальность решения данной проблемы (Макеева И.М. с соавт., 2017; Орехова Л.Ю. с соавт., 2020; Ушаков Р.В. с соавт., 2019; 2022; van Winkelhoff A.J. et al., 2002, 2010; Mombelli A. et al, 2006, 2018).

Степень разработанности темы исследований. Ранее было известно, что анаэробная флора обладает высокой чувствительностью к производным имидазола и линкосамидам, а в настоящее время, выявляются достаточно

часто в биопленках резистентные штаммы из группы бактериоидов, фузобактерий, пептострептококков, клостридий к препаратам данных классов (Румянцев В.А. и др. 2018; Червинец В.М. и др. 2021; Nikolaeva E.N. et al., 2019).

В общеклинической практике за период с 1997 по 2015 гг. отмечалось статистически значимое снижение активности цефалоспоринов III-IV поколений, антисинегнойных пенициллинов, аминогликозидов, карбапенемов, ингибиторозащищенных пенициллинов, фторхинолонов, в отношении ключевых возбудителей нозокомиальных инфекций (Яковлев С.В., 2008; Чеботарь И.В., Маянский А.Н. с соавт., 2012; Тихомиров Д.С. с соавт., 2014; Алиева Е.В., Кафтырева Л.А. с соавт., 2020; Орехова Л.Ю. с соавт., 2020). Наблюдается также рост числа резистентных штаммов возбудителей, в том числе, и анаэробных, выделенных при флегмонах челюстно-лицевой области за последние 30 лет (Царёв В.Н. с соавт., 2017; Ушаков Р.В., Царев В.Н., 2019, 2021). Вопрос распространённости генов, кодирующих резистентность к антибиотикам при воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области, в том числе, при ХГП, освещён недостаточно (Ушаков Р.В., Царёв В.Н., Робустова Т.Г., 2021; Arredondo A., Blanc V., 2020). Современной 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 для лечения ХГП.

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 резистоста 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 исследования.

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/солютаб.

Внедрение результатов исследования.

Результаты исследования нашли применение в образовательном процессе студентов и ординаторов кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии, включая написание 2-х учебных пособий (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.) и, в практической работе врачей-стоматологов в стоматологической поликлинике № 48 г. Москвы Департамента здравоохранения РФ.

Обоснованность и достоверность результатов определяется использованием современных клиничко-лабораторных подходов к решению поставленных задач и, получением достаточного материала с используя современные методы выявления генетических показателей резистентности микробиоты полости рта при ХП к антимикробным препаратам ин витро и ин vivo и, подтверждается достаточным объемом полученных экспериментальных и клинических данных по определению стоматологического статуса, результатами молекулярно-генетических и микробиологических исследований; корректной статистической обработкой достаточно большим количеством результатов исследований и наблюдений.

Статистический анализ проводился с использованием программы StatTech v. 2.1.0 (разработчик - ООО "Статтех", Россия). Значимость различий между группами в каждый момент времени тестировалась с помощью теста

Краскела-Уоллиса (* $p < 0,05$). Временные различия оценивались с помощью теста Фридмана (* $p < 0,05$).

Личный вклад автора в исследование Автором сформулирована основная идея работы с учетом современных данных литературы и 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 и, проанализирована современная отечественная и зарубежная литературы по изучаемой проблеме.

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, г. 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.

Объем и структура диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, двух глав собственных исследований (лабораторно-экспериментальной и клиничко-лабораторной), обсуждения результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы.

Диссертация содержит 167 страниц компьютерного текста, Times New Roman 14, иллюстрирована 29 таблицами, 34 рисунками и фотографиями. Список литературы содержит 283 источника литературы, в том числе 118 отечественных и 165 зарубежных авторов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Дизайн, материалы и методы исследования

Автором было обследовано 123 пациента с воспалительными процессами в тканях пародонта, из которых отобрано 90 человек с диагнозом– хронический пародонтит (K05.3), средней степени тяжести в фазе обострения без системных заболеваний (сахарный диабет, рак, синдром иммунодефицита человека, метаболические заболевания костей или нарушения, затрудняющие заживление ран, лучевая или иммуносупрессивная терапия), исключены также беременность или период лактации, применение больным системных антибактериальных препаратов в течение предыдущих 2 месяцев и, с подтвержденной аллергической реакцией на антибактериальные препараты: амксициллин, тетрацилин, доксицилин, а так же пациенты системно принимающие НПВП и те, у которых проводилась пародонтальная терапия в течение предыдущего года, возраст до 20 и выше 60 лет. Все виды клинических исследований, а также рентгенологические (ортопантомография) и лабораторные (микробиологические) исследования проведены, в соответствии с существующими рекомендациями, в начале исследования (фоновые показатели), затем через 3, 6 и 12 месяцев после проводимой терапии (Кузьмина Э.М. с соавт., 2019; Янушевич О.О., Дмитриева Л.А., 2018).

Критериями включения пациентов в исследование был ранее нелеченый хронический пародонтит, возраст от 20 до 60 лет у лиц, без каких-либо системных заболеваний (оценка производилась с помощью анкеты). Умеренный пародонтит 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 $\frac{1}{2}$ длины.

Рандомизация групп исследования. Девяносто пациентов были рандомизированы на три равноценные группы: ХГП в стадии обострения (1-основная), группа сравнения с ХГП в стадии ремиссии (2), контрольная с интактным пародонтом (3). После проведения первоначальных (фоновых) клинических и микробиологических оценок и получения усреднённых показателей однородности групп сравнения были выбраны разные алгоритмы комплексного лечения заболеваний пародонта. 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 / форма «Солютаб» (Do) и амоксициллина / клавуланатом натрия (АМС) соответственно. 3 группа пациентов получала только профессиональную гигиену полости рта с процедурой полировки корней зубов SRP (контрольная группа).

Для подтверждения этиологической картины заболевания, дальнейшего мониторинга и оценки эффективности лечения 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.

В каждой группе, для микробиологического мониторинга были выбраны четыре не прилегающие друг к другу пародонтальных кармана с глубиной 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 К3 и 10 мг/мл азот-ацетилмурановой кислоты (Sigma) с добавлением 4 мкг/мл тетрациклина гидрохлорида (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 («Interscience»). Детекцию генетических маркеров ДНК основных видов пародонтопатогенных бактерий (1-2 порядка) в экссудате пародонтального кармана проводили традиционным методом мультиплексной ПЦР (НПФ «ГенЛаб», Россия). Оценку маркеров резистентности к антибактериальным химиопрепаратам проводили по данным фенотипического и генотипического исследования, которое охватывало 57 штаммов бактерий, которые первоначально отбирали по результатам выявленной устойчивости к стандартному набору антибиотиков. 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 с использованием набора референс-штаммов.

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 парадонтопатогенных 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 а ATCC 43718, *A. naeslundii S* (*A. viscosus*) ATCC 43146, *A. odontolyticus* ATCC 17929, *A. gerencseriae* ATCC 23860, *G. morbillosum* 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.

Для оценки распространённости генетических маркеров резистентности проводили идентичное исследование на предмет обнаружения R-генов с учётом результатов определения чувствительности диско-диффузионным методом, используя методику отбора штаммов, доминирующих по фенотипическим проявлениям устойчивости к бета-лактамам антибиотикам (ампициллин, амоксициллин/клавуланат), имидазолам (метронидазол), гликопептидам (ванкомицин) и тетрациклинам (доксциклин).

В молекулярно-генетическое исследование были включены штаммы - клинические изоляты, идентифицированные в нашей лаборатории, соответственно перечисленным группам (таблица 1).

Таблица 1 – Количественная характеристика идентифицированных штаммов, выделенных от обследованных пациентов, соответственно основной группировке

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

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

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 резистентность к бета-лактамам антибиотикам. 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-лактамазо-защищённым 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). Это имеет принципиальное значение, так как *P. gingivalis* является основным пародонтопатогенным видом.

У больных хроническим генерализованным пародонтитом в стадии обострения (группа 1) 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. Анализ частоты выявления генетических маркеров резистентности показал, что наиболее часто у представителей оральной микробиоты выявляли маркеры *ErmB* и *Mef*, *Van A, B* (40-50%), а также *Bla 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, максимальный уровень выявления высокой частоты резистентности отмечен не только для ErmB и Mef, Van A, B, но также и для Bla DHA (40-50%). Напротив, довольно низкой была частота CTX-M и Mec A (10%), TetQ (20%).

При анализе распространённости резистентности в группе 3 (у стоматологических пациентов с интактным пародонтом) ни для одного из определённых генов, не отмечено столь высокой частоты выявления, как в группах 1 и 2 (хронический пародонтит). 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%).

По результатам ПЦР было установлено, что представители анаэробных пародонтопатогенных видов – грамотрицательных (рисунок 1) – обладают довольно широким набором маркеров резистентности. 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 линкосаидам. Показатель резистентности к тетрациклинам оказался ниже – 0 % для гена **TetQ**, 23 % – для **TetM**, но был высоким для интегронов (53,9 %).

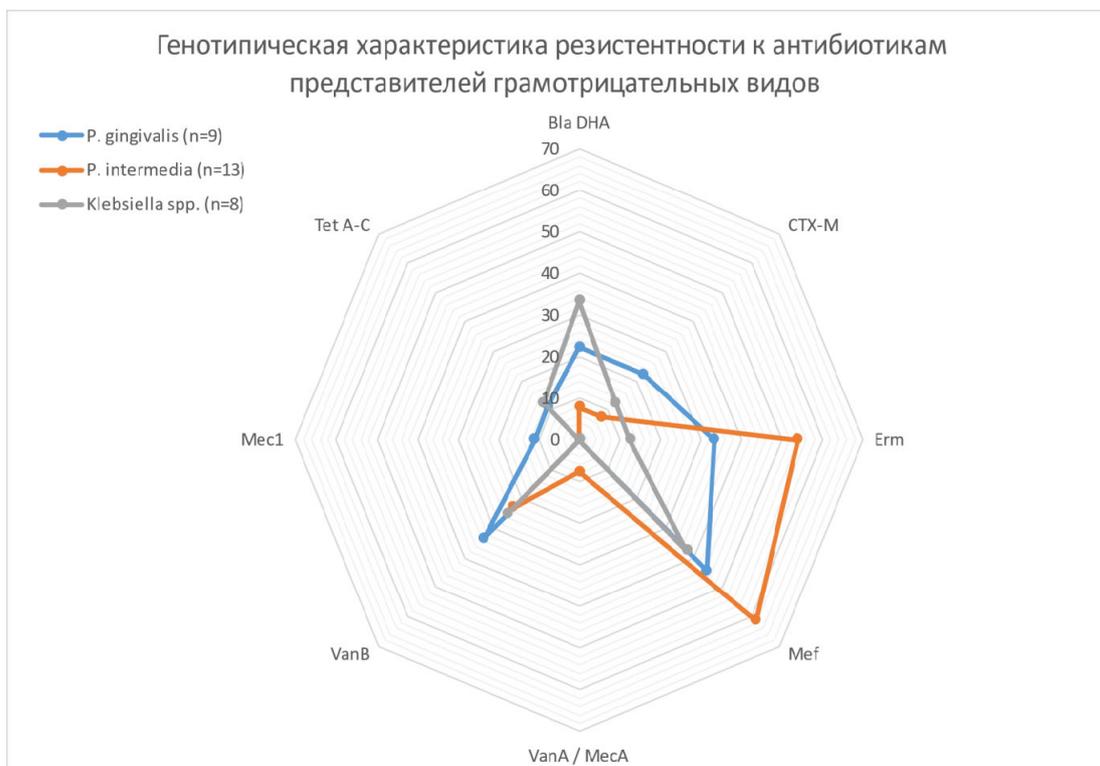


Рисунок 1 – Генетические маркеры резистентности к антибиотикам представителей грамотрицательных видов полости рта

Из грамположительных видов (рисунок 2), 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 **TetQ**, 44 % – для **TetM**, 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).

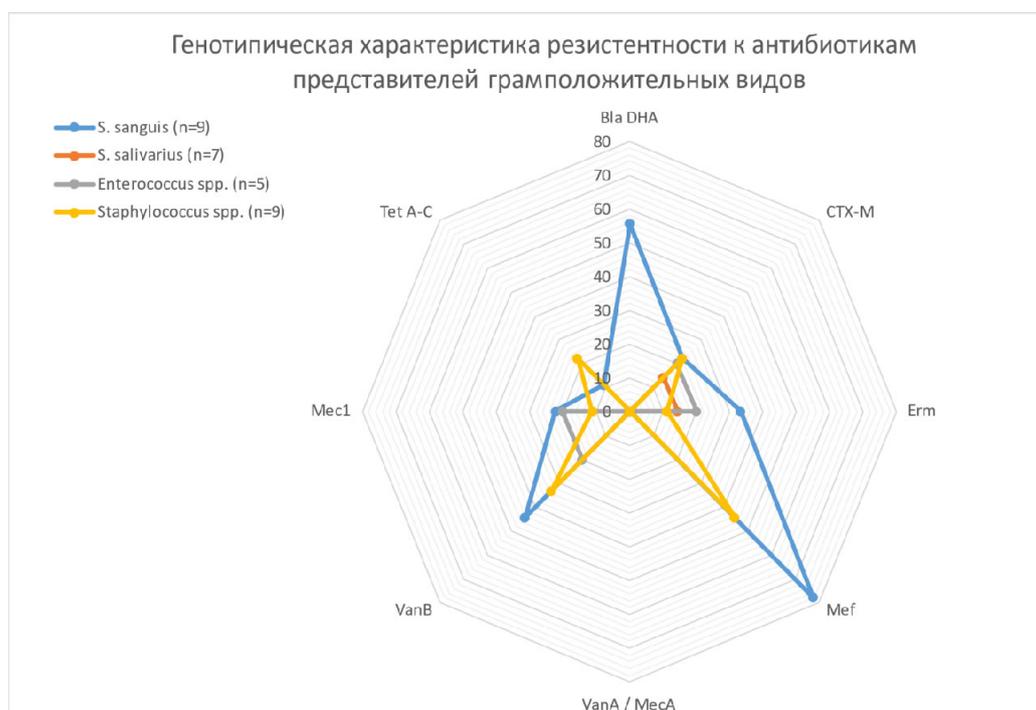


Рисунок 2 – Генетические маркеры резистентности к антибиотикам представителей грамположительных видов полости рта

Установлено, что частота выявления маркеров резистентности к бета-лактамным препаратам 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 **TetQ** – 8,8 %, и в 3 раза выше для **TetM** и **INT** – 28 и 29 % соответственно. Микроорганизмы *Streptococcus spp.*, *Veillonella parvula*, *Peptostreptococcus*, *Prevotella intermedia* и *A. actinomycetemcomitans* доминировали среди устойчивых штаммов до и после лечения (рисунок 3; 4; 5).

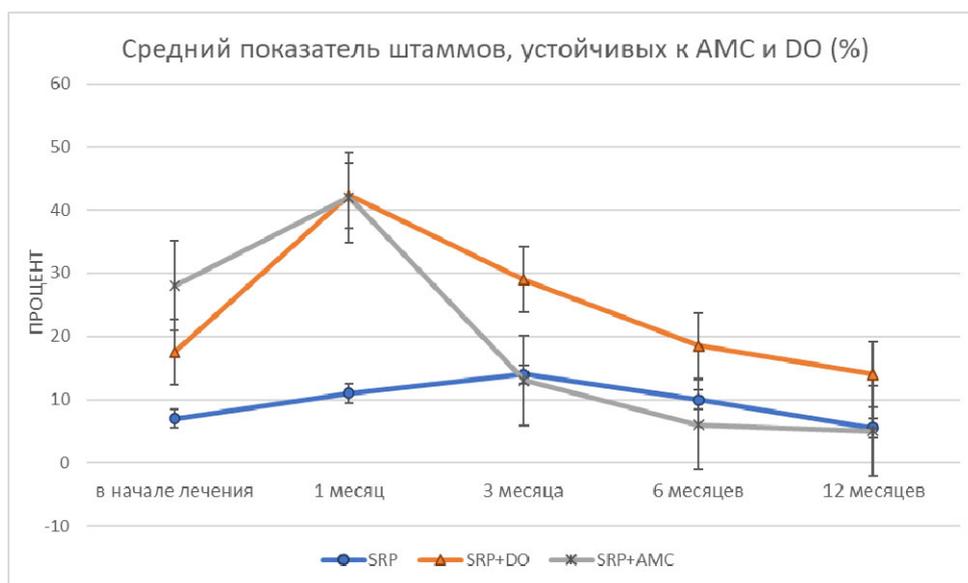


Рисунок 3 – Динамика среднего показателя штаммов (суммарно), устойчивых к 4 мкг/мл DO и АМС в образцах бляшек у пациентов из группы 1 (процедура полировки поверхности корней + Do), группы 2 (процедура полировки поверхности корней + системное лечение АМС), группы 3 (только процедура полировки поверхности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

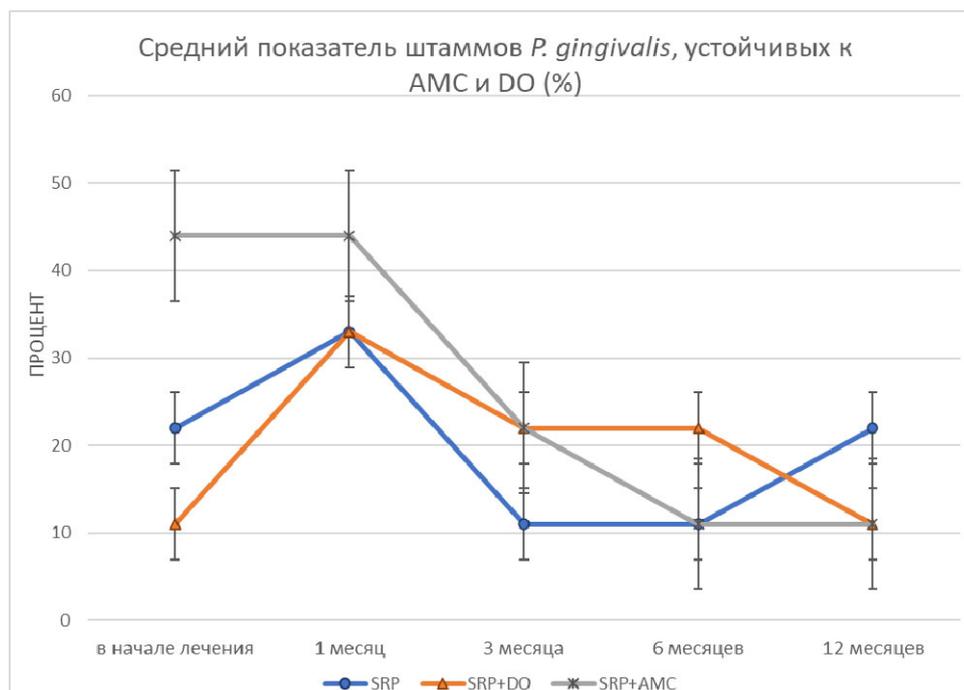


Рисунок 4 – Динамика среднего показателя штаммов *P. gingivalis*, устойчивых к 4 мкг/мл DO и АМС в образцах бляшек у пациентов из группы 1 (процедура полировки поверхности корней + Do), группы 2 (процедура полировки поверхности корней + системное лечение АМС), группы 3 (только процедура полировки поверхности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

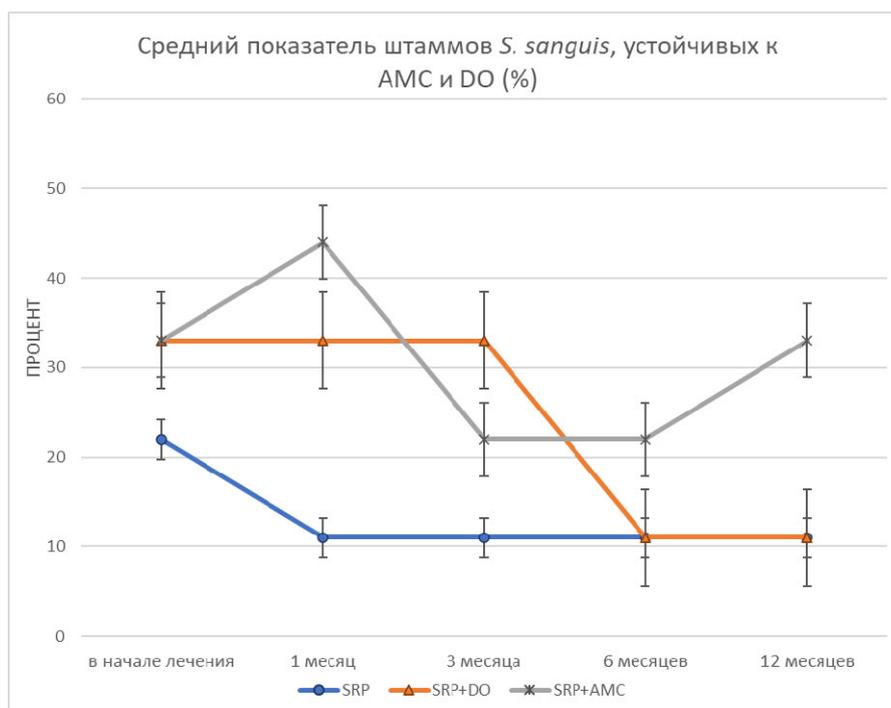


Рисунок 5 – Динамика среднего показателя штаммов *S. sanguis*, устойчивых к 4 мкг/мл ДО и АМС в образцах бляшек у пациентов из группы 1 (процедура полировки поверхности корней + Do), группы 2 (процедура полировки поверхности корней + системное лечение АМС), группы 3 (только процедура полировки поверхности корней) в начале лечения (0), через 1 месяц, через 3, 6 и 12 месяцев.

В процессе лечения выявлена тенденция к уменьшению частоты обнаружения устойчивых микроорганизмов, а именно штаммы *Tanerella forsythia*, *Capnocytophaga gingivalis*, *F. nucleatum ss. vincentii*, *Neisseria mucosa*, *Prevotella nigrescens* и *Prevotella melaninogenica* не были обнаружены ни в одном из образцов спустя один год применения фармтерапии, а штаммы *Porphyromonas spp.* не были обнаружены ни у одного пациента группы 2.

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

При оценке исходного пародонтологического статуса пациентов до назначения антибактериальной химиотерапии в комплексном лечении данного контингента пациентов удалось выделить приоритетные виды микроорганизмов, присутствующих в биотопе пародонтального кармана. Мы мониторировали показатели частоты выявления резистентности к тетрациклинам в процессе пародонтологического лечения пациентов с использованием схем системной антибактериальной терапии первого выбора

(амоксциллин/клавуланат) и резерва (доксциклин) и оценили эффективность использования схем пародонтологического лечения с использованием схем системной антибактериальной терапии и без антибактериальной терапии (только профессиональная гигиена с процедурой полировки корней зубов и орошением хлоргексидином).

На этапе первоначального стоматологического приема распространенность и значимые различия изученных генов и устойчивости к антибиотикам между двумя группами пациентов не удалось установить статистически значимых различий ($p = 0,326$). Спустя три месяца после проведенного лечения, у пациентов, принимавших по инструкции препарат АМС были выявлены статистически значимые различия ($p = 0,022$). При приеме препарата ДО 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 ДО отмечалась 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 показателей у группы, с применением препарата АМС не отмечалось достоверно разницы относительно контроля. Более половины случаев изменения индексного показателя лежали выше медианы полученных значений и приближались к сопоставимым значениям у лиц 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 ДО было сохранено большее количество случаев стабилизации положительной динамики индекса CAL, а при применении препарата АМС отмечалось почти полномасштабное идентичное совпадение клинической картины индекса CAL с контрольной группой. При оценке папиллярно-маргинально-альвеолярного индекса (РМА) на этапе первичного приема пациентов нам не удалось выявить значимых различий ($p = 0,525$). В ходе анализа определения значения индекса наблюдений, нами были установлены статистически значимые различия ($p = 0,001$), для препарата АМС и ДО по сравнению с контролем, без антибиотикотерапии. На следующих этапах уже была отмечена достоверная разница как в отношении снижения индексного значения у пациентов обеих исследуемых групп относительно контроля, а также разница между используемыми антибактериальными препаратами.

При сравнении бального показателя пародонтального индекса «Periodontal index (PI)», все полученные индексы в группах были сравнимо идентичными. Анализируя динамику индекса, спустя 3 месяца после первичного приема, были установлены наиболее выраженные статистически значимые различия во всей группе сравнения ($p = 0,004$). Значимая достоверность отмечалась при применении препарата ДО. При анализе показателя спустя полгода наблюдений также были установлены

статистически значимые различия ($p < 0,001$). При применении обоих антибиотиков отмечалось хоть и отличимое, но несущественное изменение бального значения. В контрольной группе просматривалась тенденция к ухудшению, как клинической картины, так и показателей пародонтального индекса. Аналогичные тенденции были показаны в группах сравнения для изменения величины потери прикрепления – индекс Clinical Attachment Loss (CAL), а также индекса кровоточивости - Papilla Bleeding Index (PBI) на ключевых этапах осмотра пациентов (после первичного приема и спустя 3-6-12 месяца).

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 АМС и DO.

В соответствии с представленной таблицей (таблица 2), на этапе шестого месяца наблюдений нами были установлены статистически значимые различия ($p = 0,025$), которые также были справедливы для препарата Амоксиклав.

Таблица 2 – Анализ динамики группы «Papillary-marginal-alveolar» в зависимости от исследуемых групп (РМА)

Группа	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
Отсутствие антибиотика	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
применение 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
применение DO	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 DO – 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 DO – отсутствие антибиотика = 0,011* • применение DO – применение АМС = 0,005* 	

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

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. 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 6).

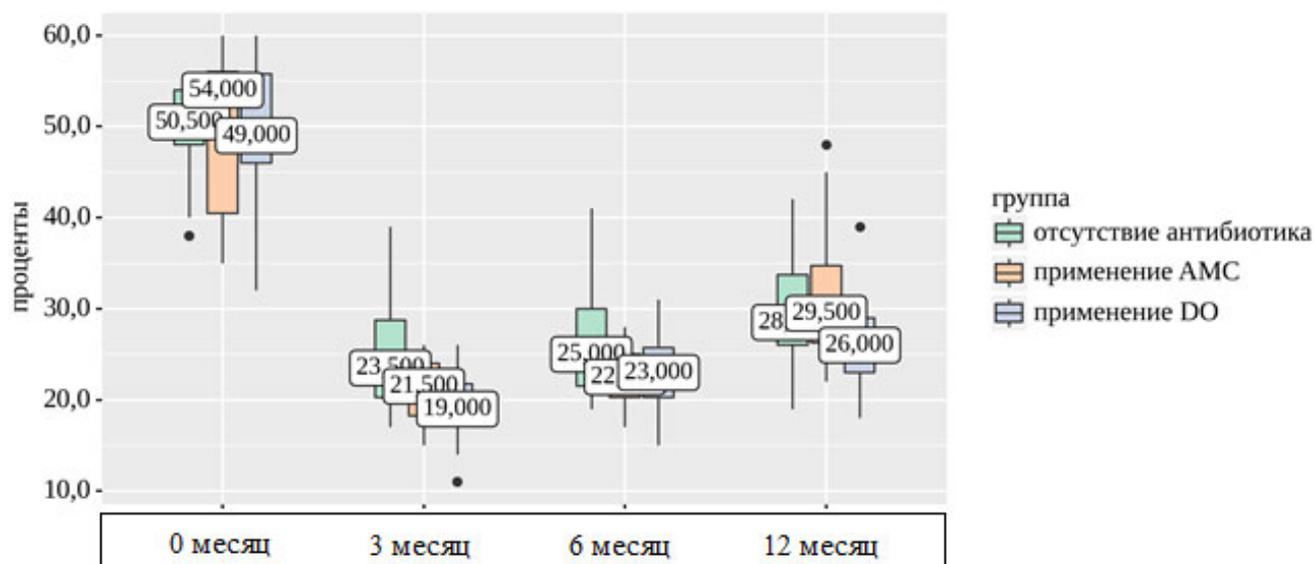


Рисунок 6 – Анализ динамики группы «Papillary-marginal-alveolar»

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 сравнений ($p < 0,001$). Между группами пациентов, у которых применялись антибактериальные препараты, не отмечалось статистической разницы, 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 ($p < 0,001$). Отмечалось существенные различия между группами, где применялись антибактериальные препараты. Индексные значения PBI в группе, где применялся препарат ДО были достоверно ниже (при $p = 0,029$) относительно группы, где применялся препарат АМС. Используемый метод – критерий Краскела–Уоллиса.

При оценке эффективности использования схем пародонтологического лечения с применением схем системной антибактериальной терапии и без антибактериальной терапии (только профессиональная гигиена с процедурой полировки корней зубов и орошением хлоргексидином) удалось определить различия по индексу гигиены полости рта ОНІ—S (таблица 3).

Таблица 3 – Анализ динамики гигиенический статус – «индекс гигиены полости рта ОНІ-S» (J.C. Green, J.R. Vermillion, 1964) в зависимости от исследуемых групп

Группа	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
отсутствие антибиотика	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
применение 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
применение DO	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 DO – отсутствие антибиотика = 0,001* 		<ul style="list-style-type: none"> • суммарно по группе – 0,001* • применение DO – отсутствие антибиотика <0,001 • применение DO – применение АМС <0,001 	

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

При сравнении показателей индекса ОНІ-S спустя 3 месяца после проведенного лечения были выявлены существенное улучшение показателей во всех подгруппах, но со статистически значимыми различиями в пользу применения антибиотиков. Данная тенденция была сохранена спустя год, где индексные значения ОНІ-S при применении препарата DO были достоверно ниже, относительно сравнений внутри подгруппы (применение DO – отсутствие антибиотика <0,001; применение DO – применение АМС <0,001).

Заключение.

Таким образом, в результате проведенных экспериментальных и клинко-лабораторных исследований, было установлено, что значительная часть штаммов оральной микробиоты у больных ХП была устойчива к амоксициллину; реже – к амоксициллину/клавуланату натрия, что указывало

на наличие бета-лактамаз расширенного спектра у этих штаммов. Для анаэробных видов *P. intermedia* и *P. gingivalis* основным фенотипическим признаком была резистентность к метронидазолу, которая выявлена в значительном числе случаев – примерно у 50% этих штаммов. В тоже время у 20-33 % штаммов фенотипически выявлена устойчивость к аминопенициллинам. Примечательно, что у значительной части этих штаммов выявлены генетические маркеры резистентности к бета-лактамам – Bla DHA, 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.

Из грамположительных видов, потенциально являющихся этиологическим фактором воспаления, наиболее широкий спектр маркеров резистентности выявлен у *S. sanguis* – для бета-лактамовых антибиотиков и большинства других препаратов, применяемых при системной (или местной) химиотерапии пародонтита (макролиды, линкосамиды, гликопептиды). Показатель резистентности к тетрациклинам был существенно ниже. Особый интерес представляла высокая доля пародонтальных карманов со штаммами *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* и *T. forsythia*, устойчивыми к 4 мкг/мл тетрациклина, что наблюдалось во всех трех группах в начале обследования. Через один год после терапии, проведенной пациентам с ХГП, пародонтопатоген *T. forsythia* не был обнаружен ни в одной из групп сравнения (доксциклин, амоксициллин/клавуланат). Устойчивый штамм *P. gingivalis* был представлен в 28 % образцах материала пародонтальных карманов у пациентов в группе традиционной терапии без антибиотиков (SRP), но в единичных случаях в группах с дополнительным системным применением антибиотиков.

Применение в работе сочетания современной профессиональной гигиены с использованием полировки корня зуба, способствующей разрушению микробных биопленок, позволило выявить полноценную эффективность лечения препаратами доксициклина в форме «Соллютаб» и амоксициллина/клавуланата при ХГП по клиническим и лабораторным показателям эффективности применяемых схем лечения. Оценка резистомы популяционной выборки, как показателя совокупного присутствия генов резистентности к антибактериальным химиопрепаратам для обследованной части жителей региона г. Москвы и Московской области позволяет говорить о подтверждении тенденции к уменьшению уровня чувствительности возбудителей пародонтита к бета-лактамовым антибиотикам, включая амоксициллин/клавуланат, для которого пока не достигнут критический уровень устойчивости, а также обосновать в дальнейшем возможность замены данной схемы лечения на доксициклин и фторхинолоны с предварительной полировкой зубов для устранения биопленки.

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 СТХ-М, blaDHA (15,8-17,5 %) и низкий, по TetA-C и Mec (до 8,8 %). Это позволило обосновать рациональный алгоритм выбора антибактериальной химиотерапии (амоксциллин/клавуланат натрия или доксициклин/солютаб) 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 резистома, 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 резистома, через один год после проведенного лечения, пародонтопатогены I порядка *T. forsythya* 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. Трудоёмкость 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 (амоксициллин/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: 200 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

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 // *Bulleten of stomatology maxillofacial sugery*. – 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 // *Bulitlletin of Stomatology and Maxillofacial Surgery*. – 2023. – Vol.19, №1. – С. 177-183.
9. Царев, В.Н. Генетические аспекты антибиотикорезистентности биопленкоформирующих 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.

Подписано в печать: 27.06.2023
Объем: 1,0 усл.п.л.
Тираж: 100 экз. Заказ № 6939
Отпечатано в типографии «Реглет»
117485, г. Москва, ул. Профсоюзная, д.102, стр. 1
(495) 973-28-32 www.reglet.ru