

Ягодина Елена Александровна

**Взаимосвязи герпесвирусной и бактериальной инфекции  
при хроническом пародонтите и оптимизация лабораторной диагностики**

03.02.03 — микробиология

14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

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:**

Заслуженный работник высшей школы РФ,  
доктор медицинских наук, профессор  
доктор медицинских наук, профессор

**Царев Виктор Николаевич**  
**Николаева Елена Николаевна**

**Официальные оппоненты:**

**Червинец Вячеслав Михайлович** – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии, заведующий кафедрой

**Марданлы Сейфаддин Гашим оглы** – доктор медицинских наук, доцент, Государственное образовательное учреждение высшего образования Московской области «Государственный гуманитарно-технологический университет» Министерства образования Московской области, кафедра фармакологии и фармацевтических дисциплин, профессор кафедры

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» Российской академии наук (ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова РАН)

Защита диссертации состоится « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2021 г. в « \_\_\_\_ » часов на заседании диссертационного совета Д 208.046.01 при Федеральном бюджетном учреждении науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по адресу: 125212, Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 10.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по адресу: 125212, Москва, ул. Адмирала Макарова, д.10, <http://www.gabrich.ru>

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2021 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор медицинских наук, профессор

**Борисова Ольга Юрьевна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### *Актуальность темы исследования*

Более 90% населения России подвержено заболеваниям пародонта, которые являются одной из ведущих проблем в современной стоматологии (Кузьмина Э.М. с соавт., 2009, 2019; Макеева И.М. с соавт., 2009; Янушевич О.О. с соавт., 2009, 2018; Donos N. et al., 2017; Mombelli A. et al., 2018). Изучение причин возникновения и развития болезней пародонта, исследование их взаимосвязи с соматической патологией, определение роли факторов риска возникновения и развития пародонтита – актуальная задача стоматологии и медицины в целом (Николаева Е.Н., 2008; Slots J. et al, 2013, 2017; Царёв В.Н. с соавт., 2017, 2020; Янушевич О.О. с соавт., 2019).

Если в отношении бактерий пародонтопатогенной группы, как фактора развития пародонтита, в последнее десятилетие достигнут значительный прогресс (Hajishengallis G. et al., 2014; Tanner A.C. et al., 2015; Царёв В.Н. с соавт., 2016, 2017; Ипполитов Е.В., 2016; Kinane D.F. et al., 2017), то в отношении роли вирусов, как фактора пародонтального риска, остается множество неясных вопросов (Николаева Е.Н., 2008; Contreras A. et al., 2014; Хисматуллина Ф.Р. с соавт., 2015; Slots J., 2015; Zhu C. et al., 2015; Шатохин А.И. с соавт. 2016; Jakovljevic A. et al., 2017).

Вирусы семейства *Herpesviridae* (*Herpesviridae* – с греч. «herpes» – «ползучая»), зачастую встречающиеся в практике многих врачебных специальностей, приводят к разнообразным поражениям тканей и органов у больных: страдают слизистые оболочки, мочеполовая система, нервная система, кожные покровы. После попадания вирусных частиц в организм человека они сохраняются длительное время в латентной фазе (персистенция) и активизируются при снижении иммунной реактивности организма под влиянием таких факторов, как инфицирование вирусами гриппа, иммунодефицита человека и другими, с клинически выраженными проявлениями, приводя уже к вторичной иммунной недостаточности (Исаков В.А. с соавт., 2013; Викулов Г.Х., 2015; Aichelburg M.C. et al., 2015; Dittmer D.P. et al., 2017; Forrest C. et al., 2018; Кравченко Л.В., 2018, 2019; Марданлы С.Г. с соавт., 2020).

Нарушения баланса механизмов местного иммунитета в полости рта напрямую влияют на звенья патогенеза хронического генерализованного пародонтита (Долгих Т.И. с соавт., 2010; Львов Н.Д., 2012; Contreras A. et al., 2014; Локтионов А.Л. с соавт., 2015; Касимова Е.Б. с соавт., 2017; Passariello C. et al., 2017; Царёв В.Н. с соавт., 2020).

Симптомы герпесвирусной инфекции (ГВИ) весьма разнообразны и зависят от распространенности, места проявления патологического процесса, общего состояния иммунитета пациента, антигенной принадлежности вируса к определенному типу (Викулов Г.Х., 2015; Блинов В.М. с соавт., 2017; Марданлы С.Г. с соавт., 2018). По данным многих мировых исследований, инфицирование населения, как взрослого, так и детского, вирусом простого герпеса HSV1 составляет от 65% до 90%. ВОЗ приводит результаты эпидемиологического исследования, в котором герпесвирусы (ГВ) по распространённости и смертности уступают только вирусам гриппа (Looker K.J. et al., 2015).

С учётом высокого уровня инфицированности вирусами герпеса населения во всем мире, необходима разработка микробиологических и иммунологических методов, позволяющих повысить эффективность диагностических алгоритмов, установить взаимосвязи герпесвирусной инфекции с бактериальной микробиотой, в том числе,

участвующей в развитии болезней пародонта (Contreras A. et al., 2014; Retamal-Díaz A.R. et al., 2017; Ting M. et al., 2017; Sanguenza-Acosta M. et al., 2018). Проведение молекулярной диагностики с корректной оценкой результатов для рационального включения в схемы лечения противовирусных, иммуномодулирующих и противогрибковых препаратов позволит ограничить распространение данной инфекции.

### ***Степень разработанности темы исследования***

Учитывая, что в России отсутствует обязательная медицинская регистрация случаев заболеваемости герпесвирусной инфекцией, то истинные цифры инфицированности остаются не известными: предположительно в России и странах СНГ около 20 миллионов людей поражены различными формами этой инфекции. По этой причине герпесвирусная инфекция становится важной проблемой в деятельности современной системы здравоохранения (Булгакова с соавт., 2013, 2017; Исаков В.А. с соавт., 2013; 2016; Марданлы С.Г. с соавт., 2018, 2020).

Вместе с тем, исследования по разработке места герпесвирусов в микробиоме полости рта человека, их взаимодействия с бактериальной микробиотой и их роли в патологии пародонта представлены единичными сообщениями. Так, в работе Новиковой А.С. (2006) впервые было проведено исследование параметров антителообразования к герпесвирусам при хроническом пародонтите и выявлены маркеры ДНК вирусов герпеса 1 и 2 типов, цитомегаловирусов в содержимом пародонтальных карманов и в зубодесневой борозде людей со здоровым пародонтом с помощью ПЦР. В исследованиях Царевой Т.В. (2012) при периимплантитах, которые, нередко ассоциированы с пародонтопатогенной бактериальной флорой, герпесвирусы статистически значимо определялись как коинфицирующие агенты. Установлено, что вирусы герпеса приводят к вторичному иммунодефициту и в латентной фазе, не сопровождающейся явными клиническими проявлениями (Булгакова А.И. с соавт., 2015; Retamal-Díaz A.R. et al., 2017; Ting M. et al., 2017; Sanguenza-Acosta M. et al., 2018).

Однако взаимосвязи между анаэробными бактериями – возбудителями пародонтита и разными видами вирусов семейства *Herpesviridae* остаются мало изученными. Поэтому, в условиях высокой распространённости инфицирования населения герпесвирусами, разработка эффективного, доступного и научно обоснованного подхода к данной проблеме в клинической практике и в каждом конкретном случае, является актуальной задачей практической медицины.

### ***Цель исследования***

Выявление взаимосвязей между представителями пародонтопатогенной микробиоты и коинфицирующими вирусными агентами семейства *Herpesviridae* для повышения эффективности клинической лабораторной диагностики воспалительных заболеваний пародонта.

### ***Задачи исследования:***

1. Определить вирусную нагрузку по наличию ДНК HSV1, HSV2, CMV и EBV в биопленках слизистых зубодесневой борозды людей со здоровым пародонтом и больных с различными формами воспалительных заболеваний полости рта.
2. Провести сравнительный анализ качественного состава наиболее вирулентных видов пародонтопатогенов I и II порядков - *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *A.*

*actinomycetemcomitans*, *T. denticola* и *P. intermedia* в биопленках области зубодесневой борозды здоровых людей, больных гингивитом и хроническим пародонтитом разных степеней тяжести заболевания.

3. Провести анализ возможных ассоциаций пародонтопатогенов и герпесвирусов в исследуемых участках пародонта.

4. Оценить общую инфицированность герпесвирусами и уровни специфических противовирусных антител в сыворотках периферической крови больных гингивитом, хроническим пародонтитом легкой, средней и тяжелой степенями тяжести заболевания и людей со здоровым пародонтом.

5. Оценить клинико-стоматологические показатели состояния тканей у обследованных субъектов с учетом формы герпесвирусной инфекции и проанализировать взаимосвязи клинических и лабораторных показателей.

### ***Научная новизна***

Получены новые данные о молекулярных лабораторных маркерах, свидетельствующих об участии герпесвирусов в этиопатогенезе воспалительных заболеваний тканей пародонта (гингивита и хронического пародонтита). Подтверждено наличие герпетической инфекции у пациентов, причём дифференцированы литическая и латентная формы герпесвирусной инфекции у больных гингивитом, хроническим пародонтитом и людей со здоровым пародонтом на основе лабораторных серологических маркеров острой фазы HSV1,2, CMV и EBV.

Выявлены ассоциации пародонтопатогенных бактерий *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, *P. intermedia* и вирусов семейства *Herpesviridae* в биопленках в области зубодесневой борозды (пародонтальном кармане) больных гингивитом и хроническим пародонтитом разных степеней тяжести заболевания и уточнена их роль в развитии деструктивных процессов в тканях пародонта.

Наибольшее количество ассоциаций с вирусами семейства *Herpesviridae* формирует ключевой пародонтопатогенный вид *P. gingivalis*, а также *A. actinomycetemcomitans* как у больных гингивитом, так и хроническим пародонтитом различных степеней тяжести. Не выявлено достоверной корреляции с пародонтопатогенным видом *T. forsythia*. Маркеры EBV чаще выявляли одновременно с *A. actinomycetemcomitans* и *P. intermedia*.

Изучение и оценка показателей гуморального звена адаптивного иммунитета выявили высокие уровни концентраций противовирусных антител в сыворотке крови больных гингивитом и хроническим пародонтитом различных степеней тяжести как с литическим, так и с латентным течением герпесвирусной инфекции. Установлены маркеры литической герпесвирусной инфекции и показано, что для острой литической инфекции характерны антитела IgM и IgG низкой авидности, в то время как для хронической и латентной – IgG высокой авидности.

Показано, что активная форма литической инфекции оказывает существенное влияние на развитие деструктивных процессов в пародонте, сопровождающиеся увеличением глубины пародонтальных карманов на 0,22 – 0,43 мм у больных хроническим пародонтитом лёгкой степени, 0,42 – 0,84 мм у больных средней степени тяжести и 0,98 – 1,23 мм – у больных тяжёлой степени заболевания. При сочетанном определении диагностических серологических и молекулярно-биологических

показателей, относительная частота выявления активной репликации моно- и микстинфекции, вызванной герпесвирусами, значительно выше, чем при использовании только молекулярно-биологических методов исследований, что, вероятно, позволит более корректно выбирать способ лечения.

### ***Теоретическая и практическая значимость***

В результате комплексного клинико-лабораторного обследования больных определена диагностическая ценность серологических лабораторных маркеров для оптимизации диагностики и прогнозирования характера течения литической формы герпесвирусной инфекции у больных гингивитом и хроническим пародонтитом.

Определены наиболее значимые диагностические критерии осложненного характера течения воспалительных процессов в области зубодесневой борозды на основании серологических и молекулярно-генетических маркеров литической формы герпесвирусной инфекции.

С применением современных методов лабораторной диагностики был установлен состав специфической микробиоты в биопленке зубодесневой борозды, включающей пародонтопатогенные виды бактерий и представителей семейства *Herpesviridae*, выявлены типы инфицирующих вирусов и формы герпесвирусной инфекции, что, по-видимому, позволит в дальнейшем скорректировать лечебные мероприятия, направленные на снижение нагрузки герпесвирусов в тканях пародонта при рассматриваемой патологии.

Для обследованной выборки (контингента) определена общая инфицированность и спектр специфических антител к вирусам семейства *Herpesviridae* (HSV1,2, CMV и EBV), характеризующих литические и латентные формы герпесвирусной инфекции.

На основании результатов молекулярно-биологических (ПЦР) и серологических исследований (ИФА) предложен новый способ диагностики воспалительных заболеваний тканей пародонта на основе определения молекулярных маркеров пародонтопатогенных бактерий, герпесвирусов и формы сопутствующей герпесвирусной инфекции по содержанию и avidности IgG и IgM-антител.

Проведённая работа позволяет повысить эффективность лабораторной диагностики и улучшить качество стоматологической помощи пациентам с воспалительными заболеваниями тканей пародонта на основе использования современных диагностических, прогностических и интерпретационных подходов с помощью современных методов статистической обработки результатов микробиологической, молекулярно-генетической и иммунологической диагностики. Полученные данные могут быть использованы в качестве контроля для дальнейших исследований.

Результаты исследования внедрены в клинико-лабораторную практику работы лаборатории молекулярно-биологических исследований Научно-исследовательского медико-стоматологического института МГМСУ им. А.И. Евдокимова и Центра клинической стоматологии МГМСУ им. А.И. Евдокимова (акт внедрения № 8 от 15.12.2020 г.).

Результаты исследования также внедрены в учебно-образовательный процесс кафедр: микробиологии, вирусологии, иммунологии; пропедевтики стоматологических заболеваний; хирургической стоматологии МГМСУ им. А.И. Евдокимова в виде лекций

и оснащения учебного процесса на занятиях по теме «Вирусология» и «Микробиология полости рта», учебных пособий, тетрадей-практикумов для студентов и разделов учебника «Микробиология, вирусология, иммунология» / под ред. проф. В.Н. Царёва, М.: ГЭОТАР-Медиа, (глава 15. Возбудители вирусных заболеваний. - С. 394-427) (акт внедрения № 3 от 28.01.2021 г.).

### **Методология исследования**

Методология диссертационной работы заключалась в комплексном подходе к изучению распространенности пародонтопатогенных видов бактерий *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, *P. intermedia*, вирусов семейства *Herpesviridae* (HSV1,2, CMV и EBV) в биопленках зубодесневой борозды с помощью ПЦР и серологических маркеров литических и латентных форм герпесвирусной инфекции у субъектов московского региона со здоровым пародонтом, больных гингивитом и хроническим пародонтитом на протяжении 2007 – 2019 гг. и выявлении их ассоциаций с клиническими признаками заболевания. Анализ научной литературы, посвященной тематике исследования, проведен формально-логическими методами.

Исследования, направленные на решение поставленных задач, осуществляли общенаучными и специфическими методами в соответствии с правилами проведения научных клинических исследований согласно ГОСТ Р 52379-2005 «Надлежащая клиническая практика», которые были одобрены Межвузовским комитетом по этике при Ассоциации медицинских и фармацевтических вузов (протокол № 2 от 7 ноября 2007 г. и № 05-17 от 25 мая 2017 г.).

### **Предмет изучения**

Основное содержание работы заключалось в определении общей инфицированности герпесвирусами в обследованной когорте людей московского региона, определении формы герпесвирусной инфекции с помощью выявления в исследуемом материале от пациентов с воспалительными заболеваниями тканей пародонта и людей с интактным пародонтом диагностических лабораторных серологических маркеров острой и латентной фазы герпесвирусной инфекции; молекулярных маркеров вирусов семейства *Herpesviridae* (HSV1, HSV2, CMV и EBV), а также приоритетных патогенов - представителей бактерий, так называемых, пародонтопатогенных видов, с помощью молекулярно-биологических методов, а также в выявлении взаимосвязи компонентов формируемых микробных ассоциаций.

### **Материалы и методы исследования**

**Исследуемый материал.** Материалом для исследования служили образцы из биопленок в области зубодесневой борозды и пародонтальных карманов и сыворотки периферической крови.

Обследованы 927 человек – пациентов стоматологических клиник. Набор и формирование групп пациентов проводили с участием лечащих врачей стоматологических поликлиник г. Москвы и Центра клинической стоматологии ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова.

В работе проведено исследование 927 образцов материала для выявления ДНК и последующей мультипраймерной ПЦР с диагностическими наборами

пародонтопатогенных бактерий и герпесвирусов, 927 проб венозной крови пациентов для определения иммуноглобулинов (антител к вирусам семейства *Herpesviridae*).

#### **Методы микробиологических исследований**

**Определение ДНК пародонтопатогенных бактерий молекулярно-биологическими методами.** В области зубодесневой борозды стоматологическими аппликаторами №1 (“микробрашами”) отбирали образцы биопленок. В лаборатории молекулярно-биологических исследований НИМСИ МГМСУ выделяли ДНК с помощью набора реагентов “Пробоподготовка Универсальная” (ООО НПФ “Генлаб”). Амплификацию маркеров пародонтопатогенных бактерий: *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* проводили в термоциклере “Терцик МС-2” (“ДНК-технология”, Москва) с помощью мультипраймерного ПЦР набора “Мультидент-5” (ООО НПФ “Генлаб”). Амплифицированные образцы ДНК анализировали гель-электрофорезом в 1,6% агарозе после окрашивания бромистым этидием.

**Определение маркерной ДНК вирусов семейства *Herpesviridae*.** В образцах из биопленок в области зубодесневой борозды и пародонтальных карманов проводили идентификацию ДНК вирусов простого герпеса 1 и 2 типов (HSV 1, 2), цитомегаловируса (CMV) и вируса Эпштейн - Барра (EBV) с помощью полимеразной цепной реакции с последующим электрофорезом в 1,6 % агарозном геле, используя мультиплексный набор реагентов “Мультигер-3” для идентификации CMV, HSV 1, 2 и EBV, а также “Герп- 2” для идентификации HSV 2 типа (ООО НПФ “Генлаб”, Москва).

#### **Методы иммунологических исследований**

**Определение специфических антител к представителям семейства *Herpesviridae* с помощью иммуноферментного анализа.** Активность герпесвирусной инфекции определяли по наличию в сыворотке крови обследованных людей специфических антител IgM и авидности IgG для HSV1 и HSV2, предранние IgG-CMV-IEA, поздние IgG-CMV, IgG к ранним антигенам EA-EBV, IgM и IgG-антител к капсидному антигену (VCA-EBV), а также и IgG-антител к ядерному антигену EBNA методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием коммерческих наборов для ИФА («Вектор-Бест», Россия). ИФА выполняли в соответствии с прилагаемыми инструкциями. Результаты регистрировали с помощью спектрофотометра «Stat Fax 3200» (Awareness Technology, Inc, USA) при  $\lambda 450$  нм.

Об активности инфекционного процесса судили по выявлению герпесвирусов в биологических материалах; по позитивным результатам выявления специфических серологических и молекулярно-биологических маркеров герпесвирусной инфекции, авидности антител. Диагностические критерии активности герпесвирусной инфекции представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Диагностические критерии активности ГВИ

Форма ГВИ	Маркеры инфекции			
	ДНК (ПЦР)	Ig M (ИФА)	Ig G (ИФА)	Авидность антител
Острая инфекция	+	+	+	низкая
Рецидивирующая хроническая инфекция	+	-/+	+	высокая
Латентная инфекция	-/+	-	+	высокая



### ***Методы клинического обследования пациентов***

При обследовании пациентов с заболеваниями пародонта проводили: определение вида, формы, тяжести, характера течения заболевания; выявление общих и местных этиологических и патогенетических факторов, вызвавших пародонтит. Перед приемом пациенты заполняли анкеты - опросники для выявления соматических заболеваний и оценки функционального состояния организма.

Особое внимание обращали на перенесенные и сопутствующие заболевания, профессиональные вредности, наследственность, вредные привычки и гигиенические навыки пациента. Отмечали наличие и характер профессиональных вредностей (интоксикация, хроническое психоэмоциональное напряжение), так как они предрасполагают к развитию патологического процесса в пародонте. В процессе анкетирования больного выясняли анамнез, жалобы на наличие кровоточивости десен, боли или какие-либо неприятные ощущения. Обязательным являлось выяснение длительности заболевания, характер проводимого лечения и его эффективности.

Учитывали состояние слизистой оболочки рта, десны, зубных рядов, характер зубного прикуса, наличие зубных отложений, наличие и глубину пародонтального кармана, обнажение корней зубов, их чувствительность и подвижность, а также данные объективного клинического обследования пациента врачом-стоматологом, которые включали индексную оценку состояния гигиены полости рта и тканей пародонта (пародонтальные индексы) (Кузьмина Э.М. с соавт., 2016, 2019).

### ***Статистические методы исследования***

Статистическую обработку данных осуществляли при помощи пакета прикладных программ Statistika 7.0 и BIOSTAT v.4.03. Достоверность различий между показателями определяли с использованием параметрических и непараметрических методов вариационной статистики с заданным уровнем значимости  $\alpha=0,05$  и  $p \leq 0,05$ . В таблицах и рисунках, представленных в работе, значениям N соответствует количество пациентов в исследуемых группах, n – частота, % - относительная частота (доля от общего количества выборки),  $\eta$  – число степеней свободы, p – вероятность справедливости нулевой гипотезы для критерия  $\chi^2$ , \* - статистически достоверные отличия между сравниваемыми группами. В исследованиях с малой выборкой данных указаны медиана и интерквартильный размах – Me ( $x_{0,25}$ ;  $x_{0,75}$ ), минимальное и максимальные значения оцениваемых параметров – [мин. – макс.].

### ***Личное участие автора в получении результатов***

Личное участие автора заключалось в анализе научной литературы, планировании исследований, анкетировании пациентов, определении их соответствия критериям включения/исключения, взятии материалов для микробиологического, иммуноферментного и молекулярно-биологического исследования.

Выявление герпесвирусной инфекции у пациентов на основании данных анамнеза, результатов объективных и лабораторных исследований проводилось диссертантом совместно со старшим научным сотрудником лаборатории молекулярно-биологических исследований Е.М. Фомичёвой.

Набор и формирование групп пациентов проводили с участием лечащих врачей стоматологических поликлиник г. Москвы и Центра клинической стоматологии ФГБОУ

ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова: Ахмедова Г.Д., Башилова Л.И., Бычкова А.И., Волковой И.М., Журули Н.Г., Елизовой Л.А., под руководством д.м.н., профессора В.Г. Атрушкевич и академика РАН, д.м.н., профессора О.О. Янушевича.

Автор лично выполняла все виды микробиологических, молекулярно-биологических, иммунологических экспериментов, проводила анализ полученных результатов и статистическую обработку данных. Участвовала в подготовке материалов для публикаций, патентно-информационных исследованиях по теме диссертации, готовила и выполняла устные и постерные доклады на конференциях.

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

1. Клинически выраженные воспалительные процессы в тканях пародонта бактериальной этиологии с выделением генетических маркеров отдельных видов или ассоциаций пародонтопатогенных бактерий *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, *P. intermedia* коррелируют с продуктивной формой герпесвирусной инфекции.

2. Комплексная оценка показателей гуморального противовирусного иммунитета позволяет более точно определить вклад активной репликации или латентной персистенции герпесвирусов в развитие воспалительных процессов в области зубодесневой борозды и деструкцию тканей пародонта у больных гингивитом и хроническим пародонтитом разных степеней тяжести.

3. Алгоритм микробиологической диагностики воспалительных заболеваний тканей пародонта должен включать сочетанное применение методов лабораторной диагностики молекулярных маркеров наиболее вирулентных видов патогенов (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, *P. intermedia*), вирусов семейства *Herpesviridae* (HSV1,2, CMV и EBV) в биопленках зубодесневой борозды с помощью ПЦР и серологических маркеров литических и латентных форм герпесвирусной инфекции.

### ***Степень достоверности и апробация результатов***

Первичный клинический материал представлял собой соскоб микробной биоплёнки зубодесневой борозды (здорового пародонта, в стадии ремиссии заболевания и при легкой степени) или пародонтального кармана полости рта пациентов (в стадии обострения и при средней и тяжелой степени воспаления). Всего проведено исследование:

- 927 образцов материала для выявления ДНК и последующей мультипраймерной ПЦР с диагностическими наборами пародонтопатогенных бактерий и герпесвирусов;
- 927 проб венозной крови пациентов для определения иммуноглобулинов (антител к вирусам семейства *Herpesviridae*).

Достоверность результатов также обеспечивается проведением исследовательских работ современными методами с использованием сертифицированного оборудования и в соответствии с международными и российскими рекомендациями (Hayden R.T. et. al., 2017; Потекаев Н.Н. с соавт., 2018), проведённой статистической обработкой полученных данных с использованием методов параметрической и непараметрической статистики.

Работа выполнена в соответствии с научной отраслевой программой Федерального

государственного бюджетного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения России 07-12. «Изучение патогенеза, разработка методов диагностики и лечения наиболее распространенных заболеваний пародонта», 11.00. «Микробиология» и 05.00 «Иммунология». Регистрационный номер темы НИР - А16-116102010054-1. Исследования проведены на оборудовании, имеющем сертификаты качества, свидетельства и аттестаты о метрологической поверке.

Апробация диссертации проведена на заседании Ученого совета Научно-исследовательского медико-стоматологического института МГМСУ им. А.И. Евдокимова Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России (протокол № 07 от 03.07.2019 г).

Основные положения диссертации и материалы исследований доложены на научно-практических конференциях: IV Съезд Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова (Пушино, 2006 г.); Научная конференция с международным участием, посвященная 75-летию теории академика Е.Н. Павловского о природной очаговости болезней «Актуальные аспекты природной очаговости болезней» (Омск, 2014 г.); на XII Всероссийском стоматологическом форуме Дентал-Ревю 2015 «Образование, наука и практика в стоматологии» (Москва, 2015 г.); на XIII Всероссийском стоматологическом форуме Дентал-Ревю 2016 «Стоматологическое образование. Наука. Практика» (Москва, 2016 г.); на XIV Всероссийском стоматологическом форуме Дентал-Ревю 2017 «Стоматологическое образование. Наука. Практика» (Москва, 2017 г.); на IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика - 2017» (Москва, 2017 г.); XV Всероссийский стоматологический форум выставка-ярмарка Дентал-Ревю 2018 (Москва, 2018 г.); V Форум университетской науки «Научное медицинское прогнозирование: молекулярно-генетические аспекты, триггеры патогенеза, ятрогенные влияния» (Москва, 2018 г.); Международном научном форуме «Science. Education. Practice» (Toronto, 2020).

### ***Публикации***

По теме диссертационной работы опубликовано 22 печатные работы, из них: 11 – в рецензируемых изданиях, 3 – тезисы в рецензируемых изданиях, 5 – в других изданиях и 3 – в материалах конференций.

### ***Объем и структура диссертации***

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, 3 глав собственных исследований, обсуждения результатов и заключения, выводов, практических рекомендаций, перспективы дальнейшей разработки темы, списка сокращений и списка использованной литературы. Работа изложена на 168 страницах, иллюстрирована 22 рисунками и 43 таблицами. Список литературы представлен 219 источниками, из них 70 отечественных и 149 зарубежных авторов.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Для выполнения цели и задач диссертационной работы за период с 2007 по 2019 гг. нами было обследовано 927 пациентов стоматологических клиник московского региона со здоровым пародонтом, больных гингивитом и хроническим пародонтитом в возрасте от 18 до 75 лет – 493 (53%) женщины и 434 (46%) мужчины.

Согласно стоматологическому диагнозу, установленному в соответствии с МКБ 10, из общего массива (базы данных) выделены 4 группы пациентов:

- 1) острый гингивит – 122 человека в возрасте от 18 до 50 лет (класс по МКБ 10: К.05.0).
- 2) хронический (генерализованный) пародонтит легкой степени (ХПЛ) – 138 человек в возрасте от 18 до 75 лет.
- 3) хронический (генерализованный) пародонтит средней степени тяжести (ХПС) – 289 человек в возрасте от 18 до 75 лет.
- 4) хронический (генерализованный) пародонтит тяжелой степени (ХПТ) – 227 человек в возрасте от 18 до 70 лет.
- 5) контрольная группа – 151 человек со здоровым пародонтом - в возрасте от 18 до 64 лет.

Всего в исследовании (в группах сравнения) участвовали 654 человека с хроническим пародонтитом (класс по МКБ 10: К.05.3), в том числе, 332 (51%) женщины и 322 (49%) мужчин.

На основании критериев включения/исключения, анкетирования пациентов и анализа клинических заключений (диагнозов) сравнения с учётом международной классификации болезней МКБ 10 нами была проведена рандомизация пациентов по основным группам.

Использованные нами клинические критерии представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Клинические критерии включения и не включения в исследование

Критерии включения	Критерии не включения
✓ Пациенты с гингивитом, хроническим пародонтитом легкой, средней и тяжелой степеней тяжести	✓ Пациенты, получавшие при лечении локальное и системное применение антимикробных агентов менее чем за 1 месяц до проведения исследований
✓ Люди со здоровым пародонтом	✓ Беременность
✓ Пациенты с соматическими заболеваниями в фазе компенсации: <ul style="list-style-type: none"> <li>• желудочно-кишечного тракта</li> <li>• кардиоваскулярной патологией</li> <li>• патологией дыхательной системы</li> <li>• патологией опорно-двигательного аппарата</li> </ul>	✓ Пациенты с соматическими заболеваниями в фазе декомпенсации <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Пациенты с онкологическими заболеваниями</li> <li>✓ Пациенты с гематологическими заболеваниями</li> <li>✓ Пациенты с сахарным диабетом I и II типа</li> <li>✓ Пациенты с иной эндокринной патологией (гипо- и гипертиреоз)</li> </ul>
✓ Добровольное согласие на участие в исследовании	✓ Отсутствие согласия на участие в исследовании

**Клиническая характеристика пациентов.** В контрольную группу вошли 93 (62%) женщины и 58 (38%) мужчин, средний возраст которых составил  $24,5 \pm 3,4$  (21 – 28) лет, из них только 13 (9%) человек были старше, а 138 (91%) – моложе 35 лет. Средний возраст больных гингивитом был выше –  $41,2 \pm 4,2$  (38,1 – 44,3) лет, 8 (7%) старше и 114 (93%) моложе 35 лет. Средний возраст больных хроническим пародонтитом (ХП) варьировал в пределах 38 – 49 лет, из них 72% – 82% пациентов были старше, 18% – 28% - моложе 35 лет (в зависимости от степени тяжести заболевания). В период обследования у пациентов отсутствовала острая вирусная инфекция.

По данным опроса только 306 (33 %) человек указали на наличие в анамнезе инфекций, вызываемых вирусами семейства *Herpesviridae*. Из них у 14 (9%) людей со здоровым пародонтом, 49 (40%) человек с гингивитом, 48 (35%) больных ХПЛ, 108 (37%) больных ХПС и 87 (38%) человек с ХПТ. Клинических признаков герпетического стоматита и/или гингивостоматита при обследовании пациентов мы также не выявили.

Следует отметить, что до нашего исследования только 23% пациентов был ранее поставлен диагноз ХП и проведено консервативное лечение. К ним относились, в основном, пациенты с ХПТ, причем через 3-4 месяца после лечения у 60% - 70% пациентов наблюдалось обострение заболевания. На момент стоматологического осмотра у 95% пациентов гигиена полости рта была неудовлетворительной.

Показатели индексов гигиены и степени воспаления тканей десны в группе пациентов с гингивитом были статистически достоверно выше, чем у людей со здоровым пародонтом. Так, индекс РМА был выше в 26 - 45 раз, SBI – в 1,4 раза, PDI – в 8 раз и индекс рельефа десны (ПК) – в 1,8 раз, чем у представителей контрольной группы. У больных ХП индексные показатели были хуже не только по сравнению со здоровыми людьми, но и с больными гингивитом. Индекс РМА был статистически достоверно выше в 1,3 раза, ОНIs – в 1,5 раза, SBI – в 4,7 раза, PDI – в 1,9 раза, PI – в 11,7 раза и ПК – в 2,6 раза. При этом величины этих показателей свидетельствовали о степени тяжести заболевания: индексные оценки у больных ХПС были в 1,2 - 3,2 раза выше, чем у пациентов с ХПЛ; больных ХПТ – в 1,2 - 1,6 раза больше, чем у людей с ХПС и в 1,4 - 5,7 раза, чем у больных ХПЛ при  $p < 0,05$ .

Визуально это выражалось в наличии большого количества мягкого зубного налета, гиперемии и цианотичности межзубной и маргинальной десны, деформации межзубных сосочков за счет отека, подвижности зубов 1-2 степени у пациентов с ХПС. При ХПТ все деструктивные изменения проявлялись в большей степени в виде обильного количества зубных отложений, выраженном цианозе десны, деформации межзубных сосочков, подвижности зубов 2-3 степени, выраженной окклюзионной травме, отсутствии отдельных зубов.

**Оценка ассоциаций герпесвирусов и пародонтопатогенных бактерий в области зубодесневой борозды.** С помощью молекулярно-биологических исследований были изучены варианты встречаемости вирусов семейства *Herpesviridae* в области зубодесневой борозды и пародонтопатогенных бактерий. Частота таких ассоциаций с вирусами для пародонтопатогенных бактерий была значительной и достигала для разных видов от 21,3 до 67,2 % при гингивите и от 36,7 до 61,6 % при пародонтите, в то время как у здоровых - от 0 до 5 % (Таблица 3).

Таблица 3 – Частота выявления ДНК исследуемых видов микробиоты (герпесвирусов и пародонтопатогенных бактерий) в области зубодесневой борозды, n (%)

Группа Переменная	Контроль ная N=151	Гингивит N=122	ХП N=654	ХПЛ N=138	ХПС N=289	ХПТ N=227	$\chi^2$	$\eta$	p	
HSV1	+	5(3,3)	27(22,1)	148(22,6)	21(15,2)	52(18,0)	75(33,0)	54,2	5	0,00
	-	146(96,7)	95(77,9)	506(77,4)	117(84,8)	237(82,0)	152(67,0)			
HSV2	+	0 (0)	5 (4,1)	15(2,3)	0(0)	5(1,7)	10(4,4)	14,2	5	0,016
	-	151(100)	117(95,9)	639(97,7)	138(100)	284(98,3)	217(95,6)			
CMV	+	2(1,3)	9 (7,4)	65(9,9)	11(8,0)	24(8,3)	30(13,2)	17,4	5	0,004
	-	149 (98,7)	113(92,6)	589(90,4)	127(92,0)	265(91,7)	197(86,8)			
EBV	+	3(2,0)	29(24,0)	167(25,5)	28(20,3)	72(24,9)	67(29,5)	34,7	5	0,000
	-	148(98,0)	93(76,0)	487(74,5)	110(79,7)	217(33,1)	160(70,5)			
<i>P.intermedia</i>	+	1(0,7)	26(21,3)	287(43,9)	42(30,4)	127(43,9)	118(52,0)	140,1	5	0,000
	-	150(99,3)	96(78,7)	367(56,1)	96(69,6)	162(56,1)	109(48,0)			
<i>A.actinomycetemcomitans</i>	+	8(5,3)	66(54,1)	240(36,7)	40(29,0)	106(36,7)	94(41,4)	85,5	5	0,000
	-	143(94,7)	56(45,9)	414(63,3)	98(71)	183(63,3)	133(58,6)			
<i>T.denticola</i>	+	6(4,0)	54(44,3)	325(49,7)	58(42,0)	151(52,2)	116(51,1)	119	5	0,000
	-	145(96,0)	68(55,7)	329(50,3)	80(58,0)	138(47,8)	111(48,9)			
<i>T.forsythia</i>	+	4(2,6)	82(67,2)	403(61,6)	65(47,1)	186(64,4)	152(67,0)	213	5	0,000
	-	147(97,4)	40(32,8)	251(38,4)	73(52,9)	103(35,6)	75(33,0)			
<i>P.gingivalis</i>	+	0(0)	35(28,7)	378(57,8)	64(46,4)	171(59,2)	143(63,0)	215	5	0,000
	-	151(100)	87(71,3)	276(42,2)	74(53,6)	118(40,8)	84(37,0)			

В частности, установлено, что в области зубодесневой борозды у 5 (3%) здоровых людей, 27 (22%) человек с гингивитом, 148 (23%) больных ХП выявлена ДНК HSV1. Причём определённые различия выявлены по степени тяжести ХП. ДНК HSV1 определили в пародонтальных карманах 75 (33%) больных ХПТ. У больных ХПС ее определили в 1,8 раза и у пациентов с ХПЛ – в 2,2 раза реже. HSV2 выявили у 10 (4%) больных ХПТ, 5 (2%) человек с ХПС и 5 (4%) с гингивитом.

ДНК CMV определили во всех группах пациентов: у 2 (1%) здоровых людей, 9 (7%) человек с гингивитом, 11 (8%) больных с ХПЛ, 24 (8%) больных с ХПС, 30 (13%) больных с ХПТ, всего у 65 (10%) больных ХП.

ДНК EBV определили у 3 (2%) человек со здоровым пародонтом, 29 (24%) человек с гингивитом, 167 (26%) больных ХП: у 28 (20%) человек с ХПЛ, 72 (25%) – с ХПС и 67 (30%) – с ХПТ.

Итак, у 3% людей со здоровым пародонтом была выявлена ДНК ГВ, кроме HSV2. У больных с воспалительными заболеваниями тканей пародонта чаще всего (в 22% - 25% случаев) определили HSV1 и EBV, реже HSV2 – в 2% - 4% случаев и у 7% - 10% больных – ДНК CMV. Максимальная частота ГВ отмечалась в пародонтальных карманах больных ХПТ.

ДНК *P. intermedia* была выделена всего у 1 (0,7%) человека со здоровым пародонтом, у 26 (21%) человек с гингивитом и у 287 (44%) больных ХП: от 42 (30%) человек с ХПЛ до 127 (44%) больных ХПС и 118 (52%) человек с ХПТ. Разница

статистически значимо достоверна между данными пациентов всех обследованных групп.

Что касается бактериальных патогенов, то установлено, что ДНК *A. actinomycetemcomitans* определена у 8 (5%) здоровых людей, 66 (54%) человек с гингивитом и 240 (37%) больных ХП. Следует отметить, что при гингивите частота выявления этого вида микробов была выше, чем у больных ХП всех степеней тяжести – 40 (29%), 106 (37%) и 91 (41%) соответственно,  $p < 0,05$ .

ДНК *T. denticola* выявили у 6 (4%) здоровых людей, 54 (44%) больных гингивитом и 325 (50%) больных ХП. Частота идентификации *T. denticola* у 58 (42%) больных ХПЛ не отличалась от таковой у пациентов с гингивитом, но была меньше, чем у больных ХПС – 151 (52%) и ХПТ – 116 (51%) при  $p < 0,05$ .

ДНК *T. forsythia* идентифицировали у 4 (3%) человек из контрольной группы, 82 (67%) человек с гингивитом и 403 (62%) больных ХП. Только у больных ХПЛ частота выявления *T. forsythia* – 65 (47%) – была статистически достоверно ниже, чем у больных гингивитом. У больных ХПС и ХПТ *T. forsythia* встречалась с такой же частотой, как и у больных гингивитом – 186 (64%) и 152 (67%) соответственно.

Ни у одного человека со здоровым пародонтом не была выявлена ДНК *P. gingivalis*. Этот вид микробов был выявлен у 35 (29%) человек с гингивитом и в 2 раза чаще – 378 (58%) больных ХП, в том числе, у 64 (46%) человек с ХПЛ, 171 (59%) больного ХПС и 143 (63%) человек с ХПТ.

Таким образом, частота выявления изучаемых нами пародонтопатогенов у людей со здоровым пародонтом не превысила 5%. У больных гингивитом чаще всего (в 67% случаев) выявлена *T. forsythia*, реже всего *P. intermedia* (21%) и *P. gingivalis* (29%). С высокой частотой определяли *T. denticola* (44%) и *A. actinomycetemcomitans* (54%). У больных ХП с наибольшей частотой выявляли *T. forsythia* (62%) и *P. gingivalis* (58%), с высокой частотой – *T. denticola* (50%) и *P. intermedia* (44%) и с меньшей частотой – *A. actinomycetemcomitans* (37%).

**Общая инфицированность и спектр специфических антител к вирусам семейства *Herpesviridae*.** Для оценки общей инфицированности ГВ использовали результаты определения в сыворотках крови больных и здоровых людей антител к HSV1,2 типов, CMV и EBV. Наличие общей инфицированности устанавливали при выявлении IgM и/или IgG (разной avidности), хотя бы к одному из этих возбудителей ГВИ.

Полученные данные свидетельствовали, что 127 (84%) людей со здоровым пародонтом имели высокоавидные IgG - антитела против HSV1, 19 (11%) человек IgG - антитела к CMV и 86 (57%) – к EBV. Высокоавидные антитела IgG - класса против HSV1 выявлены у 108 (89%) больных гингивитом (относительно людей со здоровым пародонтом  $p > 0,05$ ), у 15 (12%) человек – IgG-HSV2-антитела ( $p < 0,05$ ), у 27 (22%) человек – предранние и поздние IgG-CMV-антитела ( $p < 0,05$ ). Серопозитивными на наличие EBV были 97 (80%) человек с гингивитом, при этом у 13 (11%) человек были выявлены капсидные IgM-VCA-EBV-антитела, у 6 (5%) – антитела IgG-EA-EBV, у 83 (68%) – антитела класса IgG-VCA-EBV и у 95 (78%) человек - антитела класса IgG-EBNA-EBV. Частота выявления антител против этого типа вирусов была статистически достоверно выше, чем у здоровых людей.

Антитела против ГВ мы определили также и у большинства больных ХП. Частота

IgG-HSV1-антител составила 602 (92%), IgG-HSV2 – 59 (9%); IgM-CMV– 23 (3,5%), предранних IgG-CMV-IEA – 118 (18%), поздних IgG-CMV – 437 (67%); IgM-VCA-EBV – 57 (9%), IgG-VCA-EBV – 462 (71%), IgG-EA-EBV – 40 (6%) и IgG-EBNA-EBV – 561 (86%).

Таким образом, показатель общей инфицированности варьировал от 91% у людей со здоровым пародонтом, до 96% - у больных гингивитом и ХП разных степеней тяжести. При этом наблюдалась статистически достоверно значимая разница в частоте выявления антител против определяемых нами ГВ у обследованных представителей контрольной группы и больных ХП, а также в частоте определения IgG-HSV2, предранних IgG-CMV-IEA и антител всех типов против EBV у больных гингивитом и людей со здоровым пародонтом.

Для оценки активности ГВИ применяли результаты определения в сыворотке крови обследованных людей IgM и авидности IgG к ним для HSV1 и HSV2, предранние IgG-CMV-IEA, поздние IgG-CMV, IgG к ранним антигенам EA-EBV, IgM и IgG-антител к капсидному антигену (VCA-EBV), а также IgG-антител к ядерному антигену EBNA. Эти серологические показатели позволяют установить активность каждой из ГВИ вне зависимости от того, в одиночном или сочетанном виде они определяются у пациентов (Исаков В.А., 2013).

Установлено, что только 14 (9,3%) людей со здоровым пародонтом не были инфицированы ГВ, 9 (7,4%) человек с гингивитом и 38 (5,8%) с ХП, то есть приблизительно с такой же частотой, включая 15 (10,8%) больных ХПЛ, 18 (6,2%) больных ХПС, и только 5 (2,2%) больных ХПТ ( $p=0,002$ ).

По данным определения антител установлено, что:

- ✓ латентную форму инфекции имели 84% людей со здоровым пародонтом (63% моноинфекцию и 21% смешанную) и 43% - 44% больных гингивитом (28% - моноинфекцию, 15% смешанную), ХПЛ и ХПС (27% - 30% моноинфекцию и 14%-17% смешанную) и только 23% больных ХПТ (13% моноинфекцию и 10% смешанную), всего 37% больных ХП (23% моноинфекцию и 14% смешанную);
- ✓ литическую инфекцию (признаки выявлены в обратном соотношении): у 7% практически здоровых людей маркеры моноинфекции, у 30% больных гингивитом – моноинфекции, 20% – микстинфекции, всего у 50% пациентов. При ХПЛ у 32% больных выявлена моноинфекция ГВ, 14% – смешанная инфекция; при ХПС – у 37% моноинфекция и 13% смешанная; при ХПТ – у 47% моноинфекция и 25% смешанная, всего у больных ХП – 38% моноинфекция и 17% смешанная инфекция соответственно ( $p<0,05$ );
- ✓ активную инфекцию отмечали чаще, чем латентную в 1,1 -1,2 раза в группе больных с гингивитом, ХПЛ и ХПС; ХПТ – в 3,2 раза ( $\chi^2 = 119, p=0,000$ ) и в целом при ХП – в 1,6 раза ( $\chi^2 = 55,1, p=0,000$ ). Соотношение людей со здоровым пародонтом, имеющих активную и латентную форму инфекции, составило 1:13.

У пациентов с латентной формой ГВИ чаще всего определяли антитела высокой авидности IgG+ класса против HSV1, а также антитела VCA- и EBNA IgG+ типа против EBV, свидетельствующие о моноинфицировании ГВ как людей со здоровым пародонтом (25% и 38% случаев), так и больных гингивитом (14% и 15% случаев) и ХП (14% и 16% случаев). То есть у больных с воспалительными формами заболеваний тканей пародонта относительная частота встречаемости латентной формы



моноинфекции HSV1 была в 1,6 – 2,1 раза ниже, а EBV- инфекцией в 1,6 – 2,9 раза, чем у здоровых людей. Тем не менее, у больных гингивитом и ХП различной степени тяжести частота появления антител против HSV2 (на 3% – 7%) и CMV (в 1,4 – 6,9 раза) выше, чем у здоровых людей.

Анализ интенсивности антителообразования показал, что в сыворотке крови людей со здоровым пародонтом наблюдаются невысокие уровни концентрации противовирусных антител. При патологии пародонта, во всех случаях выявления IgM к антигенам ГВ наблюдались высокие титры IgG к одноименным антигенам (1: 3200 – 1: 25600), что является показателями наличия нестерильного иммунитета и длительной персистенции ГВ в организме человека (Калугина М.Ю., 2009; Мурина Е.А., 2015).

Высокая конверсия антител IgG класса, определяемая у пациентов с литической инфекцией, в отсутствие синтеза IgM, может свидетельствовать об активации специфического гуморального иммунитета в ответ на репликацию ГВ путем многократной сероконверсии IgG (Марданлы С.Г., 2016, 2017; Агаева М.И., 2017).

Продукция IgG- антител к HSV1, HSV2, поздним CMV, капсидным VCA и ядерным антигенам EBNA EBV у больных ХП с латентной инфекцией увеличивалась в среднем до  $6,56 \pm 0,15$  (6,41-6,71) о.е.,  $3,70 \pm 0,60$  (3,10-4,30) о.е.,  $27,23 \pm 1,83$  (25,40-29,06) Ед/мл,  $102,00 \pm 3,67$  (99,33-106,66) Ед/мл и  $4,36 \pm 0,19$  (4,17-4,55) Ед/мл соответственно. Тем не менее, значения концентраций антител к VCA EBV были в 1,2 раза статистически достоверно ниже, чем у больных с продуктивной формой ГВИ. Ко всем изучаемым антигенам у пациентов вырабатывались антитела, содержание которых увеличивалось в зависимости степени тяжести пародонтита.

Таким образом, изучение показателей гуморального звена адаптивного иммунитета выявило высокие уровни концентраций противовирусных антител в сыворотке крови больных гингивитом и ХП различных степеней тяжести как с литическим, так и с латентным течением ГВИ.

***Определение ДНК герпесвирусов в области зубодесневой борозды как лабораторно-диагностического маркера активной герпесвирусной инфекции.*** Считается, что присутствие ДНК ГВ в крови и слюне человека свидетельствует об их активной репликации (Исаков В.А. с соавт., 2013). Нами установлено наличие лабораторных признаков активной репликации моно- и микстинфекций, вызванных ГВ, в содержимом биопленки в области зубодесневой борозды у больных гингивитом и пародонтальных карманов больных ХП.

Из материала, представленного в таблице 4, видно, что только 10 (6,6%) человек контрольной группы имели маркеры репликации одного из ГВ. Частота обнаружения ДНК одного вируса у больных гингивитом и ХП была статистически достоверно выше, чем у людей со здоровым пародонтом – 29 (23,8%) и 207 (31,7%) соответственно. Репликация двух типов вирусов обнаружена у 16 (13,1%) людей с гингивитом и 57 (8,7%) пациентов с ХП. Три маркера активной ГВИ выявлены у 3 (2,5%) больных гингивитом и 18 (2,8%) человек с ХП. Ассоциации четырех видов ГВ были выявлены только у 5 (2,2%) с ХПТ. Хотя в целом относительная частота обнаружения активной смешанной инфекции у больных гингивитом и ХП не отличалась – 48 (39,3%) и 287 (43,9%), у больных ХП она статистически достоверно увеличивалась в зависимости от степени тяжести пародонтита. Смешанной активной инфекции у людей со здоровым пародонтом не отмечено.

Таблица 4 – Число видов вирусов в ассоциациях при активной репликации моно- и микстинфекций, вызванных ГВ, в области зубодесневой борозды, n (%)

Кол-во показ. в ассоц.	Контрольная N=151	Гингивит N=122	ХП N=654	ХПЛ N=138	ХПС N=289	ХПТ N=227	$\chi^2$	$\eta$	p
0	141 (93,4)	74 (60,7)*	367 (56,1)*	91 (65,9)	176 (60,9)	100 (44,1)	81,5	2	0,000
1	10 (6,6)	29 (23,8)*	207 (31,7)*	34 (24,6)	86 (29,8)	87 (38,3)	16,6	2	0,000
2	0 (0,0)	16 (13,1)*	57 (8,7)*	13 (9,4)	14 (4,8)	30 (13,2)	24,7	2	0,000
3	0 (0,0)	3 (2,5)*	18 (2,8)*	0 (0,0)	13 (4,5)	5 (2,2)	11,3	2	0,000
4	0 (0,0)	0 (0,0)	5 (0,8)*	0 (0,0)	0 (0,0)	5 (2,2)	15,2	2	0,004
Всего:	10 (6,6)	48 (39,3)*	287 (43,9)*	47 (34,1)	113 (39,1)	127 (55,9)	81,5	2	0,000

Примечание: \* - статистически достоверно значимая разница с данными контрольной группы при  $p < 0,05$ ;  $\chi^2$  – значение хи-квадрат при сравнении показателей пациентов с ХПЛ, ХПС и ХПТ;  $\eta$  – число степеней свободы; p – уровень значимости

Из материала, представленного в таблице 5 видно, что маркеры продуктивной моноинфекции были обнаружены у 10 (6,6%) человек со здоровым пародонтом, из них вызванной HSV1 – у 5 (3,3%) человек, CMV – у 2 (1,3%) и EBV – у 3 (2,0%) человек.

Таблица 5 – Спектр лабораторных диагностических маркеров литической моно- и микстинфекций, вызванных ГВ, n (%)

Группа Переменная	Контрольная N=151	Гингивит N=122	Хронический пародонтит			
			ХП, всего N=654	ХПЛ N=138	ХПС N=289	ХПТ N=227
			HSV1	5 (3,3)	12 (9,8)*	86 (13,1)*
HSV2	0 (0,0)	1 (0,8)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
CMV	2 (1,3)	1 (0,8)	13 (2,0)	3 (2,2)	6 (2,1)	4 (1,8)
EBV	3 (2,0)	15 (12,3)*	108 (16,5)*	16 (11,6)*	52 (18,0)*	40 (17,6)*
<b>Всего: моноинфекция</b>	<b>10 (6,6)</b>	<b>29 (23,8)*</b>	<b>207 (31,7)*</b>	<b>34 (24,6)*</b>	<b>86 (29,8)*</b>	<b>87 (38,3)*,**</b>
HSV1 + HSV2	0 (0,0)	1 (0,8)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
HSV1 + EBV	0 (0,0)	8 (6,6)*	24 (3,7)*	5 (3,6)*	7 (2,4)*	12 (5,3)*
HSV1 + CMV	0 (0,0)	4 (3,3)*	16 (2,4)*	1 (0,7)	5 (1,7)	10 (4,4)*
HSV2 + EBV	0 (0,0)	2 (1,6)	2 (0,3)	0 (0,0)	1 (0,3)	1 (0,4)
HSV2 + CMV	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (0,5)	0 (0,0)	1 (0,3)	2 (0,9)
EBV+CMV	0 (0,0)	1 (0,8)	12 (1,8)	7 (5,1)*	0 (0,0)	5 (2,2)
HSV1 + HSV2 + EBV	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (0,3)	0 (0,0)	1 (0,3)	1 (0,4)
HSV1 + HSV2+CMV	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (0,3)	0 (0,0)	1 (0,3)	1 (0,4)
HSV1 + EBV+CMV	0 (0,0)	2 (1,6)	13 (2,0)	0 (0,0)	10 (3,5)*	3 (1,3)
HSV2 + EBV+CMV	0 (0,0)	1 (0,8)	1 (0,2)	0 (0,0)	1 (0,3)	0 (0,0)
HSV1 + HSV2+EBV+CMV	0 (0,0)	0 (0,0)	5 (0,8)	0 (0,0)	0 (0,0)	5 (2,2)
<b>Всего: смешанная литическая инфекция</b>	<b>0 (0,0)</b>	<b>19 (15,6)*</b>	<b>80 (12,2)*</b>	<b>13 (10,7)*</b>	<b>27 (9,3)*</b>	<b>40 (17,6)*</b>
<b>Итого:</b>	<b>10 (6,6)</b>	<b>48 (39,3)</b>	<b>287 (43,9)</b>	<b>47 (34,1)</b>	<b>113 (39,2)</b>	<b>127 (55,9)</b>

Примечание: \* - статистически достоверно значимая разница с данными контрольной группы при  $p < 0,05$ ; \*\* - статистически достоверно значимая разница по сравнению с данными больных с гингивитом при  $p < 0,05$

У 12 (10%) больных гингивитом литическая форма ГВИ была связана с HSV1, у 15 (12,3%) человек – с EBV, что статистически достоверно выше, чем у людей в контрольной группе. Кроме этого, по 1 (0,8%) пациенту имели маркеры продуктивной моноинфекции, связанной с HSV2 и CMV. Частота выявления диагностических маркеров продуктивной моноинфекции у больных ХП незначительно отличалась от таковой у больных гингивитом, хотя у больных ХПТ она была в 1,6 раз выше ( $\chi^2=7,58$ ,  $p=0,006$ ).

Продуктивной формы HSV2- моноинфекции у пациентов с ХП не наблюдалось, CMV-инфекция выявлена у 13 (2,0%) человек, с одинаковой относительной частотой (около 2%) при всех степенях тяжести заболевания. Активная ГВИ, обусловленная EBV выявлена у 108 (16,5%) больных ХП, из них у 16 (11,6%) пациентов с ХПЛ, 52 (18,0%) человек с ХПС и 40 (17,6%) больных ХПТ. Сочетанные формы ГВИ обнаружены у 19 (15,6%) пациентов с гингивитом. Из них ассоциации литической репродукции HSV1 и EBV отмечены у 8 (6,6%) человек; HSV1 и CMV – у 4 (3,3%) пациентов; по 2 (2%) человека имели сочетанную HSV2 и EBV инфекцию, а также HSV1, EBV и CMV инфекцию; по 1 (1%) – ассоциации HSV1 и HSV2, EBV и CMV и трех ГВ – HSV2, EBV и CMV.

Чаще всего у больных ХП были выявлены ассоциации HSV1 и EBV – у 24 (3,7%) человек; HSV1 и CMV – у 16 (2,4%) пациентов; HSV1, EBV и CMV – у 13 (2,0%) больных ХПС и ХПТ; EBV и CMV – у 12 (1,8%) человек; по 2 (0,3%) пациента имели одновременно HSV2 и EBV, а также HSV1, EBV или HSV1. Одновременная репликация HSV2 и CMV выявлена у 1 (0,3%) больного ХПС и 2 (0,9%) пациентов с ХПТ. Только 5 (2,2%) человек с ХПТ имели продуктивную форму инфекции, обусловленную всеми 4 видами изучаемых нами ГВ. Ассоциация HSV2, EBV и CMV выявлена только у 1 (0,3%) человека с ХПС. У больных ХПЛ ассоциации двух типов вирусов выявлены в 5 (3,6%) случаях – HSV1 и EBV, в 7 (5,1%) случаях – EBV и CMV и у 1 (0,7%) человека – HSV1 и CMV.

Таким образом, согласно проведенным молекулярно-биологическим исследованиям продуктивная форма ГВИ наблюдалась у 10 (6,6%) людей со здоровым пародонтом, 48 (39,3%) больных гингивитом, 287 (43,9%) больных ХП, из них у 47 (34,1%) больных ХПЛ, 113 (39,1%) – ХПС и 127 (55,9%) больных ХПТ. При этом моноинфекция у больных гингивитом встречалась в 1,5 раза чаще, чем микстинфекция, а у больных ХП – в 2,6 раза чаще.

При сопоставлении результатов микробиологических исследований с клинической картиной патологии установлено, что у пациентов с воспалительными заболеваниями тканей пародонта, сопровождающимися литической формой ГВИ, наблюдалось ухудшение гигиенического состояния полости рта. При этом у больных гингивитом наибольшее влияние на увеличение индекса ПМА оказал HSV1 – прирост его значений составил 4,4% при  $p<0,05$ . В присутствии других ГВ он составил 3,1% - 4,0%. У больных ХП наибольшее патологическое влияние оказал HSV2 – индекс ПМА увеличился на 6,4% (4,8% при ХПЛ, 6,4% при ХПС, 8,1% при ХПТ) и был в 1,9 раза выше, чем у больных гингивитом.

Активная фаза ГВИ у больных ХП, сопровождающаяся ухудшением состояния гигиены полости рта, коррелировала со степенью тяжести пародонтита: у больных ХПТ индекс ПМА был больше, чем у больных ХПЛ в присутствии HSV1 в 2,5 раза, EBV –

1,8 раза, HSV2 – в 1,7 раза и CMV – в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ). Персистенция HSV1 и EBV в большей степени влияла на показатели кровоточивости десневой борозды как у больных гингивитом, так и больных ХП. У больных ХП они могут быть связаны с HSV2 и CMV. Литическая форма ГВИ не оказала значительного влияния на деструктивные процессы в тканях пародонта у пациентов с гингивитом. Вместе с тем при ХП увеличение глубины пародонтальных карманов на 0,22 – 0,43 мм у больных ХПЛ, 0,42 – 0,84 мм у больных ХПС и 0,98 – 1,23 мм – у больных ХПТ было связано с наличием всех типов вирусов.

Полученные нами результаты согласуются с публикациями зарубежных исследователей, которые указывали, что ГВ в значительной степени связаны с заболеваниями тканей пародонта, особенно с их тяжелыми формами (Slots J., 2015; Zhu C., 2015; Mombelli, A., 2018). Также было показано критическое влияние ГВ на отторжение дентальных имплантатов у больных ХП (Binshabaib M., 2018).

**Заключение.** На основании анализа полученных данных о наличии у обследованных людей лабораторных диагностических маркеров литической формы ГВИ (вирусной ДНК и антител различных классов против ГВ) мы пришли к заключению, что у 10 (6,6%) из 151 представителя контрольной группы выявлены лабораторные маркеры активной ГВИ. Они также определены с более высокой частотой у 61 (50,0%) из 122 человек с гингивитом, 63 (45,7%) из 138 больных ХПЛ, 143 (49,5%) из 289 пациентов с ХПС и 169 (74,4%) из 227 человек с ХПТ, всего – у 375 (57,3 %) из 654 человек с ХП. Характер литической формы ГВИ у людей в контрольной группе соответствовал моноинфекции. У 29 (23,8%) больных гингивитом литическая инфекция протекала по типу моноинфекции, а у 19 (15,6%) – по типу смешанной ГВИ ( $p = 0,057$ ). Приблизительно с такой же частотой наблюдалась литическая форма моно- и смешанной инфекции у больных ХП – у 207 (31,7%) и 80 (12,2%) человек соответственно. В группе больных ХПЛ эти показатели составили 34 (24,6%) и 13 (9,4%), ХПС – 86 (29,8%) и 27 (9,3%), ХПТ – 87 (38,3%) и 40 (17,6%). При этом у больных ХПТ с литической инфекцией была выявлена статистически достоверная разница всех оцениваемых показателей по сравнению с их значениями как у больных ХПЛ, так и ХПС.

Таким образом, по результатам нашего исследования можно заключить, что количество людей с активной формой ГВИ, оцененной с помощью комплекса молекулярно-биологических и серологических методов исследований, оказалось статистически достоверно значимо больше, чем при применении какого-то одного из них, в частности, на 10% – 13%, и на 18,5% у больных ХПТ. Соответственно, доля людей с латентной формой ГВИ, оказалась меньше, чем при оценке только с помощью ПЦР.

ГВ и пародонтопатогенные бактерии образуют статистически значимые ассоциации разного видового состава и, по-видимому, зависят от формы и активности герпесвирусной инфекции. Активная форма литической ГВИ оказывает значительный вклад в деструктивные процессы тканей пародонта, приводящие к увеличению глубины пародонтальных карманов независимо от степени тяжести пародонтита.

При сочетанном определении диагностических серологических и молекулярных показателей, относительная частота выявления активной репликации моно- и микстинфекции, вызванной ГВ, значительно выше, чем при использовании только молекулярно-генетических методов исследований, что позволит более точно выбирать способ лечения. Полученные данные подтверждают необходимость комплексной

оценки лабораторных показателей с обязательным учётом уровня антителообразования и авидности.

### ВЫВОДЫ

1. В биопленках пародонтальных карманов больных с воспалительными заболеваниями тканей пародонта чаще всего, в 22% – 25% случаев, определяются ДНК HSV1 и EBV, у 7% - 10% больных – ДНК CMV и реже - HSV2 – 2% – 4%. У 3% людей со здоровым пародонтом выявлена ДНК HSV1, CMV, либо EBV.
2. Частота выявления пародонтопатогенов I и II порядков у людей со здоровым пародонтом не превышает 5%. У больных гингивитом с наибольшей частотой (в 67% случаев) выявлена *T. forsythia*, с наименьшей – *P. intermedia* (21%) и *P. gingivalis* (29%). Пародонтопатогенные виды *T. denticola* и *A. actinomycetemcomitans* определяли с частотой 44% и 54% соответственно. Напротив, у больных хроническим пародонтитом с наибольшей частотой выявляли два пародонтопатогена I порядка – *T. forsythia* (62%) и *P. gingivalis* (58%). Пародонтопатогенные виды II порядка – *T. denticola*, *P. intermedia* и *A. actinomycetemcomitans* определяли в ассоциациях с частотой 50%, 44% и 37% соответственно.
3. Выявлены ассоциации пародонтопатогенов *P. gingivalis* с HSV1, HSV2 и CMV при гингивите и хроническом пародонтите, в том числе, при хроническом (генерализованном) пародонтите средней и тяжелой степеней тяжести; *A. actinomycetemcomitans* и HSV2 при гингивите и хроническом (генерализованном) пародонтите тяжелой степени тяжести, CMV у здоровых людей, EBV при гингивите и хроническом пародонтите всех степеней тяжести; *T. denticola* и HSV2 при гингивите и хроническом (генерализованном) пародонтите тяжелой степени тяжести; *P. intermedia* и EBV при гингивите и хроническом пародонтите независимо от степени тяжести. Ассоциаций исследованных видов герпесвирусов и *T. forsythia* не установлено.
4. Активная форма литической герпесвирусной инфекции оказывает значительное влияние в деструктивные процессы тканей пародонта, приводящие к увеличению глубины пародонтальных карманов при разной степени тяжести хронического пародонтита: на 0,22 – 0,43 мм при хроническом пародонтите лёгкой степени, 0,42 – 0,84 мм при средней степени тяжести и 0,98 – 1,23 мм при тяжёлой степени заболевания.
5. В сыворотке крови больных гингивитом и хроническим пародонтитом, как с литическим, так и с латентным течением герпесвирусной инфекции выявлены высокие уровни противовирусных антител. При этом общая инфицированность герпесвирусами, оцениваемая по наличию антител IgM и/или IgG класса разной авидности варьировала от 88% у людей с гингивитом, до 93% – 96% - у больных с хроническим пародонтитом разных степеней тяжести (по данным регистрации положительного результата хотя бы к одному из возбудителей герпесвирусной инфекции - HSV1,2 типов, CMV и EBV).

### ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для повышения эффективности и контроля лечения воспалительных заболеваний тканей пародонта, а также с целью изучения роли резидентной и патогенной микробиоты слизистых открытых полостей организма человека при системных заболеваниях, сопровождающихся развитием пародонтита, следует рекомендовать алгоритм микробиологической диагностики воспалительных заболеваний тканей пародонта, основанный на сочетанном применении методов лабораторной диагностики молекулярных маркеров пародонтопатогенных бактерий (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *A.*

*actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, *P. intermedia*) и вирусов семейства *Herpesviridae* (HSV1,2, CMV и EBV) в биопленках зубодесневой борозды с помощью ПЦР и серологических маркеров литических и латентных форм герпесвирусной инфекции.

2. Определение ДНК наиболее вирулентных видов пародонтопатогенных бактерий - *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola*, *P. intermedia*, а также вирусов семейства *Herpesviridae* (HSV1,2, CMV и EBV) с помощью ПЦР рекомендуется выполнять при непосредственном взятии биологического материала биоплёнок из пародонтального кармана (зубодесневой борозды при его отсутствии).

3. Для определения серологических маркеров с помощью иммуноферментного анализа при определении формы герпесвирусной инфекции (латентная, литическая, продуктивная) целесообразно определять: антитела IgM класса к HSV1,2, IgG класса к HSV1 и HSV2, антитела IgM класса к CMV, IgG- антитела к предраннему антигену IEA CMV, поздние IgG CMV, антитела IgM класса к капсидному антигену VCA EBV, IgG-VCA EBV, IgG антитела к ядерному антигену EBNA EBV.

### ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Ассоциативные связи между анаэробной пародонтальной инфекцией и вирусами семейства *Herpesviridae* должны учитываться при проведении микробиологической и иммунологической диагностики и требуют дальнейшего изучения и практической реализации.

Использованный в настоящем исследовании комплексный диагностический подход может быть использован при оценке информативности и диагностической значимости разрабатываемых в настоящее время методик иммуноблоттинга и иммунохроматографии для определения антител к герпесвирусам.

Дальнейшее подтверждение этиологического и патогенетического значения герпесвирусов при заболеваниях пародонта позволит открыть новые подходы к лечению этой широко распространенной патологии. Разработка схем комплексного лечения (специфические противовирусные химиопрепараты, иммуномодуляторы), направленных на снижение вирусной нагрузки в десневой биоплёнке и тканях пародонта, могут способствовать улучшению состояния при воспалительных заболеваниях полости рта, ассоциированных с присутствием вирусов семейства *Herpesviridae*.

### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Николаева, Е.Н. Особенности полиморфизма генов HLAII класса у пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта / Е.Н. Николаева, В.Н. Царев, Е.А. Горбачева, Е.В. Ипполитов, Т.В. Царева // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. – 2006. – Т. 2, № 2. – С. 21 – 28.
2. Николаева Е.Н. Выявление резистентных штаммов анаэробных бактерий с помощью ПЦР в стоматологической практике / Е.Н. Николаева, В.Н. Царев, Е.В. Ипполитов, Е.А. Горбачева // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2006. – Т. 8, № 2. – С. 29 – 30.
3. Николаева, Е.Н. Полиморфизм генов HLAII класса в норме и у пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта (часть I) / Е.Н. Николаева, В.Н. Царев, Е.А. Горбачева, Е.В. Ипполитов, Н.А. Логунов // Институт стоматологии. – 2006. – № 4 (33). – С. 58 – 60.
4. Фомичева, Е.М. Выявление герпесвирусной инфекции при генерализованном пародонтите и тактика противовирусного лечения / Е.М. Фомичева, Е.Н. Николаева,

Е.А. Горбачева, Н.А. Логунов, Т.В. Царева // IV Съезд общества биотехнологов России, 6-7 декабря 2006 г., г. Пущино. – Пущино, 2006. – С. 276 – 277.

**5. Николаева, Е.Н. Полиморфизм генов HLAII класса в норме и у пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта (часть II) / Е.Н. Николаева, В.Н. Царев, Е.А. Горбачева, Е.В. Ипполитов, Н.А. Логунов // Институт стоматологии. – 2007. – № 1 (34). – С. 74 – 75.**

6. Царев, В.Н. Полиморфизм генов HLAII класса у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом, ассоциированным с вирусами семейства *Herpesviridae* / В.Н. Царев, Е.Н. Николаева, Е.В. Ипполитов, Е.А. Горбачева // «Cathedra» - стоматологическое образование. – 2007. – Т.6, № 1. – С. 50 – 53.

**7. Царев, В.Н. Перспективы применения пробиотиков из вейллонелл и стрептококков полости рта для повышения колонизационной резистентности тканей при комплексном лечении воспалительных заболеваний пародонта (экспериментальное исследование) / В.Н. Царев, А.И. Воложин, В.К. Ильин, И.В. Абрамова, Е.В. Ипполитов, Е.А. Горбачева // Российская стоматология. – 2008. – Т. 1, № 1. – С. 15 – 20.**

8. Царев, В.Н. Перспективы создания эубиотических препаратов на основе вейллонелл и стрептококков для повышения колонизационной резистентности тканей при комплексном лечении пародонтита / В.Н. Царев, А.И. Воложин, И.В. Абрамова, Е.В. Ипполитов, Е.А. Горбачёва // Стоматолог. – 2008. – № 7. – С. 35 – 41.

**9. Савченко, З.И. Влияние нарушений межсистемной и внутрисистемной регуляции иммунитета на эффективность лечения пародонтита у больных с осложненной формой сахарного диабета / З.И. Савченко, О.В. Евстифеева, А.Ю. Климова, Е.А. Горбачева, Ю.А. Михайлова // Dental Forum. – 2009. – № 1. – С. 31 – 37.**

10. Царев В.Н. Основные механизмы местного иммунитета полости рта и перспективы противокариозной иммунизации / В.Н. Царев, И.В. Спиранде, М.М. Давыдова, Е.В. Ипполитов, Е.А. Горбачёва // Стоматолог. – 2009. – № 5-6. – С. 40 – 49.

**11. Кисельникова, Л.П. Микробиологический мониторинг состояния биопленки зуба и оценка уровня секреторного иммуноглобулина А при применении адаптированных молочных смесей с пробиотиками среди детей раннего возраста / Л.П. Кисельникова, О.В. Зайцева, К.Б. Милосердова, В.Н. Царев, Е.А. Ягодина // Стоматология детского возраста и профилактика. – 2013. – Т. 12, № 4 (47). – С. 21 – 25.**

12. Царёв, В.Н. Значение специфической анаэробной флоры в развитии заболеваний пародонта у ВИЧ-инфицированных пациентов и молекулярные методы диагностики / В.Н. Царёв, Е.А. Ягодина, Ю.А. Трефилова, Е.В. Ипполитов // Национальные приоритеты России. – 2014. – № 3 (13). – С. 134–139.

13. Ягодина, Е. А. Применение молекулярных методов диагностики для выявления вирулентной микрофлоры при патологии пародонта у ВИЧ-инфицированных пациентов / Е.А. Ягодина, Ю.А. Трефилова, Е. В. Ипполитов // Российская стоматология. — 2015. — Т. 8, № 1. — С. 51 – 52.

**14. Царев, В.Н. Молекулярные методы диагностики гингивита и пародонтита у ВИЧ- инфицированных пациентов / В.Н. Царев, Е.Н. Николаева, Е.А. Ягодина, Ю.А. Трефилова, Е.В. Ипполитов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2016. – Т. 61, № 1. – С. 54 – 59.**

15. Сударикова, Н.В. К вопросу о возможной роли герпес- и папилломавирусной инфекции при заболеваниях слизистой оболочки полости рта и пародонта/ Н.В.

Сударикова, Т.В. Царева, Е.А. Ягодина // Российская стоматология. – 2016. – Т. 9, № 1. – С. 121 – 122.

16. Ягодина, Е.А. Молекулярные маркеры этиологических агентов герпесвирусной инфекции и обоснование противовирусной терапии при обострении хронического пародонтита / Е.А. Ягодина // Российская стоматология. – 2017. – Т. 10, № 1. – С. 64 – 65.

17. Подпорин, М.С. Сравнительный анализ антимикробной активности пародонтальных антисептиков с использованием автоматизированной системы контроля роста дрожжевых грибов *Candida* в режиме реального времени / М.С. Подпорин, А.Р. Ушаков, Е.А. Ягодина, Н.И. Пакшин, Р.В. Ушаков // Российская стоматология. – 2017. – Т.10, № 1. – С. 103 – 104.

18. Царев, В.Н. Герпес- и папилломавирусы как компоненты микробиома слизистой оболочки полости рта и пародонта / В.Н. Царев, И.М. Макеева, Е.А. Ягодина, Н.В. Сударикова, Т.В. Царёва, Е.Н. Николаева, Е.М. Фомичёва // Форум стоматологии / *DentalForum*. – 2017. – Т. 66, № 3. – С. 46 – 49.

19. Ягодина, Е.А. Ассоциации вирусов семейства *Herpesviridae* с хроническим пародонтитом / Е.А. Ягодина, Е.Н. Николаева, В.Н. Царёв, Е.В. Ипполитов // IX Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Молекулярная диагностика-2017», 18-20 апреля 2017 г., г. Москва. – Молекулярная диагностика 2017. Сб. трудов. – 2017. – Т.2. – С. 510 – 511.

20. Нелюбин, В.Н. Цитокины десневой жидкости при бактериально-вирусном пародонтите / В.Н. Нелюбин, В.П. Мудров, Е.А. Ягодина, В.Н. Царев // Российская стоматология. – 2018. – Т.11, № 1. – С.13 – 14.

21. Царев, В.Н. Значение вирусно-бактериального консорциума в возникновении и развитии хронического пародонтита / В.Н. Царев, Е.А. Ягодина, Т.В. Царева, Е.Н. Николаева // Пародонтология. – 2020. – Т. 25, № 2. – С. 84 – 89.

22. Yagodina, E.A. Assessment of the frequency of associations of *Herpesviruses* and parodontopathogenic bacteria *Porphyromonas gingivalis* for inflammatory periodontal diseases / Е.А. Yagodina // International University Science Forum, September 30, 2020, Canada, Toronto. – Science. Education. Practice. – 2020. – P.105-112.

### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ГВ	герпесвирус	ХПЛ	хронический генерализованный пародонтит легкой степени тяжести
ГВИ	герпесвирусная инфекция	ХПС	хронический генерализованный пародонтит средней степени тяжести
ИГ (ОHI-S)	упрощенный индекс гигиены	ХПТ	хронический генерализованный пародонтит тяжелой степени
ИК (SBI)	индекс кровоточивости десневой борозды	CMV	цитомегаловирус человека
ИФА	иммуноферментный анализ	ЕА	ранний антиген
ПК	пародонтальный карман	ЕВНА	ядерный белок вируса Эпштейна-Барр
ПИ (PI)	пародонтальный индекс	EBV	вирус Эпштейна-Барр
ПМА (РМА)	папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс	HSV 1	вирус простого герпеса типа 1
ПЦР	полимеразная цепная реакция	HSV 2	вирус простого герпеса типа 2
ХП	хронический генерализованный пародонтит	VCA	вирусный капсидный антиген