

**А.З. Исамулаева<sup>1,2</sup>, Е.А. Олейник<sup>3</sup>, Б.В. Трифонов<sup>3</sup>,  
О.А. Башкина<sup>1</sup>, С.З. Шатуева<sup>4</sup>**

## **ПРОГНОЗИРОВАНИЕ НАЛИЧИЯ ПАРОДОНТОПАТОГЕННЫХ КОМПЛЕКСОВ МИКРООРГАНИЗМОВ В ДЕСНЕВОЙ ЖИДКОСТИ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА МНОГОМЕРНОЙ СТАТИСТИКИ**

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России

<sup>2</sup>ГБУЗ АО «Стоматологическая поликлиника № 2»

<sup>3</sup>ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

<sup>4</sup>ГБУЗ АО «Городская поликлиника № 8 им. Н.И. Пирогова», г. Астрахань

В ходе исследования доказано, что предлагаемый метод скринингового исследования десневой жидкости на наличие пародонтопатогенных красных и розовых комплексов позволяет значительно сократить сроки обнаружения патогенов, материальные затраты пациентов, повысить качество лечения и в целом качество жизни пациентов. Предложенный метод был апробирован у 42 пациентов, контроль осуществлялся с помощью молекулярно-генетического теста MicroDent-теста (HAIN-lifescience, Германия), результаты которого полностью подтвердили правильность прогнозирования.

**Ключевые слова:** заболевания пародонта, пародонтопатогенные штаммы, молекулярно-генетические технологии, метод многомерной статистики, пелликула, зубная бляшка.

**A.Z. Isamulaeva, E.A. Oleynik, B.V. Trifonov, O.A. Bashkina, S.Z. Shatueva**

## **THE PROGNOSIS OF PERIODONTOPATHOGENIC MICROORGANISMS COMPLEXES IN CREVICULAR FLUIDS BY THE MULTIVARIATE STATISTIC METHOD**

The research proved the screening method of periodontopathogenic rose and red complexes disclosure in crevicular fluids to be very alert, as well as reasonable for patients, and guaranteeing better treatment and life quality. The method was used in 42 patients, while the control was performed by molecular genetic microDent-test (HAIN-lifescience, Germany) and proved the proper prognosis.

**Key words:** periodontal diseases, periodontopathogenic bacteria strains, molecular genetic technologies, multivariate statistic method, pellicula, accretion.

**Введение.** Распространенность воспалительных заболеваний пародонта у детей дошкольного возраста достигает 30–40 %, у школьников 12–14 лет – 80 % и приближается к 100 % у взрослого населения [3]. Известно, что для развития заболеваний пародонта необходимо воздействие как общих, так и местных факторов риска [1, 5, 6]. К общим факторам следует отнести дисбаланс в иммунной системе организма, эндокринные патологии, стресс и курение. Наличие микроорганизмов в полости рта и плохая гигиена являются главными пусковыми звеньями развития заболевания [6, 7, 8, 9, 10].

Поверхность зуба покрыта пелликулой, состав которой включает в себя муцин, гликопротеины, слюны, минералы и иммуноглобулины. В результате прикрепления бактерий к пелликуле происходит образование супрагингивальной и субгингивальной бляшек, которые отличаются по своему качественному составу. Именно в субгингивальной зубной бляшке преобладают наиболее опасные для пародонта актиномицеты и пигментированные анаэробы [6, 10]. Обнаружение пародонтопатогенных комплексов, а именно – красного, представленного *Porphyromonas gingivalis*, розового – *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, позволяет предотвратить дальнейшее усугубление воспалительного процесса и назначить адекватное лечение заболеваний пародонта [10].

В современных условиях микробиологической диагностики инфекционных заболеваний стало возможным применение молекулярно-генетических технологий, таких, как полимеразно-цепная реакция (ПЦР). Быстрота и высокая чувствительность позволяют выявить одиночные молекулы специфической ДНК-последовательности в течение нескольких часов, а также необязательность присутствия живых микроорганизмов, что способствует более эффективному решению задач в клинической диагностике [5, 7].

**Цель:** разработать менее дорогостоящий аналог молекулярно-генетического теста, позволяющий прогнозировать наличие патогенных микроорганизмов у пациентов, основываясь на результатах цитоморфологического исследования с использованием метода многомерной статистики Statistica 6.0.

**Материал и методы исследования.** Было обследовано 24 пациента с заболеваниями тканей пародонта (18 пациентов с хроническим катаральным гингивитом, 6 пациентов с хроническим гипертрофическим гингивитом) и 18 пациентов, не имеющих патологии пародонта. Оценку тканей пародонта проводили с помощью папиллярно-маргинально-альвеолярного индекса (РМА), комплексного периодонтального индекса (КПИ). Обнаружение патогенных штаммов микроорганизмов в десневой жидкости осуществляли с помощью MicroDent-теста (HAIN-lifescience, Германия).

Тест MicroDent основан на методе ПЦР с последующей обратной гибридизацией, которая включает в себя следующие основные этапы: раскручивание ампликонов на одиночные нити, связывание меченных ампликонов с зондом, перемещение связанного ДНК из пробы, удаление несвязанного зонда, идентификация связанного зонда. Набор состоит из 5 стерильных бумажных штифтов, 4 разноцветных туб, пенала и сопроводительного письма. Данная система основывается на цветовом кодировании бактериальных комплексов, предложенном Socransky. Исследуемый материал отбирали из зубодесневой борозды с помощью стерильного бумажного штифта, который затем помещали в стерильную пробирку и отправляли в лабораторию фирмы HAIN-lifescience (Германия).

Пожалуй, единственным и главным недостатком теста MicroDent является его очень высокая стоимость. Поэтому в работе мы предприняли попытку прогнозирования наличия у пациента красного, розового и оранжевого комплексов (наиболее патогенных для пародонта) в зависимости от показателей цитоморфологического исследования десневой жидкости.

Для исследования клеточного состава десневой жидкости пользовались цитоморфологическим методом исследования, предложенным Е.В. Боровским. После высушивания поверхности зуба у шейки и слизистой оболочки десны ватным тампоном в десневую борозду вводили стерильную нить 8 мм. Через 5–8 мин нить извлекали и содержимое кармана наносили на предметное стекло круговыми движениями. Затем проводили фиксацию 96-процентным спиртовым раствором, сушили, окрашивали материал по методике Романовского-Гимзе в течение 30 мин. Следующий этап – промывание препарата дистиллированной водой, фиксация ксилолом I, ксилолом II, нанесение канадского бальзама и закрытие покровным стеклом. Давали количественную оценку клеточного состава десневой жидкости.

Кроме того, в работе использовался метод многомерной статистики «Classification trees», C&RT. Деревья классификации – это метод, позволяющий предсказывать принадлежность наблюдений или объектов к тому или иному классу категориальной зависимой переменной в зависимости от соответствующих значений одной или нескольких предикторных переменных. Цель построения деревьев классификации заключается в предсказании (или объяснении) значений категориальной зависимой переменной.

**Результаты исследования и их обсуждение.** За 100 % приняли наиболее значимые результаты предсказания. Алгоритмы прогнозирования обнаружения красных и розовых комплексов в зависимости от цитологических показателей десневой жидкости представлены на рисунках 1 и 2, соответственно. На участке гистограмм левый столбик обозначает отсутствие параметра. В левом верхнем углу расположен порядковый номер узла, в правом – условное обозначение группы, которое принимается, исходя из доминирования пациентов с одним из признаков (если больше 0, то группа считалась с отсутствием признака, если больше 1, то с наличием признака). Пунктирной линией обведены терминальные узлы, где дальнейшее ветвление не производится. Дальнейшие пояснения к схемам представлены в тексте.

Рассмотрим алгоритм прогнозирования наличия красных комплексов в зависимости от цитологических показателей десневой жидкости, представленный на рисунке 1.

На первом этапе анализировались показатели лейкоцитов. Если количество лейкоцитов составляет менее 8,5 (2 узел), то дальнейшее прогнозирование о наличии красных комплексов в зубодесневой борозде необходимо проводить по данным эпителиальных клеток (4, 5 узлы). В том случае, если количество эпителиальных клеток менее 3,4, то данный узел (4 узел) является терминальным. Если количество эпителиальных клеток более 3,4, то дальнейшее прогнозирование возможно по данным микрофагов (узлы 8, 9).

Рассмотрим ситуацию, когда изначально количество лейкоцитов превышает 8,5 (узел 3). Тогда следующим этапом прогнозирования о наличии красных комплексов следует считать показания индекса РМА (6, 7 узлы). В том случае, если РМА превышает 21 % (7 узел), то прогнозирование следует продолжать по значениям индекса КПИ (узлы 10, 11). В том случае, если КПИ больше 1,1 (узел 11),

то прогнозирование осуществляется по моноцитам. Причем, если их количество менее 2,2 (узел 12), то значение для прогнозирования имеют макрофаги. Если их количество менее 1,6 (14 узел), то необходимо использовать показания микрофагов (узлы 16, 17).

Узлы 4, 6, 8, 9, 10, 13, 15, 16, 17 являются терминальными, так как далее классификация не осуществляется в связи с ростом вероятности ошибки.

Ошибка прогнозирования по красным комплексам составила 18 %.

На рисунке 2 представлен алгоритм прогнозирования розовых комплексов в зубодесневой борозде по результатам цитологического обследования. Для розовых комплексов данный алгоритм оказался наиболее эффективным. Ошибка прогнозирования составила 11 %.

На первом этапе анализировалось количество лейкоцитов. Если их количество в цитологическом препарате менее 11 (узел 2), то дальнейшее прогнозирование проводится по показаниям индекса РМА. Причем, если РМА больше 11 % (узел 5), то дальнейший прогноз осуществлялся по количеству эпителиальных клеток в цитологическом препарате (узлы 6, 7).

Если изначально количество лейкоцитов превышало значение 11 (3 узел), то прогнозирование о наличии розовых комплексов можно осуществлять по лейкоцитам.

Узлы 3, 4, 6, 7 являются терминальными.

**Закключение.** Предлагаемый метод исследования десневой жидкости на предмет присутствия пародонтопатогенных штаммов был апробирован у 42 пациентов. Результаты контрольного молекулярно-генетического теста MicroDent полностью подтвердили правильность прогнозирования.

Предлагаемый способ скринингового исследования десневой жидкости на наличие пародонтопатогенных штаммов микроорганизмов позволяет значительно сократить сроки обнаружения патогенов, материальные затраты пациентов, повысить качество лечения и в целом качество жизни пациентов.

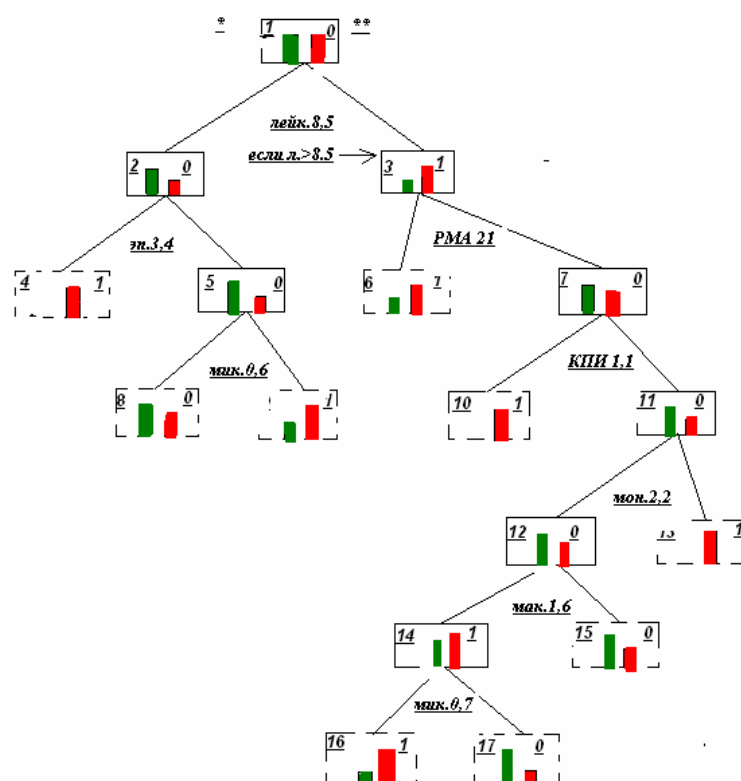


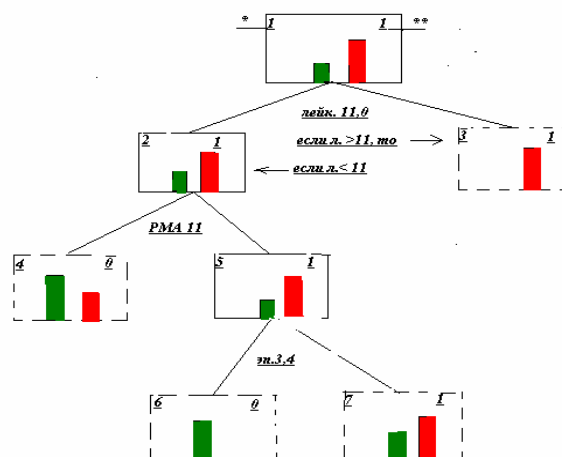
Рис. 1. «Классификация деревьев» для красного пародонтопатогенного комплекса.

\* – номер узла, \*\* – номер группы,

лейк., л. – лейкоциты, эп. – эпителиальные клетки, мик. – микрофаги,

РМА – папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс,

КПИ – комплексный периодонтальный индекс, мон. – моноциты, мак. – макрофаги



**Рис. 2. «Классификация деревьев» для розового пародонтопатогенного комплекса.**

\* – номер узла, \*\* – номер группы,

лейк., л. – лейкоциты, РМА – папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс,

эп. – эпителиальные клетки

### Список литературы

1. Бокая, В. Г. Местные факторы риска при пародонтите тяжелой степени и частота их выявления врачами-стоматологами / В. Г. Бокая, О. А. Малыгина // Труды VI съезда Стоматологической ассоциации России (Москва, 11–14 сентября 2000 г.). – М., 2000. – С. 180–182
2. Боровский, Е. В. Биология полости рта / Е. В. Боровский, В. К. Леонтьев. – М. : Медицинская книга, 2001. – 302 с.
3. Кузьмина, Э. М. Ситуационный анализ стоматологической заболеваемости как основа планирования программ профилактики : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Э. М. Кузьмина. – М., 1995. – 46 с.
4. Лебедев, К. А. Новое понимание патогенеза болезней пародонта в свете работ о роли образ-распознающих рецепторов / К. А. Лебедев, Ю. М. Максимовский, А. В. Митронин и др. // Стоматология для всех. – 2006. – № 2. – С. 24–29.
5. Максимовский, Ю. М. Пародонтология. Современное состояние. Вопросы и направления научных разработок / Ю. М. Максимовский, А. И. Грудяков, Л. А. Дмитриева // Стоматология. – 1999. – № 1. – С. 31–39.
6. Bagg, J. Essentials of Microbiology for Dental Students / J. Bagg, T. W. MacFarlane, I. R. Poxton // Oxford, 1999. – P. 229–270.
7. Bauermeister, C. D. Микробиологическая диагностика заболеваний тканей пародонта / С. D. Bauermeister // Новое в стоматологии. – 2003. – № 7 (115). – С. 27–30.
8. Gomes, B. P. Porphyromonas gingivalis, Porphyromonas endodontalis, Prevotella intermedia and Prevotella nigrescens in endodontic lesions detected by culture and by PCR / B. P. Gomes, R. C. Jacinto, E. T. Pinheiro et. al // Oral Microbiol. Immunol. – 2005. – Vol. 20. – P. 211–215.
9. Sanderink, R. B. A. Curriculum Orale Microbiologie und Immunologie / R. B. A. Sanderink et. al. – Quintessenz Verlags, 2004. – 666 s.
10. Socransky, S. S. Subgingival microbial profiles in refractory periodontal disease / S. S. Socransky, C. Smith, A. D. Haffajee // J. Clin. Periodontol. – 2002. – Vol. 29. – P. 260–268.

**Исамулаева** Альфия Зинулгабделовна, ассистент кафедры терапевтической стоматологии ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, заведующая терапевтическим отделением, врач-стоматолог-терапевт высшей категории ГБУЗ АО «Стоматологическая поликлиника № 2», Россия, 414000, г. Астрахань, пер. Театральный, д. 3, тел.: (8512) 51-02-01.

**Олейник** Елена Анатольевна, доктор медицинских наук, профессор кафедры стоматологии ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Россия, 308015, г. Белгород, ул. Победы, д. 85, корп. 17, тел.: (4722) 30-11-30, e-mail: info@bsu.edu.ru.

**Трифонов** Борис Васильевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой стоматологии ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Россия, 308015, г. Белгород, ул. Победы, д. 85, корп. 17, тел.: (4722) 30-11-30, e-mail: info@bsu.edu.ru.

**Башкина** Ольга Александровна, доктор медицинских наук, заведующая кафедрой факультетской педиатрии ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, Россия, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121, тел.: (8512) 52-41-43, e-mail:agma@astranet.ru.

**Шатуева** Сара Зинулгабделовна, врач ультразвуковой диагностики ГБУЗ АО «Городская поликлиника № 8 им. Н.И. Пирогова», Россия, 414000, г. Астрахань, ул. Красная Набережная, д. 21, тел.: (8512) 51-57-20, e-mail: my3rn-8@mail.ru.

УДК 616.981.232-053.3+616.153.96

© О.Г. Кимирилова, Г.А. Харченко, 2012

**О.Г. Кимирилова, Г.А. Харченко**

### **ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЖЕЛЕЗОСОДЕРЖАЩИХ БЕЛКОВ ОСТРОЙ ФАЗЫ ПРИ ВИРУСНЫХ МЕНИНГИТАХ У ДЕТЕЙ**

ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России

Для определения взаимосвязи между показателями белков острой фазы и клиническими параметрами интоксикации и течения заболевания при вирусных менингитах у детей были сформированы 3 группы больных: 1) с умеренной интоксикацией; 2) с максимально выраженной интоксикацией; 3) с затяжным течением заболевания. Критериями степени тяжести токсикоза являлись: состояние сознания, поведение ребенка, наличие судорожного синдрома, окраска кожи, цианоз, характеристики пульса, температура тела, характер дыхания. Установлено, что критериями степени выраженности токсикоза может являться снижение величины лактоферрина, трансферрина и рост концентрации ферритина и фибриногена по сравнению с контролем в остром периоде заболевания. Для затяжного течения заболевания характерны: снижение показателя лактоферрина, увеличение концентрации ферритина, трансферрина, фибриногена в периоде реконвалесценции по сравнению с контролем.

**Ключевые слова:** вирусный менингит, дети, ферритин, лактоферрин, трансферрин, фибриноген.

**O.G. Kimirilova, G.A. Harchenko**

### **THE DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC MEANING OF FERROCONTAINING PROTEINS OF ACUTE PHASE IN VIRAL MENINGITIS IN CHILDREN**

To define the interconnection between data of proteins in acute phase and clinical parametres of intoxication and course of the disease in case of viral meningitis in children there were formed 3 groups of patients: 1 – patients with mild intoxication, 2 – with maximally expressed intoxication, 3 – with prolong course of disease. The criterio of degree of severity intoxication were – the condition of consciousness, behavior of the child, presence of convulsing syndrom, skin colour, cyanosis, characteristic of pulse, temperature of the body, breath character.

It was found out that the criterio of degree in expression of intoxication may be the decrease of amount in lactoferrin, transferrin and growth of concentration in ferritin and fibrinogen in comparison with control in acute period of disease. For prolong course of the disease the following features are present: decrease of data of lactoferrin, increase of ferritin concentration, transferrin, fibrinogen in the period of reconvalescence in comparison with the control one.

**Key words:** viral meningitis, children, ferritin, lactoferrin, transferrin, fibrinogen.

**Введение.** Сывороточные острофазовые белки (лактоферрин, ферритин, трансферрин, фибриноген) – это гликопротеины плазмы крови, продуцируемые печенью в ответ на повреждение тканей [1, 2, 3, 7, 8]. Они выполняют разнообразные функции, обладают антибактериальным, противовирусным, противогрибковым и антипаразитарным действием и в то же время являются одним из показателей содержания железа в организме и воспаления [4, 5, 6, 9].