

©КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Самойлова М.В.¹, Косырева Т.Ф.¹, Анурова А.Е.¹, Абрамович Р.А.¹, Миронов А.Ю.²,
Жиленкова О.Г.², Затевалов А.М.², Воропаева Е.А.²

ОЦЕНКА МИКРОБИОЦЕНОЗА ПОЛОСТИ РТА НА ОСНОВЕ ГХ-МС-ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПЛАЗМАЛОГЕНА И БАКТЕРИАЛЬНОГО ЭНДОТОКСИНА В РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ

¹ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» кафедра стоматологии детского возраста и ортодонтии; 117198, Москва, Россия;

²ФБУН Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, Роспотребнадзора», Москва, Россия

Изучены концентрации бактериального плазмалогена и эндотоксина в ротовой жидкости у пациентов с различной степенью тяжести заболеваний пародонта, травмой протезного ложа и различной степенью нарушений микробиocenоза полости рта. Определение факта наличия патологического процесса проводилось клинически, по состоянию тканей пародонта. Степень микробиологических нарушений оценивали по количественному соотношению видов микроорганизмов, изолированных из зубодесневого желобка. Выявлено, что концентрация плазмалогена для нормального микробиocenоза составляет не менее 0,7 мкг/г. Для промежуточного типа микробиocenоза определена концентрация 1,82 мкг/г; для дисбиоза – 5,64 мкг/г, для выраженного нарушения микробного состава, сопровождающегося воспалительными процессами – 6,54 мкг/г. Увеличение концентрации бактериального эндотоксина (БЭ) более 6,25 нмоль/г свидетельствует о выраженном воспалительном процессе вне зависимости от определяемой интенсивности обсемененности условно-патогенной грамотрицательной микрофлорой.

Ключевые слова: бактериальный эндотоксин; плазмалоген; предиктивная медицина; газовая хроматография масс-спектрометрия; микробиocenоз полости рта; заболевания пародонта.

Для цитирования: Самойлова М.В., Косырева Т.Ф., Анурова А.Е., Абрамович Р.А., Миронов А.Ю., Жиленкова О.Г., Затевалов А.М., Воропаева Е.А. Оценка микробиocenоза полости рта на основе гх-мс-определения плазмалогена и бактериального эндотоксина в ротовой жидкости Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (3): 186-192. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-3-186-192>

Samoylova M.V.¹, Kosyreva T.F.¹, Anurova A.E.¹, Abramovich R.A.¹, Mironov A.Yu.², Zhilenkova O.G.², Zatevalov A.M.², Voropayeva E.A.²

ORAL CAVITY MICROBIocenOSIS ASSESSMENT ON THE BASIS OF BACTERIAL ENDOTOXIN AND PLASMALOGENS IN A SALIVA BY METHOD GAS-LIQUID CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY

¹Peoples' Friendship university of Russia, Department of paediatric dentistry and orthodontics, Moscow, Russia, 117198;

²G. N. Gabrichevsky research institute for epidemiology and microbiology, Rospotrebnadzor, Moscow, Russia

The concentration of plasmalogen bacterial and endotoxin levels in the saliva of patients with different severity of periodontal disease, injury prosthetic bed and with various degrees of the oral cavity microbiocenosis violations was studied. Determination of the presence of the pathological process was carried out clinically, according to the condition of periodontal tissues. The degree of microbiological disorders was assessed by the quantitative ratio of the types of microorganisms isolated from the smear taken from the gingival groove. It was found that the concentration of plasmalogen for normal microbiocenosis is not less than 0.7 µg/g. For the intermediate type of microbiocenosis, the concentration of 1.82 µg/g was determined; for dysbiosis – 5.64 µg/g, and for the expressed violation of the microbial composition accompanied by inflammatory processes – 6.54 µg/g. An increase in the concentration of bacterial endotoxin (be) more than 6.25 nanomole/g indicates the pronounced inflammatory process, regardless of the determined intensity of contamination of opportunistic gram-negative microflora.

Key words: bacterial endotoxin; plasmalogen; predictive medicine; gas chromatography; mass spectrometry; microbiocenosis of the oral cavity; periodontal disease.

For citation: Samoylova M.V., Kosyreva T.F., Anurova A.E., Abramovich R.A., Mironov A.Yu., Zhilenkova O.G., Zatevalov A.M., Voropayeva E.A. Oral cavity microbiocenosis assessment on the basis of bacterial endotoxin and plasmalogen in a saliva by method GAS-liquid chromatography-mass spectrometry. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2019; 64 (3): 186-192 (in Russ.)

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-3-186-192>

For correspondence: Zatevalov A.M., Ph.D. Doctor of Biol. Sci., Chief Research Fellow, Laboratory of Diagnosis and Prevention of Infectious Diseases; e-mail: 89057149114@mail.ru

Information about authors:

Samoylova M.V. <http://orcid.org/0000-0001-6771-919X>

Kosyreva T.F. <http://orcid.org/0000-0003-4333-5735>

Anurova A.E. <http://orcid.org/0000-0002-2547-55933>

Abramovich R.A. <http://orcid.org/0000-0003-1784-881X>

Mironov A. Yu. <http://orcid.org/0000-0002-8544-5230>

Zhilenkova O. G. <http://orcid.org/0000-0003-3206-6648>

Zatevalov A. M. <http://orcid.org/0000-0002-1460-4361>

Voropaeva E. A. <http://orcid.org/0000-0002-0463-0136>

Conflict of interests. *The author declare the absence of conflict of interests.*

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 09.02.2019

Accepted 20.02.2019

Введение. Одним из наиболее перспективных направлений медицинской науки 21 века признана персонифицированная медицина. Если «реактивная» медицина реагирует на болезнь и борется с её симптомами, то персонифицированная медицина направлена на предотвращение заболеваний, ключевая роль отводится профилактике, индивидуализированному подходу к пациенту, активному участию самого пациента в лечении и профилактике заболеваний. Особое место в персонифицированной медицине занимает предиктивная медицина – поиск биомаркёров заболеваний и выявление синдромов – предвестников заболеваний [1].

Микробиота человека по совокупности клеток больше самого организма в 10 раз. Количество генов микробиоты превышает геном человека в 100 раз. Большая часть микроорганизмов находится в симбиозе с организмом, выполняет защитные функции, способствует формированию колонизационной резистентности и многих других. Важной функцией микробиоценоза является информационная составляющая микробиоты [2].

Количество видов микроорганизмов в полости рта варьирует от 500 до 3500, большинство из которых ещё не описаны и полностью не изучены [3]. Количество микроорганизмов в ротовой жидкости составляет от 43 млн до 5,5 млрд в 1 мл. Интенсивность обсеменённости микроорганизмами зубных бляшек и десневой бороздки в 100 раз выше - примерно 200 млрд. микробных клеток в 1 г пробы (в которой около 80% воды) [1,4]. При наличии воспалительных заболеваний в тканях пародонта происходят количественные и видовые изменения микробиоценоза в сторону уменьшения нормофлоры и резкому увеличению парадонтопатогенов [4].

В полости рта на микроорганизмы действует слюна, механически смыывающая бактерии и содержащая антимикробные вещества (лизоцим и др.). В полости рта всегда встречаются биотопы, легко колонизируемые микроорганизмами (например, десневые карманы). В состав микрофлоры полости рта входят различные микроорганизмы, многие из которых некультивируемые [6–8]. Бактериологическим методом можно изолировать не более 1% всех микроорганизмов микробиоценоза полости рта. Описание состояния микробиоценоза по соотношению такого малого количества микроорганизмов не учитывает многих аспектов взаимоотношений микроорганизмов, что отражается на эффективности лечения. Для оценки состояния микробиоценоза необходим системный подход, основанный на новых, более точных физико-химических методах исследования, таких как: газожидкостная хроматография (ГХ) масс-спектрометрия (МС) [9].

Многочисленные клинико-экспериментальные исследования позволяют рассматривать бактериальные эндотоксины как основные факторы, индуцирующие

развитие синдрома интоксикации при инфекционных и неинфекционных заболеваниях. Липополисахарид (ЛПС) является мощным структурным компонентом грамотрицательных бактерий, с его действием на организм связывают все объективные клинические проявления интоксикации. Активация иммунокомпетентных клеток ЛПС ведёт к выбросу воспалительных медиаторов: цитокинов, хемокинов, ферментов, эйкозаноидов, адгезивных молекул, свободных радикалов, ответственных за развитие воспалительных реакций и способных вызывать патофизиологические процессы, включая септический шок. Разработаны и используются различные методы определения эндотоксина в биологических средах, основанные, как на детекции его серологических маркёров, так и на регистрации вызываемых им биологических эффектов [9].

Развитие воспалительного процесса в пародонте связано с влиянием метаболитов и ферментов живых и лизированных бактерий, которые попадают в десневую жидкость и обладают агрессивными свойствами по отношению к коллагену, гликозаминогликанам и другим составляющим пародонта. Конечные продукты обмена веществ бактерий, в частности аммиак, индол, скатол, сероводород, сероуглерод поражают ткани пародонта. Липополисахариды из стенок грамотрицательных микроорганизмов индуцируют локальную иммунную реакцию тканей, что сопровождается усилением высвобождения иммунных комплексов, лизосомальных ферментов, декстриназ и прочее, оказывающих разрушающее действие как на эмаль зуба, так и на ткани пародонта [4].

Одним из наиболее значительных компонентов, оказывающих положительное влияние на симбиоз организма и микробиоты, является плазмалоген. Глицерофосфолипиды, имеющие алкен-1-иль-ноэфирную группировку и являющиеся производными высших жирных альдегидов называют плазмалогенами. Плазмалогены обнаружены в тканях и органах всех животных, независимо от уровня их организации. В достаточно высокой концентрации плазмалогены присутствуют в организме человека, где они составляют около 22% от общего количества фосфолипидов. Особенно велико содержание плазмалогенов в нервной ткани, головном мозге (белое вещество, мозговая оболочка), сердечной мышце, надпочечниках, сперме. В меньшей степени плазмалогены представлены в микроорганизмах и растениях. Плазмалоген содержится в мембранах анаэробных микроорганизмов, которые являются резервуаром этого необходимого организму компонента [9].

Оценка микробиоценозов методами ГХ-МС в парадигме предиктивной медицины приобретает популярность у исследователей вследствие высокой специфичности и чувствительности метода, возможности

интегральной характеристики реактивности микробно-тканевого комплекса. Оценка микробиоценозов бактериологическим методом может быть расширена за счёт дополнительных данных по концентрации плазмалогена и бактериального эндотоксина в ротовой жидкости.

Цель работы – определение в ротовой жидкости уровней плазмалогена и бактериального эндотоксина характерных для нормы и микробиологических нарушений разной степени тяжести.

Материал и методы. Исследованы концентрации плазмалогена и бактериального эндотоксина в ротовой жидкости у 45 пациентов в возрасте 25-60 лет, обратившихся за стоматологической помощью в ГАУЗ поликлинику № 66 г. Москвы и клинику «Профессионал», за 3 года - с 2014 по 2016 г, с целью ортопедического лечения частичного вторичного отсутствия зубов и профилактики острой травмы протезного ложа, имеющих различную степень тяжести заболеваний пародонта.

Отбор пациентов проводили на основании клинико-морфологического статуса, данных рентгенологического исследования (ортопантограммы) и лабораторного обследования. При клиническом осмотре в начале исследования и при повторных осмотрах фиксировались исходные показатели, характеризующие наличие зубного налёта, состояние тканей пародонта с помощью индексов API, PMA, SBI. Дополнительно проводились анализы ротовой жидкости и венозной крови.

Микробиологические исследования проводились в соответствии с рекомендациями МЗ РФ [Приложение 1 к приказу МЗ СССР № 535 от 22.04.1985 г. «Методические указания по применению унифицированных микробиологических (бактериологических) методов исследования в клинико-диагностических лабораториях»]. Исследуемый материал засеивали на основные и дифференциально-селективные питательные среды для выделения и идентификации микроорганизмов.

Исследуемый материал (ротовая жидкость) брали утром, строго натощак стерильным тампоном-зондом, и помещали в коллекторы с транспортной средой Amies, содержащей фармакологический активированный уголь, для доставки в лабораторию.

Идентификацию микрофлоры проводили на основании изучения морфологических, культуральных, ферментативных и антигенных свойств с использованием тест-систем производства «PLIVA-LachemaDiagnostika, s.r.o.» (Чешская Республика) и согласно руководству [10].

Степень нарушения микробиоценоза полости рта оценивалась по ФКР (2016) [11].

По итогам клинического и лабораторного обследования, и микробиологического анализа ротовой жидкости определены 4 группы: N – «нормоценоз»; I - промежуточный тип микробиоценоза; II – дисбиоз полости рта; III - выраженный воспалительный процесс. Отмечалось что у пациентов группы «Нормоценоз» и «Промежуточный тип микробиоценоза» отсутствовали воспалительные заболевания пародонта, у пациентов группы «Дисбиоз» обнаруживали хронический катаральный гингивит, у пациентов группы «Выраженный воспалительный процесс» диагностировали хронический генерализованный пародонтит.

Определение концентрации бактериального плазмалогена и эндотоксина в ротовой жидкости проводили методом ГХ-МС. Анализ состоял в прямом извлечении с помощью экстракции жирнокислотных соединений

из образцов. Разделение проводили на хроматографе МАЭСТРО 7820А, совмещенным с квадрупольным селективным масс-спектрометром Adgent Technologies 5975 с диапазоном масс 2-1000 аем, имеющем разрешающую способность 0,5 аем во всём рабочем диапазоне. Чувствительность прибора 50 пг (пикограмм) по метилстеарату в режиме непрерывного сканирования и 1 пг в режиме селективных ионов, на капиллярной колонке с метилсиликоновой привитой фазой Ультра-1 Хьюлетт-Паккард длиной 25 м и внутренним диаметром 0.2 мм. Режим анализа 120° С - 2 мин, далее программированное изменение температуры - 5 град/мин до 300-320° С град. При определении состава основных липидных компонентов, карбоновых, фенилкарбоновых кислот и спиртов пробы использован режим полного сканирования [12].

Пробоподготовка для изучения состава микробных маркёров осуществлялась по методике приведенной в статье [12].

Вещества на хроматограмме определяли по масс-спектрам, используя стандартную программу идентификации прибора, основанную на базе данных NBS.

По концентрации пальмитового альдегида в ротовой жидкости определяли содержание бактериального плазмалогена - главного липидного компонента клеточных мембран. Концентрацию бактериального эндотоксина рассчитывали как сумму концентраций отдельных компонентов клеточной стенки грамотрицательных микроорганизмов [13].

Полученные выборки для определённых степеней микробиологических нарушений оценивали на наличие нормального распределения по критерию Шапро-Вилсона. В связи с отсутствием нормального распределения различия медианных средних значений выборок и интерквартильный размах сравнивали по U-критерию Манна-Уитни. Пороговые значения бактериального эндотоксина для пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом и с менее тяжёлыми нарушениями состояния микробиоценоза полости рта определяли ROC-анализом с построением ROC-кривой, расчётом площади под кривой (AUC) и порога отсечения CutOff. Пороговое значение концентрации бактериального эндотоксина определяли по значению CutOff. При анализе значение $p < 0,05$ принималось как статистически значимое различие.

Результаты и обсуждение. По результатам оценки клинических данных о состоянии полости рта и пародонта, с учётом данных бактериологического исследования пациенты отнесены к группам «Нормоценоз», «Промежуточный тип», «Дисбиоз», «Выраженный воспалительный процесс». Всю выборку и подгруппы оценили на наличие нормального распределения по критерию Шапро-Вилсона. Нормальное распределение не было ни в одной из подгрупп. Для статистического описания групп использовали медианные значения для оценки средних и интерквартильный интервал для оценки разброса. Результаты анализа по определению концентрации плазмалогена в ротовой жидкости представлены на рис. 1.

На рис. 1 показано, что с увеличением степени микробиологических нарушений увеличивается концентрация бактериального плазмалогена в ротовой жидкости. Анализ достоверности различий по U-критерию Манна-Уитни показал достоверное отличие на уровне более 95% между I и II группой, между II и III группой, а

Качественная характеристика оценки воспалительного процесса при пародонтите по концентрации бактериального эндотоксина

Параметр	Значение
AUC (Площадь ограниченная ROC-кривой)	0,922
CutOff (Порог отсечения)	0,245
Пороговая концентрация бактериального эндотоксина, наномоль/г	6,25

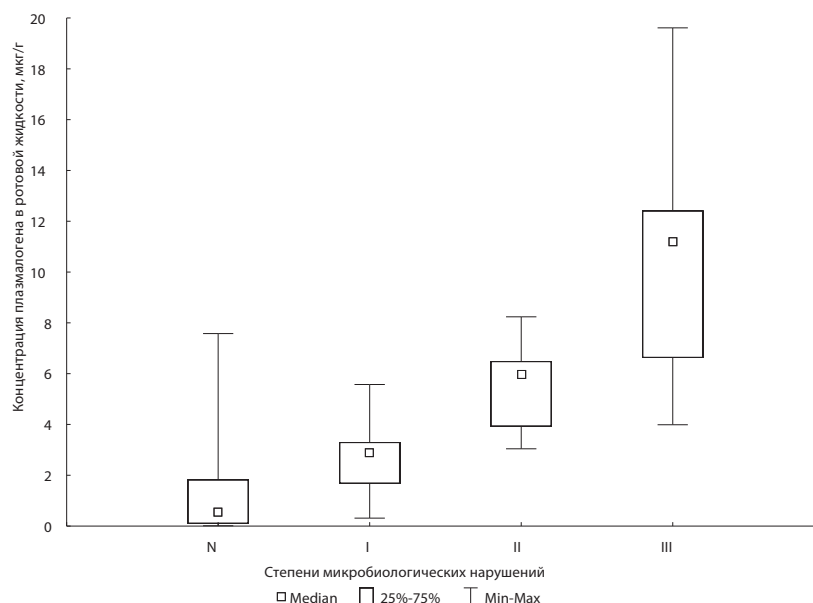


Рис. 1. Концентрация плазмалогена в ротовой жидкости при различных степенях микробиологических нарушений. Здесь и на рис. 2: N – нормоценоз; I – промежуточный тип; II – дисбиоз; III – выраженный воспалительный процесс.

так же между I и III группой. Увеличение концентрации бактериального плазмалогена связано с увеличением интенсивности обсеменённости микроорганизмами, которое соответствует увеличению степени микробиологических нарушений. Метод определения бактериального плазмалогена ГХ-МС оценивает его концентрации по концентрации пальмитового альдегида, производимого бактериальной микрофлорой. График (рис. 1) указывает на увеличение интенсивности обсеменённости ротовой полости при увеличении степени микробиологических нарушений микробиоценоза полости рта.

Концентрация плазмалогена для нормального микробиоценоза составляет не менее 1,7 мкг/г. Для промежуточного типа микробиоценоза определена концентрация 3,2 мкг/г; для дисбиоза – 6,24 мкг/г, для выраженного воспалительного процесса выше 6,54 мкг/г.

Концентрация бактериального эндотоксина в ротовой жидкости представлена на рис. 2. На рис. 2 показано увеличение концентрации бактериального эндотоксина с увеличением степени тяжести микробиологических нарушений в полости рта. Установлено достоверное (более 95%) увеличение концентрации бактериального эндотоксина в III группе относительно N, I, II групп. Для определения пороговой концентрации бактериального эндотоксина, определяемого ГХ-МС проведён ROC-анализ концентраций бактериального эндотоксина у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом и пациентов других групп (рис. 3, см. таблицу).

Данные ROC-анализа указывают на высокую прогностическую ценность концентрации бактериального эндотоксина, определяемого ГХ-МС при заболевании пародонтитом. Определено значение точки отсечения (CutOff), по которому рассчитана пороговая концентрация бактериального эндотоксина равная 6,25 наномоль/г. При концентрации бактериального эндотоксина выше пороговой концентрации можно утверждать о наличии эндотоксиновой агрессии, связанной с высокой интенсивностью обсеменённости грамотрицательной микрофлорой.

Микрофлора является резервуаром плазмалогена, который входит в состав мембран анаэробных бактерий. Плазмалоген является протектором в окислении полиненасыщенных жирных кислот, участвует в управлении выбросом холестерина из клеток. Плазмалоген важен для поддержания нормальной деятельности нервной системы человека, так как стимулирует нервные клетки, осуществляет межклеточные сигнальные функции. Накопление плазмалогена связано с увеличением интенсивности обсеменённости и является способствующим фактором для симбиоза организма и его микрофлоры. Концентрация плазмалогена в слюне зависит от множества факторов: от продукции плазмалогена микрофлорой, от интенсивности его всасывания слизистой и от выделения его организмом.

Из представленных данных (см. рис. 2) можно отметить скачкообразное увеличение концентрации бактери-

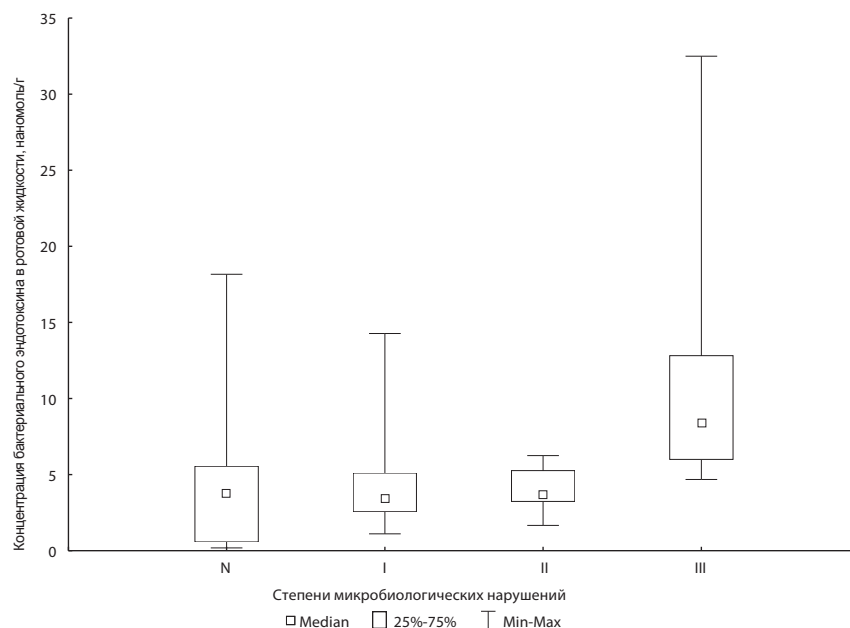


Рис. 2. Концентрация бактериального эндотоксина в ротовой жидкости при различных степенях микробиологических нарушений.

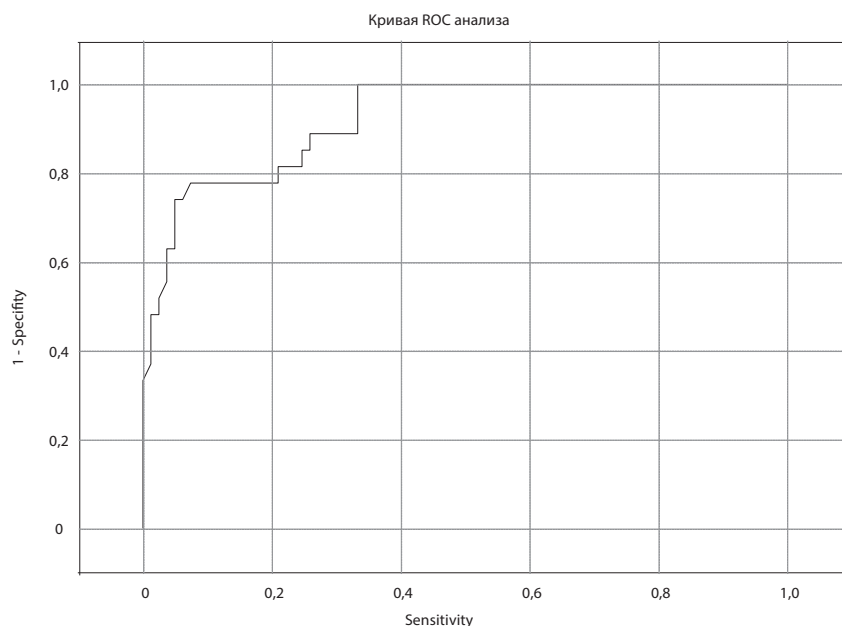


Рис. 3. График ROC-кривой по значениям концентрации бактериального эндотоксина в ротовой жидкости при выраженном воспалительном процессе у пациентов с пародонтитом.

ального эндотоксина при хроническом генерализованном пародонтите. Увеличение концентрации бактериального эндотоксина в ротовой жидкости свидетельствует об увеличении интенсивности обсеменённости грамотрицательной микрофлорой. Умеренная активация клеток при низких дозах эндотоксина с увеличением дозы переходит в гиперактивацию, которая сопровождается усиленной продукцией воспалительных цитокинов, усиленной активацией системы комплемента и факторов свертывания крови, что может заканчиваться развитием таких грозных

осложнений, как диссеминированное внутрисосудистое свертывание (ДВС), эндотоксиновый шок, острая полиорганная недостаточность [13]. При избыточном поступлении в системный кровоток эндотоксина в условиях относительной недостаточности ЛПС-связывающих факторов, при недостаточности ЛПС выделяющих систем (в первую очередь почек) эндотоксин может проявлять свои разнообразные патогенетические свойства. Факт участия избытка ЛПС в патогенезе различных заболеваний, назван «эндотоксиновой агрессией».

Многие грамотрицательные микроорганизмы некультивируемые или для их выделения необходимо использовать специальные среды и создавать особые условия культивирования. Интегральная характеристика выраженного воспалительного процесса полости рта с помощью оценки концентрации бактериального эндотоксина является более чувствительной и специфичной.

В настоящем исследовании установлено, что для микробиоценоза полости рта, не имеющего выраженного воспалительного процесса, связанного с пародонтитом, концентрация бактериального эндотоксина не превышает 6,25 нмоль/г. Изменение концентрации бактериального эндотоксина не имеет достоверных различий, выраженных тенденций к росту или снижению в группах норма, промежуточный тип, дисбиоз. Значимое изменение концентрации бактериального эндотоксина в 3 раза и более отмечается при выраженном воспалительном процессе в тканях пародонта.

Заключение. С увеличением тяжести заболеваний пародонта и увеличением степени микробиологических нарушений полости рта увеличивается концентрация бактериального плазмалогена и эндотоксина. Резкое увеличение концентрации бактериального эндотоксина отмечается при выраженном воспалительном процессе.

Увеличение концентрации бактериального эндотоксина более 6,25 нмоль/г свидетельствует о выраженном воспалительном процессе вне зависимости, от определяемой культуральным методом, интенсивности обсеменённости условно-патогенной грамотрицательной микрофлорой. Это связано с тем, что многие условно-патогенные микроорганизмы некультивируемые или требуют создания особых условий культивирования. Определение наличия условно-патогенной микрофлоры по содержанию БЭ методом ГХ-МС является более чувствительным методом.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Публикация подготовлена при поддержке Программы РУДН «5-100».

ЛИТЕРАТУРА

1. Лазебник Л. Б., Стефанюк О. Концепция развития европейского здравоохранения до 2040 года — взгляд в будущее. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2015; 117 (5): 51-7.
2. Миронов А. Ю., Зур Н. В. Молекулярные маркеры патогенов. М.: ООО «Тираж»; 2013.
3. Зеленова Е.Г., Заславская М.И., Салина Е.В., Рассанов С.П. Микрофлора полости рта: норма и патология. Учебное пособие. Нижний Новгород: НижГМА; 2004.
4. Григорьян А.С. Болезни пародонта. Патогенез, диагностика, лечение: руководство для врачей. М.: Медицинское информационное агентство; 2004.
5. Анурова А.Е., Величко Э.В., Косырева Т.Ф., Стуров Н.В. Влияние микрофлоры полости рта матерей на формирование микробиоценоза полости рта у детей с врожденными расщелинами верхней губы и неба. *Трудный пациент*. 2017; 1-2 (15): 59-62.
6. Борисова, О. Ю., Алёшкин В.А., Пименова А.С. Крюков А.И., Кунельская Н.Л., Гуров А.В., Шадрин Г.Б., Товмасын А.С., Ефимов Б.А., Кафарская Л.И. Микробный состав микрофлоры ротоглотки у больных с тонзиллярной патологией. *Инфекция и иммунитет*. 2015; 5 (3): 225–32.
7. Феклисова Л.В., Мескина Е.Р., Воропаева Е.А., Пожалостина Л.В., Моисеева К.Д. Микробиоценоз ротоглотки и кишечника у

- детей, посещающих дошкольные учреждения. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2007; 4: 14-9.
8. Ткаченко Е.И., Успенский Ю.П. Питание, микробиоценоз и интеллект человека. СПб.: СпецЛит, 2006.
9. Осипов Г.А., Федосова Н.Ф., Лядов К.В. Количественный in situ микробиологический анализ по липидным маркерам в биологических жидкостях с использованием метода газовой хроматографии – масс спектрометрии. *Здравоохранение и медицинские технологии*. 2007; 5:20-3.
10. Методики клинических лабораторных исследований. Справочное пособие в 3-х томах. Меньшиков В.В., ред. М.: ООО «Лабора»; 2009.
11. Алёшкин В. А., Селькова Е. П., Затевалов А. М., Миронов А. Ю., Волчецкий А. Л., Гудова Н. В. Определение дисбиотических изменений желудочно-кишечного тракта по маркерам содержимого кишечника. Федеральные клинические рекомендации. Н. Новгород.: «Ремедиум Приволжье»; 2016.
12. Осипов Г.А. Способ определения родового (видового) состава ассоциации микроорганизмов. Патент РФ 2086642; 1997.
13. Платонова А.Г., Осипов Г.А., Бойко Н.Б., Кириллова Н.В., Родионов Г.Г. Хромато-масс-спектрометрическое исследование микробных жирных кислот в биологических жидкостях человека и их клиническая значимость. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2015; 12. 46-55.

REFERENCES

1. Lazebnik L. B., Stefanyuk O. The concept of the development of European health care until 2040 - a look into the future. *Ehksperimental'naya i klinicheskaya gastroehnterologiya*. 2015; 117 (5):51–7. (in Russian)
2. Mironov A. Yu., Zur N. V. Molecular Markers of Pathogens [Molekulyarnye markery patogenov]. Moscow: ООО Tirazh; 2013. (in Russian)
3. Zelenova E.G., Zaslavskaya M.I., Salina E.V., Rassanov S.P. Oral microflora: norm and pathology. Tutorial. [Mikroflora polosti rta: norma i patologiya. Uchebnoye posobiye].Nizhniy Novgorod: Nizhegorodskaya gosudarstvennaya meditsinskaya akademiya; 2004. (in Russian)
4. Grigor'yan A.S. Periodontal disease. Pathogenesis, diagnosis, treatment: a guide for doctors.[Bolezni parodonta. Patogenez, diagnostika, lechenie: rukovodstvo dlya vrachey].M: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo; 2004. (in Russian)
5. Anurova A.E., Velichko E.H.V., Kosyreva T.F., Sturov N.V. Influence of the microflora of the oral cavity of mothers on the formation of the microbiocenosis of the oral cavity in children with congenital clefts of the upper lip and palate. *Tрудный пациент*. 2017; 1-2(15): 59-62. (in Russian)
6. Borisova O. YU., Aleshkin V.A., Pimenova A.S., Kryukov A.I., Kunel'skaya N.L., Gurov A.V., SHadrin G.B., Tovmasyan A.S., Efimov B.A. Kafarskaya, L.I. Microbial composition of the oropharyngeal microflora in patients with tonsillar pathology. *Инфекция и иммунитет*. 2015; 5. (3): 225–32. (in Russian)
7. Feklisova L.V., Meskina E.R., Voropaeva E.A., Pozhalostina L.V., Moiseeva K.D. Microbiocenosis of the oropharynx and intestines in children attending preschool institutions. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni*. 2007; 4: 14–9. (in Russian)
8. Tkachenko E.I., Uspenskij YU.P. Nutrition, microbiocenosis and human intelligence. [Pitanie, mikrobiotsenoz i intellekt cheloveka]. St.Petersburg.: SpetsLit; 2006. (in Russian)
9. Osipov G.A, Fedosova N.F., Lyadov K.V. Quantitative in situ microbiological analysis of lipid markers in biological fluids using gas chromatography - mass spectrometry. *Zdravoohranenie i meditsinskie tekhnologii*. 2007; 5: 20-3. (in Russian)
10. Methods of clinical laboratory research. Reference manual in 3 volumes. [Metodiki klinicheskikh laboratornyh issledovaniy Spravochnoe posobie v 3-h tomakh]. Men'shikov V.V., ed. Moscow: Labora; 2009. (in Russian)
11. Alyoshkin V. A., Sel'kova E. P., Zatevalov A. M., Mironov A. Yu., Volcheckiy A. L., Gudova N. V. Determination of dysbiotic changes in the gastrointestinal tract by markers of intestinal contents. Federal clinical guidelines. [Opredelenie disbioticheskikh izmenenij zhelu-

- dochno-kishechnogo trakta po markyoram sodержimogo kischechnika Federalnye klinicheskie rekomendacii]. Nizhniy Novgorod: Remedium Privolzh'e; 2016. (in Russian)
12. Osipov G. A. The method for determining the generic (species) composition of the association of microorganisms. [Sposob opredeleniya rodovogo vidovogo sostava asociacii mikroorganizmov]. Patent RF 2086642; 1997. (in Russian)
13. Platonova A.G., Osipov G.A., Boyko N.B., Kirillova N.V., Rodionov G.G. Chromato-mass spectrometric study of microbial fatty acids in human biological fluids and their clinical significance. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2015; 12. 46-55. (in Russian)

Поступила 09.02.19
Принята к печати 20.02.19

Уважаемые читатели!

На сайте Научной Электронной Библиотеки
www.elibrary.ru можно подписаться на электронную версию
нашего журнала и других журналов издательства «Медицина» на 2019 год.

Архив журналов Издательства «Медицина»
находится в открытом (бесплатном) доступе на сайтах
Научной электронной библиотеки **www.elibrary.ru**
и Киберленинки **www.cyberleninka.ru**