

к развитию иммунодефицитных состояний [13]. В норме гомеостаз железа сбалансирован и оно связано с железосвязывающими белками, что делает его недоступным для патогенов. Это важный фактор, сдерживающий развитие патогенов в крови. Полученные результаты вполне логичны, если рассматривать биопленки как механизм выживания микроорганизмов в организме хозяина. При железодефицитных состояниях железа в крови недостаточно для роста и экспрессии факторов патогенности микроорганизмов, и образование биопленок подавлено. В условиях избыточного содержания железа его концентрация достаточна для оптимального существования патогенов, и их переход от планктонного к «оседлому» образу жизни не является необходимым. Избыток железа в сыворотке может приводить к развитию оксидативного стресса, что также будет подавлять адгезию возбудителя. При нормальном содержании сывороточного железа его концентрация достаточна для оптимального размножения патогена, однако антимикробные механизмы иммунитета стимулируют переход патогена от планктонной формы существования к биопленочной.

**Выводы.** 1. Плазма крови стимулирует БПО *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus* в последовательности *S. aureus* > *P. aeruginosa* > *E. coli* и способствует продукции отрицательно заряженных внеклеточных экзополисахаридов.

2. Как избыток, так и недостаток железа в плазме уменьшает БПО оппортунистических патогенов в последовательности: *P. aeruginosa* > *S. aureus* > *E. coli*.

#### ЛИТЕРАТУРА (пп. 3–6, 8, 10–12 см. REFERENCES)

1. Харсеева Г.Г., Миронов А.Ю., Фролова Я.Н., Лабушкина А.В. Способность к формированию биопленки возбудителем дифтерии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2013; 2: 36–8.
2. Сидоренко С.В. Катетер-ассоциированные инфекции. *Современная онкология*. 2001; 3: 96–7.
3. Козлов В.К. *Сепсис: этиология, иммунопатогенез, концепция современной иммунотерапии*. СПб.: Диалект; 2006.
4. Леонов В.В., Курлович Н.А., Соколова Т.Н. Связь показателя гидрофобности микробных клеток с биопленкообразующей способностью. *Биофизика*. 2014; 59 (6): 1131–4.
5. Миронов А.Ю., Харсеева Г.Г., Ключкина Т.В. *Основы клинической микробиологии и иммунологии: учебное пособие*. Ростов-на-Дону: ГОУ ВПО РостГМУ; 2011.

Поступила 01.09.15

#### REFERENCES

1. Kharseeva G.G., Mironov A.Yu., Frolova Ya.N., Labushkina A.V. The ability of diphtheria causative agent to form biofilm. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2013; 2: 36–8. (in Russian)
2. Sidorenko S.V. Catheter-related infections. *Sovremennaya onkologiya*. 2001; 3: 96–7. (in Russian)
3. Pittet D., Tarara D., Wenzel R.P. Nosocomial bloodstream infection in critically ill patients: excess length of stay, extra costs and attributable mortality. *JAMA*. 1994; 271 (20): 1598–601.
4. Orsi G.B., Di Stefano L., Noah N. Hospital-acquired, laboratory-confirmed bloodstream infection: increased hospital stay and direct costs. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 2002; 23 (4): 190–7.
5. John R. Mehall, Daniel A. Saltzman, Richard J. Jackson, Samuel D. Smith Fibrin sheath enhances central venous catheter infection. *Crit. Care Med.* 2002; 30 (4): 908–12.
6. Treter J., Macedo A.J. Catheters: a suitable surface for biofilm formation. In: A. Méndez-Vilas, ed. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*. Badajoz, Spain: FORMATEX; 2011: 835–42.
7. Kozlov V.K. *Sepsis: Etiologic, Immunopathogenesis, Conception Modern Immunotherapy. [Sepsis: etiologiya, immunopatogenez, kontseptsiya sovremennoy immunoterapii]*. St. Petersburg: Dialekt; 2006. (in Russian)
8. O’Toole G.A., Kaplan H.B., Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Annu. Rev. Microbiol.* 2000; 54: 49–79.
9. Leonov V.V., Kurlovich N.A., Sokolova T.N. Relation of hydrophobicity index of microbial cells to their bio-film-forming ability. *Biofizika*. 2014; 59 (6): 1131–4. (in Russian)
10. Al-Qadiri H.M., Al-Holy M.A., Lin M., Alami N.I., Cavinato A.G., Rasco B.A. Rapid detection and identification of *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* as pure and mixed cultures in bottled drinking water using fourier transform infrared spectroscopy and multivariate analysis. *J. Agric. Food Chem.* 2006; 54 (16): 5749–54.
11. D’Souza L., Devi P., Kamat T., Naik C.G. Diffuse reflectance infrared fourier transform spectroscopic (DRIFTS) investigation of *E. coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*. 2009; 38 (1): 45–51.
12. Elliot T., Tebbes S. Prevention of central venous catheter related infection. *J. Hosp. Infect.* 1998; 40 (3): 193–201.
13. Mironov A.Yu., Kharseeva G.G., Klyukina T.V. *Basics of Clinical Microbiology and Immunology: Study Guide. [Osnovy klinicheskoy mikrobiologii i immunologii: Uchebnoe posobie]*. Rostov-na-Donu: GOU VPO RostGMU; 2011. (in Russian)

Received 01.09.15

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616.314.17-002-02:616.98:578.828.6]-092:612.017.1.064]:577.21.08

Царев В.Н., Николаева Е.Н., Ягодина Е.В., Трефилова Ю.А., Ипполитов Е.В.

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ГИНГИВИТА И ПАРОДОНТИТА У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, 127473, Москва

Проведено обследование 102 пациентов Клинической инфекционной больницы № 2 г. Москвы с верифицированным диагнозом ВИЧ-инфекция, являвшихся серопозитивными по результатам обнаружения анти-ВИЧ-АТ в сыворотке крови. Цель исследования – изучить частоту колонизации десен вирулентными анаэробными бактериями у ВИЧ-инфицированных (ПЦР) и АТ к ВИЧ в десневой жидкости (ИФА). Установлено, что в соскобе десневой борозды у ВИЧ-инфицированных доминируют анаэробные бактерии *P. gingivalis* и *A. actinomycetemcomitans*, а при пародонтите – *P. gingivalis* и *T. forsythia*. Полученные данные позволяют рекомендовать тест-систему «Мультидент-5» для ПЦР-диагностики, а набор реагентов Saluryte® HIV-1/2 – для ИФА с целью выявления АТ к ВИЧ в десневой жидкости. На результаты ПЦР и ИФА не оказывают влияния сопутствующая стоматологическая (пародонтит, гингивит) и соматическая патология.

Ключевые слова: ВИЧ-инфицированные; анаэробные бактерии; ИФА; ПЦР; маркерная ДНК; гингивит; пародонтит.

Для цитирования: *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61 (1): 54–59.

Для корреспонденции: Царев Виктор Николаевич, nikola777@rambler.ru

For correspondence: Tsarev V.N. nikola777@rambler.ru

Tsarev V.N., Nikolaeva E.N., Iagodina E.V., Trefilova Yu.A., Ippolitov E.V.

THE MOLECULAR TECHNIQUES OF DIAGNOSTIC OF GINGIVITIS AND PERIODONTITIS IN HIV-INFECTED PATIENTS

The A.E. Evdokimov Moscow state medical stomatological university, 127473 Moscow, Russia

*The examination was carried out in the Moscow clinical infectious hospital №2 concerning 102 patients with verified diagnosis "AIDS-infection" and seropositive according results of detection of anti-HIV-antibodies in blood serum. The study was organized to analyze rate of colonization of gums with virulent anaerobic bacteria in HIV-infected (polymerase chain reaction) and antibodies to HIV in gingival fluid (enzyme-linked immunosorbent assay). It is established that in HIV-infected patients, in scrape from gingival sulcus dominate anaerobic bacteria P. gingivalis and A. ctinomycescomitans and in case of periodontitis - P. gingivalis and T. forsythia. The received data permits recommending the test-system "Multident-5" for polymerase chain reaction diagnostic. The reagents kit "Calypse®HIV-1/2" - for enzyme-linked immunosorbent assay gingival fluid. The results of polymerase chain reaction and enzyme-linked immunosorbent assay have no impact of concomitant stomatological (periodontitis, gingivitis) and somatic pathology.*

**Key words:** AIDS-infected patient; anaerobic bacteria; enzyme-linked immunosorbent assay; polymerase chain reaction; marker DNA; gingivitis; periodontitis

**Citation:** Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika. 2016; 61 (1): 54–59. (in Russ.)

В настоящее время, по данным НИИ наркологии, число лиц, страдающих наркоманией, в России превышает 2 млн человек (если учитывать только тех, кто обратился за медицинской помощью, причем отношение числа таковых к истинному числу больных наркоманией составляет 1:7). Установлена прямая сильная корреляционная связь между численностью наркоманов и лицами, входящими в группы заболевания ВИЧ-инфекцией и парентеральными гепатитами В и С [1].

Инфицирование молодых людей вирусами указанных инфекций ведет не только к количественному росту показателя заболеваемости ВИЧ-инфекцией, но и имеет важное медико-социальное значение, так как ВИЧ-инфицированные длительно остаются бессимптомными источниками инфекции и погибают от СПИДа в детородном и трудоспособном возрасте [2]. Этими клинико-эпидемиологическими особенностями ВИЧ-инфекции объясняется ее исключительная социальная значимость, поскольку под угрозой находится демографическая ситуация в России.

Врачи-стоматологи должны уметь распознавать связанные с ВИЧ стоматологические заболевания и обеспечивать направление пациентов к соответствующим специалистам [3]. Чаще всего в основе дифференциальной диагностики подобной патологии лежит визуальный осмотр и анализ клинических особенностей течения заболевания. Развитие патологии прямо связано с уменьшением количества CD4<sup>+</sup>-клеток и увеличением вирусной нагрузки и является независимым индикатором прогрессирования ВИЧ-инфекции. У лиц с неизвестным статусом по ВИЧ подобные изменения в полости рта могут служить признаком возможного наличия ВИЧ-инфекции, хотя сами по себе не являются диагностическим критерием [2, 4].

Связанная с ВИЧ патология полости рта присутствует у 30–80% ВИЧ-инфицированных лиц [5, 6]. У ВИЧ-положительных пациентов, не получающих лечения, наличие определенных проявлений такого рода в полости рта может служить признаком прогрессирования заболевания. У пациентов с ВИЧ-инфекцией, принимающих антиретровирусные препараты, наличие тех или иных патологических проявлений в полости рта может означать повышение уровня вирусной нагрузки [3, 7, 8].

Последовательность осмотра пациента врачом-стоматологом для обнаружения клинических симптомов ВИЧ-инфекции имеет большое значение, так как патологические изменения на слизистой оболочке полости рта возникают наиболее рано, и их выявление играет решающую роль в своевременной постановке диагноза [1, 6, 9].

В Российской Федерации изучение СПИДа проводится с 1985 г., плановое обследование населения на антитела к ВИЧ начато с 1987 г. [1, 2]. Актуальным является вопрос о влиянии хронического воспалительного процесса в пародонте на

информативность и точность новых экспресс-тестов для выявления антител к ВИЧ в десневой жидкости, что и определило цель нашей работы [7].

Цель исследования – изучить частоту колонизации десен вирулентными анаэробными бактериями у носителей ВИЧ и влияние воспалительного процесса в пародонте на информативность и точность новых экспресс-тестов для выявления маркерной ДНК пародонтопатогенных бактерий и антител к ВИЧ в десневой жидкости.

**Материалы и методы.** Обследовано 102 пациента клинической инфекционной больницы № 2 г. Москвы с верифицированным диагнозом ВИЧ-инфекция, в том числе на основе серологической диагностики методом иммуноферментного анализа (ИФА), являвшихся серопозитивными по результатам обнаружения анти-ВИЧ-антител в сыворотке крови. Группа сравнения представлена 30 пациентами лечебно-профилактического центра МГМСУ им. А. И.Евдокимова с различной соматической и стоматологической патологией, в сыворотке которых не обнаружены антитела к антигенам ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Эти пациенты дали согласие на обследование с целью обнаружения в их сыворотке анти-ВИЧ-антител и были соответственно серонегативными по результатам ИФА.

Для выявления маркерной ДНК пародонтопатогенных видов в десневой жидкости или экссудате пародонтальных карманов пациентов использовали тест-систему «МультиДент-5» производства ООО «ГенЛаб» (Россия) для мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с праймерами 5 основных пародонтопатогенных видов анаэробных бактерий – *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* [10].

Для исследования антител к ВИЧ в ротовой жидкости пациентов использовали тест-набор фирмы «Calypse® HIV-1/2 ОМТ Aware™ Oral», представляющий собой единый комплект для выделения антител к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 производства фирмы «Calypse Biomedical Corporation» на 50 тестов, содержащий инструкцию и 50 индивидуальных тестов (каждый в пластиковой упаковке, состоящий из пакетика из фольги с тестовой полоской и десикантом внутри, тестовой пробирки с 1 мл буфера образца слюны, прокладки для забора слюны, двух одноразовых подставок для тестовых пробирок, двух карточек тестовой процедуры).

Для анализа согласно инструкции прокладку для забора слюны зажимали между верхними и нижними деснами, затем помещали в пробирку с буфером образца и тщательно встряхивали. После этого прокладку удаляли, а в пробирку с пробой десневой жидкости помещали вертикально тестовую полоску. Тест проводили до появления красной линии в зоне контроля полоски (положительным считается тест, если ниже зоны контроля в тест-зоне появляется красная полоса).

Таблица 1

**Клиническая характеристика основных поражений десен и пародонта**

Подгруппа	Диагноз	Число пациентов	% пациентов	Клинические проявления в полости рта
1а	ВИЧ-гингивит (линейная эритема десен)	25	25,8	Эритематозная непрерывная полоса, идущая вдоль границы с зубами. Десна ярко-красная, отечная. Кровоточивость маргинальной части десны на фоне анемичной прикрепленной части. Чаше наблюдали в области фронтальной группы зубов
1б	Язвенно-некротический ВИЧ-гингивит	8	8,7	Прогрессирующее разрушение мягких тканей десны без распространения на костные структуры челюстей. Некроз межзубных сосочков. Глубокие рыхлые пародонтальные карманы с обильным гнойным отделяемым
1в	Язвенно-некротический ВИЧ-пародонтит	7	7,6	Сильная боль, кровоточивость десен, изъязвление десневых сосочков, быстрая утрата мягких тканей пародонта и костных структур, секвестрация. Потеря зубов

Обработку результатов проводили методом вариационной статистики (компьютерная программа Biostat 8.0) с вычислением *t*-критерия Стьюдента и вероятности различий *p*. Различия считали достоверными при *p* < 0,05.

**Результаты и обсуждение.** Из находившихся на обследовании и лечении ВИЧ-инфицированных пациентов (основная группа 1—62 человека в возрасте от 24 до 46 лет) у 40 (64,5%) наблюдались следующие клинические формы поражения пародонта: катаральный (маргинальный) гингивит (КГ) (подгруппа 1а), язвенно-некротический гингивит (подгруппа 1б), язвенно-некротический пародонтит (подгруппа 1в), в то время как у 20 (32,3%) пациентов (подгруппа 1г) такая патология отсутствовала. Из материала, представленного в табл. 1, следует, что доминирующей формой патологических изменений во рту являлся КГ, или линейная эритема десен (у 25,8% пациентов со стоматологическими проявлениями). Более выраженные проявления с нарушением прикрепления десны, в том числе деструктивные язвенно-некротические процессы в пародонте, встречались существенно реже (у 15% пациентов со стоматологическими проявлениями).

В контрольной группе (группе 2) без ВИЧ-инфекции у 40

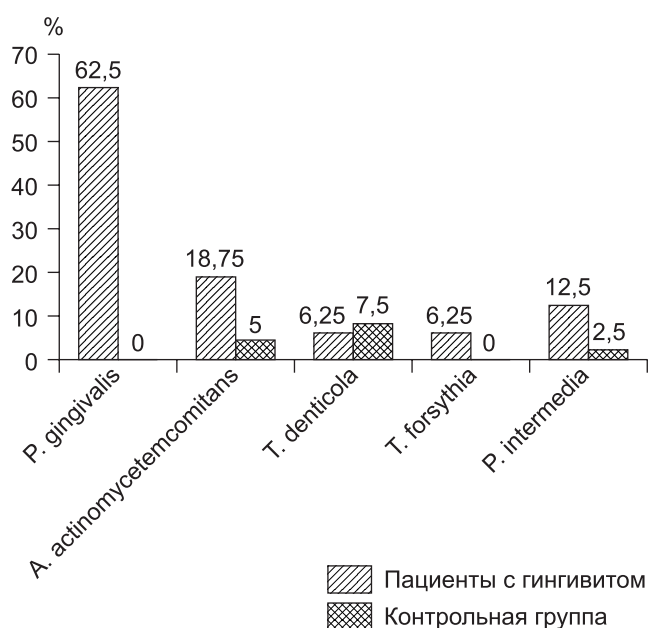


Рис. 1. Частота (в %) выявления ДНК пародонтопатогенных видов анаэробных бактерий в области зубодесневой борозды (пародонтального кармана) у ВИЧ-инфицированных пациентов с хроническим катаральным гингивитом и лиц с интактным пародонтом.

человек в возрасте от 18 до 39 лет (средний возраст 24 года) с интактным пародонтом и относительно небольшой частотой сопутствующей патологии (не более 15%) признаков КГ (глубина пародонтального кармана менее 3 мм), клинических и рентгенологических признаков потери зубодесневого соединения не выявлено. Аналогичная картина наблюдалась также у 20 ВИЧ-инфицированных пациентов без признаков патологии пародонта (подгруппа 1г).

Данные о распределении обследованных пациентов по стадиям ВИЧ-инфекции согласно классификации В. И. Покровского представлены в табл. 2 [2]. Установлено, что 17 (27,4%) из 62 ВИЧ-инфицированных пациентов находились в стадии ПА острой инфекции, 16 (25,8%) – в стадии ПВ персистирующей генерализованной лимфаденопатии и 29 (46,8%) – в стадии ША вторичных заболеваний.

Половина ВИЧ-инфицированных пациентов без признаков патологии пародонта находилась в стадии ПА, 6 (30%) – в стадии ПВ и 4 (20,0%) – в стадии ША.

Иная картина наблюдалась при патологии пародонта. По 5 (22,7%) пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом (ХГП) (подгруппа 1а) имели стадии ПА и ПВ ВИЧ-инфекции, 12 (54,6%) – стадию ША (подгруппа 1б). Большинство пациентов подгрупп 1б и 1в – 13 (65%) – находились в стадии ША, 5 (25,0%) – в стадии ПВ и только 2 (10%) пациента – в стадии ПА (см. табл. 2).

При проведении молекулярно-биологических и иммунологических исследований у пациентов в рассмотренных группах (ВИЧ-инфицированных с клиническими проявлениями в полости рта (*n* = 40), лиц без указанных клинических проявлений в полости рта (*n* = 62) и практически здоровых пациентов, составивших контрольную группу (*n* = 40)) мы сопоставили данные о наличии представителей пародонтопатогенных видов анаэробных бактерий *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia*, *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *T. denticola* с помощью мультиплексной ПЦР в содержимом пародонтального кармана и данные о наличии антител к ВИЧ в десневой жидкости с помощью иммуноферментного экспресс-теста Calypte® HIV-1/2 при наличии проявлений поражения пародонта и без них.

У 25 ВИЧ-инфицированных пациентов диагностирован КГ. Анализ результатов индексной оценки клинических по-

Таблица 2

**Распределение пациентов по стадиям инфекции ВИЧ**

Подгруппа	Стадии ВИЧ-инфицирования, <i>n</i> (%)			Всего
	ПА	ПВ	ША	
1а	10 (50,0)	6 (30,0)	4 (20,0)	20
1б	5 (22,7)	5 (22,7)	12 (54,6)	22
1в	2 (10,0)	5 (25,0)	13 (65,0)	20
<b>Итого</b>	<b>17 (27,4)</b>	<b>16 (25,8)</b>	<b>29 (46,8)</b>	<b>62</b>

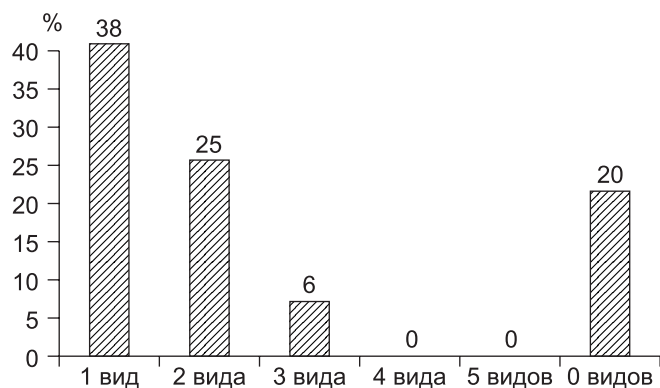


Рис. 2. Частота (в %) сочетанного выявления ДНК разных видов пародонтопатогенных анаэробных бактерий у ВИЧ-инфицированных пациентов с хроническим катаральным гингивитом.

казателей у пациентов с КГ показал, что все они статистически достоверно отличались от показателей здоровых людей ( $p < 0,05$ ).

Относительная частота выявления всех исследованных видов пародонтопатогенных бактерий с помощью ПЦР у больных КГ и лиц контрольной группы также статистически достоверно различалась ( $p < 0,05$ ).

У 2 (5%) обследуемых с интактным пародонтом с помощью системы для ПЦР-диагностики МультиДент выявлены генетические маркеры (ДНК) *A. actinomycetemcomitans*, у 1 (2,5%) – *P. intermedia*, у 3 (7,5%) – *T. denticola*. Маркеры *T. forsythia* и *P. gingivalis* не выявлены ни у одного обследуемого. У остальных 19 пациентов контрольной группы генетических маркеров данных патогенов не обнаружено (рис. 1).

При обследовании пациентов с признаками КГ частота выявления генетических маркеров пародонтопатогенных бактерий достоверно выше. У 3 (18,75%) пациентов выявлены *A. actinomycetemcomitans*, у 10 (62,5%) – *P. gingivalis*, у 2 (12,5%) – *P. intermedia*, у 1 (6,25%) – *T. forsythia*, у 1 (6,25%) пациента – *T. denticola*.

Наиболее часто (примерно у 1/3 пациентов) выявляли маркерную ДНК одного и двух видов (примерно у 1/4 пациентов). Только у одного пациента выявлена маркерная ДНК трех видов. У 5 из 25 пациентов с признаками КГ (20%) не выявлено ни одного из исследуемых видов микробов (рис. 2).

По-видимому, клиническую картину поражения десен в этом случае можно связать с активизацией условно-патогенных бактерий, например  $\alpha$ -зеленящих стрептококков. На вероятность такого процесса указывают данные разных исследователей [11, 12].

Сопоставляя наши данные с результатами ПЦР-диагностики ХГП, полученными с применением системы МультиДент и аналогичного оборудования в исследованиях В.Н. Царева и соавт. [10], следует отметить существенную разницу между показателями при хроническом гингивите и ХГП. Частота выявления генетических маркеров пародонтопатогенных бактерий при КГ и ХГП примерно одинакова только для одного вида – *P. gingivalis* (62,5 и 60% соответственно), который к тому же не выявляется у здоровых людей и большинством авторов признается как безусловный инфекционный агент, вызывающий воспаление тканей пародонта. Другой вид – *A. actinomycetemcomitans* выявлен у 18,75% больных КГ и у 35,9% больных ХГП. В норме частота выявления маркеров данного вида составила 5%, по нашим данным, и 6%, по данным В.Н. Царева и соавт. [10]. По-видимому, этот вид также можно рассматривать как пусковой инфекционный агент в развитии воспалительного процесса десен, что предлагают некоторые зарубежные исследователи [7].

Соответственно частота выявления одного вида инфек-

ционного возбудителя при КГ оказалась существенно выше, чем при ХГП (37,5% против 10,3%). Три и более видов в ассоциации выявлялись чаще при ХГП, чем при хроническом катаральном гингивите. Что касается представителей других видов, их роль в развитии гингивита представляется весьма проблематичной, так как частота выявления маркеров этих видов колебалась от 6,25% (*T. forsythia*, *T. denticola*) до 12,5% (*P. intermedia*), а «здоровое носительство» этих видов у пациентов с интактным пародонтом составляло от 2,5 до 7,5%.

В то же время при ХГП в группе ВИЧ-инфицированных пациентов частота выявления маркерной ДНК этих пародонтопатогенных видов крайне высока – 71,7, 74,5 и 56% соответственно (рис. 3).

Наиболее часто встречались ассоциации – у 8 пациентов из 15 (53,3%), в том числе *T. forsythia*, *P. gingivalis* с другими видами – у 3 (20%) пациентов, реже *P. gingivalis* с другими видами – у 2 (13,3%). Маркеры 4 и 5 видов пародонтопатогенных грамотрицательных анаэробных бактерий одновременно выявлены в 2 (13,3%) и 1 случае (6,7%) соответственно. У 40% выявлены генетические маркеры только одного вида (рис. 4).

Можно предположить, что перечисленные виды и их ассоциации играют важную роль именно при развитии язвенно-некротического гингивита и пародонтита как более глубокого и генерализованного поражения тканей пародонта.

У ВИЧ-инфицированных пациентов с КГ и ХГП отмечен высокий уровень обсемененности пародонта анаэробными пародонтопатогенными бактериями. Число выделяемых видов из 5 основных пародонтопатогенов увеличивалось по мере нарастания тяжести иммунодефицита и выраженности клинической картины деструкции тканей пародонта. Если при КГ отмечалась высокая частота обнаружения моноинфекции, при язвенно-некротическом пародонтите, как правило, выявляли 3–4 вида.

Во всех случаях у пациентов с частичной адентией ИФА-тесты на ВИЧ с десневой жидкостью дали положительные результаты. В группе сравнения ни в одном из анализируемых серонегативных по анти-ВИЧ-IgG-антителам случаев тест не дал положительного результата. Пол и возраст, а также со-

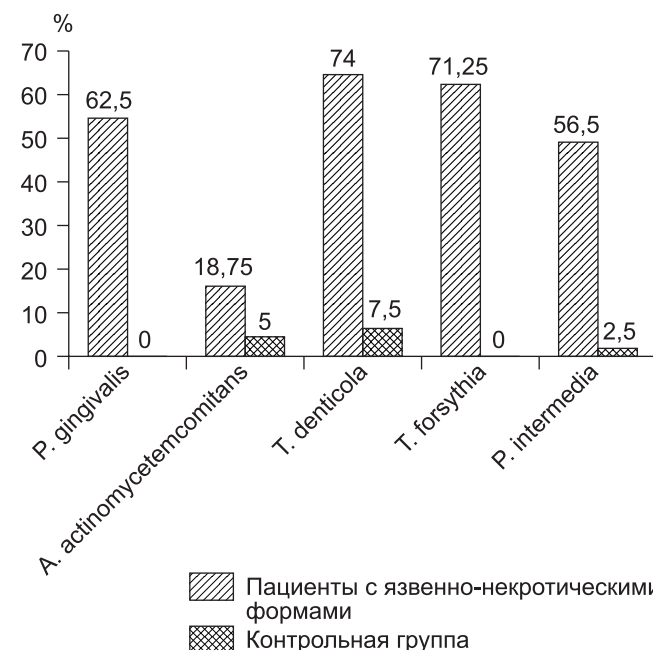


Рис. 3. Частота (в %) выявления ДНК пародонтопатогенных видов анаэробных бактерий в области зубодесневой борозды (пародонтального кармана) у ВИЧ-инфицированных пациентов с язвенно-некротическими формами (гингивит, пародонтит) и лиц с интактным пародонтом.

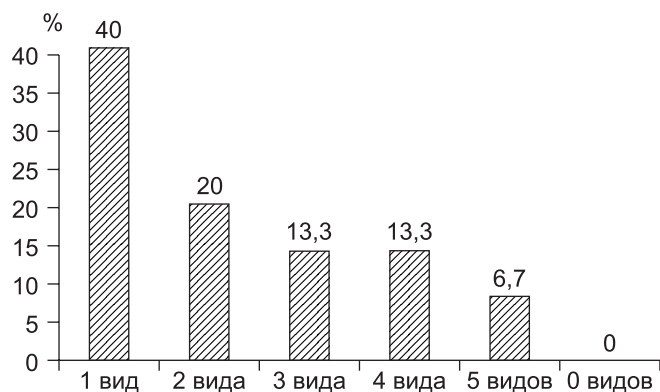


Рис. 4. Частота (в %) сочетанного выявления ДНК разных видов пародонтопатогенных анаэробных бактерий у ВИЧ-инфицированных пациентов с язвенно-некротическими формами гингивита, пародонтита.

путствующая стоматологическая и соматическая патология не влияли на результаты тестирования.

Хотя в ротовой полости присутствует более 400 видов микроорганизмов, в настоящее время доказана роль только небольшого числа бактерий в качестве этиологических факторов заболеваний пародонта. Развитие генерализованного пародонтита связывают прежде всего с грамотрицательными анаэробными бактериями *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *Bacteroides forsythus*, *T. denticola* [8, 9].

Основной целью терапии пародонтита является уничтожение его возбудителей и устранение отрицательных последствий их воздействия на окружающие ткани [4, 13].

Полученные данные позволяют рекомендовать тест-системы для ПЦР-диагностики грамотрицательных анаэробных бактерий и иммуноферментного выявления антител к ВИЧ с использованием тест-набора Calypte® HIV-1/2 для ранней диагностики ВИЧ, особенно для обследования пациентов молодого возраста при реализации профилактических программ.

Принимая во внимание, что выявить все источники возбудителя не всегда представляется возможным, в основу мероприятий по защите медицинских работников от ВИЧ и вирусов гепатита положен следующий универсальный принцип: всех пациентов следует рассматривать как потенциально инфицированных.

В связи с этим необходимо обязательное выполнение всеобщих (универсальных) мер предосторожности, в рамках которых кровь и биологические жидкости всех пациентов следует рассматривать как потенциально инфицированные и при работе с ними всегда предпринимать соответствующие меры защиты, а не полагаться на собственную проницательность в отношении принадлежности того или иного пациента к группе, имеющей фактор высокого риска инфицирования, например ВИЧ и/или вирусами парентеральных гепатитов [5–7, 12].

Удобной, доступной и экономически выгодной для широкого круга специалистов-стоматологов является тест-система Calypte® HIV-1/2, позволяющая в течение 10–15 мин прямо в кресле провести ориентировочный скрининг на наличие антител к ВИЧ у пациента.

**Выводы.** 1. В соскобе десневой борозды у ВИЧ-инфицированных с признаками гингивита доминируют анаэробные бактерии *P. gingivalis* (62,5%) и *A. actinomycetemcomitans* (18,75%). Относительная частота встречаемости других пародонтопатогенных видов у больных гингивитом существенно ниже и составляет для *P. intermedia* 12,5%, для *T. forsythia* и *T. denticola* – 6,25%. В ассоциациях пародонтопатогенных бактерий, выделенных при язвенно-некротических формах гингиви-

та и пародонтита у ВИЧ-инфицированных, доминируют ассоциации 3–4 видов пародонтопатогенов, чаще всего *P. gingivalis*, *T. forsythia* и других (*P. intermedia* и *T. denticola*).

2. На результаты экспресс-тестирования десневой жидкости с помощью ИФА на наличие анти-ВИЧ-IgG-антител не оказывает влияния сопутствующая стоматологическая (инфекционный пародонтит, КГ) и соматическая патология.

3. Полученные данные позволяют рекомендовать тест-систему МультиДент для ПЦР-диагностики и набор реагентов Calypte® HIV-1/2 для ИФА с целью выявления антител к ВИЧ в десневой жидкости при обследовании пациентов групп риска.

#### ЛИТЕРАТУРА (п. п. 9–13 см. REFERENCES)

- Елисеева М.Ю., Царев В.Н., Масихи К.Н., Осидак Л.В., Баринский И.Ф., Царева Т.В. и др. Эффективность вспомогательной иммунотерапии у пациентов с иммунодефицитом и часто болеющих детей: систематический обзор и метаанализ применения инозина пранобекса. *Русский медицинский журнал*. 2010; 18 (5): 313–20.
- Кузьмина Э.М., Янушевич О.О. *Стоматологическая заболеваемость населения России*. М.; 2009.
- Осеева А.О. *Механизмы формирования и особенности течения хронического генерализованного пародонтита у больных ВИЧ-инфекцией*. Дисс. ... канд. мед. наук. Саратов; 2014.
- Соболева Л.А., Осеева А.О., Шульдяков А.А., Булкина Н.В., Пospelov А.Н. Микробный профиль пародонтальных карманов на фоне ВИЧ-инфекции у больных пародонтитом. *Современные наукоемкие технологии*. 2012; 8: 37–8.
- Позднякова М.Е., Брюно В.В., Чекинева Т.В. К вопросу изменения наркоситуации в России. В кн.: *Конфликты в социальной сфере: Сборник материалов VIII Всероссийской научно-практической конференции*. Казань: Издательство КНИИТУ; 2014: 23–30.
- Покровский В.В., Ермак Т.Н., Беляева В.В., Юрин О.Г. *ВИЧ-инфекция: клиника, диагностика и лечение*. Покровский В.В., ред. М.: ГЭОТАР Медицина; 2000.
- Царев В.Н., Николаева Е.Н., Плахтий Л.А. Перспективы применения молекулярно-генетических методов исследований в диагностике пародонтита. *Российский стоматологический журнал*. 2002; 5: 6–9.
- Янушевич О.О., Дмитриева Л.А., Грудянов А.И. *Пародонтит XXI век*. М.; 2012.

Поступила 27.05.15

#### REFERENCES

- Eliseeva M.Yu., Tsarev V.N., Masikh K.N., Osidak L.V., Barinskiy I.F., Tsareva T.V. et al. The effectiveness of the auxiliary immunotherapy in patients with immunodeficiency and sickly children: a systematic review and meta-analysis of the use of inosine pranobex. *Russkij meditsinskiy zhurnal*. 2010; 18 (5): 313–20. (in Russian)
- Kuz'mina E.M., Yanushevich O.O. *Dental Disease of the Population of Russia. [Stomatologicheskaya zabolevaemost' naseleniya Rossii]*. Moscow; 2009. (in Russian)
- Oseeva A.O. *Mechanisms of Formation and Characteristics of Chronic Generalized Periodontitis in Patients with HIV Infection: Diss.* 2014. (in Russian)
- Soboleva L.A., Oseeva A.O., Shul'dyakov A.A., Bulkina N.V., Pospelov A.N. The microbial profile of periodontal pockets in patients with HIV infection in patients with periodontitis. *Sovremennye naukoemkie tekhnologii*. 2012; 8: 37–8. (in Russian)
- Pozdnyakova M.E., Bryuno V.V., Chekineva T.V. On the question of changes in the drug situation in Russia. In: *Conflicts in the Social Sphere. Collection of Materials VIII All-Russian Scientific-practical Conference. [Konflikty v sotsial'noy sfere: Sbornik materialov VIII Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii]*. Kazan': Izdatel'stvo KNIITU; 2014: 23–30. (in Russian)
- Pokrovskiy V.V., Ermak T.N., Belyaeva V.V., Yurin O.G. *HIV: Clinical Features, Diagnosis and Treatment. [VICH-infektsiya: klinika, diagnostika i lechenie]*. Pokrovskiy V.V., ed. Moscow: GEOTAR Meditsina; 2000. (in Russian)
- Tsarev V.N., Nikolaeva E.N., Plakhtiy L.A. Prospects for the use of molecular genetic research methods in the diagnosis of periodontal disease. *Rossiyskiy stomatologicheskij zhurnal*. 2002; 5: 6–9. (in Russian)

8. Yanushevich O.O., Dmitrieva L.A., Grudyanov A.I. *Periodontitis XXI Century. [Parodontit XXI vek]*. Moscow; 2012. (in Russian)
9. Ashimoto A., Chen C., Bakker I., Slots J. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbiol. Immunol.* 1996; 11 (4): 266–73.
10. Ezzo P.J., Culter C.W. Microorganisms as risk indicators for periodontal disease. *Periodontol.* 2000. 2003; 32: 24–35.
11. Le H., Theilade E., Jensen S.B. Experimental gingivitis in man. *J. Periodontol.* 1965; 36: 177–87.
12. Grande S.R., Imbroni A.V., Okuda O.S., Lotufo R.F., Magalhães M.H., Nunes F.D. Herpes viruses in periodontal compromised sites: comparison between HIV-positive and -negative patients. *J. Clin. Periodontol.* 2008; 35 (10): 838–45.
13. Mombelli A., Meier C. On the symmetry of periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* 2001; 28 (8): 741–5.

Received 27.05.15

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 579.871.1.083.12

Шепелин А.П.<sup>1</sup>, Полосенко О.В.<sup>1</sup>, Борисова О.Ю.<sup>2</sup>, Пименова А.С.<sup>2</sup>, Гадуа Н.Т.<sup>2</sup>

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ КОРИНЕБАКТЕРИЙ

<sup>1</sup>ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, 142279, Московская обл., пос. Оболенск; <sup>2</sup>ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, 125212, Москва

*Проведены сравнительные испытания питательных сред для выделения и накопления дифтерийных бактерий: шести серий питательной среды Коринебакагар производства ФБУН ГНЦ ПМБ и трех серий кровяного теллуритового агара. Представлены итоговые результаты по определению биологических показателей всех серий питательных сред. Коринебакагар рекомендуется к использованию в практике здравоохранения для первичного посева патологического материала при проведении культурального исследования на дифтерию.*

Ключевые слова: питательные среды; коринебактерии; специфическая активность; ингибирующие свойства.

Для цитирования: Клиническая лабораторная диагностика. 2016; 61 (1): 59–64.

Shepelin A.P.<sup>1</sup>, Polosenko O.V.<sup>1</sup>, Borisova O.Yu.<sup>2</sup>, Pimenova A.S.<sup>2</sup>, Gadua N.T.<sup>2</sup>

TMOSKOVNE COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF GROWTH MEDIUMS FOR SEPARATION OF CORYNEBACTERIA

<sup>1</sup>The state research center of applied microbiology and biotechnology of Rospotrebnadzor, 142279 village of Obolensk, the Moskovskaia oblast, Russia; <sup>2</sup>G.N. Gabrichevskii Moscow research institute of epidemiology and microbiology of Rospotrebnadzor, 125212 Moscow, Russia

*The comparative tests of growth mediums for isolation and accumulation of diphtheria bacteria were implemented. The testing consisted of six series of growth medium "Corynebacaagar" produced by the state research center of applied microbiology and biotechnology and three series of blood tellurite agar. The concluding results of identification of biological indicators of all series of growth nutrient mediums are presented. The "Corynebacaagar" is recommended for application in health care practice for primary inoculation of pathological material during implementation of cultural analysis on diphtheria.*

Key words: growth medium; Corynebacteria; specific activity; inhibiting characteristics

Citation: *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika.* 2016; 61 (1): 59–64. (in Russ.)

**Введение.** Несмотря на очевидные успехи проводимой массовой иммунизации детского населения, дифтерия по-прежнему остается актуальной инфекцией как для детского, так и для взрослого населения. До настоящего времени сохраняются основные эпидемиологические особенности поддержания эпидемического процесса этой инфекции.

Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции имеет большое значение для установления диагноза, принятия решения о проведении специфической терапии, оценки и прогнозирования эпидемиологической ситуации. Бактериологический метод является основным. Он используется в диагностических, профилактических и эпидемиологических целях. Задача бактериологического исследования – выявление возбудителя дифтерии с помощью минимального количества диагностических тестов, необходимых, достаточных и специфичных для получения достоверного ответа

в максимально сжатые сроки: не менее 3 сут – отрицательный ответ, 3–4 сут – выделение токсигенных коринебактерий дифтерии (возбудителя дифтерии), 4–5 сут – выделение нетоксигенных коринебактерий дифтерии или других представителей данного рода [1]. Применение питательных сред, обеспечивающих оптимальные условия для накопления и выделения дифтерийных бактерий при минимальном их содержании в анализе, является актуальной проблемой бактериологической диагностики дифтерии.

Для выделения коринебактерий из инфицированного материала в соответствии с методическими указаниями МУК 4.2.3065-13 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции» [2] в практике здравоохранения широко используются селективные дифференциально-диагностические кровяные теллуритовые среды лабораторного приготовления – кровяной теллуритовый агар (КТА), среда Клауберга II.

В качестве основы для этих сред используют сухой питательный агар, питательный агар на основе панкреатического гидролизата рыбной муки (ГРМ), АГВ, в которую *ex tempore* добавляют кровь либо любые гемолизированные кровяные добавки, глицериновую смесь, теллурит калия. Теллурит

Для корреспонденции: Шепелин Анатолий Прокопьевич, shepelin.rabota@rambler.ru

For correspondence: Shepelin A.P. rabota@rambler.ru