

КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 615.46.03:616.314-089]:579.22

Царёв В.Н., Степанов А.Г., Ипполитов Е.В., Подпорин М.С., Царёва Т.В.

КОНТРОЛЬ ПЕРВИЧНОЙ АДГЕЗИИ МИКРООРГАНИЗМОВ И ФОРМИРОВАНИЯ БИОПЛЁНОК НА СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛАХ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ ТРАНСДЕНТАЛЬНОЙ ИМПЛАНТАЦИИ ПРИ ЗУБОСОХРАНЯЮЩИХ ОПЕРАЦИЯХ

ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава РФ, 127473, Москва, Россия

Трансдентальная имплантация – эффективный способ восстановления утраченных биомеханических свойств резецированного или ампутированного зуба. Выбор конструкционных материалов для имплантата с точки зрения адгезии к ним представителей агрессивной микробиоты является важнейшим этапом лечения.

*Цель. Охарактеризовать адгезию микроорганизмов пародонтопатогенной и кариесогенной групп *in vitro* к экспериментальным образцам диоксида циркония и сплавам титана, используя культуральные и электронно-микроскопические методы оценки адгезии, как первого этапа формирования биоплёнки.*

Образцы для эксперимента готовили в форме таблетки стандартной формы, на которые наносили исследуемые штаммы в количестве 10^6 КОЕ/мл. После стряхивания непритянувшихся клеток с помощью ультразвука производили высевы на плотные питательные среды для определения их количества. Всего в эксперименте было использовано 14 штаммов пародонтопатогенной и кариесогенной групп (включая три референс-штамма). Для визуализированной оценки адгезии микроорганизмов применяли сканирующую электронную микроскопию.

Исследования адгезии к никелиду титана и диоксиду циркония показали значительное её снижение для всех видов микроорганизмов. Во всех вариантах (со всеми штаммами) показатели адгезии к никелиду титана и диоксиду циркония были статистически достоверно ниже, чем при использовании образцов из традиционного титанового сплава. При проведении сканирующей электронной микроскопии на образцах диоксида циркония определялись единичные клетки тестовых штаммов пародонтопатогенных микроорганизмов, в то время как на сравниваемых конструкционных материалах наблюдали значительное количество клеток и начальную фазу формирования биоплёнки.

Диоксид циркония можно рассматривать как оптимальный материал выбора для изготовления трансдентальных имплантатов, который по своим технологическим характеристикам и низким показателям адгезии микробов превосходит традиционно используемые сплавы титана.

Ключевые слова: трансдентальная имплантация; адгезия микроорганизмов; биопленка; сканирующая электронная микроскопия; диоксид циркония; никелид титана; хронический апикальный периодонтит.

Для цитирования: Царёв В.Н., Степанов А.Г., Ипполитов Е.В., Подпорин М.С., Царёва Т.В. Контроль первичной адгезии микроорганизмов и формирования биоплёнок на стоматологических материалах, используемых для трансдентальной имплантации при зубосохраняющих операциях. Клиническая лабораторная диагностика. 2018; 63 (9): 568-573

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-9-568-573>

Tsarev V.N., Stepanov A.G., Ippolitov E.V., Podporin M.S., Tsareva T.V.

CONTROL OF PRIMARY ADHESION OF MICROORGANISMS AND FORMATION OF BIOFILMS ON STOMATOLOGICAL MATERIALS USED FOR TRANSDENTAL IMPLANTATION IN DENTAL STABILIZING OPERATIONS

Moscow State University of Medicine and Dentistry n.a. A.I. Yevdokimov. Ministry Of Health Of Russia, 127473, Moscow, Russia

Transdental implantation is an effective way to restore the lost biomechanical properties of a resected or amputated tooth. The choice of structural materials for the implant is the most important stage of treatment, in relation to the adhesion of aggressive microbiota to them.

*To characterize the adhesion of microorganisms of periodontopathogenic and cariogenic groups *in vitro* to experimental samples of zirconium dioxide and titanium alloys using cultural and electronic microscopic methods of adhesion evaluation as the first stage of biofilm formation.*

Samples for the experiment were prepared in the form of a tablet of standard form, on which the test strains were applied in an amount of 10^6 CFU/ml. After shaking the unattached cells with ultrasound, they were seeded into dense nutrient medium to determine their number. In total, 14 strains of periodontopathogenic and cariogenic groups (including 3 reference strains) were used in the experiment. Scanning electron microscopy was used to visualize the adhesion of microorganisms.

The results of the adhesion test to titanium nickelide and zirconium dioxide showed a significant reduction in adhesion for all microorganism species. In all variants (with all strains) the adhesion values to titanium nickelide and zirconium dioxide were statistically significantly lower than when using samples from a traditional titanium alloy. In scanning electron microscopy, single cells of test strains of periodontopathogenic microorganisms were determined on zirconium dioxide samples, while a considerable number of cells and the initial phase of biofilm formation were observed on the compared structural materials.

Zirconium dioxide can be considered as an optimal choice material for the manufacture of transdental implants, which, in terms of its technological characteristics and low adhesion characteristics of microbes, is superior to the traditionally used titanium alloys.

Key words: *transdental implantation; adhesion of microorganisms; biofilm; scanning electron microscopy; zirconium dioxide; titanium nickelide; chronic apical periodontitis.*

For citation: Tsarev V.N., Stepanov A.G., Ippolitov E.V., Podporin M.S., Tsareva T.V. Control of primary adhesion of microorganisms and formation of biofilms on stomatological materials used for transdental implantation in dental stabilizing operations. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2018; 63 (9): 568-573 (in Russ.)
DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-9-568-573>

For correspondence: Tsarev V.N., Dr. Sci. Med., Professor, Head of the Department of Microbiology, Virology, Immunology Moscow State University of Medicine and Dentistry n.a. A.I. Yevdokimov; e-mail: nikola777@rambler.ru

Information about authors:

Tsarev V.N., <https://orcid.org/0000-0002-3311-0367>
Stepanov A.G., <http://orcid.org/0000-0002-6543-0998>
Ippolitov E.V., <http://orcid.org/0000-0003-1737-0887>
Podporin M.S., <https://orcid.org/0000-0001-6785-0016>
Tsareva T.V., <https://orcid.org/0000-0001-9571-0520>

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

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 03.04.2018
Accepted 13.06.2018

Хронический апикальный периодонтит является одним из самых распространённых осложнений кариеса зубов (от 32 до 50% в сроки наблюдения в пределах двух–трёх лет после лечения), что связано с персистенцией очага инфекции в периодонте [1–3]. При этом в периодонтальном очаге обнаруживаются различные патогенные микроорганизмы. Установлено, что в корневых каналах зубов, поражённых хроническим периодонтитом, в 50–80% случаев выделены высоковирулентные штаммы микроорганизмов: стрептококки с гемолитической активностью, актиномицеты, грибы кандиды, пародонтопатогенные виды бактероидов, фузобактерии и трепонемы [4, 5]. Расположение очага инфекции внутри корневого канала создаёт благоприятные условия для размножения и поддержания воспаления. Постоянная активация макрофагов, лимфоцитов и нейтрофилов вызывает резорбцию костной ткани и формирование очага грануляции [6]. При длительном существовании патогенной грануляционной ткани нарушаются механические свойства зуба, что приводит к его потере [7].

В последние годы исследователи уделяют большое внимание изучению механизмов формирования микробных биоплёнок, формирующихся при проникновении микроорганизмов в полость зуба и дентинные каналы и соответственно к выяснению эффективности их эрадикации при различных видах эндодонтического лечения [8, 4, 9]. В частности, с помощью сканирующей электронной микроскопии впервые получены данные об obturации дентинных каналов образующимися биоплёнками и о возможности контроля их удаления при разных методиках лечения [4], разработка которых интенсивно продолжается [3, 5, 6, 9, 10].

Восстановление утраченных биомеханических свойств резецированного или ампутированного зуба решается путём их армирования стандартными эндодонто-эндооссальными или трансдентальными имплантатами, проходящими через зуб. В настоящее время предложены индивидуальные трансдентальные имплантаты, изготовленные из новых материалов на основе титана и диоксида циркония методом компьютерного фрезерования с корректируемыми параметрами физической формы [11, 12].

Появление новых конструкционных материалов поставило новые вопросы перед стоматологами, важнейшим из которых является обоснованный выбор конструк-

ционного материала для изготовления трансдентальных имплантатов с точки зрения адгезии к ним представителей агрессивной микробиоты и формирования биоплёнки [6, 10, 13]. Современные подходы к решению этого вопроса отражены в данном исследовании.

Цель исследования: охарактеризовать адгезию микроорганизмов пародонтопатогенной и кариесогенной групп *in vitro* к экспериментальным образцам диоксида циркония и сплавам титана, используя культуральные и электронно-микроскопические методы оценки адгезии, как первого этапа формирования биоплёнки.

Материал и методы. Для сравнительных исследований были выбраны следующие материалы, используемые для изготовления эндодонто-эндооссальных и индивидуальных фрезерованных трансдентальных имплантатов:

– диоксид циркония “Prettau” 95Н10 с химическим составом: ZrO_2 –95,0%, Y_2O_3 –4,0%, Al_2O_3 < 1%, SiO_2 –0,02%, Fe_2O_3 –0,01%, Na_2O –0,04% (фирмы “ZirkonZahn”, Италия);

– титановый сплав 5 95Н10 с химическим составом Ti–90%, Al–6%, V–3%, Fe < 1%, O < 1% (фирмы “ZirkonZahn”, Италия) – данный материал использовался в эксперименте в качестве контрольного;

– наноструктурированный никелид титана в комбинации с гранулятом пористого никелида титана (частицы размером 40–100 мкм) в аморфном наноструктурированном геле гидроксиапатита (частицы в гидратной оболочке 30–50 нм) (производство «Томского НИИ Медицинских материалов и имплантатов с памятью формы»).

Образцы для экспериментального исследования готовили в форме таблетки стандартной округлой формы (диаметром 5 мм, толщиной 1мм) с полированными поверхностями и краями в условиях зуботехнической лаборатории [7].

В качестве штаммов для изучения процессов адгезии к образцам материалов использовали клинические изоляты микробов пародонтопатогенной и кариесогенной групп, выделенных из полости рта стоматологических пациентов: *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus intermedius*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum/periodonticum*, *Candida albicans* ATCC 90028™, *Candida krusei* (пародонтопатогенная группа), *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mutans*, Ac-

Результаты сравнительной оценки первичной адгезии микроорганизмов пародонтопатогенной группы к исследуемым образцам в эксперименте *in vitro*

Материал	<i>E. faecium</i>	<i>S. intermedius</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. krusei</i>	<i>P. intermedia</i>	<i>F. periodonticum</i>	<i>P. gingivalis</i>
Титановый сплав (контроль)	0,80±0,05**	0,65±0,04	0,72±0,04	0,82±0,06	0,63±0,05	0,65±0,05	0,85±0,05
Никелид титана	0,54±0,05*	0,52±0,04*	0,62±0,03*	0,71±0,03*	0,47±0,06*	0,44±0,05*	0,56±0,06*
Диоксид циркония	0,46±0,05**	0,40±0,05**	0,63±0,05*	0,68±0,05*	0,32±0,05**	0,31±0,04**	0,53±0,05*

Примечание. * – показатель адгезии достоверно ниже по сравнению с контрольным сплавом ($p \leq 0,05$), ** – показатель адгезии достоверно ниже по сравнению с титановым сплавом ($p \leq 0,05$).

tinomyces israelii, *Actinomyces odontolyticus*, *Lactobacillus casei* DN-11400, *Bifidobacterium longum* ATCC 15707 (ацидогенная или кариесогенная группа). Всего в эксперименте было использовано 11 штаммов – клинических изолятов и 3 референс-штамма.

Тест-штаммы наносили на поверхность образцов в виде взвеси с концентрацией микробных клеток по оптической плотности 6,0 McF/ml и проводили инкубацию во влажной камере, соблюдая условия анаэробнозиса, согласно общепринятой методике [14] с некоторыми модификациями. В частности, для удаления микроорганизмов, не вступивших в процесс адгезии, осуществляли следующие процедуры:

1. Образцы трижды отмывали в 10 мл стерильного изотонического раствора хлорида натрия для удаления всех не прилипших (не вступивших в специфическую адгезию) бактериальных (или дрожжевых) клеток.

2. Затем каждый образец помещали в специальные ёмкости, содержащие 1,0 мл стерильного изотонического раствора хлорида натрия, и подвергали обработке в ультразвуковой ванне «UltraEst-M» («Геософт», РФ) с частотой 60 кГц в течение 10 мин. Это обеспечивало перевод во взвешенное состояние бактериальных (или дрожжевых) клеток, вступивших в процесс первичной адгезии с поверхностью исследуемого образца.

3. Далее из полученной взвеси делали посев на кровяной агар с гемином на основе Columbia Blood Agar Base (HiMedia Labs, Индия) для анаэробных бактерий и стрептококков или на селективную среду HiCrome Candida Agar (HiMedia Labs, Индия) для грибов кандиды путём отпечатков и распределяли микробные клетки по поверхности питательной среды стерильной платиновой петлёй для получения изолированных колоний.

4. Посевы помещали в анаэроустат и инкубировали при 37°C в анаэробных условиях (для анаэробных бактерий) или в обычных условиях при температуре 22–24°C (для дрожжевых грибов рода *Candida*).

Результаты получения изолированных колоний оценивали с помощью исследовательского стереомикроскопа (Nikon, Япония) и определяли их количество в КОЕ/мл. Затем вычисляли десятичный логарифм этой величины и рассчитывали индекс адгезии для каждого из исследуемых штаммов тестируемых микробов (определяли частное от деления величин десятичных логарифмов до и после постановки эксперимента).

Для визуализированной оценки адгезии микроорганизмов применяли сканирующую электронную микроскопию (СЭМ) с использованием двулучевого микроскопа «Quanta 200 3D» (FEI Company, США) в режиме высокого вакуума, при ускоряющих напряжениях 5 кВт, с предварительным напылением золотом (999) в установке «SPI-Module Sputter/Carbon Coater System»

(SPI Inc. USA) на базе лаборатории анатомии микробов ЦНИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАН.

Статистическую обработку результатов проводили по Манну–Уитни с использованием компьютерной программы Biostat 9,0 (достоверность при $p \leq 0,05$).

Результаты и обсуждение. Результаты сравнительной оценки первичной адгезии микроорганизмов пародонтопатогенной группы к образцам стоматологических материалов из металлов (диоксида циркония и сплавов титана), используемых для изготовления имплантатов, представлены в табл. 1

Из представленных результатов видно, что традиционный титан, используемый для изготовления трансдентальных имплантатов, отличается довольно высоким уровнем адгезии бактерий пародонтопатогенной группы и дрожжевых грибов – от 0,63–0,65 у *Prevotella intermedia*, *Streptococcus intermedius*, *Fusobacterium periodonticum* до 0,80–0,85 у *Enterococcus faecium*, *Porphyromonas gingivalis*, *Candida krusei*.

Результаты исследования адгезии к никелиду титана и диоксиду циркония свидетельствовали о значительном снижении адгезии для всех видов микроорганизмов. Разброс данных у никелида титана составлял от 0,44 у *Fusobacterium periodonticum* до 0,56 у *Porphyromonas gingivalis*. Максимальная адгезия была у грибов кандиды 0,62–0,71. Разброс данных для диоксида циркония был несколько ниже и составлял от 0,31–0,32 у *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium periodonticum* до 0,40–0,46 у *Streptococcus intermedius*, *Enterococcus faecium*. Максимальная адгезия была отмечена у грибов *Candida*, и показатели достоверно не отличались от таковых у образцов никелида титана – 0,63–0,68.

Во всех вариантах (со всеми штаммами) показатели адгезии к никелиду титана и диоксиду циркония были статистически достоверно ниже, чем при использовании образцов из титанового сплава. Однако следует подчеркнуть, что большая часть микробов пародонтопатогенной группы (кроме грибов кандиды и *Porphyromonas gingivalis*) продемонстрировала более низкие и статистически достоверные показатели адгезии к диоксиду циркония по сравнению с таковыми к никелиду титана.

При проведении сканирующей электронной микроскопии установлено, что соотношение площади, занимаемой исследуемыми штаммами, составляло 1:4:10 (диоксид циркония: никелид титана: титановый сплав). Достоверных различий между грамположительными и грамотрицательными бактериями не выявлено. На образцах диоксида циркония определялись единичные клетки тестовых штаммов пародонтопатогенных микроорганизмов *P. gingivalis*, в то время как на сравниваемых конструкционных материалах наблюдали начальную фазу формирования биоплёнки (рис. 1).

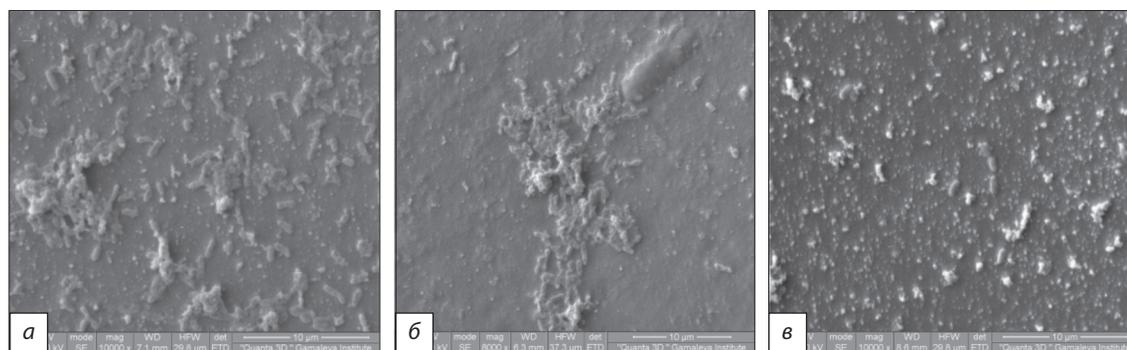


Рис. 1. Адгезия бактерий *P. gingivalis* к образцам материалов, используемых для изготовления трансдентальных имплантатов. СЭМ. Ув. 8000–10 000).

a – многочисленные делящиеся бактериальные клетки, формирующие групповые скопления – начальная фаза формирования биоплёнки на поверхности титанового сплава; *б* - массивное групповое скопление бактериальных клеток – начальная фаза формирования биоплёнки на поверхности никелида титана; *в* - единичные бактериальные клетки на образцах из диоксида циркония – признаков формирования биоплёнки не выявлено.

Таблица 2

Результаты сравнительной оценки первичной адгезии микроорганизмов пародонтопатогенной группы к исследуемым образцам в эксперименте *in vitro*

Материал	<i>S. sanguis</i>	<i>S. mutans</i>	<i>A. israelii</i>	<i>A. odontolyticus</i>	<i>L. casei</i>	<i>B. longum</i>
Титановый сплав (контроль)	0,74±0,04	0,82±0,03	0,80±0,06	0,76±0,05	0,42±0,04	0,46±0,05*
Никелид титана	0,51±0,04*	0,54±0,04*	0,57±0,04*	0,45±0,03*	0,25±0,04*	0,25±0,03*
Диоксид циркония	0,50±0,05*	0,33±0,05**	0,55±0,04*	0,44±0,04*	0,22±0,04*	0,24±0,04*

Примечание. * – показатель адгезии достоверно ниже по сравнению с контрольным сплавом ($p < 0,05$), ** – показатель адгезии достоверно ниже по сравнению с титановым сплавом ($p < 0,05$).

Аналогичные результаты получены при проведении СЭМ с тестовыми штаммами дрожжевых грибов *C. albicans* (рис. 2).

Следовательно, на основании представленных сравнительных данных изучения адгезии к образцам материалов в эксперименте *in vitro* и методом СЭМ можно сделать заключение, что диоксид циркония оказывает более выраженное антиадгезивное действие как на грамотрицательные, так и на грамположительные пародонтопатогенные бактерии, чем сплав никелида титана и

титановый сплав. Исключение составляют *Porphyromonas gingivalis* и дрожжевые грибы *C. albicans*, которые не имели различий при исследовании образцов диоксида циркония и никелида титана. Однако диоксид циркония, так же как и сплав никелида титана, достоверно снижал показатели адгезии *Porphyromonas gingivalis* и дрожжевых грибов рода кандиды в отличие от титанового сплава.

Результаты сравнительной оценки первичной адгезии микроорганизмов кариесогенной группы к образцам

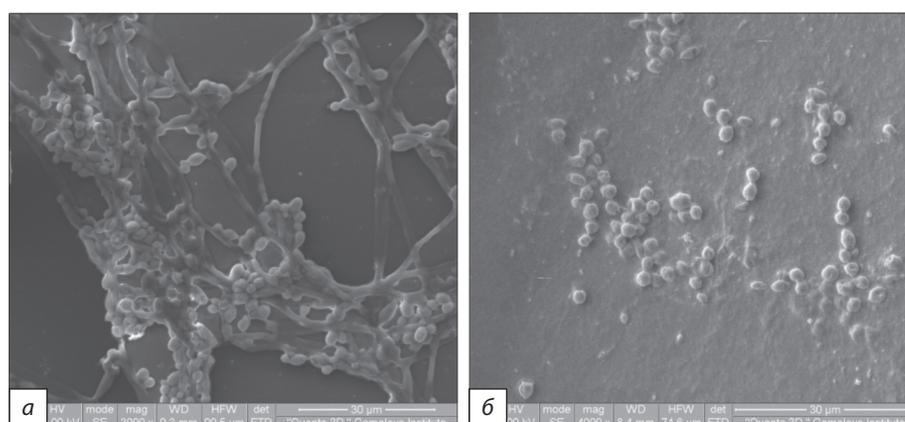


Рис. 2. Адгезия дрожжевых грибов *C. albicans* к образцам материалов, используемых для изготовления трансдентальных имплантатов. СЭМ. Ув. 3000-4000.

a - многочисленные делящиеся дрожжевые клетки, формирующие нитевидные элементы и мантию биоплёнки – выраженная фаза формирования биоплёнки на поверхности титанового сплава; *б* - единично расположенные дрожжевые клетки на поверхности диоксида циркония – признаков формирования биоплёнки не выявлено.

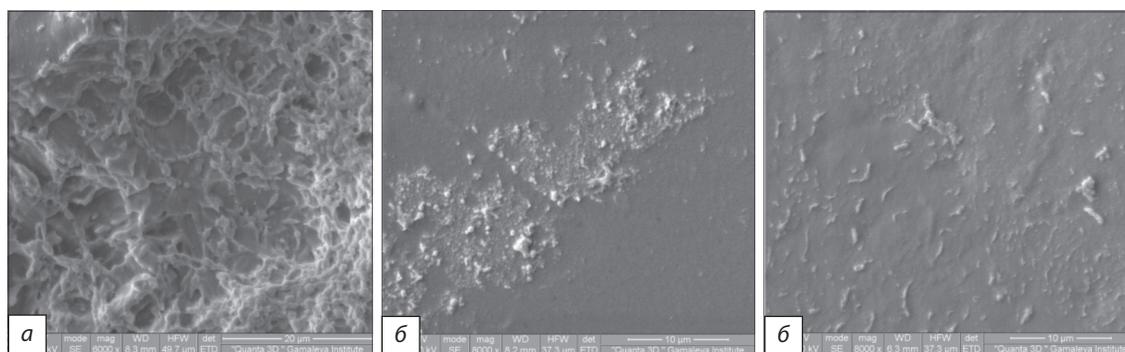


Рис. 3. Адгезия бактерий *S. mutans* к образцам материалов, используемых для изготовления трансдентальных имплантатов. СЭМ. Ув. 8000–10 000).

a - многочисленные делящиеся бактериальные клетки, формирующие групповые скопления с элементами мантии, - начальная фаза формирования биоплёнки на поверхности титанового сплава; *б* - массивное групповое скопление бактериальных клеток – начальная фаза формирования биоплёнки на поверхности никелида титана; *в* - единичные бактериальные клетки на образцах из диоксида циркония – признаков формирования биоплёнки не выявлено.

стоматологических материалов из металлов (диоксида циркония и титанового сплава), используемых для изготовления имплантатов, представлены в табл. 2.

Как видно из представленных результатов, разброс данных для титанового сплава был весьма значительным: от относительно низких показателей адгезии – 0,42–0,46 у представителей молочнокислых бактерий *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium longum* – до крайне высоких – 0,74–0,82 у актиномицетов и кислотопродуцирующих стрептококков.

При исследовании образцов никелида титана и диоксида циркония мы наблюдали значительное снижение показателей адгезии при сохранении данной тенденции. Так, адгезия молочнокислых бактерий составляла 0,25 у никелида титана и 0,22–0,24 у диоксида циркония. Показатели адгезии других кариесогенных видов колебались в пределах 0,45–0,57 для образцов никелида титана и 0,33–0,55 для образцов диоксида циркония. Максимальная адгезия к образцам диоксида циркония была отмечена у актиномицетов и *Streptococcus sanguinis*, при этом показатели адгезии достоверно не отличались от таковых у образцов никелида титана, но были статистически достоверно ниже, чем у традиционного титана. Кроме того, следует подчеркнуть, что наиболее чувствительным к диоксиду циркония оказался *Streptococcus mutans*, показатель адгезии которого составил 0,33 против 0,54 у никелида титана.

При проведении СЭМ установлено, что соотношение площади, занимаемой исследуемыми штаммами стрептококков и актиномицетов, составляло 1:5:15 (диоксид циркония: никелид титана: титановый сплав). Несколько ниже был уровень адгезии лактобацилл и бифидобактерий – 1:3:10 (диоксид циркония: никелид титана: титановый сплав). На образцах диоксида циркония определялись единичные клетки тестовых штаммов кариесогенных микроорганизмов, на образцах никелида титана – отдельные группы клеток тестовых штаммов, а на титановом сплаве наблюдали начальную фазу формирования биоплёнки (рис. 3).

Следовательно, во всех вариантах со всеми штаммами кариесогенной группы микробов показатели адгезии к никелиду титана и диоксиду циркония были статистически достоверно ниже, чем при использовании образ-

цов из титанового сплава, что подтверждено данными СЭМ.

Как показали наши исследования по изучению микробной адгезии *in vitro* с электронно-микроскопическим контролем результатов эксперимента, адгезивные свойства представителей пародонтопатогенной и кариесогенной микробиоты полости рта диоксида циркония оказались статистически достоверно ниже, чем у образцов из сплавов титана, что позволяет рассматривать конструкционные материалы на основе диоксида циркония как оптимальные материалы для изготовления индивидуальных трансдентальных имплантатов.

Заключение. Таким образом, полученные результаты сравнительного изучения адгезии микробов *in vitro* позволяют сделать заключение, что антиадгезивные свойства в отношении представителей пародонтопатогенной и кариесогенной микробиоты полости рта у образцов из диоксида циркония обуславливают минимальную адгезию всех изученных представителей пародонтопатогенной и кариесогенной групп, включая грибы рода *Candida*, а диоксид циркония можно рассматривать как конкурентоспособный материал для изготовления трансдентальных имплантатов. По своим технологическим характеристикам и низким показателям адгезии микроорганизмов, диоксид циркония превосходит традиционные используемые сплавы титана и является оптимальным конструкционным материалом для изготовления трансдентальных имплантатов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнов С.Д., Диханова В.Г., Брусов И.А. Алгоритмы эндодонтического лечения как фактор адекватного выбора и соблюдения медицинских технологий. *Эндодонтия Today*. 2011;1:67-70.
2. Вейсгейм Л.Д., Дубачева С.М., Гаврикова Л.М. Эффективность комплексного лечения хронического деструктивного апикального периодонтита. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2015;1:150.
3. Миронова В.В., Физюкова Г.Г., Соломатина Н.Н. Современные методы диагностики и лечения хронического верхушечного периодонтита. *Ульяновский медико-биологический журнал*. 2011;3:96-101.

4. Царев В.Н., Подпорин М.С., Ипполитов Е.В. Применение сканирующей электронной микроскопии и биореактора для оценки эрадикации микробной биопленки корневых каналов при эндодонтическом лечении. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017;8(62):506-511.
5. José F. Siqueira Jr, Henrique S. Antunes, Isabela N. Rôças, Caio T. C. C. Rachid, Flávio R. F. Alves. Microbiome in the Apical Root Canal System of Teeth with Post-Treatment Apical Periodontitis. *PLoS One*. 2016;11(9):e0162887.
6. Царёв В.Н., Дмитриева Л.А., Ипполитов Е.В., Нисанова С.Е. Последовательное применение антибактериальных и детоксицирующих препаратов при эндодонтическом лечении хронического апикального периодонтита (клинико-экспериментальное исследование). *Эндодонтия Today*. 2013;1:8-14.
7. Арутюнов С.Д., Ибрагимов Т.И., Царев В.Н., Лебеденко И.Ю., Савкина Н.И., Трефилов А.Г., Арутюнов Д.С., Климашин Ю.И. Микробиологическое обоснование выбора базисной пластмассы съёмных зубных протезов. *Стоматология*. 2002;3(81):4-8.
8. Диденко Л.В., Автандилов Г.А., Ипполитов Е.В., Царева Е.В., Смирнова Т.А., Шевлягина Н.В., Царев В.Н. Формирование биопленок на стоматологических полимерных материалах как основа персистенции микроорганизмов при патологии зубов и пародонта. *Эндодонтия Today*. 2015;4:13-17.
9. Su L., Gao Y., Yu C., Wang H., Yu Q. Surgical endodontic treatment of refractory periapical periodontitis with extraradicular biofilm. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010; 110(1): e40-4.
10. Оганыян А.И., Цаликова Н.А. Применение штифтовых конструкций из диоксида циркония для восстановления культи зуба. *Dental Forum*. 2013; 5(51): 45.
11. Арутюнов С.Д., Степанов А.Г., Зязиков М.Д., Деев М.С. Применение индивидуальных трансдентальных имплантатов, фрезерованных методом CAD/CAM технологий. *Dental Forum*. 2015; 1(56): 54-9.
12. Степанов А.Г., Зязиков М.Д. Экспериментальное определение физико-механических параметров, повышающих внутрикорневую фиксацию индивидуальных трансдентальных имплантатов, изготовленных CAD/CAM фрезерованием. *Стоматология*. 2015; 2(94): 100-1.
13. Тригolos Н.Н. Клинические аспекты патогенеза хронического верхушечного периодонтита. *Волгоградский научно-медицинский журнал*. 2014; 2(42):18-23.
14. Давыдова М.М., Плахтий Л.Я. Методы микробиологического исследования, применяемые в стоматологии. В кн.: Царев В.Н. ред. *Микробиология, вирусология и иммунология полости рта*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2009:260-5.
2. Veysgeym L.D., Dubacheva S.M., Gavrikova L.M. Efficiency of complex treatment of chronic destructive apical periodontitis. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik*. 2015; 1: 150. (in Russian)
3. Mironova V.V., Fizyukova G.G., Solomatina N.N. Modern methods of diagnosis and treatment of chronic apical periodontitis. *Ul'yanovskiy mediko-biologicheskij zhurnal*. 2011; 3: 96-101. (in Russian)
4. Tsarev V.N., Podporin M.S., Ippolitov E.V. The application of scanning electronic microscopy and bio-reactor for evaluating eradication of microbial biofilm of root channels under endodontic treatment. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2017;8(62):506-11. (in Russian)
5. José F. Siqueira Jr, Henrique S. Antunes, Isabela N. Rôças, Caio T. C. C. Rachid, Flávio R. F. Alves. Microbiome in the Apical Root Canal System of Teeth with Post-Treatment Apical Periodontitis. *PLoS One*. 2016; 11(9): e0162887.
6. Tsarev V.N., Dmitrieva L.A., Ippolitov E.V., Nisanova S.E. The consistent application of antimicrobial and detoxifying agents with chronic apical periodontitis endodontic treatment (clinical and experimental study). *Endodontiya Today*. 2013; 1: 8-14. (in Russian)
7. Arutyunov S.D., Ibragimov T.I., Tsarev V.N., Lebedenko I.Yu., Savkina N.I., Trefilov A.G., Arutyunov D.S., Klimashin Yu.I. Microbiological substantiation of the choice of basic plastics of removable dentures. *Stomatologiya*. 2002; 3 (81): 4-8. (in Russian)
8. Didenko L.V., Avtandilov G.A., Ippolitov E.V., Tsareva E.V., Smirnova T.A., Shevlyagina N.V., Tsarev V.N. The formation of biofilms on dental polymeric materials as the basis for the persistence of microorganisms in the pathology of teeth and periodontium. *Endodontiya Today*. 2015; 4: 13-7. (in Russian)
9. Su L., Gao Y., Yu C., Wang H., Yu Q. Surgical endodontic treatment of refractory periapical periodontitis with extraradicular biofilm. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol Endod*. 2010; 110(1): e40-4.
10. Oganyan A.I., Tsalikova N.A. The use of zirconia dioxide pins to restore the stump of the tooth. *Dental Forum*. 2013; 5 (51): 45. (in Russian)
11. Arutyunov S.D., Stepanov A.G., Zyazikov M.D., Deev M.S. The use of individual transcendental implants, milled by CAD / CAM technology. *Dental Forum*. 2015; 1 (56): 54-9. (in Russian)
12. Stepanov A.G., Zyazikov M.D. Experimental determination of physico-mechanical parameters increasing intra-root fixation of individual transcendental implants made by CAD / CAM milling. *Stomatologiya*. 2015; 2 (94): 100-1. (in Russian)
13. Trigolos N.N. Clinical aspects of the pathogenesis of chronic apical periodontitis. *Volgogradskij nauchno-medicinskij zhurnal*. 2014; 2 (42): 18-23. (in Russian)
14. Davydova M.M., Plakhtiy L.Ya. Methods of microbiological research used in dentistry. In the book: Tsarev V.N., ed. *Mikrobiologiya, virusologiya i immunologiya polosti рта*. Moscow: GEOTAR-Media; 2009: 260-5. (in Russian)

REFERENCES

1. Arutyunov S.D., Dikhanova V.G., Brusov I.A. Algorithms of endodontic treatment as a factor of adequate choice and adherence to medical technologies. *Endodontiya Today*. 2011; 1: 67-70. (in Russian)

Поступила 03.04.18
Принята к печати 13.06.18