

Усманова И.Н.<sup>1</sup>, Герасимова Л.П.<sup>1</sup>, Туйгунов М.М.<sup>1</sup>,  
Хуснарязанова Р.Ф.<sup>1</sup>, Усманов И.Р.<sup>1</sup>, Азнабаев Р.М.<sup>2</sup>, Журба Е.А.<sup>2</sup>

## Роль взаимосвязи оральной микробиоты и факторов местного иммунитета в развитии воспалительных заболеваний пародонта

1 — ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» МЗ РФ, г. Уфа; 2 — ГБУЗ РБ Мелеузовская центральная районная больница, г. Мелеуз

Usmanova I.N., Gerasimova L. P., Tuigunov M. M., Khusnarizanova R. F., Usmanov I. R.,  
Aznabaev R.M., Zhurba E.A.

### The interrelation between oral microbiota and factors of local immunity in the development of inflammatory periodontal diseases

#### Резюме

В статье изложено современное представление о состоянии микробиоты полости рта, его видовом разнообразии, свойствах микробных ассоциаций и их влиянии на клиническое состояние тканей пародонта. Проанализирована эффективность применения комплексных микробиологических исследований мазков с полости рта и иммунологических методов исследований проб ротовой жидкости в диагностике риска развития и утяжеления воспалительных заболеваний пародонта в зависимости от выявленного нарушения микробиоты полости рта. У 17 (35,42±0,05%) пациентов с КИП в пробах ротовой жидкости обнаружены дрожжеподобные грибы рода *Candida* spp (*C. albicans*) в среднем 103-104 КОЕ/мл в состоянии хронического кандидоносительства ( $p \leq 0,05$ ), при хроническом гингивите (ХГ) в среднем у 376 (61,44±0,05%) обследованных лиц, в том числе псевдомицелиальные формы обнаружены у 124 пациентов (32,98±0,03%), дрожжевая форма у 252 (67,02±0,05%), что свидетельствовало о дисбиотическом сдвиге в сторону кандидоза, в среднем до 104 – 105 КОЕ/мл ( $p \leq 0,05$ ).

**Ключевые слова:** клинически интактный пародонт, хронический гингивит, микробиота полости рта, гуморальный иммунитет, лица молодого возраста

#### Summary

The article presents the current understanding of the state of microbiota of the oral cavity, its species diversity, the properties of microbial associations and their impact on the clinical state of periodontal tissues. The effectiveness of complex microbiological studies of smears from the oral cavity and immunological methods of studies of oral fluid samples in the diagnosis of the risk of development and weighting of inflammatory periodontal diseases depending on the revealed violation of the oral microbiota is analyzed. In 17 (35.42±0.05%) patients with TRC, yeast-like fungi of the genus *Candida* spp (*C. albicans*) were found in oral fluid samples in an average of 103 – 104 CFU/ml in a state of chronic candidiasis ( $p \leq 0.05$ ), in chronic gingivitis (CG) on average in 376 (61.44±0.05%) of the examined persons, including pseudomycelial forms were found in 124 patients (32.98±0.03%), yeast form in 252 (67.02±0.05%), indicating a dysbiotic shift towards candidiasis, an average of 104-105 CFU/ml ( $p \leq 0.05$ ).

**Key words:** clinically intact periodontitis, chronic gingivitis, the microbiota of the oral cavity, humoral immunity, young age

#### Введение

Ранняя диагностика воспалительных заболеваний пародонта (ВЗП) является сложной и актуальной проблемой стоматологии, что связано с их высокой распространенностью вне зависимости от возраста, пола, региона проживания. В настоящее время определена высокая нуждаемость в лечении воспалительных заболеваний пародонта как взрослых лиц, так и лиц молодого возраста, а в некоторых случаях и подростков [4].

Ведущая роль в этиологии и патогенезе воспалительных заболеваний пародонта принадлежит нарушению состояния микробиоты полости рта - грам-положительным коккам, бациллам, спирохетам, грам-отрицательным анаэробам [1,5,10,11,12]. Полость рта человека является уникальной экологической системой, в которой микроорганизмы формируют постоянную микробиоту, играющую важную роль в поддержании нормального гоме-

Таблица 1. Характер микрофлоры полости рта в зависимости от клинического состояния тканей пародонта

Микрофлора	Клинически интактный пародонт (n=48)		Хронический гингивит (n=612)	
	Частота выделения	Титр	Частота выделения	Титр
Лактобациллы	94%	$10^3 - 10^4$	89%	$10^3 - 10^6$ *
Стрептококки spp.	25%	$10^3 - 10^7$	92,2%	$10^9$ *
Стафилококки spp.	30%	$10^3 - 10^4$	85,9%	$10^9$ *
<i>Staph. aureus</i>	2%	$10^3$	52%	$10^{5*}$
Фузобактерии	30–40%	$10^3 - 10^5$	9,75%	$10^3 - 10^{7*}$
<i>Candida</i> spp. ( <i>C. albicans</i> )	35,4%	$10^3 - 10^4$	61,43%	$10^4 - 10^{5*}$
Нейссерии spp.	83%	$10^3 - 10^7$	54,7%	$10^3 - 10^{12}$
Лептотрихии (семейство бактероидов)	94%	$10^3 - 10^4$	51,5%	$10^{12*}$
Бифидобактерии	85%	$10^2 - 10^3$	87%	$10^4 - 10^7$ *

Статистически достоверные различия при уровне значимости  $p \leq 0,05$

остаза полости рта, становлении и развитии иммунной системы, обеспечивает резистентность к колонизации аллохтонными или патогенными микроорганизмами [2,3,4,5,10,11,12]. Нарушение данных процессов поддерживает и утяжеляет хронический воспалительный процесс в тканях пародонта и способствует ее усиленной микробной инвазии, при этом клинико-лабораторные и анамнестические признаки позволяют предполагать вероятность развития хронического воспаления в тканях пародонта с участием представителей условно-патогенных микроорганизмов в высоких титрах. Преобладание дрожжеподобных грибов *Candida* spp способствует развитию кандиданосительства и кандидоза, что и определяет в дальнейшем тактику ведения таких пациентов, проведения у них ранней диагностики, лечения и профилактики воспалительных заболеваний пародонта [6,7,8,9].

**Цель:** оценка взаимосвязи состава микрофлоры и местного иммунитета полости рта в риске развития воспалительных заболеваний пародонта у лиц молодого возраста.

## Материалы и методы

Проведено комплексное стоматологическое обследование 660 лиц молодого возраста (от 15 до 23 лет) проживающих в Башкортостане - регионе с неблагоприятными факторами окружающей среды. Обследование проводилось по методике, предусматривающей опрос, сбор анамнеза жизни и заболевания, внешний осмотр и осмотр полости рта.

Для диагностики состояния тканей пародонта использовали ряд индексов: гигиенический индекс по Грин-Вермильону (Greene J.C., 1964), наличие, распространенность и глубину воспалительного процесса в десне оценивали по индексу РМА (Parma C., 1960). На основании комплексного стоматологического обследования сформированы группы с клинически интактным пародонтом (48 пациентов), хроническим гингивитом и пародонтитом (612 пациентов).

Для оценки изменений местных факторов гуморального иммунитета у лиц молодого возраста исследовалась нестимулированная ротовая жидкость. Забор нестимулированной ротовой жидкости проводили утром натощак

без предварительного полоскания полости рта физиологическим раствором (для сохранения гомеостаза полости рта), одну её часть центрифугировали при 1500 об/минут в течение 20 мин.

Для количественного определения *Slg A*, *IgM*, *IgG* в ротовой жидкости использовали твердофазный метод иммуноанализа и коммерческие наборы «*SlgA* – ИФА – БЕСТ – стрип», «*IgM* – ИФА – БЕСТ – стрип», «*IgG* – ИФА – БЕСТ – стрип» (ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск).

Активность лизоцима смешанной слюны изучали спектрофотометрическим методом О. В. Бухарина (1975) с живой культурой *Micrococcus lysodeycticus*. Хемиллюминесценция ротовой жидкости измеряли на приборе ЖЛ-003 [7].

Вторую часть ротовой жидкости использовали для посева на универсальные, селективные и дифференциально-диагностические (жидкие и твердые) отечественные и импортные питательные среды: желточно-солевой агар, среда Эндо, 5% кровяной и шоколадный агары, стрептококковый бульон, среда Сабуро, триптозо-соевый агар, среда Китта-Тарощи, МРС, *Dentocult® SM Slrin Mutans* (Финляндия), *Dentocult® LB* (Финляндия). Количество бактерий определяли путем подсчета колониеобразующих единиц на 1мл смешанной ротовой жидкости (lg КОЕ/мл).

Статистическую обработку полученных данных проводили на персональном компьютере типа IBM PC/AT с использованием пакета прикладных программ *Statistica 7,0* и электронных таблиц *Excel 2007*. Для сравнения данных использовали *t* критерий Стюдента. Уровень достоверной значимости  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

В результате проведенных комплексных микробиологических исследований мазков со слизистой оболочки и проб ротовой жидкости были выявлены представители резидентной микрофлоры полости рта: условно-патогенные микроорганизмы, дрожжеподобные грибы рода *Candida* (*C.albicans*), лактобактерии, а также представители патогенной микрофлоры. Общее содержание всех указанных микроорганизмов составило в среднем от 103 – 1012 КОЕ/мл.



**Рисунок 1. Процентное соотношение Candida spp (C. albicans) при микроскопии мазков различных отделов полости рта в зависимости от клинического состояния тканей пародонта**

**Рисунок 2. Процентное соотношение Candida spp (C. albicans) в зависимости от клинического состояния тканей пародонта**

В группе лиц с клинически интактным пародонтом (КИП) выявлены следующие представители микробиоты полости рта: р. Staphylococcus в количестве 103 - 104 КОЕ/мл у 30% пациентов, в том числе и S. aureus в 103 КОЕ/мл у 2% обследованных, р. Streptococcus в количестве 105 КОЕ/мл у 25% лиц, в том числе Str.pneumoniae у 25% обследованных, р. Neisseria до 105 - 107 КОЕ/мл у 83%, Leptotrichia buccalis в 103 - 104 КОЕ/мл в 94% и лактобациллы в 103 - 104 КОЕ/мл в 59% случаев, в 35,4% случаев содержание дрожжеподобных грибов Candida spp (C. albicans) составило 10<sup>3</sup> КОЕ/мл.

При ХГ происходит более значительное увеличение количества представителей рода стафилококков, что составило 109 КОЕ/мл у 85,9% обследованных, в том числе и S. aureus до 105 КОЕ/мл у 52% лиц (p < 0,001), представителей рода стрептококков - до 109 КОЕ/мл в 92,2% случаев, сапрофитных нейссерий и Leptotrichia buccalis до 10<sup>12</sup> КОЕ/мл, соответственно у 54,7% и 51,5% случаев, лактобацилл до 10<sup>5</sup> - 10<sup>6</sup> КОЕ/мл в 89% случаев, Bortelia и Fusobacterium в 105 КОЕ/мл у 9,75% случаев, простейших в ≤10<sup>3</sup> КОЕ/мл у 3,25% случаев (таблица 1).

У 17 (35,42±0,05%) пациентов с КИП в пробах ротовой жидкости обнаружены дрожжеподобные грибы рода Candida spp (C. albicans) в среднем 103 - 104 КОЕ/мл в состоянии хронического кандидоносительства (p ≤ 0,05).

При хроническом гингивите (ХГ) выявлена более интенсивная распространенность дрожжеподобных грибов рода Candida spp (C. albicans) в пробах ротовой жидкости в среднем у 376 (61,44±0,05%) обследованных лиц, в том числе псевдомицелиальные формы обнаружены у 124 пациентов (32,98±0,03%), дрожжевая форма у 252 (67,02±0,05%), что свидетельствовало о дисбиотическом сдвиге в сторону кандидоза, при этом происходит значительное возрастание доли дрожжеподобных грибов Candida spp (C. albicans) до 104 - 105 КОЕ/мл (p ≤ 0,05).

Данные проведенных исследований показали, что у лиц молодого возраста с КИП и ХГ наблюдается выраженное нарушение микробиоты полости рта с преобладанием представителей условно-патогенной микрофлоры - дрожжеподобных грибов Candida spp (C. albicans).

При микроскопическом исследовании мазков с различных отделов полости рта (десны, языка, щеки и зева)

у пациентов с КИП дрожжеподобные грибы Candida spp (C. albicans) обнаружены в соскобе с языка и десны соответственно в 32,5% и 12,2% случаев, со слизистой зева в 26,2% случаев, со слизистой щеки 14,1% случаев. У пациентов с ХГ дрожжеподобные грибы Candida spp (C. albicans) выявлены при микроскопии мазков с языка, со слизистой десны, зева и щеки соответственно в 72,1%, 50,5%, 52,6% и 24,1% случаев (рисунок 2).

В целом, полученные результаты микробиологического исследования свидетельствуют, что у 59,5% лиц молодого возраста с КИП и ХГ наблюдаются выраженные качественные и количественные изменения микробиоты полости рта в сторону выявления представителей условно-патогенной микрофлоры - дрожжеподобных грибов Candida spp (C. albicans), что свидетельствует о состоянии хронического кандидоносительства и дисбиоза в сторону кандидоза (рисунок 2).

В ходе проведенных клинико-лабораторных методов исследований нами установлено, что возникновению и усугублению хронического воспаления в тканях пародонта сопутствуют взаимосвязанные нарушения состава микробиоты и гуморальных факторов местного иммунитета полости рта. Наиболее существенные различия у лиц молодого возраста как с клинически интактным пародонтом, так и с хроническим гингивитом касались содержания в ротовой жидкости гуморальных факторов местной защиты - основных классов иммуноглобулинов SIgA, IgG, IgM и лизоцима. При этом недостаточность содержания в ротовой жидкости одного фактора нивелировалась активностью другого (таблица 2)

Независимо от клинического состояния тканей пародонта, концентрация SIgA снижена от нормы при КИП в 1,25 раза, при ХГ 1,54 раза (p < 0,05). Содержание IgM и IgG и лизоцима в ротовой жидкости выше нормы у лиц с клинически интактным пародонтом в 35,42±0,05% и с хроническим гингивитом в 67,02±0,05% случаев исследований (p > 0,05).

## Выводы

1. У 35,42±0,05% случаев клинически интактного пародонта в пробах ротовой жидкости обнаружены дрожжеподобные грибы Candida spp (C. albicans) в среднем от

**Таблица 2. Показатели гуморальных факторов местной защиты ротовой жидкости в зависимости от клинического состояния тканей пародонта**

Значение	Клиническое состояние тканей пародонта	
	(КИП) (n=48)	ХГ (n=612)
С исходно сниженным SIgA, повышенным IgM, IgG и лизоцимом	7,3%*	69,67%**
С исходно сниженным SIgA, IgG и повышенным IgM и лизоцимом	64,58%*	47,01%

Статистически достоверные различия при уровне значимости  $p \leq 0,05$

103 до 104 КОЕ/мл в состоянии хронического кандидоносительства, у 67,02±0,05% случаев хронического гингивита дрожжеподобные грибы *Candida spp* (*C. albicans*) выявлялись в мазках с полости рта и в пробах ротовой жидкости исследуемых в среднем от 104 до 105 КОЕ/мл, что свидетельствовало о выявленном дисбиозе в сторону кандидоза ( $p \leq 0,05$ ).

2. У лиц молодого возраста с клинически интактным пародонтом и хроническим гингивитом с выявленным состоянием хронического кандидоносительства и дисбиоза в сторону кандидоза защитная функция секреторного SIgA заметно снижена, содержание IgG, IgM и лизоцима увеличено.

Таким образом, у лиц молодого возраста наблюдается взаимосвязанное нарушение факторов гуморального иммунитета и микрофлоры полости рта с преобладанием дрожжеподобных грибов *Candida spp* (*C. albicans*) в виде хронического кандидоносительства и дисбиоза сторону кандидоза, что способствует развитию ранних проявлений хронического воспаления у лиц с клинически интактным пародонтом и утяжелению проявлений хронического гингивита. ■

*Усманова Ирина Николаевна (Usmanova I. N.) – д.м.н., профессор кафедры терапевтической стоматологии с курсом ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, г. Уфа, Герасимова Лариса Павловна (Gerasimova L. P.) д.м.н., профессор, зав. кафедрой терапевтической стоматологии с курсом ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, г. Уфа, Туйгунов Марсель Маратович (Tuygunov M. M.), д.м.н., профессор, заведующий кафедрой микробиологии и вирусологии, ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, Хуснарязанова Рауза Фазыловна (Khusnarizanova R. F.) - к.б.н., доцент кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, г. Уфа, Усманов Ирек Рамимович (Usmanov I. R.) – к.м.н., доцент кафедры ортопедической стоматологии и ЧЛХ с курсами ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, г. Уфа, Азнабаев Ринат Мидхатович (Aznabaev R. M.) - врач-стоматолог-ортопед ГБУЗ РБ Мелеузовская центральная районная больница, РБ, г. Мелеуз, Журба Е.А. (Zhurba E.A.) – врач-стоматолог-детский ГБУЗ РБ Мелеузовская центральная районная больница, РБ, г. Мелеуз, Автор, ответственный за переписку — Усманова Ирина Николаевна irinausta@mail.ru*

## Литература:

1. Булкина, Н.В. Современные аспекты этиологии и патогенеза воспалительных заболеваний пародонта. Особенности клинических проявлений рефрактерного пародонтита / Н.В. Булкина, В.М. Моргунова // *Фундаментальные исследования*. – 2012. – № 2. – С. 416 – 420. 15
2. Гильмияров Э.М. Стоматологический и соматический статус организма в показателях метаболизма ротовой жидкости: автореф. дис. д-ра мед. наук. — Самара, 2002. – 44 с.
3. Горбачева И.А., Кирсанов А.И., Орехова Л.Ю. Общесоматические аспекты патогенеза и лечения генерализованного пародонтита // *Стоматология*, 2001. – № 1. – С. 26-30.
4. Орехова Л. Ю., Кудрявцева Т. В., Чеминава Н. Р., Тачалов В. В., Лобода Е. С. Проблемы стоматологического здоровья у лиц молодого возраста (обзор литературы) // *Пародонтология*. 2014. №2 (71). С. 3-5.
5. Орехова Л. Ю., Жаворонкова М. Д., Суборова Т. Н. Современные технологии бактериологического исследования пародонтальных пространств // *Пародонтология*. 2013. №2 (18). С. 9-13.
6. Способ дифференциальной диагностики воспалительных заболеваний пародонта по состоянию локальных факторов неспецифической защиты полости рта Усманова И.Н., Бакиров А.Б., Герасимова Л.П., Кабирова М.Ф., и др. – опубли. 27.05.2010; Бюл. №15.
7. Усманова И.Н. Диагностические критерии хронического гингивита и пародонтита у лиц молодого возраста / Усманова И.Н., Герасимова Л.П., Кабирова М.Ф., Туйгунов М.М., Усманов И.Р. // *Пародонтология*. 2014. Т. 19. № 4 (73). С. 44-49.
8. Усманова И.Н. Роль условно-патогенной микрофлоры полости рта в развитии воспалительных заболеваний пародонта и слизистой полости рта (обзор литературы) / Усманова И.Н., Туйгунов М.М., Герасимова Л.П., Кабирова М.Ф., Губайдуллин А.Г., Герасимова А.А., Хуснарязанова Р.Ф. // *Вестник*

- Южно-Уральского государственного университета. Серия: Образование, здравоохранение, физическая культура. 2015. Т. 15. № 2. С. 37–44.
9. Чепуркова, О.А. Микробиологическая диагностика *Candida*-ассоциированного пародонтита / О.А. Чепуркова, М.Г. Чеснокова // Проблемы медицинской микологии. - 2011. - Т. 13, № 2. - С. 119.
10. Tatakis D.N., Kumar P.S. Etiology and pathogenesis of periodontal diseases // *Dent. Clin. North. Am.* 2005. - Vol. 49, № 3. - P. 491 - 516.
11. Filoche S., Wang L., Sissons C.H. Oral biofilms: emerging concepts in microbial ecology. *J. Dent. Res.* 2010; 89: 8–18.
12. Jenkinson, H. F. Микробная экология полости рта [Текст] / H. F. Jenkinson, R. J. Lamont // Микробиология и иммунология для стоматологов / под ред. Р. Дж. Ламонта, М. С. Лантца, Р. А. Берне, Д. Дж. Лебланка. — М.: Практическая медицина. — 2010.— С. 120–138.