

Оценка роли микробной биопленки в развитии хронического гингивита у лиц молодого возраста

Усманова И.Н.¹, Хуснаризанова Р.Ф.¹, Харрасова Г.Б.², Хасанова Г.Р.³.

ФГБОУ ВО Башкирский ГМУ Минздрава России (Уфа)¹, ГБУЗ РБ

Стоматологическая поликлиника (Стерлитамак)²,

ГБУЗ РБ Баймакская ЦГБ (Баймакс)³

Актуальность и литературная справка по проблеме.

За последние десятилетия наблюдается значительный рост воспалительных заболеваний пародонта, особенно среди лиц молодого возраста, как в Российской Федерации, так и за рубежом, что является важным фактором снижения их качества жизни. В последние годы благодаря применению современных методов микробиологического исследования существенно изменился взгляд на состав зубного налета, который в настоящее время рассматривается как смешанная (мультивидовая) биопленка [0 – 0].

Важнейшими направлениями микробиологических исследований являются: изучение свойств микробных биопленок, оценка их влияния на развитие патологии пародонта, что и обусловило актуальность и цель нашего исследования.

Цель нашего исследования состояла в определении влияния микробной биопленки в развитии хронического гингивита у лиц молодого возраста.

Материалы и методы исследования.

Для решения поставленных задач проведено комплексное обследование 660 лиц молодого возраста (от 15 до 23 лет). В результате клинического стоматологического обследования сформированы две клинические группы: I группа – 48 (7,27%) пациентов с клинически здоровой десной (КИП), II группа – 612 (92,73%) пациентов с хроническим гингивитом (ХГ).

Микробиологическое исследование включало микроскопическое и культуральное бактериальное исследование. Посев производили на универсальные, селективные и дифференциально–диагностические (жидкие и

плотные) отечественные и импортные питательные среды: желточно–солевой агар, среда Эндо, 5% кровяной и шоколадный агары, стрептококковый бульон, среда Сабуро, трипсозо–соевый агар, среда Китта–Тароцци, МРС. Количество бактерий определяли путем подсчета колониеобразующих единиц (lg КОЕ/мл). Выявление аэробных ацидофильных бактерий (лактобактерий), резидентных микроорганизмов – дрожжеподобных грибов, стрептококков в нестимулированной ротовой жидкости (слюне) производили с применением культивирования на погружных слайдах Dentocult® LB. in vitro. Определение и идентификацию стрептококков- *Str. mutans* проводили с использованием Dentocult® SM Slrin Mutans.

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

Результаты исследования и их обсуждение.

Проведено изучение состояния микробиоты у 660 лиц молодого возраста с хроническим гингивитом – 92,73% и с клинически интактным пародонтом (КИП) – 7,27%, в результате которых выделено 3490 штаммов микроорганизмов, относящихся к 15 родам и 26 видам.

В результате проведенных комплексных микробиологических исследований мазков со слизистой оболочки рта и проб ротовой жидкости были выявлены представители резидентной микрофлоры: условно–патогенные микроорганизмы, дрожжеподобные грибы рода *Candida* (*C.albicans*), лактобактерии, а также представители патогенной микрофлоры. Общее содержание указанных микроорганизмов колебалось в среднем в пределах от 10^3 – 10^{12} КОЕ/мл.

В группе лиц с клинически интактным пародонтом (КИП) выявлены следующие микроорганизмы: р. *Staphylococcus* в количестве 10^3 – 10^4 КОЕ/мл у 30% пациентов, в том числе и *S. aureus* в 10^3 КОЕ/мл у 2% обследованных,

p. Streptococcus в количестве 10^5 КОЕ/мл у 25% лиц, в том числе *Str.pneumoniae* у 25% обследованных, *p. Neisseria* до $10^5 - 10^7$ КОЕ/мл у 83%, *Leptotrichia buccalis* в $10^3 - 10^4$ КОЕ/мл в 94% и лактобациллы в $10^3 - 10^4$ КОЕ/мл в 59% случаев, в 35,4% случаев содержание дрожжеподобных грибов рода *Candida* (*C. albicans*) составило 10^3 КОЕ/мл.

При хроническом гингивите (ХГ) наблюдалось количественное увеличение условно-патогенной микрофлоры, в том числе дрожжеподобных грибов рода *Candida* (*C. albicans*) в 61,44% до 10^5 КОЕ/мл, факультативных аэробов, доля которых в среднем составила $82,5 \pm 6,4\%$ штаммов.

Обнаружено значительное увеличение количества представителей рода стафилококков, что составило 10^9 КОЕ/мл у 85,9% обследованных, в том числе и *S. aureus* до 10^5 КОЕ/мл у 52% лиц ($p < 0,001$), представителей рода стрептококков – до 10^9 КОЕ/мл в 92,2% случаев, сапрофитных нейссерий и *Leptotrichia buccalis* до 10^{12} КОЕ/мл, соответственно у 54,7% и 51,5% случаев, лактобацилл до $10^5 - 10^6$ КОЕ/мл в 89% случаев, *Borrelia* и *Fusobacterium* в 10^5 КОЕ/мл у 9,75% случаев, простейших в $\leq 10^3$ КОЕ/мл у 3,25% случаев.

Качественные и количественные вариации стрептококков в области маргинального пародонта проявлялись также в повышении частоты выделения анаэробных стрептококков (пептострептококков). У лиц молодого возраста с КИП отмечались повышение частоты выделения *E. faecalis* в 1,5, а *Neisseria spp.* в 1,7 раза, понижение частоты выделения *M. catarrhalis* в 2,2, *E.coli* в 1,8 раза по сравнению с пациентами с ХГ.

У 17 ($35,42 \pm 0,05\%$) пациентов с КИП в ротовой жидкости обнаружены дрожжеподобные грибы рода *Candida* (*C. albicans*). При этом *C. albicans* определялась в количестве $10^2 - 10^3$ КОЕ/мл в 64,7% случаев, в $10^3 - 10^4$ КОЕ/мл в 35,41% случаев, что определило состояние кандидоносительства ($p \leq 0,05$).

При ХГ распространенность дрожжеподобных грибов рода *Candida* (*C. albicans*) в пробах ротовой жидкости выявлена у 376 ($61,44 \pm 0,05\%$) обследованных лиц, в том числе псевдомицелиальные формы обнаружены у

124 пациентов ($32,98 \pm 0,03\%$), дрожжевая форма у 252 ($67,02 \pm 0,05\%$), что свидетельствовало о дисбиотическом сдвиге в сторону кандидоза. При этом происходит значительное возрастание доли дрожжеподобных грибов рода *Candida* (*C. albicans*) до $10^4 - 10^5$ КОЕ/мл ($p \leq 0,05$).

Микроскопическое исследование проб ротовой жидкости у $61,44 \pm 0,05\%$ лиц молодого возраста с ХГ обнаружены дрожжеподобные грибы рода *Candida* (*C. albicans*), в виде псевдомицелия у $67,1 \pm 0,03\%$, дрожжевая форма у $32,9 \pm 0,05\%$ обследованных. У $17,97 \pm 0,04\%$ лиц с хроническим гингивитом обнаружены псевдомицелиальные формы у $86,6\%$, дрожжевая форма у $13,3\%$ случаев. Наблюдается и значительное возрастание доли дрожжеподобных грибов рода *Candida* (*C. albicans*) не только при хроническом гингивите, но и при КИП от 10^2 до 10^3 КОЕ/мл.

При микроскопическом исследовании мазков с различных отделов полости рта (десны, языка, щеки и зева) у пациентов с КИП дрожжеподобные грибы рода *Candida* (*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 рода *Candida* (*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.

Количество дрожжеподобных грибов в полости рта среди обследованных нами лиц молодого возраста с КИП и ХГ колебалось от $2,0$ КОЕ/мл до $5,0$ КОЕ/мл. При клинически интактном пародонте встречается в основном низкая и умеренная обсемененность ($2,0 - 3,0$ КОЕ/мл) в $64,85\%$ случаев и в $35,4\%$ случаев средняя обсемененность ($3,0 - 4,0$ КОЕ/мл). Средняя и высокая обсемененность ($4,0 - 5,0$ КОЕ/мл) в полости рта встречалась у пациентов с ХГ в $61,43\%$ случаев.

Данные проведенных исследований показали, что у лиц молодого возраста с КИП и ХГ наблюдается нарушение естественного состава

микробиоты полости рта с появлением представителей условно-патогенной микрофлоры – дрожжеподобных грибов рода *Candida*.

У 267 обследованных лиц (40,45%) на слизистой десны обнаруживалась преимущественно кокковая флора, доля которых в среднем составила $82,5 \pm 6,4\%$ штаммов, у 259 человек (39,24%) были обнаружены *Streptococcus spp.*, у 55 (85,9%) – *Staphylococcus spp.*, у 54 (84,4%) – *Peptostreptococcus spp.*, у 22 (34,3%) – *Enterococcus spp.* У 35 человек в 54,7% случаев были выделены грамотрицательные кокки сем. *Neisseriaceae*, у 16 человек в 25,0% случаев – грамотрицательные палочки: семейства *Enterobacteriaceae* – у 13 человек (20,3%), *Pseudomonas spp.* – у 3 человек (4,7%), *Actinomyces spp.* – у 12 (18,7%), *Corynebacterium spp.* – у 11 человек (17,2%).

У 59,54% лиц молодого возраста в составе микробиоты полости рта микробиологическими методами выявлено увеличения представителей кокковой флоры – рода стрептококков – 4-х кратное, 3-х кратное – рода стафилококков, в том числе 26-ти кратное *Staph. aureus*, при этом незначительно уменьшаются представители грамотрицательных диплококков – рода нейссерий, грамотрицательных облигатных анаэробов: в 4-х кратное фузобактерий, 2-х кратное представителей семейства бактероидов, что способствовало достоверному 2-х кратному увеличению титра и частоты выделения дрожжеподобных грибов рода *Candida* (*C. albicans*).

В целом, полученные результаты комплексного микробиологического исследования свидетельствуют, что у 59,54% 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 рода *Candida* (*C. albicans*). Эти данные свидетельствуют о кандидоносительстве и выраженном дисбиозе в сторону кандидоза.

У лиц молодого возраста с ХГ в 61,44% в биотопе полости рта частота встречаемости дрожжеподобных грибов рода *Candida* (*C. albicans*) увеличивается в среднем 1,7 раза по сравнению с группой лиц с КИП ($p \leq 0,05$).

Нами установлено, что все указанные микроорганизмы на слизистой десны, как при клинически интактном пародонте, так и при хроническом гингивите обнаруживались преимущественно в виде 3-, 4-, 5-компонентных ассоциаций, соответственно в 25,0%, 40,8%, 26,5% случаев. Доля 6-компонентных ассоциаций составляла 4,7%, а 2- и 7-компонентных – по 1,6% случаев. Усложнение микробных ассоциаций, обнаруживаемых в области десневого края, способствовало прогрессированию и усугублению хронических заболеваний пародонта.

Наблюдалось усложнение микробного пейзажа краевого пародонта в зависимости от характера проявления воспалительного процесса в пародонте. Так, удельный вес микроорганизмов, приходящихся на одного пациента с КИП, составил в среднем 4,6 штамма, а при диагнозе ХГ – 5,3 штамма. При КИП микроорганизмы в 57,1% случаев в основном были представлены ассоциациями из трех видов, в 14,3% – ассоциациями из двух, а в 28,6% – из четырех видов.

Заключение.

Анализ экологии микробиоты рта у лиц молодого возраста характеризуется структурной перестройкой микрофлоры. Это проявляется увеличением частоты встречаемости и флористической значимости условно-патогенных микроорганизмов дрожжеподобных грибов рода *Candida*, *S. Aureus*, лактобактерий. Полученные результаты дают основание считать, что процесс увеличения доли условно-патогенных микроорганизмов в полости рта лиц молодого возраста приводит к появлению кандидоносительства и дисбиоза в сторону кандидоза, а также увеличению видового их разнообразия, что влечет появление и усугубление воспалительных заболеваний пародонта.

Список литературы

- 1.Добренков Д.С. Характеристика биоценологических отношений бактериальных сообществ полости рта и микрoэкологическое обоснование принципов биокоррекции: автореф. дис. ... к.м.н. – Волгоград, 2015. – 25 с
- 2.Стоматологический статус при нарушениях микрoэкоcистемы полости рта. Климова Т.Н. [и соавт.] Вестник ВолгГМУ. 2013; 4(48): 75-77.
- 3.Макеева И.М., Мартынова Е.А., Рожнова Е.В. Полость рта как локальная экологическая система. Стоматология. 2008; 3: 68-75.

- 4 Проблемы стоматологического здоровья у лиц молодого возраста (обзор литературы). Орехова Л. Ю. [и соавт.] Пародонтология. 2014; 2 (71): 3-5.
5. Орехова Л. Ю., Жаворонкова М. Д., Суборова Т. Н. Современные технологии бактериологического исследования пародонтальных пространств. Пародонтология. 2013; 2 (18): 9-13.
6. Роль условно-патогенной и патогенной микрофлоры полости рта в развитии воспалительных заболеваний пародонта и слизистой полости рта (обзор литературы). Усманова И. Н. [и соавт.] Вестник ЮУрГУ. Серия «Образование, здравоохранение, физическая культура». Челябинск. 2015; 2(15): 37-44.
7. Усманова И.Н. Особенности микробиоценоза полости рта у лиц молодого возраста, проживающих в регионе с неблагоприятными факторами окружающей среды. Клиническая стоматология. 2011; 3: 94-96.
8. Способ ранней диагностики заболеваний ротовой полости у лиц молодого возраста по микроэлементному составу и концентрации лактобактерий в нестимулированной ротовой жидкости. Усманова И.Н. [и соавт.] Патент на изобретение RU 2460076 C1, 27.08.2012. Заявка № 2011112130/15 от 30.03.2011.