



УДК 611.311:616.516:612.313.63

Е.С. ЛЕОНТЬЕВА¹, Л.Т. БАЯЗИТОВА², С.А. ЛISOVСКАЯ², Л.И. МИХЕЕВА³, Л.Р. МУХАМЕДЖАНОВА⁴, Р.Г. КУЗНЕЦОВА⁵¹Казанский государственный медицинский университет, 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, д. 49²Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, 420015, г. Казань, ул. Большая Красная, д. 67³Левобережная городская поликлиника, 141406, г. Химки, ул. Пожарского, д. 22⁴Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, 428015, г. Чебоксары, Московский проспект, д. 15⁵Республиканская клиническая больница МЗ РТ, 420064, г. Казань, Оренбургский тракт, д. 138

К вопросу о микробной обсемененности очагов поражения красным плоским лишаем слизистой оболочки полости рта

Леонтьева Екатерина Сергеевна — аспирант кафедры терапевтической стоматологии, тел. +7-905-375-02-55 e-mail: cathie_Leo@mail.ru¹**Баязитова Лира Табрисовна** — кандидат медицинских наук, заведующая отделением микробиологии, тел. +7-987-234-19-45, e-mail: bajalt@mail.ru²**Лисовская Светлана Анатольевна** — кандидат медицинских наук, заведующая отделением микологии, тел. +7-917-299-28-92, e-mail: lysovskaya@mail.ru²**Михеева Лейсан Идрисовна** — врач-стоматолог, тел. (495) 233-34-55-68, e-mail: lmdent@ya.ru³**Мухамеджанова Любовь Рустемовна** — доктор медицинских наук, профессор кафедры пропедевтики стоматологических заболеваний и новых технологий, тел. +7-965-597-11-64, e-mail: lr71@bk.ru⁴**Кузнецова Роза Гилевна** — старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела, тел. (843) 237-34-47, e-mail: rokuz@mail.ru⁵

Представлены результаты изучения микробной контаминации эрозивно-язвенных очагов поражения красным плоским лишаем слизистой оболочки полости рта. Показано увеличение плотности высеваемости бактериальной, пародонтопатогенной и кандидозной флоры у пациентов,отягощенных пародонтальным очагом инфекции. Установлена зависимость между высокой степенью микробной контаминации дефектов эпителия различной глубины и активностью течения воспалительно-деструктивных процессов в тканях пародонта.

Ключевые слова: краснй плоский лишай, пародонтальный очаг инфекции, бактериальная, пародонтопатогенная, кандидозная микрофлора.

E.S. LEONTYEVA¹, L.T. BAYAZITOVA², S.A. LISOVSKAYA², L.I. MIKHIEVA³, L.R. MUKHAMEDZHANOVA⁴, R.G. KUZNETSOVA⁵¹Kazan State Medical University, 49 Butlerov St., Kazan, Russian Federation, 420012²Kazan Scientific-Research Institute for Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, 67 Bolshaya Krasnaya St., Kazan, Russian Federation, 420015³Levoberezhnaya City Polyclinic, 22 Pozharsky St., Khimki, Russian Federation, 141406⁴Ulyanov Chuvash State University, 15 Moskovskiy Prospekt, Cheboksary, Russian Federation, 428015⁵Republican Clinical Hospital of Ministry of Health of the Republic of Tatarstan, 138 Orenburgskiy Trakt, Kazan, Russian Federation, 420064

On the issue of microbial contamination of lichen planus lesions of the oral cavity mucosa

Leontyeva E.S. — postgraduate student of the Department of Therapeutic Stomatology, tel. +7-905-375-02-55, e-mail: cathie_leo@mail.ru¹

Bayazitova L.T. — Cand. Med. Sc., Head of Microbiology Department, tel. +7-987-234-19-45, e-mail: bajalt@mail.ru²

Lisovskaya S.A. — Cand. Med. Sc., Head of Mycology Department, tel. +7-917-299-28-92, e-mail: lysovskaya@mail.ru²

Mikheyeva L.I. — dentist, tel. (495) 233-34-55-68 e-mail: lmdent@ya.ru³

Mukhamedzhanova L.R. — D. Med. Sc., Professor of the Department of Propaedeutics of Stomatologic Diseases and New Technologies, tel. +7-965-597-11-64, e-mail: lr71@bk.ru⁴

Kuznetsova R.G. — Senior Researcher of Scientific-Research Department, tel. (843) 237-34-47, e-mail: rokuz@mail.ru⁵

The study presents the results of microbial contamination of erosive and ulcerative lesions of the oral lichen planus. The density of the bacterial, periodontal-pathogenic and Candida contamination in patients with associated periodontal foci of infection has been shown to increase. The dependence between the high degree of microbial contamination of the epithelial defects of varying depth and current activity of inflammatory and destructive processes in periodontal tissues has been identified.

Key words: lichen planus, periodontal focus of infection, bacterial, periodontal-pathogenic, Candida microflora.

В последние годы обсуждается вопрос этиологической значимости микрофлоры полости рта при заболеваниях слизистой оболочки этой экониши [1]. Актуальной на сегодняшний день представляется роль условно-патогенных микроорганизмов в колонизации различных экологических ниш полости рта и факторов персистенции этих симбионтов, обуславливающих затяжное и осложненное течение, низкую эффективность терапии красном плоском лишае слизистой оболочки полости рта (КПЛ СОПР). Частота вторичного инфицирования очагов поражения КПЛ СОПР в значительной степени обусловлена особенностями строения и функций СОПР, постоянным контактом с внешней средой, наличием микрофлоры, разнообразием жевательной нагрузки, перманентным травмированием поверхности эпителиального пласта. Часто встречающаяся отягощенность КПЛ СОПР хроническим генерализованным пародонтитом, сложность проведения индивидуальной гигиены полости рта при наличии эрозий и язв также являются причинами микробной обсемененности очагов поражения. Доказано, что у больных КПЛ СОПР снижена активность лизоцима, нарушен окислительно-восстановительный потенциал слюны [2, 3]. Не вызывает сомнений тот факт, что при КПЛ проявляется снижение доминирования и экологической значимости основных симбионтов СОПР, а также увеличивается частота встречаемости транзитной микрофлоры. Большинство исследователей сходятся во мнении, что основными этиологически значимыми микроорганизмами СОПР больных КПЛ являются грибы рода *Candida*, *S. aureus* и условно-патогенные энтеробактерии. По данным Королевой Н.В., 2000 [2], вышеперечисленные микроорганизмы колонизируют в устойчивых ассоциациях у 88% больных. Высокая степень микробной контаминации очагов поражения на СОПР, особенно при эрозивно-язвенной, экссудативно-гиперемической и буллезной формах КПЛ, предполагает включение в комплекс лечебных мероприятий фармакотерапевтических средств, обладающих антибактериальной активностью в отношении высеваемых видов микроорганизмов, а также методов аппликационной сорбции.

Цель исследования — изучение микробиоценоза различных биотопов ротовой полости у пациентов с красным плоским лишаем слизистой оболочки полости рта.

Материалы и методы исследования

В исследовании приняли участие 95 пациентов с КПЛ СОПР, которые были ранжированы на 2 груп-

пы (по наличию отягощенности пародонтальными очагами инфекции): первую группу (76 человек) составили пациенты с КПЛ СОПР, отягощенные хроническим генерализованным пародонтитом (ХГП), вторую группу (19 человек) составили пациенты с КПЛ СОПР, не отягощенные пародонтитом. Диагноз «хронический генерализованный пародонтит» был подтвержден клинически, а также значениями гигиенических, пародонтологических индексов. Верификация деструктивных поражений костной ткани альвеолярного отростка проведена на основании данных панорамных рентгенограмм/томограмм челюстей. Группу сравнения составили 90 пациентов сопоставимого гендерно-возрастного состава, обратившиеся в стоматологическую поликлинику с целью санации полости рта.

Определяли количественные изменения следующих микроорганизмов: *S. salivaris*, *S. sanguis*, *S. mutans*, *Lactobacillus* sp., *Actinomyces* sp., *Fusobacterium* sp., *Carnocytophaga*, *Treponema* sp., *B. melaninogenicus*, *B. gingivalis*, *Veillonellae*, *Candida albicans*. Биоматериал с очагов поражения засеивался на плотные и полужидкие питательные среды для культивирования микроорганизмов в аэробных и анаэробных условиях. Применялся следующий набор сред — 5%-ный кровяной агар, Сабуро, Эндо, стрептококковый селективный агар, среда Блаурокка. Идентификацию микроорганизмов осуществляли по морфологическим, биологическим и биохимическим свойствам. Использовали количественный метод микробиологического исследования микробиоценоза: количество выросших колоний микроорганизмов в содержимом пародонтальных карманов выражали в КОЕ/кв. см, буккальной слизистой и спинки языка — в КОЕ/тампон.

Для определения степени микробной контаминации СОПР пародонтопатогенными штаммами использовали ПЦР-диагностику. Маркерные пародонтопатогенные виды бактерий *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis* (*Bacteroides forsythus*) выявляли с помощью набора реактивов «Мультиидент-5», разработанного ООО «НПФ Генлаб» (Россия) с помощью ПЦР и электрофореза в 1,6% агарозном геле; тест-системы Micro Dent[®] (Hain Diagnostica, Германия), позволяющей проводить мультиплексную ПЦР, с последующей регистрацией синтезированных ампликонов методом обратной гибридизации.

Для определения уровня адгезии штаммов *Candida albicans* использовали приготовленную нитроцеллюлозную пленку с последующей иммобилизацией белка на ее поверхности. Затем приступали

непосредственно к определению уровня адгезии. Вначале измеряли оптическую плотность предварительно приготовленной суспензии клеток при длине волны 540 нм. Раствором сравнения служил фосфатный буфер. После измерения оптической плотности в пробирку с 3 мл суспензии клеток помещали нитроцеллюлозную пленку площадью 7 см² и инкубировали 2 часа при температуре 30°C. Затем, встряхнув несколько раз пробирку для получения однородной взвеси клеток, снова измеряли оптическую плотность суспензии клеток при длине волны 540 нм. Количество адгезировавшихся клеток на нитроцеллюлозную пленку определяли по разнице начальной и конечной оптической плотности суспензии клеток и подсчетом клеток адгезировавшихся на поверхности пленки не менее 10 полей при помощи микроскопа Микмед-б увеличение 10x20.

Статистическую обработку данных проводили в программе SPSS-14.0 для Windows с использованием параметрических и непараметрических методов.

Результаты исследований и их обсуждение

Результаты изучения степени бактериальной контаминации различных биотопов СОПР у пациентов исследуемых групп и группы сравнения (табл. 1) свидетельствуют о более выраженной колонизации очагов поражения КПЛ представителями кокковой флоры: *Streptococcus salivarius* и *Streptococcus mutans*; при этом нами не выявлено корреляционной зависимости между частотой высеваемости указанных представителей микрофлоры и частотой выявления ярко выраженных признаков вторичного инфицирования очагов поражения КПЛ. Отметим, что очаги типичной формы КПЛ (сетка Уикхема) представляются наименее контаминированными бактериальной флорой, что обусловлено зачастую адекватным гигиеническим уходом за зубами, соприкасающимися с поверхностью СОПР в данных участках. Частота высеваемости *Streptococcus salivarius*, *Lactobacillus* spp., *Streptococcus mutans* и *Actinomyces* spp. была выше в очагах поражения КПЛ у пациентов, отягощенных ХГП. Единичные колонии *Streptococcus sanguis* были обнаружены лишь в очагах поражения КПЛ у 55% пациентов, отягощенных ХГП. В пародонтальных карманах данной группы пациентов, очагах поражения КПЛ у группы пациентов, не отягощенных ХГП, и у группы сравнения *Streptococcus sanguis* выявлен не был.

Частота обнаружения пародонтопатогенной микрофлоры (табл. 2) напрямую зависела не столько от наличия или отсутствия ХГП, сколько от степени тяжести и активности патологического процесса. В ходе наших исследований была выявлена следующая зависимость: чем глубже пародонтальный карман (более 5 мм), тем выше вероятность того, что на очаге поражения эрозивно-язвенной формы КПЛ будут определяться пародонтопатогенные микроорганизмы. Полагаем, что стадия течения ХГП также имеет большое значение в отношении обсеменности очагов поражения КПЛ пародонтопатогенной микрофлорой. Так, у 90% пациентов с эрозивно-язвенной формой КПЛ, отягощенного пародонтитом, который на момент обследования находился в стадии обострения, на поверхности очага поражения КПЛ определялись пародонтопатогенные микроорганизмы. При КПЛ, отягощенном ХГП вне стадии обострения, пародонтопатогенная микрофлора сопровождала очаг поражения КПЛ у 55% пациентов.

Обсемененность очагов поражения КПЛ имеет высокую ($r=0,74$) корреляционную зависимость от стадии течения, или активности заболевания, а не от степени тяжести ХГП. Так, у пациентов с КПЛ, отягощенным ХГП тяжелого течения в стадии ремиссии, степень микробной контаминации очагов поражения оказалась ниже, чем у пациентов с КПЛ, отягощенным ХГП легкой степени, но в стадии обострения. В очаге поражения КПЛ у пациентов, не отягощенных ХГП, были выявлены только 2 представителя пародонтопатогенной микрофлоры — *Prevotella intermedia* (у 5% пациентов) и *Tannerella forsythensis* (у 11% пациентов). У пациентов с КПЛ, отягощенным пародонтитом, в очагах поражения обнаруживались *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (у 43% пациентов), *Prevotella intermedia* (у 63% пациентов), *Treponema denticola* (у 46% пациентов) и *Tannerella forsythensis* (у 59% пациентов). В пародонтальном кармане у пациентов с КПЛ, отягощенным пародонтитом, чаще всего выявлялись *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola* и *Tannerella forsythensis* (у 84, 79 и 82% пациентов соответственно).

Полученные нами сведения согласуются с результатами исследователей [1, 5, 6], занимавшихся изучением данной проблемы. Ими также отмечена значимость вторичного инфицирования очагов поражения КПЛ *S. Salivaris*, *S. sanguis*, *S. milleri*, *S. mutans*, *Lactobacillus* sp., *Actinomyces* sp., *Fusobacterium* sp., *Capnocytophaga*, *Treponema* sp., *B. Melaninogenicus*, *B. Gingivalis*, *A. Actinomycetemcomitans*, *Veillonellae*.

Результаты изучения микробной контаминации очагов поражения КПЛ СОПР представлены в табл. 3. Так, грибы рода *Candida albicans* были обнаружены у 66,7% пациентов с КПЛ. Частота обнаружения *Candida albicans* у пациентов с КПЛ, отягощенным ХГП, составила 80%. У пациентов с КПЛ, не осложненным ХГП, *Candida albicans* была обнаружена в 50% случаев.

Средний уровень адгезии штаммов *Candida albicans* у пациентов с КПЛ, отягощенным ХГП, составил $16,78 \pm 1,64\%$. У пациентов с КПЛ, не отягощенным ХГП, данный показатель составил $26,28 \pm 4,44\%$ ($p < 0,05$). Штаммы с высоким уровнем адгезии обладали высокой скоростью роста и активно формировали трубки прорастания (способность к диморфизму) от 10 до 65%. Штаммы с низким уровнем адгезии трубки прорастания формировали слабо: 1-2 клетки на 100 клеток *Candida albicans*, что составило от 1 до 5%. Штаммы *Candida albicans*, обладающие наиболее высоким уровнем адгезии, проявляли высокую протеолитическую активность по отношению к иммуноглобулину G.

Протеолитическая активность штаммов *Candida albicans*, высеваемых с очагов поражения КПЛ пациентов, отягощенных ХГП, составила $0,57 \pm 0,02$. Данный показатель у пациентов с КПЛ, не осложненным ХГП, в среднем составил $0,33 \pm 0,03$ ($p < 0,05$). Штаммы *Candida albicans* с максимальным уровнем адгезии 41,2 и 39,3% высевались в первоначальном микробиологическом посеве совместно с широким спектром бактерий: стафилококком эпидермальным, золотистым стафилококком, стрептококком и грамотрицательными палочками.

Частота обнаружения *Candida albicans* в очагах поражения КПЛ коррелирует ($r=0,79$) с активностью течения заболевания. Значимость контаминации *Candida albicans* определяется не столько степенью обсеменности очагов поражения, сколько такими патогенными свойствами *Candida albicans*, как уро-

Таблица 1.
Микробный пейзаж биотопов полости рта у пациентов исследуемых групп и пациентов группы сравнения

Высеваемая микрофлора	КПЛ, отягощенный ХГП (n=76)		КПЛ, не отягощенный ХГП (n=19)		Группа сравнения (n=90)
	очаг поражения КПЛ	пародонтальный карман	очаг поражения КПЛ	десневая борозда	десневая борозда
<i>Streptococcus salivaris</i>	рост единичных колоний на обогащенных средах (83% пациентов) 10 ² КОЕ/тампон (17% пациентов)	рост единичных колоний на обогащенных средах (62% пациентов) 10 ² КОЕ/см ² (38% пациентов)	рост единичных колоний на обогащенных средах (95% пациентов) 10 ² КОЕ/тампон (5% пациентов)	рост единичных колоний на обогащенных средах (53% пациентов) 10 ² КОЕ/см ² (47% пациентов)	рост единичных колоний на обогащенных средах (78% пациентов) 10 ² КОЕ/см ² (22% пациентов)
<i>Streptococcus sanguis</i>	рост единичных колоний на обогащенных средах (55% пациентов) не выявлен (45% пациентов)	не выявлен	не выявлен	не выявлен	не выявлен
<i>Streptococcus mutans</i>	рост единичных колоний на обогащенных средах (66% пациентов) 10 ² КОЕ/тампон (34% пациентов)	10 ² КОЕ/см ² (92% пациентов) 10 ³ КОЕ/см ² (8% пациентов)	рост единичных колоний на обогащенных средах (74% пациентов) 10 ² КОЕ/тампон (26% пациентов)	10 ² КОЕ/см ² (89% пациентов) 10 ³ КОЕ/см ² (11% пациентов)	рост единичных колоний на обогащенных средах (83% пациентов) 10 ² КОЕ/см ² (17% пациентов)
<i>Lactobacillus spp.</i>	рост единичных колоний на обогащенных средах (95% пациентов) 10 ² КОЕ/тампон (5% пациентов)	рост единичных колоний на обогащенных средах (89% пациентов) не выявлен (11% пациентов)	рост единичных колоний на обогащенных средах (79% пациентов) не выявлен (21% пациентов)	рост единичных колоний на обогащенных средах (94% пациентов) не выявлен (6% пациентов)	рост единичных колоний на обогащенных средах (90% пациентов) не выявлен (10% пациентов)
<i>Actinomyces spp.</i>	рост единичных колоний на обогащенных средах (56% пациентов) 10 ² КОЕ/тампон (44% пациентов)	рост единичных колоний на обогащенных средах (59% пациентов) 10 ² КОЕ/см ² (33% пациентов) 10 ³ КОЕ/см ² (8% пациентов)	рост единичных колоний на обогащенных средах (78% пациентов) 10 ² КОЕ/тампон (22% пациентов)	рост единичных колоний на обогащенных средах (74% пациентов) 10 ² КОЕ/см ² (26% пациентов)	рост единичных колоний на обогащенных средах (92% пациентов) 10 ² КОЕ/см ² (8% пациентов)

Таблица 2.
Частота пародонтопатогенной микрофлоры у пациентов исследуемых групп и группы сравнения

Высеваемая микрофлора	КПЛ, отягощенный ХГП (n=76)		КПЛ, не отягощенный ХГП (n=19)		Группа сравнения (n=90)
	очаг поражения КПЛ	пародонтальный карман	очаг поражения КПЛ	десневая борозда	десневая борозда
<i>Actinobacillus actinomycetem-comitans</i>	выявлен (43% пациентов)	выявлен (55% пациентов)	не выявлен	не выявлен	не выявлен
<i>Prevotella intermedia</i>	выявлен (63% пациентов)	выявлен (84% пациентов)	выявлен (5% пациентов)	выявлен (11% пациентов)	выявлен (51% пациентов)
<i>Treponema denticola</i>	выявлен (46% пациентов)	выявлен (79% пациентов)	не выявлен	не выявлен	выявлен (56% пациентов)
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	не выявлен	не выявлен	не выявлен	не выявлен	не выявлен
<i>Tannerella forsythensis</i>	выявлен (59% пациентов)	выявлен (82% пациентов)	выявлен (11% пациентов)	не выявлен	выявлен (41% пациентов)

Таблица 3.
Частота *Candida albicans* у пациентов исследуемых групп и группы сравнения

Высеваемая микрофлора	КПЛ, отягощенный ХГП (n=76)		КПЛ, не отягощенный ХГП (n=19)		Группа сравнения (n=90)
	очаг поражения КПЛ	пародонтальный карман	очаг поражения КПЛ	десневая борозда	десневая борозда
<i>Candida albicans</i>	рост единичных колоний на обогащенных средах (7% пациентов) 10 ² КОЕ/см ² (64% пациентов) 10 ³ КОЕ/см ² (9% пациентов) не выявлен (20% пациентов)	рост единичных колоний на обогащенных средах (29% пациентов) 10 ² КОЕ/см ² (31% пациентов) 10 ³ КОЕ/см ² (12% пациентов) не выявлен (28% пациентов)	рост единичных колоний на обогащенных средах (36% пациентов) 10 ² КОЕ/тампон (11% пациентов) не выявлен (53% пациентов)	рост единичных колоний на обогащенных средах (67% пациентов) 10 ² КОЕ/тампон (5% пациентов) не выявлен (28% пациентов)	рост единичных колоний (72% пациентов) не выявлен (28% пациентов)

вень адгезии и активность формирования трубок прорастания. При обострении ХГП степень высеваемости *Candida albicans* возрастает, у нее усиливаются адгезионные свойства, возрастает скорость роста трубочек. Перманентное выделение «малых доз» экзо- и эндоферментов и продуктов распада клеточной стенки пародонтопатогенных микроорганизмов приводит к стимуляции роста и активности *Candida albicans*, а также усилению ее патогенных свойств [3, 4].

Таким образом, полученные нами сведения свидетельствуют о высокой степени микробной контаминации очагов поражения КПЛ СОПР у пациентов, отягощенных пародонтальными очагами инфекции; при этом ключевую роль играет активность воспалительно-деструктивного процесса (обострение, хроническое течение). Результаты проведенных исследований могут быть использованы при разработке основ протоколов курации пациентов с со-



четанной патологией слизистой оболочки полости рта и тканей пародонта, а также для фармакоэкономического обоснования включения в комплекс

лечебных мероприятий антибактериальных и антифунгальных препаратов системного и топического действия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Комлева А.С. Оптимизация консервативного лечения больных хроническим генерализованным пародонтитом, ассоциированным с кандидо-флорой: автореф. дис. ... канд. мед. наук / А.С. Комлева. — Омск, 2010. — 26 с.

2. Королева Н.В. Колонизация и факторы персистенции условно-патогенных микроорганизмов при красном плоском лишае слизистых оболочек полости рта: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Н.В. Королева. — Волгоград, 2001. — 23 с.

3. Мелехов С.В. Роль дрожжеподобных грибов рода *Candida* в развитии патологии пародонта / С.В. Мелехов // Маэстро. — 2007. — № 2. — С. 72-75.

4. Чепуркова О.А. Кандида-ассоциированный пародонтит. Диагностика. Лечение: автореф. дис. ... док. мед. наук / О.А. Чепуркова. — Омск, 2010. — 25 с.

5. Bermejo-Fenoll A. A retrospective clinicopathological study of 550 patients with oral lichen planus in south-eastern Spain / Journal of oral pathology & Medicine: Official Publication Of The International Association Of Oral Pathologists And The American Academy Of Oral Pathology / A. Bermejo-Fenoll // J Oral Pathol Med. — 2010. — Vol. 39. — P. 491-649.

6. Microbial interactions and differential protein expression in *Staphylococcus aureus* — *Candida albicans* dual-species biofilms / B.M. Peters [et al.] // FEMS Immunol Med Microbiol. — 2010. — Vol. 59, N 3. — P. 493-503.