

Л.А. Сайгушева¹,
к.м.н., врач-стоматолог-терапевт

А.Ю. Миронов²,
д.м.н., профессор кафедры микробиологии,
вирусологии и иммунологии

А.В. Куяров³,
д.м.н., профессор, зав. лабораторией
фундаментальных и прикладных проблем
здоровьесбережения на Севере

Е.Ф. Дудко⁴,
зав. лабораторией клинической
микробиологии

Диагностическая информативность факторов патогенности микрофлоры слизистой оболочки рта при рецидивирующем афтозном стоматите у жителей Севера

1 Стоматологическая поликлиника № 1,
Сургут

2 Первый МГМУ им. И.М. Сеченова

3 Сургутский государственный
университет Ханты-Мансийского
автономного округа — Югры

4 Клиническая городская поликлиника № 1,
Сургут

Резюме. У всех лиц при рецидивирующем афтозном стоматите (РАС) со слизистой оболочки полости рта выделялись представители рода *Staphylococcus*. Концентрация стафилококков более 10^3 КОЕ/мл обнаруживалась в 4,0–4,7 раза чаще в группах, в которых стоматит сопровождался неспецифическими гастроинтестинальными и аллергическими заболеваниями. Наибольшую диагностическую значимость имела индикация *S. aureus* и *S. epidermidis* с гемолитическими свойствами. Нарушение биоценоза слизистой оболочки полости рта сопровождалось снижением частоты выделения лактобактерий, увеличением индикации со слизистой оболочки полости рта дрожжеподобных клеток рода *Candida* и энтеробактерий. Наибольшее диагностическое значение имели гемолитическая и гистидиндекарбоксилирующая активность микроорганизмов. Ферментные факторы колонизации представителей рода *Staphylococcus* находились в выраженной корреляционной зависимости. Получен диагностический алгоритм оценки состояния биоценоза при РАС.

Ключевые слова: афтозный стоматит, диагностическая информативность, микрофлора, факторы патогенности

Summary. All persons who have recurrent aphthous stomatitis (RAS) from oral mucosa were being allocated the genus *Staphylococcus*. Number of CFU of staphylococci per ml of a 3 lg was in 4,0–4,7 times higher in the groups in which stomatitis accompanied by nonspecific gastrointestinal and allergic disease. The greatest diagnostic value had indication *S. aureus* and *S. epidermidis* with hemolytic properties. Violation biocenosis of oral mucosa accompanied by a reduction of frequency allocation lactobacilli, by increase of display with oral mucosa cells yeast *Candida* and Enterobacteriaceae. The highest diagnostic parameter value had hemolytic and histidine decarboxylated activity of microorganism. Enzyme colonization factors of the genus *Staphylococcus* were pronounced correlation. There were obtained diagnostic algorithm of assessment of biocenosis in RAS.

Key words: recurrent aphthous stomatitis, diagnostic information, microflora, pathogen factors

Заболевания слизистой оболочки полости рта находятся в центре внимания современной стоматологии. Находясь под постоянным воздействием внешних и внутренних факторов, слизистая оболочка является локальным проявлением различных заболеваний. Изменения слизистой оболочки полости рта часто являются первыми симптомами заболеваний крови, эндокринных нарушений, патологии желудочно-кишечного тракта [6].

Известно, что микрофлора играет важную роль в формировании патологии ротовой полости и возникновении различных соматических заболеваний [10, 11]. Показано, что среди бактерий, колонизирующих организм человека, много микроорганизмов с большим потенциалом патогенности, способных вызывать заболевания различной локализации или осложнять их течение [8].

Бактериальные клетки обладают широким набором ферментов, обеспечивающих их высокую метаболическую активность. Уреаза, расщепляющая мочевины с образованием аммонийной соли и создающая щелочную реакцию, бактериальная гистидиндекарбоксилаза, катализирующая образование гистамина — медиатора воспаления и боли, имеют патогенетическое значение при воспалительных процессах [3, 7].

Действие неблагоприятных факторов внешней среды, нерациональная антибиотикотерапия приводят к нарушению биоценоза полости рта. Большинство заболеваний слизистой оболочки полости рта протекает на фоне нарушения микробиоценоза [1, 5]. Учитывая степень дисбиотического состояния, потенциал патогенности микроорганизмов, можно более дифференцированно подходить к диагностике и лечению заболеваний полости рта, что диктует необходимость разработки диагностически обоснованных критериев нарушения микробиоценоза слизистой оболочки.

Целью настоящей работы было определение диагностической информативности факторов патогенности микрофлоры слизистой оболочки полости рта при рецидивирующем афтозном стоматите (РАС) у жителей Севера.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено комплексное клинико-лабораторное исследование 162 человек в возрасте от 19 до 35 лет контрольной и трех исследуемых групп с клиническими проявлениями стоматита. В контрольную группу включили 32 человека без заболеваний слизистой оболочки полости рта, санированной полостью рта, индексом КПУ не более 10, без хронических заболеваний желудочно-кишечного тракта и аллергических заболеваний в анамнезе.

Первую исследуемую группу (РАС) составили 32 студента Сургутского государственного университета, у которых во время медицинского осмотра был выявлен рецидивирующий афтозный стоматит, проявлявшийся высыпанием одиночных афт. В анамнезе отмечено появление афт с частотой до 2–3 раз в год. За медицинской помощью по поводу заболеваний полости рта студенты ранее не обращались.

Вторую исследуемую группу (РАС—НГИЗ) составили больные из числа обратившихся в стоматологическую поликлинику с жалобами на заболевания зубов и афты на слизистой оболочке полости рта — 64 человека. В анамнезе больные отмечали нарушения функции желудочно-кишечного тракта. Эти больные направлялись на консультацию к гастроэнтерологу для диагностирования гастроинтестинальных заболеваний.

В третью исследуемую группу (РАС—АЛЗ) вошли 34 больных хроническим рецидивирующим афтозным стоматитом и аллергическим ринитом, направленные к стоматологу аллергологом для лечения стоматита.

Диагноз «рецидивирующий афтозный стоматит» ставился на основании клинических данных. Всем

больным и лицам контрольной группы было проведено бактериологическое исследование качественного и количественного состава микрофлоры слизистой оболочки полости рта.

Забор материала со слизистой оболочки полости рта осуществляли стерильным тампоном по методике В.С. Крамарь [2]. Тампоны помещали в пробирки с 1 мл сахарного бульона. Затем 0,1 мл бульона высевали на соответствующие питательные среды. Дальнейшая идентификация микроорганизмов проводилась в соответствии с Приказом Минздрава СССР № 535 от 22.04.1985 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений».

Гистидиндекарбоксилазную активность бактерий определяли по методу А.В. Куярова [9]. Систематизация материала выполнена с применением программного пакета электронных таблиц Microsoft Excel, статистические расчеты — с применением пакета программ «Statistica 6.0». Анализ взаимосвязей переменных проведен методом линейного корреляционного анализа Пирсона (r). Для реализации возможностей в дифференциальной диагностике и прогнозировании использован метод последовательной диагностической процедуры А. Вальда [4].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено, что в контрольной и исследуемых группах у всех лиц со слизистой оболочки полости рта выделялись представители рода *Staphylococcus* (табл. 1). Во II и III группах, где стоматит сопровождался неспецифическими гастроинтестинальными и аллергическими заболеваниями, частота выделения стафилококковой флоры достоверно увеличивалась в 1,2–2,5 раза по сравнению с контрольной группой.

Повышенное содержание представителей рода *Staphylococcus* на слизистой оболочке полости рта сопровождается увеличением доли *S. aureus*. Если в контрольной группе *S. aureus* выделялся у 2 (6,3%) исследуемых, то в III группе — у 18 (52,9%) лиц, 11 из которых имели повышенное количество данного микроорганизма.

Нарушение биоценоза слизистой оболочки полости рта характеризовалось снижением частоты обнаружения представителей родов *Streptococcus* и *Lactobacillus*. Это снижение во II и III группах носило достоверный ($p < 0,05$) характер — с 34,3% в контроле до 12,5 и 11,7% соответственно. Признаком нарушения микробного сообщества слизистой оболочки полости рта в исследуемых группах явилось выделение представителей энтеробактерий (11,8% случаев в III группе) и увеличение индикации дрожжеподобных клеток рода *Candida* в I–III группах в 2,0–2,8 раза (статистически недостоверно, $p > 0,05$).

Применение метода последовательной диагностической процедуры, разработанного А. Вальдом, позволило

определить диагностическую информативность (ДИ) выделяемых микроорганизмов в каждой исследуемой группе (табл. 2).

Наибольшие величины диагностического коэффициента (ДК) наблюдались при выделении со слизистой оболочки полости рта *S. aureus* и, в частности, при его содержании более 3 lg КОЕ/мл (9 и 10 баллов соответственно).

В данном случае выявление *S. aureus* более 10³ КОЕ/мл достоверно подтверждает клинические проявления дисбиоза полости рта по результату первичного бактериологического исследования с долей ошибки не более 10,0%.

Выделение представителей рода *Staphylococcus* более 10³ КОЕ/мл и *S. epidermidis* с гемолитическими свойствами указывает на диагностическую значимость в 7 и 6 баллов соответственно. Появление на слизистой оболочке полости рта энтеробактерий также оценивается в 6 баллов. Снижение содержания лактобактерий и повышение содержания дрожжеподобных грибов *Candida* имели диагностический коэффициент в 5 баллов.

Показатели диагностической значимости ферментных факторов патогенности стафилококков, выделенных со слизистой оболочки полости рта во II и III группах, представлены в табл. 3 и 4.

У всех представителей вида *S. aureus* были относительно высокие диагностические коэффициенты и показатели информативности для определяемых ферментных факторов патогенности, ДК составлял от 3 до 6 баллов, ДИ составляла от 0,50 до 1,0. Наибольшая выраженность ДК отмечена при гистидиндекарбоксилирующей активности во II группе (5 баллов при ДИ 0,91) и в III группе (6 баллов при ДИ 0,71). У подавляющего большинства штаммов исследуемых групп наблюдалась уреазная активность: от 71,4 до 87,5% случаев во II и III группах.

У эпидермального стафилококка из факторов патогенности чаще всего выявлялась гемолитическая активность (93,6% во II и 93,3% случаев в III группе), что придало этому признаку наибольшие диагностические коэффициенты (ДК=5). Реже у представителей этого вида наблюдалась протеолитическая и уреазная активность (ДК 3 и 2 балла соответственно). Наибольшей гистидиндекарбоксилирующей активностью обладал *S. epidermidis*, выделенный у лиц III группы (ДК=5).

При оценке взаимосвязей между факторами патогенности *S. aureus*, выделенных из полости рта, установлена прямая и достоверная корреляционная связь между протеолитической, уреазной и гистидиндекарбоксилирующей активностями. Это может свидетельствовать

Таблица 1. Показатели видового и количественного состояния микрофлоры слизистой оболочки полости рта в исследуемых группах

Микроорганизм	Исследуемая группа							
	Контроль (32 человека)		I (32 человека)		II (64 человека)		III (34 человека)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
<i>Staphylococcus spp.</i>	12	37,5	17	53,1	35	54,7	24	70,6
<i>Staphylococcus spp.</i> , более 10 ³ КОЕ/мл	2	6,3	7	21,9*	16	25,0*	10	29,4*
<i>S. aureus</i>	2	6,3	10	31,3*	25	39,1*	18	52,9*
<i>S. aureus</i> , более 10 ³ КОЕ/мл	1	3,1	7	21,9*	17	26,5*	11	32,4*
<i>S. epidermidis</i>	4	12,5	4	12,5	7	10,9	4	11,8
<i>S. epidermidis</i> гемолиз +	1	3,1	3	9,3	6	9,4	4	11,8
<i>Streptococcus spp.</i>	12	37,5	9	28,1	15	23,4	7	20,6
<i>Lactobacillus spp.</i>	11	34,3	6	18,8	8	12,5*	4	11,7*
<i>Enterobacteriaceae spp.</i>	0	0	0	0	2	3,1	4	11,8
<i>Candida</i>	2	6,3	4	12,5	9	15,6	7	17,6

* Статистически достоверное ($p < 0,05$) отличие по сравнению с контрольной группой.

о высоком адаптивном потенциале этих микроорганизмов ($r = 0,93 - 0,98$ при $t = 2,6 - 4,4$).

У *S. epidermidis* наиболее выраженной корреляционной зависимостью были связаны проявления гемолитической, протеолитической и уреазной активности ($r = 0,97 - 1,00$ при $t = 4,1 - 6,8$).

Наиболее информативные и диагностически значимые показатели ферментных факторов патогенности представителей вида *S. aureus* и *S. epidermidis* обобщены в табл. 5.

Таблица 2. Диагностическая информативность состояния микрофлоры слизистой оболочки полости рта в исследуемых группах

Микроорганизм	I группа		II группа		III группа	
	ДК	ДИ	ДК	ДИ	ДК	ДИ
<i>Staphylococcus spp.</i>	3	0,41	3	0,50	4	0,41
<i>Staphylococcus spp.</i> , более 10 ³ КОЕ/мл	5	0,71	6	0,91	7	1,00
<i>S. aureus</i> , более 10 КОЕ/мл	7	1,00	8	1,70	9	2,20
<i>S. aureus</i> , более 10 ³ КОЕ/мл	8	1,50	9	2,40	10	2,80
<i>S. epidermidis</i>	—	—	—	—	—	—
<i>S. epidermidis</i> гемолиз +	4	0,52	4	0,56	6	0,86
<i>Streptococcus spp.</i>	0	-	2	0,26	3	0,41
<i>Lactobacillus spp.</i>	2	0,23	4	0,56	5	0,71
<i>Enterobacteriaceae spp.</i>	0	-	0	-	6	0,86
<i>Candida</i>	3	0,41	4	0,56	5	0,71

Примечание. Достаточная информативность показателей при $ДИ_{\min} = 0,5$.

Таблица 3. Диагностическая информативность показателей ферментных факторов колонизации *S. aureus*, выделенных со слизистой оболочки полости рта

Показатель	Контроль		II группа			III группа		
	абс.	%	абс.	%	ДК ДИ	абс.	%	ДК ДИ
Протеолиз	9	28,1±7,9	32	65,3±6,8*	4 0,80	21	65,6±8,3*	4 0,80
Уреаза	12	37,5±8,5	35	71,4±6,4*	3 0,50	28	87,5±5,8**	4 1,0
Гистидинде- карбоксилаза	5	15,6±6,9	15	53,1±7,1*	5 0,91	20	62,5±8,5*	6 0,71

Примечание. Отличие статистически достоверно ($p < 0,05$) по сравнению:

* — с контрольной группой; ** — со II группой.

Таблица 4. Диагностическая информативность показателей ферментных факторов колонизации *S. epidermidis*, выделенных со слизистой оболочки полости рта

Показатель	Контроль		II группа			III группа		
	абс.	%	абс.	%	ДК ДИ	абс.	%	ДК ДИ
Гемолиз	14	30,4±6,8	59	93,6±3,0*	5 1,6	32	94,1±4,0*	5 1,6
Протеолиз	12	26,1±6,5	35	55,5±6,3*	3 0,41	19	55,9±8,5*	3 0,42
Уреаза	25	54,3±7,3	26	81,2±6,9*	2 0,32	29	85,2±6,1*	2 0,32
Гистидинде- карбоксилаза	11	23,9±6,3	34	53,9±6,3*	4 0,76	23	67,6±8,0*	5 0,41

* Отличие статистически достоверно ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой.

Фенотипические признаки ферментативной активности, которые повышают потенциал патогенности бактерий во II и III группах, составляют диагностически информативные показатели как для представителей вида *S. aureus*, так и для *S. epidermidis*.

Пороговые суммы диагностических коэффициентов, достижение которых достаточно для вынесения решения о биологических возможностях микроорганизмов в развитии и прогнозировании воспалительного процесса с вероятностью ошибки не выше 5% ($p < 0,05$), должны быть не менее 13 баллов.

Если дифференцирующий порог достигает 10 баллов, то вероятность ошибки будет в пределах 10%. Это зона диагностической неопределенности, и поэтому окончательное заключение по потенциалу патогенности выделенного штамма возможно при проведении дополнительных дифференцирующих признаков.

Достижение уровня 20 баллов дает основание для дифференциальной диагностики с вероятностью ошибки в 1,0% ($p < 0,01$), что с большей вероятностью даст возможность прогнозировать изменения в организме человека.

Фактическая сумма ДК позволила анализируемые штаммы *S. aureus* и *S. epidermidis* расценивать как этиологический фактор возникающего воспалительного процесса при рецидивирующем афтозном стоматите.

Таким образом, при исследовании биоценоза полости рта в исследуемых группах установлено, что

при рецидивирующем афтозном стоматите, сопровождающимся неспецифическими гастроинтестинальными и аллергическими заболеваниями, наблюдалось увеличение числа случаев с повышенным содержанием представителей рода *Staphylococcus*, из которых наибольшую диагностическую значимость имеет индикация *S. aureus* и *S. epidermidis* с гемолитическими свойствами. Нарушение биоценоза слизистой оболочки полости рта сопровождалось достоверным снижением частоты выделения представителей *Lactobacillus*. При этом отмечено увеличение индикации со слизистой оболочки полости рта дрожжеподобных клеток рода *Candida*. Признаком нарушения эубиоза слизистой оболочки полости рта в исследуемых группах явилось выделение представителей энтеробактерий.

Для исследуемых ферментных факторов колонизации изолятов *S. aureus*, выделенных со слизистой оболочки полости рта при РАС, характерны значительные диагностические коэффициенты с достаточной степенью информативности (прямая корреляционная связь между гемолитической, протеолитической и уреазной активностью). Наибольшая гистидиндекарбоксилирующая активность отмечена в группе больных стоматитом, отягощенным аллергоанамнезом. У представителей вида *S. epidermidis* в подавляющем большинстве выделенных культур наблюдалась гемолитическая и уреазная активность.

Таблица 5. Диагностическая информативность ферментных факторов патогенности стафилококков, выделенных со слизистой оболочки полости рта

Показатель	<i>S. aureus</i>				<i>S. epidermidis</i>			
	II группа		III группа		II группа		III группа	
	ДК	ДИ	ДК	ДИ	ДК	ДИ	ДК	ДИ
Концентрация более 10^3 КОЭ/мл	9	2,40	10	2,80	6	0,10	7	0,23
Гемолиз	—	—	—	—	5	1,60	5	1,60
Протеолиз	4	0,80	4	0,80	3	0,41	3	0,42
Уреаза	3	0,50	4	1,00	2	0,32	2	0,32
Гистидинде- карбоксилаза	5	0,91	6	0,71	4	0,14	5	0,41
Сумма	21	4,61	24	5,31	20	2,57	22	2,98

Примечание. Достаточная информативность показателей при $ДИ_{\text{min}} = 0,5$.

Получен диагностический алгоритм оценки состояния биоценоза, позволяющий дифференцировать микроорганизмы с позиции их этиологической роли в воспалительном процессе и определить мероприятия, профилактирующие рецидивирующий афтозный стоматит.

ВЫВОДЫ

1. При рецидивирующем афтозном стоматите, сопровождающимся неспецифическими гастроинтестинальными и аллергическими заболеваниями, наблюдается увеличение числа случаев с повышенным содержанием представителей рода *Staphylococcus*, из которых наибольшую диагностическую значимость имеет индикация *S. aureus* и *S. epidermidis* с гемолитической активностью.

2. Нарушение биоценоза слизистой оболочки полости рта при рецидивирующем афтозном стоматите характеризуется снижением частоты выделения представителей *Lactobacillus* при увеличении индикации со слизистой оболочки полости рта дрожжеподобных клеток рода *Candida* и энтеробактерий.
3. Ферментные факторы патогенности изолятов *Staphylococcus* как протеолитическая, уреазная и гистициндекарбоксилирующая активности имеют прямую и сильную корреляционную связь, свидетельствующую о высоком адаптивном потенциале этих микроорганизмов при РАС.
4. Достижение пороговой суммы диагностических коэффициентов анализируемых штаммов *S. aureus* и *S. epidermidis* позволит расценивать их как этиологический фактор возникающего воспалительного процесса при рецидивирующем афтозном стоматите.

ЛИТЕРАТУРА:

1. **Ефимович О.И.** Клинико-лабораторное обоснование терапии дисбактериоза слизистой оболочки рта: автореф. дис. ... к.м.н. — М., 2002. — 29 с.
2. **Куркина О.Н.** Колонизационная резистентность полости рта при аномалии положения зубов: автореф. дис. ... к.м.н. — Волгоград, 2003. — 21 с.
3. **Лабис В.В., Базикян Э.А., Козлов И.Г.** Бактериальный фактор как участник инфекционного воспалительного процесса в полости рта. — *Российский стоматологический журнал*. — 2013; 4: 19—21.
4. **Куяров А.В., Клюева Л.А., Куярова Г.Н.** Микробная экология детей Севера (клиника нарушений, диагностика, коррекция). — Ханты-Мансийск: Полиграфист, 2008. — 100 с.
5. **Рабинович И.М., Рабинович О.Ф., Островский А.Д.** Особенности подготовки пациентов с патологией слизистой оболочки полости рта к ортопедическому лечению. — *Клиническая стоматология*. — 2012; 4: 40—3.
6. **Сильвермен С., Эверсоул Л.Р., Трулав Э.Л.** Заболевания полости рта (пер. с англ.). — М.: МЕДпресс-информ, 2010. — 472 с.
7. **Тец В.В.** Роль микрофлоры полости рта в развитии заболеваний человека. Обзор. — *Стоматология*. — 2008; 3: 76—80.
8. **Бухарин О.В. и др.** Экология микроорганизмов человека. — Екатеринбург: УрО РАН, 2006.
9. **Куяров А.В., Воропаева Е.А., Алешкин В.А., Афанасьев С.С., Рубальский О.В., Клюева Л.А., Давыдкин И.Ю., Рубальская Е.Е.** Способ определения гистициндекарбоксилазной активности бактерий, МПК: G01N. — Патент 2299440 РФ. — Заявка 2009102950/13, 29.01.2009 (24). — Опубликовано 27.06.2010.
10. **Socransky S.S., Haffajee A.D.** Periodontal microbial ecology. — *Periodontol.*-2000. — 2005; 38: 135—187.
11. **Teles F.R., Teles R.P.** Early microbial succession in redeveloping dental biofilms in periodontal health and disease. — *J Periodont Res*. — 2012; 47: 95—104.