

## ВЛИЯНИЕ МИКРОФЛОРЫ БИОТОПОВ ПОЛОСТИ РТА НА ЦЕЛОСТНОСТЬ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ У ДЕТЕЙ

<sup>1</sup>Казакова Л.Н., <sup>1</sup>Пронина Е.А. <sup>1</sup>Махонова Е.В.

<sup>1</sup>ГОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского Минздрава России», Саратов, Россия, e-mail: kazakova-lor@yandex.ru

Основным этиологическим фактором при развитии многих заболеваний полости рта у детей являются микроорганизмы и вирусы. Полость рта занимает второе место по степени обсемененности микроорганизмами, имеющими различную степень вирулентности. Их вирулентность возрастает в ассоциативных связях, при образовании биопленок, при дисбиотических нарушениях в различных биотопах полости рта. Плохая гигиена полости рта способствует росту и размножению микроорганизмов. По степени обсемененности полость рта не однородна. Максимальное количество микроорганизмов концентрируется в участках, имеющих для этого анатомические особенности. Наиболее частыми клиническими проявлениями высокой активности микрофлоры являются стоматиты, кариес, пародонтиты, периодонтиты. Мониторинг биоценозов полости рта позволяет анализировать их видовое разнообразие и структурную перестройку, что является необходимым этапом для оптимизации подходов в лечении и профилактики стоматологических заболеваний полости рта.

Ключевые слова: микроорганизмы, анаэробы, кариес, гигиена полости рта, дети, стоматит.

## THE INFLUENCE OF ORAL CAVITY BIOTOPES' MICRO FLORA ON THE CHILDREN'S MUCOUS MEMBRANE INTEGRITY

<sup>1</sup>Kazakova L.N., <sup>1</sup>Pronina E.A., <sup>1</sup>Mahonova E.V.

<sup>1</sup>Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Saratov, Russia, e-mail: kazakova-lor@yandex.ru

Presence of microorganisms and viruses is the main etiological factor at many types of oral diseases. Oral cavity is the second by the number of microorganisms with different level of virulence. Virulence of microorganisms increases in associative links, biofilms formation and dysbiotic processes in various oral cavity biotopes. Poor oral hygiene stimulates microorganisms' growth and reproduction. Oral cavity is not homogeneous in terms of number of microorganisms' settlements. Most of microorganisms are concentrated in areas with special anatomical features. Stomatitis, dental caries, paro and periodontitis are the most frequent clinical manifestations of high active micro flora. Monitoring of oral cavities' biocenoses allows to perform the analysis of their variety and structural adjustments, which is vital for optimal treatment and prevention of dental oral cavity diseases.

Keywords: microorganism, anaerobe, caries, oral cavity hygiene, children, stomatitis.

Стоматологические заболевания являются самыми распространёнными среди всех соматических заболеваний. Каждый ребенок знает слова «кариес» и «стоматит» не понаслышке. Основной причиной развития стоматитов у детей является бактериальная флора полости рта [6]. В норме специфические и неспецифические факторы противомикробной резистентности слизистой оболочки полости рта, биохимические и иммунологические свойства слюны препятствуют развитию воспалительной реакции. Формирование микробиоценоза полости рта - многоступенчатый процесс, неразрывно связанный с закономерностями развития зубочелюстной системы (ЗЧС). Транзиторные микроорганизмы постоянно попадают в полость рта детей с грязных рук, игрушек, при поцелуях родных, и нарушают микроэкологические, компенсаторно-приспособительные взаимоотношения как микроорганизмов друг с другом, так и со средой.

Клиническая картина воспаления у конкретного больного зависит от причин его возникновения и индивидуальных условий, на фоне которых протекает этот типичный патологический процесс [4].

Для понимания патологических процессов в полости рта у детей значение имеет знание топографических, морфологических, гистологических и гистохимических процессов, которые резко меняются в зависимости от возраста. Выделяют три возрастных периода, которые имеют существенные отличия в строении и характеризуют динамику развития основных структур слизистой оболочки. Грудной период – с 10 дня до 1 года, ранний детский - 1-3 года, детский период: первичный 4-7 лет, вторичный 8-12 лет. Со сменой периодов совершенствуются факторы местной защиты слизистой оболочки [2; 5]. И, несмотря на качественную перестройку структур СОПР в детском периоде, которые характеризуются кардинально новыми направлениями в формировании защитных механизмов, частота встречаемости стоматитов у детей очень высокая.

Катаральный, острый, афтозный стоматиты по своей симптоматике у детей очень схожи, неадекватное комплексное лечение банальных форм часто способствует их переходу в афтозную [1; 5; 9]. До сегодняшнего дня дискуссионным остается вопрос этиологии стоматитов, какие факторы доминируют, а какие предрасполагают к развитию заболевания.

Установление точной этиологии стоматита в каждом конкретном случае определяет направление медикаментозной терапии, систему мер профилактики и прогноз его рецидива.

**Цель исследования:** повысить эффективность диагностики стоматита у детей путем выявления факторов риска, определить биоценотические взаимоотношения стафилококков, стрептококков, колонизирующих биотоп щеки, маргинальной десны и подъязычной области.

**Материалы и методы исследования.** В ходе проведенного исследования была обследована группа детей в возрасте 7-10 лет в количестве 60 человек, относящихся к первой и второй группе здоровья, не имеющих отягощенного аллергоанамнеза. Исследование проводилось при информированном согласии родителей. На этапе исследования 50 детей не имели жалоб, характерных для воспалительных заболеваний полости рта, 10 детей в полости рта на момент обследования имели от 2 до 5 элементов различной локализации. Дети были разделены на три группы по частоте проявления стоматита в полости рта. Первую группу составили здоровые дети, в анамнезе которых не было выявлено жалоб, характерных для стоматита (20 человек), ни в одном из периодов развития СОПР. Вторая группа (20 чел.) - из анамнеза выявлено однократное обращение к стоматологу по поводу стоматита. Третья группа (20 чел.) - это дети, один раз в год обращающиеся к детскому стоматологу с жалобами на появление болезненных афт в полости рта. Обследование проводилось с использованием

основных и дополнительных методов исследования: опрос, осмотр полости рта, зондирование, перкуссия, определение гигиенического состояния полости рта, микробиологическое исследование биотопов полости рта.

При осмотре полости рта, зондировании, перкуссии определяли состояние слизистой оболочки, состояние зубных рядов, наличие кариозных, некариозных поражений твердых тканей зубов. Гигиеническое состояние полости рта определяли методом Грина-Вермиллиона (ОНИ-S). Для окрашивания зубного налета использовали таблетки «Динал», они просты в использовании и их применение не влияло на эмоциональный фон детей. Зубной налет определяли на зубах разной групповой принадлежности, на поверхностях, наиболее подверженных накоплению зубных отложений. Числовое отображение данного диагностического критерия при этом методе исследования [3] характеризует площадь зубного налета. Интенсивность кариеса на этом этапе сменного прикуса определяли анализом кп и КПУ [8].

Бактериологическое исследование проводили в соответствии с общепринятыми правилами клинической микробиологии для выделения аэробных и факультативно - анаэробных микроорганизмов, с обязательной количественной оценкой результатов (первичный посев выполнялся из разведений исследуемого материала –  $10^{-1}$  –  $10^{-5}$ ), что необходимо при выделении условно-патогенных бактерий [7]. Чистые культуры факультативно-анаэробных бактерий получали, используя 5%-ный кровяной агар, с обязательным помещением посевов в эксикаторы. После подсчета количества изолированных колоний на плотных питательных средах проводили идентификацию выделенных культур. С помощью комплекса морфологических, культуральных и биохимических признаков в соответствии с классификацией Берджи (1980) устанавливали вид выделенных бактерий. Биохимическую идентификацию чистых культур стрептококков, энтерококков, стафилококков проводили с помощью тест-систем фирмы «Ляхема».

Плотность популяций различных групп микроорганизмов выражали в колониеобразующих единицах (КОЕ). Забор материала для бактериологического исследования проводили с поверхности слизистой оболочки щеки, со слизистой маргинальной десны в проекции зубов, исследуемых при анализе индекса гигиены, со слизистой дна полости рта, с поверхности афт.

На основании основных и дополнительных методов исследования дети в группах, по интенсивности кариозного процесса, распределились следующим образом: в 1-й группе активность кариеса низкая, гигиена полости рта хорошая, структура твердых тканей зубов удовлетворительная, прорезывавшиеся постоянные зубы нормальной формы и величины, слизистая полости рта бледно-розового цвета, без патологических изменений. Во 2-й группе

у 8 пациентов из 20 была выявлена умеренная интенсивность кариеса, у 4 – высокая интенсивность кариеса, у 8 - низкая, гигиена полости рта преимущественно хорошая. Структура твердых тканей постоянных зубов не изменена, патологических изменений со стороны СОПР в момент обследования выявлено не было. В 3-й группе у 10 пациентов на момент обследования имелись на слизистой оболочке полости рта афты. Высыпания локализовались преимущественно на слизистой оболочке щеки в проекции шеек зубов, покрытых мягкими зубными отложениями, афты были покрыты фибринозным налетом, болезненные при пальпации. Показатель ОНI-S в этой группе равен в среднем 0.5, что соответствует хорошему уровню гигиены полости рта, у 2 пациентов показатель ОНI-S равен 1.2. 12 пациентов имели высокую интенсивность кариеса, 8 – умеренную интенсивность кариеса.

Проведенное обследование показало: в первой группе обследуемых в 100% случаев диагностируется низкая интенсивность кариеса, в 100% случаев хорошая гигиена полости рта, и имеющиеся патологические очаги на твердых тканях имели хроническое течение. Во второй группе низкая и умеренная интенсивность кариеса определялась в 80% случаев, 20% обследуемых имели высокую интенсивность кариеса. Гигиенический индекс в 100% случаев низкий. В третьей группе обследуемых неудовлетворительный уровень гигиены выявили только в 20% случаев, хороший уровень гигиены в 80%. Однако на фоне хорошей гигиены полости рта в этой группе обследуемых 40% детей имели умеренную интенсивность кариеса, 60% - высокую интенсивность кариеса. 90% патологических процессов на твердых тканях зубов имели острое течение.

Анализируя данные проведенного бактериологического исследования, выявили многообразный видовой состав и высокую плотность КОЕ во всех исследуемых биотопах при первичном посеве, самыми многочисленными микроорганизмами в биотопах были стрептококки.

Высокая плотность КОЕ стрептококков сохранялась до разведения  $10^{-4}$ , в биоматериале, взятом со слизистой маргинальной десны и пришеечной области во всех трех группах обследуемых (табл. 1, рис. 1). В группе стрептококков были идентифицированы *Streptococcus mutans*, *S. sanguis*, *S. salivarius*, *S. mitis*, *S. viridans*. Индекс доминирования данного вида микроорганизмов составил 100%.

Таблица 1

Средние значения КОЕ выявленных микроорганизмов и частота их встречаемости у пациентов групп 1, 2 и 3 в зоне пришеечной области при разведении  $10^{-4}$

	Группа 1 (20 чел.)	Группа 2 (20 чел.)	Группа 3 (20 чел.)
--	--------------------	--------------------	--------------------

Микроорганизмы	Среднее, m (КОЕ)	Доля встречаемости (0<p<1)	Среднее, m (КОЕ)	Доля встречаемости (0<p<1)	Среднее, m (КОЕ)	Доля встречаемости (0<p<1)
<i>S. salivarius</i>	9,57	0,7*	13,57	0,7	16,33	0,9
<i>S. sanguis</i>	10,55	0,9	12,25	0,8	15,7	1,0
<i>S. mitis</i>	9	0,7	16,14	0,7	12,0	0,9
<i>S. mutans</i>	12,33	0,6	13,5	0,8	19,0	1,0
<i>S. viridans</i>	0	0	0	0	4,75	0,4
<i>S. aureus</i>	3	0,1	4	0,1	4,28	0,7
<i>S.haemolyticus</i>	0	0	0	0,1	3,2	0,5
<i>Lactobacter</i>	7,66	0,3	17,13	0,8	16,75	0,8
<i>Enterococcus</i>	9,0	0,5	14,71	0,7	8,7	1
<i>Candida spp.</i>	3	0,1	4	0,5	5,75	0,8

\*доля встречаемости характеризует количество пациентов в группе, у которых выявлен конкретный вид микроорганизма (значение 0,7 соответствует 70% пациентов, т.е. 14 из 20 обследованных человек в группе 1, у которых обнаружен *S. salivarius*).

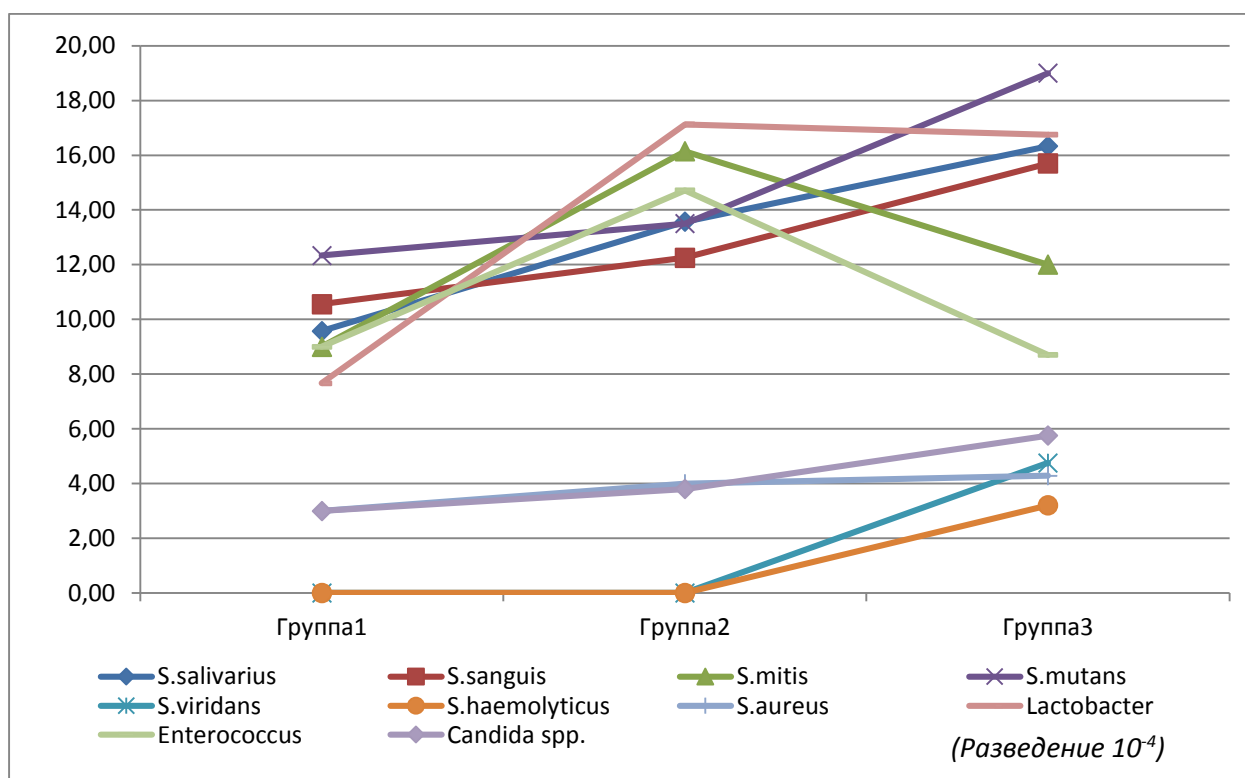


Рис. 1. Средние КОЕ выделенных микроорганизмов в исследуемых биотопах пришеечной области (разведение 10<sup>-4</sup>).

При разведении 10<sup>-4</sup> в данном биотопе *S. salivarius* и *S. mitis* был выделен в 70% случаях в первой и во второй группах, в третьей группе *S. salivarius* и *S. mitis* был выделен в 90% случаев. *S. sanguis*, *S. mutans* в 100% случаев были выделены при разведении 10<sup>-4</sup> в третьей

группе, в 80% случаев - во второй. Применение к исследуемым данным параметрического критерия Даннета, с выбором группы 1 в качестве контрольной, выявило значимое различие групп 1 и 3 в части признаков *S. salivarius* (число степеней свободы  $\nu=29$ , число групп сравнения  $l=3$ , уровень значимости  $\alpha=0,05$ ), *S. sanguis* ( $\alpha=0,05$ ,  $\nu=35$ ,  $l=3$ ) и *S. mutans* ( $\alpha=0,05$ ,  $\nu=29$ ,  $l=3$ ). Данное различие подтверждено также непараметрическими критериями Крускала-Уоллиса и Данна.

При анализе биомассы в первичном посеве отмечали высокую плотность стафилококка. Типирование позволило выделить *Staphylococcus aureus*, *S. haemolyticus*, наибольшая частота встречаемости этих микроорганизмов была в третьей группе исследуемых (рис. 2) во всех разведениях. Доверительные интервалы (95%) оценки частоты встречаемости в группах 1 и 3 при разведении  $10^{-4}$ , построенные с использованием биномиального распределения с учетом малых выборок (рис. 3), позволили выявить значимые отличия групп в части названных микроорганизмов и выделить данные признаки как существенные, имеющее значение для прогнозирования патологического процесса. Высокая плотность КОЕ лактобактерий и энтерококков в третьей группе сохранялась до  $10^{-5}$ . При разведении  $10^{-5}$  средняя плотность КОЕ лактобактерий в зоне пришеечной области составила 5,25, плотность КОЕ энтерококков 7,5.

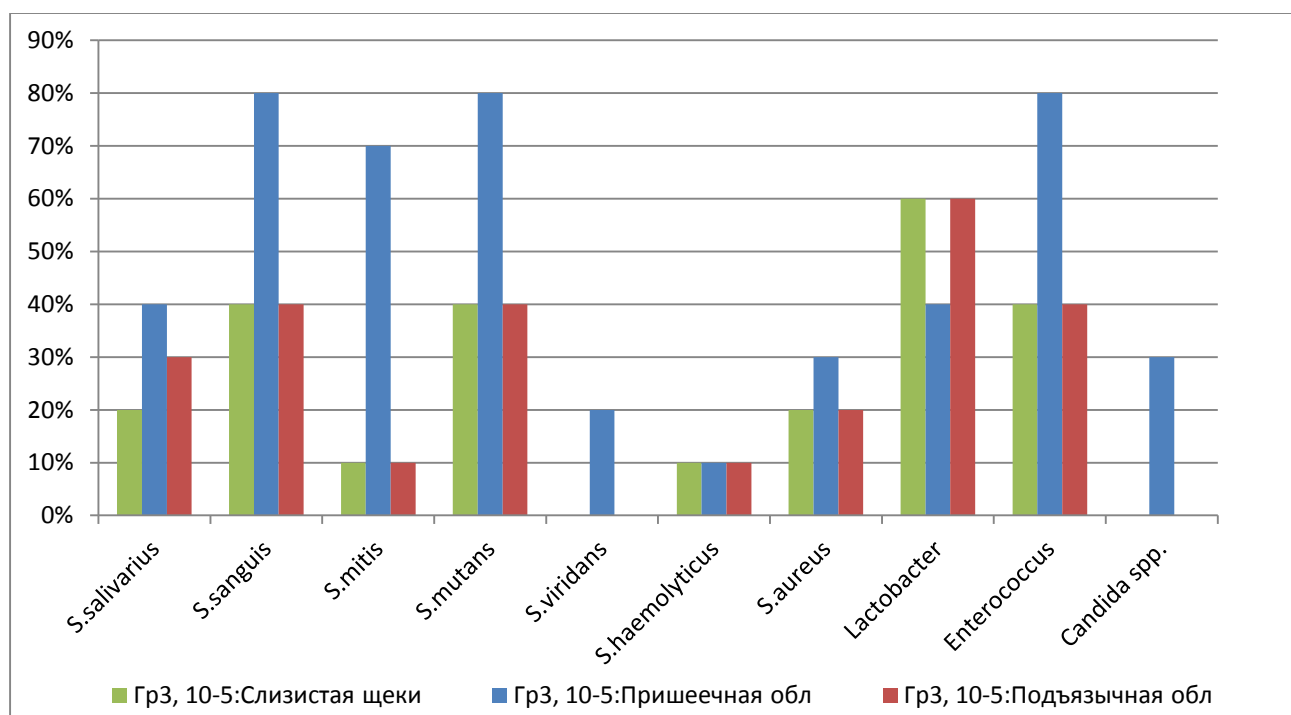


Рис. 2. Частота встречаемости (%) аэробов и факультативных анаэробов в исследуемых биотопах при разведении  $10^{-5}$  у пациентов группы 3.

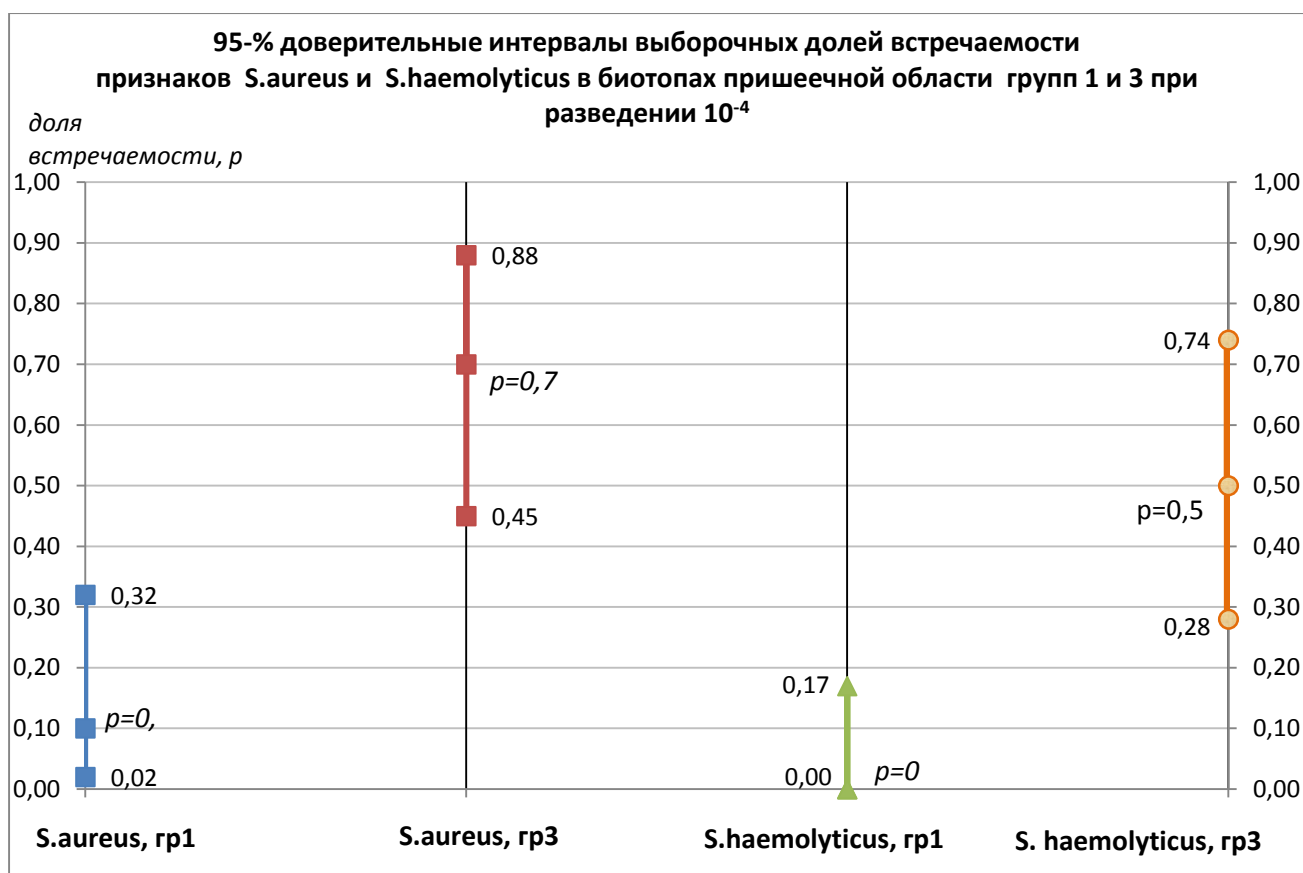


Рис. 3. 95%-ные доверительные интервалы выборочных долей встречаемости признаков *S. aureus* и *S. haemolyticus* в биотопах пришеечной области групп 1 и 3 при разведении  $10^{-4}$ .

Индекс встречаемости *S.viridans*, выделенного с поверхности афт, составил 100%. Этот гемолитический зеленящий стрептококк был выделен у 40% пациентов группы 3 в зоне пришеечной области при разведении  $10^{-4}$  (средняя плотность 4,75 КОЕ). Его присутствие сохранилось и при разведении до  $10^{-5}$  в количестве 5 КОЕ у 20% пациентов. Аэробная микрофлора данного биотопа в исследуемых группах характеризуется изменчивостью и динамичностью.

Сравнительный анализ микробного состава биотопов щеки, подъязычной и пришеечной областей показал максимальную степень обсемененности пришеечной области. Биотоп пришеечной области условно здоровых пациентов 1, 2, 3-й групп отличается количественными и качественными показателями при максимальном разведении. В третьей группе выделена самая высокая плотность КОЕ идентифицированных стрептококков, стафилококков, лактобактерий и энтерококков. Плотность микробной колонизации была ниже на слизистой оболочке щеки и минимальной на слизистой подъязычной области. Высокий уровень обсемененности резидентной микрофлорой участков слизистой оболочки полости рта, сохраняющийся при разведении  $10^{-4}$  (многих до  $10^{-5}$ ), способствует угнетению местного иммунитета и тем самым создает благоприятные условия для контаминации транзитных микроорганизмов, что и приводит к повышению вирулентности биотопа.

Выявлены изменения и перестройка микробиоценоза области афты, характеризующиеся снижением доминирования и экологической значимости основных симбионтов, а также увеличением частоты встречаемости транзиторной микрофлоры. Транзиторные микроорганизмы, высеиваемые при стоматите, обладают более выраженной патогенностью, что и проявляется клинически в виде патологических образований на слизистой полости рта. *S. haemolyticus* в биотопе афты сохраняет свою доминанту до максимального разведения.

Различная степень контаминации разных биотопов у одного пациента связана с анатомическими особенностями строения этих поверхностей и иммунологическим фоном. Постоянное выделение секрета подъязычной и подчелюстной слюнных желез способствует поддержанию высоких концентраций факторов иммунологической защиты в подъязычной области полости рта, что позволяет контролировать уровень обсемененности и препятствовать развитию воспаления в этой области. Однако выявленные дисбиотические нарушения в биотопах щеки и маргинальной, пришеечной области показывают несостоятельность местного иммунитета полости рта в целом.

Таким образом, тип стафилококкового бактерионосительства и *S. viridans* при заболеваниях слизистой оболочки полости рта (бактериальных стоматитах) является способом микробиологического мониторинга выделения групп риска для данной патологии полости рта с учетом определения структуры заболевания, а также клинико-микробиологических показателей. Анализ анаэробной структуры экосистемы выявил различные доли участия микроорганизмов в микробиоценозах полости рта и позволил определить дисбиотические изменения в биотопах. Установлено, что доминантным видом, формирующим микрофлору микробиоценозов, являются стрептококки, видовое процентное соотношение последних различно в исследуемых биотопах.

### Список литературы

1. Берк К., Бургдорф В., Хеде Н. Болезни слизистой оболочки полости рта и губ. Клиника, диагностика и лечение : атлас и руководство / пер. с нем. - М. : Медицинская литература, 2011.
2. Виноградова Т.Ф. Атлас по стоматологическим заболеваниям у детей : учебное пособие. – М. : МЕД пресс-информ., 2007. – 350 с.
3. Герберт Ф. Вольф Пародонтология / Герберт Ф. Вольф, Эдит М., Клаус Н. Ратейцхак; пер. с нем., под ред. проф. Г.М. Барера. - М. : МЕД пресс-информ, 2008. – 548 с.



4. Грудянов А.И. Заболевания пародонта. - М. : Медицинское информационное агентство, 2009. - 336 с. : ил.
5. Кисельникова Л.П. Детская терапевтическая стоматология : учебное пособие. – М. : Литтера, 2010. – 208 с.
6. Леонтьев В.К. Детская терапевтическая стоматология. Национальное руководство / под. ред. В.К. Леонтьева, Л.П. Кисельниковой, Маслак Е.Е. – М. : ГЭОТАР – Медиа, 2010. – 896 с.
7. Лопухов Л.В., Эйдельштейн Н.В. // Клин. микробиология и антимикроб. химиотерапия. — 2000. — Т. 2, № 3. — С. 96—106.
8. Маслак Е.Е. Развитие кариеса зубов и гигиена полости рта у детей раннего возраста / Е.Е. Маслак, Е.Н. Каменнова, Т.Н. Каменнова, И.В. Афонина // Бюллетень Волгоградского научного центра РАМН. - 2010. - № 1. - С. 48-51.
9. Морозова С.И., Савельева Н.А. Заболевания слизистой оболочки рта : атлас. мед. информ. агентство. - 2012.

**Рецензенты:**

Слудский А.А., д.б.н., с.н.с. лаборатории эпизоотологического мониторинга, ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;

Щербаков А.А., д.б.н., профессор, профессор кафедры микробиологии, биотехнологии и химии, ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова», г. Саратов.