

УДК 616.314 – 002.4:577.1

ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА И ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ МИКРОФЛОРЫ ПОЛОСТИ РТА И ОСОБЕННОСТИ ЕЕ ИЗМЕНЕНИЙ ПРИ КАРИЕСЕ

¹Крамарь В.О., ²Усатова Г.Н., ¹Крамарь О.Г., ¹Климова Т.Н.

¹ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет Министерства
здравоохранения Российской Федерации», Волгоград, e-mail: klimova1977@mail.ru;

²ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации», Москва

Предложенный анализ индивидуальных вариантов микробиоценоза у больных кариесом позволил установить, что вариабельность ценопита зависит от выраженности степени резистентности твердых тканей. Проведенные исследования показали, что при кариесе микробиоценоз претерпевает глубокую микроэкологическую перестройку, что проявляется сменой доминирующих видов, резким нарастанием экологической значимости условно-патогенных стрептококков, стафилококков, грибов и энтеробактерий. Установлено, что при снижении уровня резистентности величина индекса видового разнообразия увеличивается на всех биотопах. Число видов в биотопе влияет на скорость колонизации новыми видами и расширением видового разнообразия. Если число видов высокое, то отмечается стабилизация в этом процессе в силу снижения экологических возможностей системы для сукцессии новых видов. Таксоны, достигающие большого разнообразия, быстро замещаются таксонами, эволюционирующими медленно, но обладающими более широким экологическим потенциалом, а естественно, и более конкурентоспособными.

Ключевые слова: нормальная микрофлора полости рта, колонизационная резистентность, микроэкосистема, микробиоценоз, биоразнообразие видов

SPATIAL STRUCTURE AND ECOLOGICAL SIGNIFICANCE OF THE ORAL MICROFLORA AND ITS CHANGES IN CARIES

¹Kramar V.O., ²Usatova G.N., ¹Kramar O.G., ¹Klimova T.N.

¹Volgograd State Medical University, Volgograd, e-mail: klimova1977@mail.ru;

²The first Moscow State Medical University n.a. I.M. Sechenova, Moscow

Proposed analysis of individual variants microbiocenosis in caries revealed that tsenotip's variability depends on the severity of the degree of resistance of hard tooth. Studies have shown that caries microbiocenosis undergoing profound microecological restructuring that manifests change the dominant species, a sharp increase in the environmental significance of conditionally pathogenic streptococci, staphylococci, fungi and enterobacteria. It was found that when the level of resistance value is reduced the index of species diversity is increased in all biotopes. The number of species in the biotope affects the rate of colonization and expansion of new types of species diversity. If the number of species is high, then there is stabilization in the process due to reduced environmental capacity of the system for the succession of new species. Taxa, reaching a wide variety of rapidly replaced taxa evolving slowly, but have wider ecological potential, and of course, and more competitive.

Keywords: normal oral microflora, colonization resistance, microecosystem, microbiocenosis, biodiversity of species

Неотъемлемой частью микроэкосистемы полости рта является нормальная микрофлора, обеспечивающая колонизационную резистентность, которая рассматривается как первичная мишень для любого фактора, прямо или опосредованно влияющего на адгезию и неспецифическую резистентность этой экосистемы [1, 3].

Симбионты, входящие в состав этого биотопа макроорганизма, не только формируют нормальный состав микрофлоры, но принимают самое непосредственное участие в регуляции многих физиологических процессов [2].

Организм человека колонизирован различными микробными сообществами, однако в каждом из его топодемов количество микроорганизмов и их видовой состав характеризуется определенным постоянством [4, 5].

Для раскрытия закономерностей существования микроорганизмов применим

экологический подход, позволяющий осуществить достоверное описание структуры бактериальных сообществ, которые составляют биоценоз [1, 3].

Цель исследования. В этой связи нам представлялось интересным оценить глубину микроэкологических сдвигов у больных кариесом и выявить закономерности формирования микроэкосистемы при данном состоянии.

Материал и методы исследования

Колонизация полости рта оценивалась по составу микрофлоры. Забор материала для бактериологического исследования проводился по методике Е.О. Кравцовой (1995). Микрофлора изучалась по методу Haenel (1979) в модификации С.К. Канарейкиной с соавт. (1985).

Для раскрытия закономерностей существования микроорганизмов в биоценозе применяли экологический подход к оценке микрофлоры, что позволило проследить за изменениями микроэкологии полости рта при дестабилизации микробиоценоза.

Для характеристики микрофлоры как экологической системы, раскрытия ее ценотической структуры применяли метод учета количественных соотношений встречаемости определенных типологических групп микроорганизмов, используя индекс флористической значимости (М.П. Наткевичайте-Иванускене, 1985).

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ микрофлоры полости рта позволил подвергнуть идентификации 3510 культур аэробных бактерий, что дало основание отнести их к 24 видам, входящим в 11 родов и 6 семейств.

Видовой состав и плотность микробных сообществ в различных биотопах полости рта были неодинаковы. Наименьшее количество видов и уровень обсеменения выявлен на слизистой оболочке щеки. Далее прослеживается нарастание видового разнообразия и общей бактериальной плотности на небе, поверхности языка, и максимально выражены эти показатели в зубном налете, при этом количество встречающихся видов увеличивается в 2 раза и общая бактериальная плотность – в 9 раз.

В микрофлоре полости рта преобладают кокковые микроорганизмы, на долю которых приходилось $52,0 \pm 4,1\%$ штаммов. Среди выделенных культур $75,2\%$ составили представители стрептококков, стафилококков и коринебактерий, относящихся к резидентной микрофлоре. Наиболее многочисленными обитателями полости рта были стрептококки, среди которых преобладали *S. salivarius*. Высокая частота встречаемости этого вида и значительный удельный вес среди микроорганизмов данного рода позволили считать его доминирующим в сообществе. Второе и третье место по удельному весу среди всех выделенных культур заняли *S. sanguis* и *S. mitis*. Это дало основание отнести эти виды к транзитным.

Анализ полученных данных свидетельствует, что доминирующими видами, формирующими ядро микробиоценоза ротовой полости здоровых людей, были лакто- и бифидобактерии. Так, у лактобацилл выявлена самая высокая константность ($56,0\%$ на поверхности неба, $100,0\%$ на слизистой оболочке щеки). Показатели бифидобактерий были чуть ниже, варьируясь от $58,0$ и $76,0\%$ на слизистых неба и щеки до $61,0\%$ в зубном налете.

Кроме того, в состав резидентной микрофлоры ротовой полости вошли слюнные стрептококки, показатель постоянства которых на трех изучаемых биотопах (слизистой оболочке щеки и языка, в зубном налете) был выше $50,0\%$ ($C = 77,0$, $C = 69,0$ и $C = 86,0\%$), и только на поверхности щеки они переходили в разряд добавочных видов ($32,0\%$).

К добавочным видам или видам-наполнителям в зубном налете отнесены эпидермальные стафилококки ($C = 31,0\%$). Все другие изучаемые представители составляли случайную микрофлору ротовой полости со значениями константности менее $25,0\%$. Это дало основание отнести их в группу транзитных микроорганизмов, не принимающих участия в формировании биоценоза.

Таким образом, полученные данные показали, что микрофлору всех биотопов ротовой полости здоровых людей формируют 3 вида микроорганизмов – бифидо- и лактобактерии, слюнные стрептококки. В состав микробиоты зубного налета в качестве добавочного вида входят эпидермальные стафилококки. Наличие данных бактерий в микробиоценозе характеризует собой нормофлору.

Следующим этапом нашей работы было определение экологической значимости выделенных микроорганизмов.

Самыми важными представителями микрофлоры ротовой полости являются лактобациллы, бифидобактерии и стрептококки. Так, лактобактерии совместно со стрептококками были доминирующими таксонами на слизистой оболочке неба ($33,08$ и $47,62\%$), поверхности языка ($23,14$ и $19,93\%$), щеки ($18,12$ и $19,25\%$ соответственно). Менее значимыми, но вносящими существенный вклад в формирование биоценозов данных биотопов, являются бифидобактерии – $27,17$, $18,93$ и $17,38\%$ соответственно. В зубном налете доминируют стрептококки, значение индекса которых составляет $19,28\%$, однако весьма высока роль и лакто-, и бифидофлоры – $18,36$ и $19,06\%$. Сравнение данных позволяет говорить о выравнивании показателей для основных представителей микроэкосистемы, что свидетельствует о равнозначном участии этих бактерий в формировании микробиоты зубного налета.

В дальнейшем представлялось интересным оценить структуру сообщества стрептококков на основе определения индекса доминирования для каждого вида (рис. 1).

Из данных рис. 1 следует, что *S. salivarius* является абсолютно доминирующим видом в структуре сообщества на всех анатомических участках ротовой полости. Значения его показателя были максимальными на поверхности языка – $67,45\%$, несколько меньше на слизистой щеки – $64,86\%$. В зубном налете его значимость была ниже, составляя $42,73\%$, и минимальная была зарегистрирована на слизистой оболочке неба – $32,0\%$.

Анализ индекса видового разнообразия позволил выявить микробиоценозы с более стабильной и устойчивой микро-

флорой (поверхности языка), тогда как зубной налет, имеющий минимальное значение индекса, относится к биотопам, наиболее подверженным трансформа-

ции и биологической сукцессии, что делает его объектом микробиологического мониторинга при развитии заболеваний полости рта.

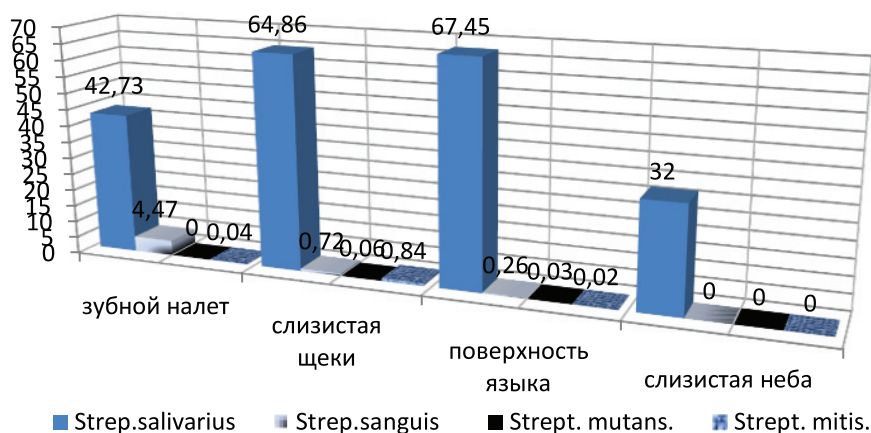


Рис. 1. Показатели индекса доминирования стрептококков в микробиоценозах ротовой полости здоровых людей, %

Проведенные исследования показали, что развитие кариеса регистрируется при качественных и количественных изменениях микробных биоценозов на всех анатомических участках полости рта, поэтому важным было оценить глубину микрoэкологических сдвигов у больных и выявить закономерности формирования микрoэкоcистемы при данном состоянии.

Для решения поставленных задач была проведена оценка микрoэкологических параметров 5 биотопов ротовой полости (кариозной полости, слизистых оболочек щеки и мягкого неба, поверхности языка и зубного налета) 140 страдающих кариесом людей.

Представляло интерес в дальнейшем изучение биологического разнообразия видов, к которым относят два признака – видовое богатство и выравненность.

В силу этого следующим этапом работы было исследование видового разнообразия микрофлоры при кариесе. Полученные результаты представлены на рис. 2 и достоверно свидетельствуют об увеличении показателя на всех изучаемых анатомических участках.

Выявлено, что структура доминирующих видов биоценоза при кариесе меняется за счет расширения состава резидентной микрофлоры.

Показатель постоянства для слюнного стрептококка более чем вдвое увеличивался на слизистой оболочке неба (с 32,0 до 71,4%), тогда как на слизистой оболочке щек и поверхности языка достоверных изменений в его значениях установлено не было. Однако в зубном налете отмечали статистически значимое уменьшение показателя с 86,0 до 74,4% ($p < 0,05$).

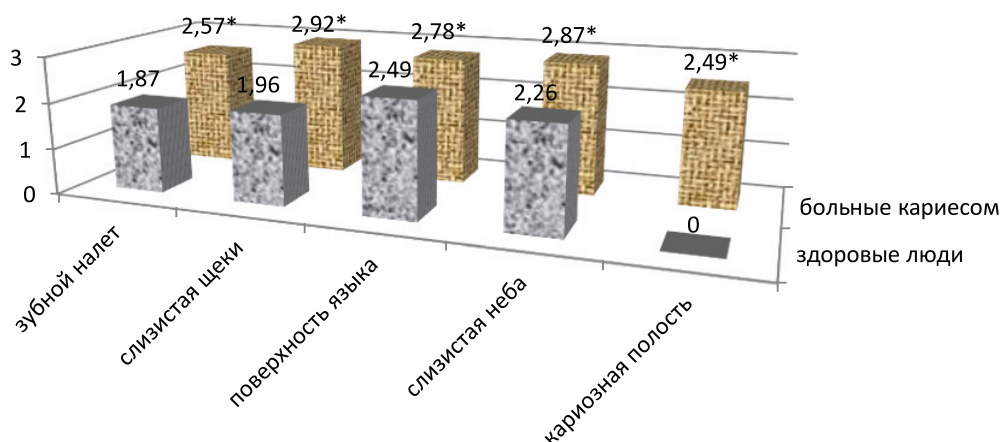


Рис. 2. Показатели видового разнообразия изучаемых биотопов ротовой полости у здоровых и больных кариесом людей. * – достоверность установленных различий ($p < 0,05$)

Оценивая популяцию стрептококков, можно видеть резкое увеличение доминирования *S. sanguis*, который из разряда случайных видов в таких биотопах, как слизистая оболочка неба и щеки, зубной налет переходил в разряд постоянных (показатель постоянства $C > 50\%$).

Несмотря на значительное увеличение показателя постоянства условно-патогенных бактерий в микрофлоре ротовой полости больных кариесом, числовые показатели индексов позволили отнести все изучаемые микроорганизмы к категории случайных видов, не принимающих участие в формировании ядра биоценоза.

Выявлено, что уменьшение резистентности к кариесу сопровождается снижением экологической значимости стрептококков при нарастании показателя для условно-патогенных бактерий.

Проведенные исследования показали, что развитие кариеса происходит на фоне качественных и количественных изменений микробных сообществ на всех анатомических участках. Нам представлялось интересным оценить глубину микроэкологических сдвигов в динамике прогрессирования кариозного процесса.

Так, при низкой кариозной активности состав резидентной флоры расширился за счет перехода из состава добавочной микрофлоры в постоянную *S. sanguis*, *S. mutans* и *S. mitis* на трех изучаемых анатомических участках полости рта – слизистых оболочках щек и неба, зубном налете. На поверхности языка доминантный состав микробиоценоза не изменялся. В данном биотопе указанные стрептококки оставались в составе добавочной микрофлоры с показателями постоянства присутствия в биоценозе: *S. sanguis* – $C = 42,8$, *S. mutans* – $C = 47,6$ и *S. mitis* $C = 38,1\%$.

Кариес средней степени активности характеризуется расширением доминирующей постоянной микрофлоры на поверхности языка за счет добавления *S. mutans*, $C = 51,5\%$, перешедшего в данный разряд из состава добавочной микрофлоры. На других анатомических участках состав резидентной флоры оставался прежним.

При высокой степени активности заболевания в доминирующий состав микробиоценоза поверхности языка добавился *S. mitis* с индексом постоянства $74,3\%$.

Таким образом, при высокой степени активности в состав доминантной группы микробиоценоза на всех биотопах вошли 6 групп микроорганизмов: лактобациллы, бифидобактерии, *S. salivarius*, *S. sanguis*, *S. mutans* и *S. mitis*.

Дальнейший анализ полученных данных позволил говорить о том, что при на-

растании активности кариеса индекс экологической значимости для всех видов стрептококков увеличивался. Так, если в зубном налете здоровых людей его числовое значение для *S. sanguis* составляло $9,0\%$, то при росте кариозной активности от низкой до высокой – $66,7$, $81,8$ и $88,6\%$, для *S. mitis* – от $6,0$ до $74,3\%$ соответственно.

При кариесе на всех биотопах резко увеличивается экологическая значимость стрептококков, которые становятся абсолютно доминирующей группой сообщества.

При низкой кариозной активности индекс экологической значимости лактобактерий составил в ряду: зубной налет – слизистая щеки, поверхность языка – слизистая неба – $41,4$, $46,4$, $45,0$, $50,3\%$, при средней – $33,0$, $31,4$, $32,6$, $30,1\%$, при высокой – $33,6$, $35,4$, $34,4$ и $36,9\%$ соответственно. Аналогичная закономерность была установлена для бифидобактерий.

Что касается стрептококков, то максимальные показатели доминирования были отмечены для данных бактерий при низкой степени активности – $75,3$, $90,0$, $92,4$ и $99,5\%$, далее они снижались и были минимальными у больных с высокой активностью процесса – $63,1$, $70,5$, $73,4$ и $66,6\%$ в аналогичном ряду соответственно.

При оценке доминантного состава стрептококков в кариозной полости выявлено, что при всех степенях активности абсолютно доминирующим таксоном является *S. mutans*, имея самые высокие значения показателя экологической значимости – от $67,4$ до $65,0\%$. Также регистрировались максимальные значения индекса для *E. coli* – от $4,7$ до $9,5\%$, клебсиелл – $6,1\%$.

При среднем уровне резистентности минимальное видовое разнообразие было определено для таких биотопов, как слизистая оболочка неба и кариозная полость – $1,57$ равнозначно. При низком уровне индекс видового разнообразия в кариозной полости увеличивался до $2,05$ и при очень низком – $2,15$.

У больных с очень низкой резистентностью минимальные показатели также были установлены для слизистых оболочек неба и кариозной полости – $1,78$ и $2,15$. Увеличение индекса видового разнообразия в зубном налете при снижении резистентности (с $1,75$ до $2,15$) свидетельствует о насыщении данного биотопа видами и стабилизации микробиоценоза в силу снижения экологических возможностей системы для образования новых видов.

Итак, полученные данные подтверждают, что микрофлора кариозной полости изменяется совместно с микрофлорой полости рта, что доказывает общность

процессов биологической сукцессии при кариесе во всех анатомических структурах.

Выводы

Анализ полученных данных показывает, что величина биоразнообразия как внутри вида, так и в рамках всей экосистемы признана в биологии одним из главных показателей жизнеспособности (живучести) экосистемы в целом. Действительно, при большом однообразии характеристик особей внутри одного вида любое существенное изменение внешних условий более критично скажется на выживаемости вида, чем в случае когда последний имеет большую степень биологического разнообразия. То же относится и к богатству (биоразнообразию) экосистем в целом.

Выявлено, что высокое видовое разнообразие в кариозной полости подтверждает, во-первых, стабильность ее экосистемы. Во-вторых, увеличение показателя по мере нарастания кариозной активности говорит о более выраженных микробиоценологических сдвигах за счет формирования микробиоты в рамках данного экологического пространства, в корне отличного от микрофлоры физиологических биотопов ротовой полости, т.е. о формировании патогеноза.

Список литературы

1. Бухарин О.В. Персистенция патогенных бактерий. – М.: Медицина; Екатеринбург: Уро РАН, 1999. – 366 с.

2. Воробьев А.А. Мир Микробов / А.А. Воробьев, А.Л. Гинцбург // Вестник РАМН. – 2000. – № 11. – С. 11–14.

3. Крамарь В.С., Дмитриенко С.В., Климова Т.Н., Крамарь В.О., Матисова Е.В. Микроэкология полости рта. – Волгоград, 2010. – 250 с.

4. Ламонт Р. Дж., Лантц М.С. Микробиология и иммунология для стоматологов / пер. с англ. В.К. Леонтьев. – 2010.

5. Леонтьев В.К. Микрофлора полости рта / В.К. Леонтьев, В.Ф. Воронин, В.Т. Шестаков. – М., 2000. – 21 с.

References

1. Bukharin O.V. Persistence of pathogenic bacteria. M.: Medicine; Yekaterinburg: UB RAS, 1999. 366 p.

2. Vorobyov A.A. World of Microbes / A.A. Vorobyov, A.L. Gintsburg // Bulletin of Medical Sciences. 2000. no. 11. pp. 11–14.

3. Kramar V.S., Dmitrienko S.V., Klimov T.N., Kramar V.O., Matisova E.V. Microecology of the oral cavity. Volgograd, 2010. 250 p.

4. Lamont R.J., Lantts M.S. Microbiology and Immunology for dentists / Tr. from English. Leont'ev V.K. 2010.

5. Leont'ev V.K. Microflora of the oral cavity / V.K. Leontev, V.F. Voronin, V.T. Shestakov. Moscow, 2000. 21 p.

Рецензенты:

Савченко Т.Н., д.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Волгоградского государственного медицинского университета, г. Волгоград;

Осадшая Л.Б., д.м.н., доцент кафедры нормальной физиологии Волгоградского государственного медицинского университета, г. Волгоград.

Работа поступила в редакцию 04.02.2014.