

УДК 616.314-002-031.8:574]-053.2(045)

СТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БИОТОПА КАРИОЗНЫХ ПОЛОСТЕЙ РАЗЛИЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ У ДЕТЕЙ

Казакова Л.Н., Егорова А.В., Махонова Е.В.

ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов, e-mail: mahonova.ev@mail.ru

Полость рта занимает второе место по степени обсемененности микроорганизмами, имеющими различную степень вирулентности. Практически ни один патологический процесс в полости рта не начинается без участия микроорганизмов и вирусов. Тяжесть течения заболевания зависит от местных и общих факторов защиты макроорганизма, количественного и качественного состава микрофлоры биотопов. Срыв компенсаторных механизмов приводит к структурным изменениям биотопов и повышению вирулентности микрофлоры. Микроорганизмам отводится ведущая роль в развитии кариеса. Плохая гигиена полости рта способствует их росту и размножению. Мониторинг биоценозов кариозных полостей 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, аэробы, кариес, гигиена полости рта, дети

STRUCTURAL CHARACTERISTIC OF BIOTOPE OF CHILDREN'S CARIOUS CAVITY OF DIFFERENT LOCALIZATION

Kazakova L.N., Egorova A.V., Makhonova E.V.

Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Saratov, e-mail: mahonova.ev@mail.ru

Oral cavity is on the 2-nd place when we speak about the number of microorganisms having different level of virulence. Almost all pathological processes in oral cavity start because of viruses and microbes. The course of the disease depends on local and general factors of macroorganism's defense and on qualitative and quantitative compound of the biotopes' micro flora. The failure of the compensatory mechanisms leads to the structural changes of biotopes and rises the virulence of micro flora. Microorganisms play the leading role in dental caries development. Poor oral hygiene encourages their growth and reproduction. Monitoring of biocenosis of carious cavities lets us analyze the variety of their forms and structural change which is the necessary stage for the optimization of different approaches to the treatment and prophylaxis of stomatological diseases of oral cavity.

Keywords: microorganism, anaerobe, aerobe, caries, oral cavity hygiene, children

Полость рта на протяжении всей жизни остаётся главными входными воротами для микроорганизмов внешней среды, проникающих с пищевыми продуктами и водой. Постоянство микрофлоры полости рта определяется антагонистическим взаимодействием микроорганизмов в составе микробиоценоза, бактерицидными свойствами секрета слюны. Микрофлора различных участков полости рта разнообразна и изменяется с возрастом. К концу первой недели жизни изо рта высевается *Veillonella alcalescens*. С 5 месяца жизни появляются фузобактерии и *Candida albicans*; в возрасте 3–7 лет появляются микробы-антагонисты (микрострептококки и стрептококки); при появлении зубов в полости рта высеваются аэробные вибрионы, что обусловлено наличием зубных альвеол и крипт, создающих аэробные условия для размножения этих бактерий. Таким образом, формирование микробиоценоза полости рта представляет собой многоступенчатый процесс. Колонизация полости рта микробами зависит от их способности к адгезии прежде всего к эмали и эпителию.

Анатомические образования в полости рта, их физиологические параметры, посто-

янная температура и наличие питательной среды способствуют быстрому размножению как аэробов, так и анаэробов.

Прорезающиеся молочные зубы очень быстро обсеменяются микрофлорой полости рта. Пелликула, образующаяся на твердых тканях зуба после прорезывания, создает достаточно благоприятные условия для фиксации новых микроорганизмов [6], которые не колонизировались в полости рта до прорезывания. Адсорбируясь на поверхности, вступая в ассоциативные связи, микроорганизмы создают микробиоценозы с высокой степенью вирулентности [8], приводящие к локальному закислению среды в участках фиксации пелликула, зубного камня. Кислота, являющаяся продуктом жизнедеятельности микробов [9], приводит к деминерализации твердых тканей зуба. На первом этапе это вымывание ионов кальция из кристаллической решетки – процесс обратимый. Однако при появлении микропор в поверхностном слое эмали микроорганизмы быстро по белковым структурам: эмалевым пучкам, пластинкам и веретенам – проникают в подповерхностные слои, где впоследствии продолжается деминерализация.

Как правило, максимальное скопление зубных отложений у детей определяется на контактных поверхностях зубов и в пришеечной области. Это участки инвазии микроорганизмов, которые всегда являются провоцирующими факторами в развитии генерализованных или локализованных пародонтопатий [3]. Формирование «скрытых» кариозных полостей на контактной поверхности приводит к развитию воспаления в области причинного зуба за счет механической травмы тканей десны краями кариозной полости и одновременно – к множественной инвазии разных по вирулентности микроорганизмов, ранее обсеменяющих кариозную полость. Длительно сохраняющийся зубной налет в пришеечной области, является основой твердых зубных отложений, которые впоследствии будут механически повреждать ткань маргинальной части десны в совокупности с токсическим воздействием флоры. Бесспорно, провоцирующим фактором в изменении кариесогенной ситуации в полости рта у детей в период молочного прикуса является плохая гигиена полости рта. Однако результаты дальнейшего взаимодействия структур зуба, пародонта и микрофлоры будут зависеть от качества твердых тканей зуба, тканей пародонта, иммунологических, биохимических свойств слюны, количества и качества микробного состава биотопов.

Цель работы – изучить качественное изменение микрофлоры кариозных полостей различной локализации, с различной активностью кариозного процесса в период молочного прикуса.

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось при информированном согласии родителей или лиц, сопровождающих детей. Была обследована группа детей в возрасте 5–6 лет, в количестве 50 человек. В процессе обследования были использованы основные и дополнительные методы исследования: опрос, осмотр, зондирование, перкуссия, рентгенография, микробиологические методы исследования и индекс гигиены Федорова – Володкиной. Опрос позволил объединить в группу исследования детей, не имеющих соматической патологии, рожденных от матерей, не имеющих осложненного течения беременности. При осмотре были выявлены заболевания твердых тканей зубов и слизистой оболочки. Методом зондирования определяли глубину кариозных полостей, болевые участки, состояние дна кариозных полостей. Перкуссией определяли состояние пародонта исследуемых зубов. При рентгенографическом исследовании предпочтение было отдано ОПТГ (ортопантомографии), которые позволяли комплексно оценить состояние всех молочных зубов на наличие кариозных полостей различных по локализации и глубине, их соотношение с полостью зуба и выявить хронически протекающие патологические процессы в периодонте.

Индекс Федорова – Володкиной позволил наглядно оценить исходную клиническую ситуацию состояния гигиены полости рта у детей. Окрашивание зубного налета проводили, используя таблетки «Динал», они просты в использовании, и их применение не влияло на эмоциональный фон детей. Числовое отображение данного диагностического критерия при этом методе исследования [1] характеризует площадь зубного налета. Микробиологическое исследование содержимого кариозных полостей, расположенных на разных поверхностях молочных зубов у детей с разным уровнем гигиены, проводилось комплексно. Оно было направлено на выявление и идентификацию как анаэробов, так и аэробов кариозных полостей у детей с различной активностью кариозного процесса, оказывающих влияние на течение патологического процесса как в твердых тканях зуба, так и в тканях пародонта. Дальнейшее бактериологическое исследование проводили в соответствии с общепринятыми правилами клинической микробиологии.

Бактериологическое исследование для выделения аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов проводили с обязательной количественной оценкой результатов (первичный посев выполнялся из разведений исследуемого материала – 10^{-1} – 10^{-5}), что необходимо при выделении условно-патогенных бактерий. Чистые культуры факультативно-анаэробных бактерий получали, используя 5% кровяной агар, с обязательным помещением посевов в экваторы. После подсчета количества изолированных колоний на плотных питательных средах проводили идентификацию выделенных культур. С помощью комплекса морфологических, культуральных и биохимических признаков 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).

Диагностику анаэробов проводили методом ПЦР (полимеразная цепная реакция) с учетом результатов в режиме реального времени с помощью тест-систем «Дентоскрин» производства НПФ «Литех», что позволило быстро и в полном объеме оценить спектр анаэробных микробных комплексов [2]. Метод ПЦР обладает высокой чувствительностью, дающей возможность обнаруживать единичные бактериальные клетки или вирусные частицы [5, 7] в образцах, взятых из глубоких слоев кариозной полости и зубодесневой борозды в зубах с локализацией кариозной полости на контактной поверхности. Работу выполняли в соответствии с инструкцией к тест-системе на амплификаторе CFX 96 (БиоРад, США).

Результаты исследования и их обсуждение

После количественной и качественной оценки состояния твердых тканей зубов все дети по активности кариозного процесса были разделены на три группы [4]: группа с компенсированной активностью кариеса, субкомпенсированной активностью и декомпенсированной активностью. В первой группе у каждого пациента было выявлено не более 4 кариозных полостей, с преиму-

щественной локализацией их по первому классу (классификация кариозных полостей по Блеку). При осмотре кариозных полостей были выявлены все клинические признаки хронического течения кариеса: широкое входное отверстие, дентин темно-коричневого цвета, удаляющийся с помощью экскаватора пластом. Слизистая полости рта без изменений, маргинальная десна плотно прилегает к шейкам зубов. Оценивая, гигиенический индекс Федорова – Володкиной при окрашивании поверхности фронтальной группы зубов, выявили хороший уровень гигиены в первой группе у 60% детей, неудовлетворительный у 7%, что соответствует 1 пациенту. В группе с субкомпенсированной формой кариеса количество кариозных полостей не превышало 6, кариозные полости локализовались в 65% случаев по 1-му классу, 35% составляли кариозные полости, расположенные на различных поверхностях зуба. По течению выявляли как острое, так и хроническое течение кариеса, на ОПТГ у 4 пациентов этой группы диагностировали хронический фиброзный пульпит, протекающий бессимптомно. Хорошее гигиеническое состояние с помощью индекса было выявлено в 45% случаев

(9 чел). В этой группе были выявлены и пациенты с плохим уровнем гигиены – 15%. При осмотре слизистой полости рта никаких патологических изменений выявлено не было, однако зубодесневые сосочки, граничащие с краями кариозных полостей, гиперемированы, отечны, при легком зондировании кровоточат. Пациенты, объединенные в последнюю группу с декомпенсированной формой кариеса, имели множественные поражения кариесом, с преимущественной локализацией на контактных поверхностях, острое течение патологического процесса в твердых тканях зуба. На ОПТГ у 9 пациентов были выявлены вскрытые полости зуба, у 5-ти из которых диагностировались изменения в периодонте различной степени выраженности. Анализ показателей индекса гигиены выявил высокий процент детей с неудовлетворительным и плохим уровнем гигиены полости рта (таблица). Слизистая оболочка маргинальной десны практически всех зубов у 10 пациентов гиперемирована, отечна, так же, как и твердые ткани зубов, частично покрыта мягким зубным налетом, при удалении которого она начинает кровоточить.

Взаимосвязь активности кариозного процесса с уровнем гигиены полости рта у детей 5–6 лет

Активность кариеса	Кол-во в группе	Уровень гигиены по Федорову – Володкиной	Выявленная частота встречаемости, $\hat{p} \cdot 100$	Ошибка выборочной доли $^s \hat{S}\hat{p}$
Компенсированная форма кариеса	15 чел.	хороший (1,1–1,5 б.)	60% (9 чел.)	0,1265
		удовлетворительный (1,6–2 б.)	33% (5 чел.)	0,1214
		неудовлетворительный (2,1–2,5 б.)	7% (1 чел.)	0,0659
		плохой (2,6–3,4 б.)		
		очень плохой (3,5–5 б.)		
Субкомпенсированная форма кариеса	20 чел.	хороший (1,1–1,5 б.)	45% (9 чел.)	0,1112
		удовлетворительный (1,6–2 б.)	20% (4 чел.)	0,0894
		неудовлетворительный (2,1–2,5 б.)	20% (4 чел.)	0,0894
		плохой (2,6–3,4 б.)	15% (3 чел.)	0,0794
		очень плохой (3,5–5 б.)		
Декомпенсированная форма кариеса	15 чел.	хороший (1,1–1,5 б.)	27% (4 чел.)	0,1146
		удовлетворительный (1,6–2 б.)	33% (5 чел.)	0,1214
		неудовлетворительный (2,1–2,5 б.)	20% (3 чел.)	0,1033
		плохой (2,6–3,4 б.)	20% (3 чел.)	0,1033
		очень плохой (3,5–5 б.)		

Корреляционный анализ (ранговая корреляция Спирмена) позволил выявить взаимосвязь между активностью кариозного процесса и уровнем гигиены, коэффициент корреляции 0,384 ($\alpha = 0,01$).

Бактериологические методы, применяемые в данном исследовании, выявили высо-

кую степень обсемененности кариозных полостей условно-патогенной микрофлорой во всех группах детей и помогли нам оценить глубину микробиологических сдвигов в динамике прогрессирования кариозного процесса.

При компенсированной форме кариеса преимущественно были выделены

Streptococcus mutans, *S. sanguis*, *S. salivarius*, *S. mitis* – представители желтого комплекса. У пациента с неудовлетворительным уровнем гигиены в этой группе был выделен еще и *Enterococcus spp.* В группе пациентов с субкомпенсированной формой кариеса видовой состав микробиоценоза кариозных полостей разной локализации включал в себя: группу стрептококков (*mutans*, *sanguis*, *salivarius*, *mitis*), стафилококков – *S. aureus*, *Enterococcus spp* и *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Видовой состав микроорганизмов кариозных полостей в группе с декомпенсированной формой кариеса отличался еще более выраженным разнообразием: множество кокков, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*, *Porphyromonas endodontalis*, *gingivalis*.

Микробиологические методы исследования позволили охарактеризовать видовой состав микрофлоры кариозных полостей различных по локализации: на жевательной и контактной поверхности. Нами была выявлена следующая закономерность: структура доминирующих видов биоценоза при кариесе меняется за счет расширения состава резидентной микрофлоры с преобладанием кокковой. Изучение видового состава стрептококков показало, что частота встречаемости различных видов варьировала в зависимости от активности патологического процесса. Так, при единичных кариозных поражениях высеваемость *S. salivarius* составляла 93,33%; *S. sanguis* – 86,66%; *S. mitis* – 46,66%; *S. mutans* – 73,33%. При множественном кариесе зубов *S. mutans* выделялся в 94% случаях.

Чем ближе кариозная полость располагалась к десне, тем больше представителей «агрессивных» пародонтальных микробных комплексов определялось в составе микрофлоры кариозных полостей. Появление представителей красного, зеленого комплексов свидетельствует о повышении вирулентности этих ассоциаций, что подтверждается клиническими признаками в виде гиперемии десневых сосочков расположенных рядом с кариозной полостью.

Выводы

Таким образом, микробиоценозы кариозных полостей, различные по локализации, можно отнести к биотопам, подверженным трансформации и биологической сукцессии, исходя из анализа видового разнообразия, и по мере развития кариозного процесса наблюдалась их структурная перестройка, заключающаяся в иерархических изменениях и смене абсолютных доминант. Мониторинг биоценозов кариозных полостей

является значимым этапом исследования для оптимизации подходов в лечении кариеса различной локализации и профилактики стоматологических заболеваний полости рта.

Список литературы

1. Герберт Ф. Вольф Пародонтология / Герберт Ф. Вольф, М. Эдит, Клаус Н Ратеичак; пер. с нем.; под ред. проф. Г.М. Барера. – М.: МЕД пресс-информ, 2008. – 548 с.
2. Грудянов А.И. Заболевания пародонта. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2009. – 331 с.
3. Иванов В.С. Заболевания пародонта. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2001. – 299 с.
4. Леонтьев В.К. Детская терапевтическая стоматология. Национальное руководство / под ред. В.К. Леонтьева, Л.П. Кисельниковой. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 896 с., 39 с.
5. Лопухов Л.В., Эйдельштейн Н.В. // Клиническая микробиология и антимикроб. химиотерапия. – 2000. – Т.2, № 3. – С. 96–106.
6. Леус П.А. Биофильм на поверхности зуба и кариес. – М.: Издательский Дом «STBOOK», 2008. – 86 с.
7. Скала Л.З. Современные аспекты клинической микробиологии. – М., 1999. – 323 с.
8. Fijerskov O., Kilde E.A.M. Dental caries / O. Fijerskov., E.A.Kilde // Dental caries. Blackwell Munksgaard. – 2004. – 350 p.
9. Thénisch N.L. Are Mutans Streptococci a reliable predictive factor for dental caries? / N.L. Thénisch N.L. et al. // Are Mutans Streptococci a reliable predictive factor for dental caries? Caries Res. – 2006. – Vol. 40, P. 366–374.

References

1. Gerbert F.Vol'f Parodontologija [Parodontology]/Gerbert F.Vol'f, Jedit M., Klaus N Ratejchak; Per. s nem.; pod red. Prof. G.M. Barera. M.MED press-inform, 2008. 548 p.
2. Grudjanov A.I. Zabolevanija parodonta [Periodontal Disease] / A.I. Grudjanov, – ООО «Izd-vo «Medicinskoje informacionnoe agentstvo», Moskva, 2009. 331 p.
3. Ivanov V.S. Zabolevanija parodonta [Periodontal Disease] // V.S. Ivanov. ООО «Medicinskoje informacionnoe agentstvo», Moskva, 2001. 299 p.
4. Leont'ev V.K. Detskaja terapevtičeskaja stomatologija. Nacional'noe rukovodstvo [Pediatric Dentistry. National handbook] / pod. red. V.K. Leont'eva, L.P. Kisel'nikovoj. M.: GEOTAR-Media, 2010, 896 p., 39 p.
5. Lopuhov L.V., Jeidel'shtejn N.V. // Klin. mikrobiologija i antimikrob. himioterapija. [Clinical microbiology and Antimicrobial Chemotherapy] 2000. T.2, no. 3. pp. 96–106.
6. Leus P.A. Biofil'm na poverhnosti zuba i karies [The biofilm on teeth and dental caries] / P.A. Leus, Izdatel'skij Dom «STBOOK», Moskva, 2008. 86 p.
7. Skala L.Z. Sovremennye aspekty kliničeskoj mikrobiologii [Modern aspects of clinical microbiology] / Skala L.Z. M., 1999. 323 p.
8. Fijerskov O., Kilde E.A.M. Dental caries. Blackwell Munksgaard, 2004, 350 p.
9. Thénisch N.L. et al. Are Mutans Streptococci a reliable predictive factor for dental caries? Caries Res., 2006, Vol. 40, pp. 366–374.

Рецензенты:

Бойко А.В., д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики отдела ДИБ ФКУЗ «РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;

Пронина Е.А., д.м.н., доцент кафедры микробиологии, иммунологии и вирусологии, ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, г. Саратов.

Работа поступила в редакцию 10.06.2014.