

УДК 351.77:616.314-053.2+ 577.118

ОСОБЛИВОСТІ МІКРОБНОГО СКЛАДУ ПОРОЖНИНИ РОТА У ДОШКІЛЬНЯТ З ДЕКОМПЕНСОВАНОЮ ФОРМОЮ МНОЖИННОГО КАРІЕСУ, ЯКІ ПОСТІЙНО ПРОЖИВАЮТЬ В УМОВАХ БІОГЕОХІМІЧНОГО ДЕФІЦИТУ ФТОРУ ТА ЙОДУ

Клітинська О.В.

Ужгородський національний університет

В статті наведені результати аналізу мікробіоти порожнини рота дітей 4-6 років, які мають множинний карієс декомпенсовану форму та постійно проживають в умовах природнього біогеохімічного дефіциту фтору та йоду, що є одним із факторів виникнення та прогресування патологій твердих тканин та встановлено, що у 100% випадків в слині виділено *Streptococcus sobrinus*, яку визнано найбільш ацидофільною бактерією, яка персистує в порожнині рота людини, оскільки колонії бактерій при рН5,0 продовжують активні синтетичні процеси, в них відсутні шоківі і стресові протеїни, що було доведено на хемостатній культурі, ДНК, РНК-аналізі та Вестерн-блоттингу.

Ключові слова: карієс, діти, мікробіота ротової рідини, *Streptococcus sobrinus*, біогеохімічний дефіцит фтору та йоду.

Не дивлячись на стімкий розвиток стоматологічної галузі медицини, поширеність множинного карієсу у дошкільнят, які постійно проживають в умовах біогеохімічного дефіциту фтору та йоду, тобто в Закарпатській області має тенденцію до зростання. За даними проведених епідеміологічних досліджень, проведених згідно програми «Здорова усмішка дітей Закарпаття» поширеність карієсу тимчасових зубів становить 98,7% при інтенсивності 14,9. Значну частку становлять випадки з поширенстю декомпенсованого множинного карієсу [2, 3, 4, 5, 7].

Розвитку множинного декомпенсованого карієсу сприяють ряд факторів: як місцевих, до яких належать незадовільна гігієна порожнини рота, наявність ортодонтичної патології, кислі значення рН слини, наявність невеликої кількості в'язкої слини, склад та кількість мікрофлори. До загальних факторів відносять біогеохімічний дефіцит фтору та йоду в воді та ґрунтів регіону, наявність загальносоматичної патології у дітей (шлунково-кишкового тракту, алергологічної патології, захворювання органів дихання, тощо.) [1, 6, 7, 8, 11, 13,17].

За даними багатьох вітчизняних та зарубіжних дослідників саме видовий та кількісний склад мікроорганізмів порожнини рота відіграє важливу роль у виникненні та прогресуванні таких захворювань як карієс, гінгівіт, пародонтит та ураження слизової оболонки порожнини рота [1,6,8, 16, 17].

В організмі людини порожнина рота являється найбільш обсемененою мікроорганізмами порожниною, де можуть колонізуватися до 160 видів мікроорганізмів. Потрапляють мікроорганізми в порожнину рота з водою, повітрям, їжею тощо. Тут створюються всі сприятливі умови для їх розвитку: завжди рівномірна вологість, постійна температура (біля 37°C), достатній вміст кисню, слабколужна рН, багато поживних речовин [1, 6, 8, 10, 12, 14]. Продуктивному розвитку мікроорганізмів сприяють і анатомічні особливості порожнини рота: наявність складок слизової оболонки, міжзубних проміжків, ясенних кишень, в яких затримується достатня кількість залишків їжі та зроговівший епітелій [6, 9, 15, 16]. Проте, мікрофлора порожнини рота розподіляється нерівномірно. В більшій кількості вони колонізуються на спинці язика та поверхнях зубів. В 1 г зубного налету міститься біля 300 млрд. мікробів, а в слині їх біля 900 млн. в 1 мл.

Стрімкий розвиток фармакологічної науки, особливо антимікробних засобів (антибіотиків, антисептиків, нестероїдних протизапальних препаратів), і особливо їх неконтрольований прийом і часом використання без чітких показів призвів до утво-

рення нових штамів мікроорганізмів зі зміненими властивостями, які є значно шкідливішими для організму, особливо дитячого [16, 17], що в свою чергу призводить до утворення та прогресування стоматологічних захворювань.

Саме тому, метою даного дослідження стало встановлення кількісного та видового складу мікробіоти порожнини рота у дітей 4-6 років, які мають декомпенсовану форму множинного карієсу та та постійно проживають в умовах природнього фтор-йодного дефіциту.

Матеріали та методи дослідження. Для визначення мікробного складу за видом та кількістю було досліджено 68 дітей, у віці від 4 до 6 років, які постійно мешкають в Закарпатській області. Серед обстежених було 34 хлопчики (50%) та 34 дівчинки (50%). Усі пацієнти мали множинний декомпенсований карієс, поширеність в групі склала 100%, при інтенсивності 16,9±1,24. З тих чи інших причин пацієнти потрапили в стоматологічну клініку вперше. У 75% був діагностований катаральний гінгівіт 1-2 ступенів тяжкості. У 23% були верифіковані захворювання органів дихання, зокрема, обструктивні бронхіти (12%), та часті гострі бронхіти (11%).

У дітей для дослідження мікробіоти слизових оболонок рота було визначено кількість мікроорганізмів у секреті слинних залоз, для чого була відібрана слина у емкості для забору слини не менш, ніж через 2-3 години після останнього прийому їжі та прополоскавши рот водою. Від моменту забору проби до початку мікробіологічного висіву пройшло не більше трьох годин.

Мікробіологічний аналіз секрету слинних залоз допомагає визначити кількість та різновиди бактерій у слині, а саме кислотоутворюючих стрептококів (*Streptococcus mutans*, *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. salivarius*), молочнокислих лактобацил та біфідобактерій (*Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*). Не дивлячись на те, що, окрім вказаних вище бактерій, у ротовій порожнині є велика кількість інших мікроорганізмів, саме стрептококи є основними чинниками, що спричиняють утворення карієсу та запальних процесів слизових оболонок рота.

Висіви проводилися на наступні поживні середовища: м'ясо-пептонний агар для визначення ЗМЧ (загального мікробного числа); селективний агар для стрептококів; селективний агар для *Streptococcus mitis* та *S. salivarius*; селективне напіврідке середовище для виділення стрептококів; напіврідке середовище для виділення біфідобактерій (середовище Блаурока); середовище Ендо для перевірки наявності грам-негативної мікробіоти; вісмут-сульфідний агар для виділення сальмонел

та шигел; ентерококовий агар для культивування видів роду *Enterococcus spp.*; лактобак-агар (MPC – Man-Rogosa-Sharp agar) для культивування лактобацил у мікроаерофільних умовах; біфідум-агар для культивування біфідобактерій.

Для визначення та ідентифікації використовуються виготовлення мазків за Грамом і подальше їх мікроскопування, рутинні біохімічні тести. Всі необхідні штами, виділені в ході експерименту штами мікроорганізмів будуть збережені.

Результати досліджень та їх обговорення. У всіх пацієнтів було встановлено наявність дисбіозу порожнини рота 3-4 ступеня. Значення загального мікробного числа знаходилися в діапазоні від мінімального $1,5 \times 10^8$ до максимального 4×10^{10} . Середнє значення становило 3×10^9 .

Були виділені натупні бактерії: *Streptococcus sobrinus* – у 100%; *Streptococcus mitis* – у 88,3%; *Streptococcus salivarius* – у 82,4%; *Escherichia coli* – у 5,9%; *Proteus vulgaris* – у 47,1%; *Citrobacter freundii* – у 53,1%; *Pseudomonas aeruginosa* у 47,1%; *Lactobacillus salivarius* – у 11, 8% випадків (є сумніви щодо видової приналежності, точність 97% з використанням біохімічного тесту Erba-Lachema, потребує уточнення на MALDI); *Staphylococcus aureus* – у 76,5%; *Enterococcus faecalis* – у 88,3%; *Enterococcus faecium* – у 5,9%; *Bifidobacterium spp.* – у 53,0% (дає сумнівні результати (65%) з використанням біохімічного анаеротесту Erba-Lachema, потребує уточнення на MALDI).

Streptococcus mitis, *S. salivarius*, *Lactobacillus salivarius*, *Bifidobacterium spp.* – в нормі зустрічаються у ротовій порожнині, зокрема слині, зубному нальоті, на слизових оболонках порожнини рота.

Streptococcus sobrinus – типовий карієсоутворюючий вид, разом з *Streptococcus mutans* утворюють групу подібних до *Streptococcus mutans* видів за біохімічними властивостями та впливом на поверхню зубної емалі та деструкцію тканини зубів. Одним із найбільш значних факторів їх вірулентності є їх кислотостійкість. При аналізі механізму кислотостійкості та адаптації стрептококів до кислого середовища було виявлено, що *Streptococcus*

sobrinus може продовжувати свій ріст і розмноження при кислотності середовища рН 5,0, в таких умовах він продовжує ферментувати вуглеводи шляхом гліколізу і продовжує закислення середовища навколо себе, при чому окремі ферментні системи *Streptococcus sobrinus* (зокрема фосфотрансферазна система) перебувають в стані вищої активності при рН 5,0, ніж в нейтральному середовищі, що створюють умови для виникнення демінералізації емалі, особливо тимчасових зубів у дітей.

Інші види, зокрема представники грамнегативної мікробіоти, а також види роду *Enterococcus spp.* та *Staphylococcus aureus* в нормі не мають бути присутні серед нормальної мікробіоти; дані представники (*Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*) є нормобіотою та умовно-патогенними представниками бактерій ШКТ. А *Staphylococcus aureus* є збудником багатьох інфекцій і захворювань, викликає опортуністичні та нозокоміальні інфекції у людей зі зниженим імунітетом.

Висновки. Дослідження мікробіоти ротової порожнини, видова ідентифікація та кількісний її склад є маркером виникнення та прогресування таких захворювань органів порожнини рота як карієс, запальні та запально-дистрофічні захворювання тканин пародонта та уражень слизової оболонки порожнини рота. Зокрема, *Streptococcus sobrinus*, яку було виділено у 100% обстежених дітей, у віці 4-6 років, які постійно проживають у районі біогеохімічного дефіциту фтору та йоду, визнано найбільш ацидофільною бактерією, яка персистує в порожнині рота людини, оскільки колонії бактерій при рН 5,0 продовжують активні синтетичні процеси, в них відсутні шокові і стресові протеїни, що було доведено на хемостатній культурі, ДНК, РНК-аналізі та Вестерн-блоттингу.

Їх вчасне виявлення та раціональне усунення їх токсичного впливу, шляхом зменшення їх кількості дозволить знизити ризик виникнення захворювань органів ротової порожнини та створить умови для повноцінного формування усіх структур порожнини рота у дітей.

Список літератури:

- Захаров А. А. Анализ микрофлоры ротовой полости обследованных людей с различными заболеваниями / А. А. Захаров, Н. А. Ильина // Успехи современного естествознания. – 2007. – № 12. – С. 353-355.
- Клітинська О. В. Аналіз поширеності карієсу у дітей дошкільного віку міста Ужгорода / О. В. Клітинська, Е. Й. Дячук // Матеріали науково-практичної конференції «Актуальні питання стоматології сьогодні». – Тернопіль. – 2010. – С. 24-25.
- Клітинська О. В. Епідеміологічний аналіз визначення факторів ризику розвитку стоматологічних захворювань у дітей Закарпаття / О. В. Клітинська // Вісник проблем біології та медицини – 2012 – № 4, т. 1(94). – С. 194-198.
- Клітинська О. В. Сучасні погляди на вплив окремих представників мікрофлори на розвиток стоматологічних захворювань та уражень шлунково-кишкового тракту / О. В. Клітинська, Ю. О. Мочалов, Н. В. Пупена // Молодий вчений, – № 11(14) листопад, 2014 р. – С. 217-220.
- Клітинська О. В. Аналіз стану твердих тканин зубів у дітей, які проживають в умовах біогеохімічного дефіциту фтору та йоду / О. В. Клітинська // Матеріали науково-практичної конференції «Актуальні питання стоматології сьогодні». – Тернопіль. – 2010. – С. 20-21.
- Кузнецов Е. В. Микробная флора полости рта и её роль в развитии; патологических процессов / Е. В. Кузнецов, В. Н. Царёв. – М.: МЕДпресс-информ, 2003. – 240 с.
- Лемко И. С. К вопросу природных биогеохимических провинций в регионах с наличием минеральных вод / И. С. Лемко, Л. П. Киртич, Л. В. Дичка // «Биометеорология человека»: Материалы конгресса. – Санкт-Петербург, 2010. – С. 128-129.
- Лукина Г. И. Возможные, микробные ассоциации в полости рта у пациентов с заболеваниями эзофагогастродуоденальной зоны / Г. И. Лукина, Э. А. Базикян // Dental Forum. – 2010. – № 4. – С. 33-35.
- Тец В. В. Роль микрофлоры полости рта в развитии заболеваний человека / В. В. Тец // Стоматология, 2008. – № 3. – С. 76-80.
- Cullinan M. P. The effect of a triclosan-containing dentifrice on the progression of periodontal disease in an adult population / M. P. Cullinan, B. V. Westerman, S. M. Hamlet, J. E. Palmer // J. Clin Periodontol. – 2009. – № 30(5). – P. 414-419.
- Gaffar A. Applications of polymers in dentifrices and mouthrinses / A. Gaffar, C. M. Hunter, Y. R. Mirajkar // J Clin Dent. – 2008. – № 13(4). – P. 138-148.

12. Haffajee A. D. Microbial complexes in supragingival plaque / S. S. Socransky, A. D. Haffajee, M. R. Patel, X. // Song Oral Microbiol Immunol. – 2008. – № 23. – P. 196–205.
13. Jia C. L. Effect of dental plaque control on infection of Helicobacter pylori in gastric mucosa / C. L. Jia, G. S. Jiang, C. H. Li, C. R. Li // Tex Dent J. – 2012. – Vol. 129(10). – P. 1069–1073.
14. Kaakoush N. O. Campylobacter concisus – A new player in intestinal disease / N. O. Kaakoush, H. M. Mitchell // Front Cell Infect Microbiol. – 2012. – № 2. – P. 2–4.
15. Loe H. Oral hygiene in the prevention of caries and periodontal disease / H. Loe // Int. Dent. J. – 2000. – № 50(3). – P. 129–139.
16. Said H. S. Dysbiosis of Salivary Microbiota in Inflammatory Bowel Disease and Its Association With Oral Immunological Biomarkers / H. S. Said, W. Suda., S. Nakagome et al. // DNA RESEARCH. – 2014. – № 21. – P. 15–25.
17. Salazar C. R. Association between selected oral pathogens and gastric precancerous lesions / C. R. Salazar, J. Sun, Y. Li et al. // PLoS One. – 2013. – № 8(1). – P. 516.

Клитинская О.В.

Ужгородский национальный университет

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБНОГО СОСТАВА ПОЛОСТИ РТА У ДОШКОЛЬНИКОВ С ДЕКОМПЕНСИРОВАННОЙ ФОРМОЙ МНОЖЕСТВЕННОГО КАРИЕСА, КОТОРЫЕ ПОСТОЯННО ПРОЖИВАЮТ В УСЛОВИЯХ БИОГЕОХИМИЧЕСКОГО ДЕФИЦИТА ФТОРА И ЙОДА

Аннотация

В статье приведены результаты анализа микробиоты ротовой жидкости у детей 4–6 лет, которые постоянно проживают в условиях биогеохимического дефицита фтора и йода, что является одним из факторов риска образования и прогрессирования патологий твердых тканей и установлено, что у 100% случаев выделено *Streptococcus sobrinus*, который является наиболее кислотофильной бактерией, поскольку колонизируется даже при pH 5,0 продолжая активные синтетические процессы, в них нет стрессовых и шоковых протеинов, что было доведено на хемостатической культуре, ДНК, РНК-анализе и Вестерн-блоттинга.

Ключевые слова: дети, кариес, микробиота ротовой жидкости, *Streptococcus sobrinus*, биогеохимический дефицит фтора и йода.

Klitynska O.V.

Uzhhorod National University

FEATURES OF MICROBIAL COMPOSITION OF MOUTH CAVITY IN PRESCHOOLERS WITH DECOMPENSATED PLURAL CARIES, WHO LIVE IN BIOGEOCHEMICAL CONDITIONS OF FLUORINE AND IODINE DEFICIT

Summary

The article presents an analysis of oral microbiota of children 4–6 years of age permanently living in conditions of fluorine and iodine deficiency, which is a factor of occurrence and progression of pathologies of hard tissues. It is found that 100% cases feature *Streptococcus sobrinus*, which is considered to be the most acidophilic bacterium that persists in the human oral cavity, because it is able to colonize even in pH 5.0 continuing active synthetic processes. The fact that they lack the shock and stress proteins have been shown through examples of hemostatniy culture, DNA, RNA analysis and western blotting.

Keywords: children, caries, oral fluid microbiota, *Streptococcus sobrinus*, biogeochemical fluorine and iodine deficiency.