

Координаты для связи с авторами: Антонова Александра Анатольевна – д-р мед.наук, профессор, зав. кафедрой стоматологии детского возраста ДВГМУ, e-mail: alex.antonova@rambler.ru; Мрачковская Алла Ивановна – канд. мед. наук, доцент кафедры онкологии с курсом радиологии ДВГМУ, тел. +7-924-220-67-23; Стригалева Мария Владимировна – руководитель группы радиационного контроля КГБУЗ «Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.И. Сергеева», тел. 8-(4212)-39-05-34; Холод Наталья Леонидовна – врач-стоматолог стоматологической клиники «Бриллиантовый стиль», тел. +7-924-220-67-22; Павленко Вера Михайловна – главный врач КГБУЗ «Детская стоматологическая поликлиника № 22», тел. 8-(4212)-36-40-78; Холод Виктория Алексеевна – врач-интерн Института повышения квалификации специалистов здравоохранения МЗ ХК.



УДК 616.3:616-071.7:616-076 (045)

Н.В. Стрельникова^{1,2}, А.А. Антонова¹, И.П. Кольцов¹, В.Б. Туркутюков³, Е.Л. Старовойтова¹,
И.Н. Алексеева⁴, В.И. Гермаш¹

НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ МИКРОСКОПИЧЕСКОГО МЕТОДА ИССЛЕДОВАНИЯ НАТИВНОГО СОСКОБА КОРНЯ ЯЗЫКА В СТОМАТОЛОГИИ, ГАСТРОЭНТЕРОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ

¹Дальневосточный государственный медицинский университет,
680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел. 8-(4212)-76-13-96, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru;

²Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.И. Сергеева,
680009, ул. Краснодарская, 9, тел. 8-(4212)-39-04-05, e-mail: kkb1@dvmc.khv.ru;

³Тихоокеанский государственный медицинский университет,
690002, пр-т Острякова, 2, тел. 8-(423)-242-97-78, e-mail: mail@tgmu.ru, г. Владивосток;

⁴Краевая клиническая психиатрическая больница,
680038, ул. Серышева, 33, тел. 8-(4212)-56-04-41, e-mail: hkpb@rambler.ru, г. Хабаровск

Резюме

Микробиома корня языка человека изучена недостаточно, при очевидной доступности биотопы. Предложен способ микроскопии соскоба корня языка, окрашенного по Граму и интерпретация данных. Рассмотрены перспективы изучения микробиома полости рта и слизистой оболочки языка, критерии диагностики лептотрихоза и обезвоженности слизистых оболочек полости рта, риска развития кариеса. В 2006–2016 гг. у 2 900 человек от 1 года до 88 лет проведена микроскопия соскобов, микробиологическая диагностика, клинический осмотр, анкетирование, статистическая обработка данных.

Ключевые слова: микробиома корня языка, микроскопические исследования, метод Грама, кариес зубов у детей, лептотрихоз полости рта, обезвоженность слизистых оболочек полости рта.

N.V. Strelnikova^{1,2}, A.A. Antonova¹, I.P. Koltsov¹, V.B. Turkutukov³, E.L. Starovoytova¹,
I.N. Alekseyeva⁴, V.I. Germash¹

NEW POTENTIALS OF MICROSCOPIC METHOD OF EXAMINATION OF SCRAPING OF THE TONGUE ROOT IN DENTISTRY, GASTROENTEROLOGY AND MICROBIOLOGY

¹Far Eastern State Medical University;

²Regional clinical hospital № 1 of Khabarovsk Region Health Ministry, Khabarovsk;

³Pacific State Medical University, Vladivostok;

⁴Regional clinical psychiatric hospital of Khabarovsk Region Health Ministry, Khabarovsk

Summary

The microbioma of the tongue root, with its obvious availability, is poorly studied in microbiocenosis of the human normal flora. The method of clinical diagnostic studies of scraping the tongue root, dyed by the method of gram staining and interpretation of the data were carried out. The potentials for the study of the microbioma of the oral cavity and mucous membrane of the tongue in the dental practice were analyzed. The authors worked out the criteria for diagnostics of leptotrichiosis of the oral mucous membranes, a tentative method for diagnosing the risk of dental caries, determined the dehydration of the mouth. In the period throughout 2006-2016 the authors performed microscopy scrapings of the tongue in more than 2 900 people aged from 1 to 88 years of different clinical groups with simultaneous microbiological diagnostics, clinical examination, questionnaires, and statistical processing of data analysis.

Key words: microbioma of the tongue root, microscopic tests, method of Gram staining, dental caries in children, leptotrichiosis of the mouth, dehydration of the mucous membranes of the mouth.

Известной составляющей качества жизни и здоровья человека является сбалансированная микрофлора полости рта [2, 3, 4, 5, 10, 11]. Развитие специфических и неспецифических воспалительных процессов полости рта, кариеса, ГВЗ, обезвоживания, связано с

изменением качественного и количественного состава орального микробиоценоза [1, 2, 3, 4, 5, 10, 11, 12]. Доступные клинико-диагностические методы при заболеваниях полости рта ограничены [5, 6, 7, 8, 9].

Материалы и методы

Проведено 2 900 микроскопических исследований нативного соскоба слизистой корня и спинки языка, в 3 репрезентативных группах: 1-я группа – 2664 человека, для изучения распространенности лептотрихий в Хабаровском крае, от 1 года до 88 лет. 2-я группа – 133 человека, от 1 года до 71 года с проявлениями воспалительного процесса СОПР, включая лептотрихоз, сопровождающегося обезвоживанием слизистых оболочек полости рта. 3-я группа – 103 ребенка 3 лет. Определяли кпу зубов, кариесогенность зубного налета по Hardwick J. L. в модификации Недосеко В.Б., гигиенический индекс по Э.М. Кузьминой, обсемененность *S. mutans* окклюзионной, вестибулярной поверхностей и межзубного промежутка молочных зубов нижней челюсти, спинки языка и слюны. Сте-

пень колонизации *S. mutans* оценивали по инструкции «Dentocult SM Strip Mutans» и сравнивали с эталонной картой. Биоматериал для микроскопии брали на границе задней и средней трети спинки языка, мазки окрашивали по Граму, микроскопию проводили с иммерсией, на микроскопе Zeiss, Primo Star [8, 9]. Определяли количество, морфологию и размеры бактерий, грам+ или грам- клетки, лептотрихии, кандиды, коэффициенты коадгезии, соадгезии и гистадгезии, количество и характеристику клеток и ядер эпителия [6, 7, 8, 9]. Для микробиологического исследования делали забор из патологических очагов полости рта, спинки языка. Культивирование, чувствительность к антибиотикам проводили по приказу МЗ СССР № 535, МУК 4.2.1980-04.

Результаты и обсуждение

Выявлена высокая распространенность резидентов полости рта рода *Leptotrichia*. Степень обсеменности взрослых $98,06 \pm 1,09$ %, детей $88 \pm 4,62$ %. При наличии хронических заболеваний желудочно-кишечного тракта, выявляли лептотрихии, длиной 40-100 мкм, схожие с нитями, в $99,02 \pm 0,03$ %, прямую сильную корреляционную связь между наличием гастрита и языка желудка и увеличением длины лептотрихий ($r_{xy} = 0,83$, $p < 0,01$; $r_{xy} = 0,81$, $p < 0,01$). При высокой активности кариозного процесса у детей и взрослых, среднем индексе кпу $16,34 \pm 3,34$, регистрировали высокий и очень высокий индекс коадгезии микробов разных видов к поверхности лептотрихий, до $69,89 \pm 21,24$ % клеток на одной особи у $95,17 \pm 3,21$ % обследованных, наблюдалась прямая связь показателя кпу с коадгезией ($r_{xy} = 0,63$, $p < 0,05$).

У всех пациентов 2-й группы патологический процесс сопровождался воспалительной реакцией со стороны десен. Доля пациентов с гингивитом тяжелой степени составила $21 \pm 4,32$ %, средней – $62 \pm 1,5$ %, легкой – $17 \pm 3,8$ %. Выделены микробы, в ассоциациях по 2-4 вида. Энтеробактерии выявляют при увеличении тяжести процесса. Титр энтерококков увеличивается при тяжелых гингивитах в 2 раза, $p < 0,05$. В таблице 1 представлен состав микробиома языка.

Таблица 1

Часто выделяемые виды микробиомы слизистой языка

Вид микроорганизмов	Степень тяжести гингивита (n=133)		
	легкая (n=23)	средняя (n=82)	тяжелая (n=28)
<i>Enterococcus faecalis</i>	$46,4 \pm 1,9^*$	$64,7 \pm 0,9^*$	$88,91 \pm 1,2^*$
<i>Streptococcus pyogenes</i> группы A	$20,78 \pm 1,2^*$	$28,12 \pm 1,1^*$	$31,38 \pm 0,7^*$
<i>Streptococcus viridans</i>	$50,65 \pm 1,8^*$	$45,36 \pm 1,8^*$	$34 \pm 1,5^*$
<i>Enterobacteriaceae</i>	-	$16,48 \pm 1,3^*$	$31,53 \pm 1,5^*$

Примечание. * – $p < 0,05$ – значимость различий в группах.

Проводилось микроскопическое исследование корня языка при стоматитах, гингивитах, кариесе зубов. В $38 \pm 5,5$ % выявили лептотрихии, более 30-60 в поле зрения, в $23 \pm 3,5$ % кандиды. При дисбиозе в $68 \pm 4,5$ % случаев наблюдали большое количество микроорганизмов, у $90 \pm 1,7$ % взрослых и у $85 \pm 2,6$ % детей шаровидные скопления микроорганизмов, их выраженную коадгезию, соадгезию и гистадгезию. Объективно выявляли сухость слизистой языка и СОПР, недостаточный объем и большую вязкость слюны. При опросе выясняли, что пациенты пьют мало воды, заменяя ее на чай, кофе, какао, сок, квас, пиво. Воду пьют менее 10 % детей, предпочитая газированные напитки, соки, компот в $40,79 \pm 3,74$ %. По результатам общего исследования: средний индекс КПУ у всех детей составил $3,32 \pm 0,31$. Гигиенический индекс – $0,61 \pm 0,12$, что соответствует плохой гигиене полости рта. Определена обезвоженность по характерным скоплениям микробов, и по увеличению общего количества микроорганизмов полости рта, между показателями установлена сильная корреляционная связь ($r_{xy} = 0,5$, $p < 0,01$; $r_{xy} = 0,45$, $p < 0,01$). После соблюдения питьевого режима: за 20-30 минут до еды, в $92 \pm 1,71$ % случаев пациенты не предъявляли жалобы на дискомфорт, отмечалось уменьшение воспаления. У детей снижалась скорость образования зубного налета, в мазках отмечалось сокращение общего количества микробов, снижалась их склонность к коадгезии, соадгезии и гистадгезии, отсутствовали скопления микробов с вязкой слизью [8, 9]. Результаты отражены в таблице 2.

Стоматологическое обследование детей 3-й группы показало высокую интенсивность кариеса $3,34 \pm 0,29$ при низком уровне гигиены полости рта – $0,63 \pm 0,03$, преобладал компонент «к» – $3,01 \pm 0,3$. Кариесогенность зубного налета $2,33 \pm 0,05$. Установлена прямая сильная связь КПУ с наличием хронических заболеваний у матерей ($r_{xy} = 0,45$, $p < 0,01$; $r_{xy} = 0,5$, $p < 0,01$). У детей, пьющих на ночь подслащенные напитки и соки харак-

терно наличие прямой сильной корреляционной связи с высоким индексом КПУ ($r_{xy}=0,82$, $p<0,01$) и прямой связи с плохой гигиеной полости рта и выраженным КЗН ($r_{xy}=0,61$, $p<0,05$; $r_{xy}=0,41$, $p<0,05$). Преобладание на поверхности языка *S. mutans* $>1\ 000\ 000$ КОЕ/мл, с наименьшим их титром в слюне $<100\ 000$ КОЕ/мл ($p<0,001$). Результаты исследования являются основанием планирования программ профилактики кариеса у детей раннего возраста с учетом стоматологического статуса и уровня обсемененности кариесогенными бактериями [1, 6, 7, 9]. После проведения комплекса лечебно-профилактических мероприятий статус улучшился: изменился компонент «п» – $2,25\pm0,03$ индекса КПУ, достоверно, в 3 раза ($p<0,001$), уменьшился ГИ – $0,14\pm0,02$, кариесогенность зубного налета уменьшилась с $2,33\pm0,05$ до $1,57\pm0,04$ ($p<0,001$). Обсемененность *S. mutans* поверхности языка уменьшилась с $2,27\pm0,09$ до $0,80\pm0,05$ ($p<0,001$), межзубного промежутка с $2,17\pm0,09$ до $0,57\pm0,05$ ($p<0,001$). Титр

Streptococcus mutans в биотопах вестибулярной и окклюзионной поверхностей зубов, слюны уменьшился с $2,10\pm0,11$ до $0,67\pm0,07$ ($p<0,001$) и до $0,57\pm0,06$ ($p<0,001$), с $1,90\pm0,09$ до $0,47\pm0,05$ ($p<0,001$), соответственно, в 2,0-4,0 раза ($p<0,001$).

Таблица 2

Микроскопия соскоба слизистой языка до и после применения воды

Признак недостатка воды	Гингивит, стоматит (n=83)		Кариес зубов (n=92)	
	до	после	до	после
Скопления микробов	96,4 $\pm$ 1,2*	14,7 $\pm$ 0,3*	88,91 $\pm$ 1,2*	16,7 $\pm$ 0,7*
Коагезия и соадгезия	89,88 $\pm$ 1,2*	38,12 $\pm$ 1,1*	61,38 $\pm$ 0,7*	28,12 $\pm$ 1,1*
Гистадгезия	50,65 $\pm$ 1,8**	43,32 $\pm$ 1,9**	54,3 $\pm$ 1,8**	45,36 $\pm$ 1,9**

Примечание. * – $p<0,001$, ** $p<0,01$ – значимость различий в группах.

Выводы

1. Способ характеризует качественный и количественный состав микробиома корня языка, может применяться в стоматологии, гастроэнтерологии и микробиологии, как скрининг-диагностика в группах риска развития кариеса зубов, патологии желудка и кишечника [8].

2. Способ выявляет обезвоженность слизистых полости рта, может применяться для контроля состояния водно-электролитного баланса, для коррекции и сокращения сроков лечения заболеваний СОПР и кариеса зубов, индивидуального подхода к пациенту [8, 9].

3. Наличие лептотрихий более чем 15-20 в каждом из 10 полей зрения, клеток слущенного эпителия более 8-10 и субъективные жалобы свидетельствуют о лептотрихозе СОПР.

4. Высокая пораженность кариесом зубов детей обусловлена плохой гигиеной, низкой профилактической активностью родителей. Степень обсеменения *S. mutans* слюны, вестибулярной и окклюзионной поверхности зубов низкая у детей с КПУ, не более 4. Максимальная обсемененность КОЕ 10^6 /мл *S. mutans* – поверхность языка у детей с КПУ = 4-7. Это позволяет планировать программу профилактики кариеса зубов у детей с учетом биотопа – места донации патогенных стрептококков – корня языка и зубного налета межзубных промежутков [6, 7].

5. Способ внедрен и востребован в учреждениях здравоохранения Хабаровского края, он может быть предложен в качестве стандарта качества оказания медицинской помощи в стоматологии и гастроэнтерологии.

Литература

1. Антонова А.А., Чирикова Е.Л. Распространенность и интенсивность кариеса зубов у детей раннего возраста в Хабаровском крае // Инновационные технологии в биологии и медицине: научные труды X международного конгресса «Здоровье и образование в XXI веке». – М.: РУДН, 2009. – С. 985-986.
2. Воробьев А.А., Лыкова Е.А. Бактерии нормальной микрофлоры: биологические свойства и защитные функции // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 1999. – № 6. – С. 102-105.
3. Кузнецов Е.А., Царев В.Н. и др. Микробная флора полости рта и ее роль в развитии патологических процессов. – М., 1996. – 74 с.
4. Кузьмина Э.М., Кузьмина И.Н., Петрина Е.С. Стоматологическая заболеваемость населения РФ. Состояние тканей пародонта и слизистой оболочки рта / Под ред. проф. Янушевича О. М. – 2009. – 236 с.
5. Леонтьев В.К., Кисельникова Л.П. Детская терапевтическая стоматология. Национальное руководство. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. – 952 с.
6. Старовойтова Е.Л., Стрельникова Н.В., Антонова А.А. Микробиома языка как прогностическая модель для определения обсемененности кариесогенными бактериями *Streptococcus mutans* твердых тканей зубов у детей раннего возраста // Заявка на патент

РФ № 2017126914/15(046388), 26.07.2017. – Уведомление: положительный результат формальной экспертизы заявки на изобретение, 31.08.2017.

7. Старовойтова Е.Л., Стрельникова Н.В., Антонова А.А. Способ неспецифической донозологической профилактики и лечения кариеса зубов детей раннего возраста // Заявка на патент РФ № 2017128961/15(050119), 14.08.2017. – Уведомление: положительный результат формальной экспертизы заявки на изобретение, 15.09.2017.

8. Стрельникова Н.В., Антонова А.А., И.П., Елистратова М.И., Алексеева И.Н. Способ микроскопического исследования нативного соскоба корня языка // Патент России № 2549989, 2015. – Бюл. № 13.

9. Стрельникова Н.В., Антонова А.А., Старовойтова Е.Л., Гермаш В.И., Алексеева И.Н. Микроскопический способ определения обезвоженности тканей полости рта на модели микробиома языка // Заявка на патент РФ № 2017130096/14(052406), 24.08.2017. – Уведомление: положительный результат формальной экспертизы заявки на изобретение, 12.09.2017.

10. Тец В.В. Роль микрофлоры полости рта в развитии заболеваний человека // Стоматология. – 2008. – № 3. – С. 76-80.

11. Чайковская И.В., Осипенкова Т.С. Микробиоценоз полости рта в норме и при кариесе // Архив клин. и эксперим. медицины. – 2002. – Т. 11, № 3 – С. 394-397.

12. Leong P.M., Gussy M.G., et al. A systematic review of risk factors during first year of life for early childhood caries // Intern. Journal of Pediatric Dentistry. – 2013. – Vol. 23, № 4. – P. 235-250.

Literature

1. Antonova A.A., Chirikova E.L. The prevalence and intensity of dental caries among early children of the Khabarovsk region // Innovative technologies in biology and medicine: scientific works of the X International Congress «Health and Education in the XXI century». – Moscow: RUDN (People's Friendship University of Russia), 2009. – P. 985-986.

2. Vorobyov A.A., Lykova E.A. Bacteria of the normal microflora: biological properties and protective functions // Journal of microbiology, epidemiology and immunology. – 1999. – № 6. – P. 102-105.

3. Kuznetsov E.A., Tsaryov V.N., et al. Microbial flora of the oral cavity and its role in development of pathological processes. – M., 1996. – 74 p.

4. Kuzmina E.M., Kuzmina I.N., Petrina E.S. Dental diseases among the population of the Russian Federation. The condition of periodontal tissues and mucous membranes of the oral cavity / Ed. by Prof. O.M. Yanushevich. – 2009. – 236 p.

5. Leontyev V.K., Kiselnikova L.P. Pediatric therapeutic dentistry. National guide – M.: GEOTAR-Media, 2017. – 952 p.

6. Starovoytova E.L., Strelnikova N.V., Antonova A.A. Microbioma of the tongue as a prognostic model for determining the seeding of cariesogenic bacteria *Streptococcus mutans* of hard dental tissues in young children // RF patent application № 2017126914/15(046388), 26.07.2017. – Notification: positive result of a formal examination of an invention application, 31.08.2017.

7. Starovoytova E.L., Strelnikova N.V., Antonova A.A. The method of non-specific donosological prophylaxis and treatment of dental caries of young children // RF patent application № 2017128961/15(050119), 14.08.2017. – Notification: positive result of a formal examination of an invention application, 15.09.2017.

8. Strelnikova N.V., Antonova A.A., Koltsov I.P., Elistratova M.I., Alekseeva I.N. Method of microscopic examination of native scrap of the tongue root // Patent of Russia № 2549989, 2015. – Bul. № 13.

9. Strelnikova N.V., Antonova A.A., Starovoytova E.L., Germash V.I., Alekseyeva I.N. Microscopic method for determining the dehydration of oral tissues on the model of the tongue microbioma // RF patent application № 2017130096/14(052406), 24.08.2017. – Notification: positive result of a formal examination of an invention application, 12.09.2017.

10. Tets V.V. The role of oral cavity microflora in the development of human diseases // Stomatology. – 2008. – № 3. – P. 76-80.

11. Chaykovskaya I.V., Osipenkova T.S. Microbiocenosis of oral cavity in normal conditions and in caries // Archives of clinical and experimental medicine. – 2002. – Vol. 11, № 3. – P. 394-397.

12. Leong P.M., Gussy M.G., et al. A systematic review of risk factors during first year of life for early childhood caries // Intern. Journal of Pediatric Dentistry. – 2013. – Vol. 23, № 4. – P. 235-250.

Координаты для связи с авторами: Стрельникова Наталья Викторовна – канд. мед. наук, доцент, зав. бактериологической лабораторией КГБУЗ «ККБ № 1», врач высшей квалификационной категории по специальности «Бактериология», доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ДВГМУ, тел.+7-924-925-89-85, e-mail: jpdom@mail.ru; Антонова Александра Анатольевна – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой стоматологии детского возраста ДВГМУ, врач высшей квалификационной категории по специальности «Детская стоматология» и «Стоматология терапевтическая», главный внештатный специалист МЗ Хабаровского края по детской стоматологии, тел. +7-924-115-89-80, e-mail: alex.antonova@rambler.ru; Кольцов Игорь Петрович – канд. мед. наук, доцент, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии ДВГМУ, тел.+7-914-204-86-60, e-mail: koltcov-55@mail.ru; Туркутюков Вячеслав Борисович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой эпидемиологии и военной эпидемиологии ТГМУ, главный внештатный эпидемиолог МЗ Приморского края, тел.+7-914-734-75-00, e-mail: vyach.12593@mail.ru; Старовойтова Елена Леонидовна – асс. кафедры стоматологии детского возраста ДВГМУ, врач первой квалификационной категории по специальности «Детская стоматология», врач стоматолог детский клиники «Доктор-Стом», тел. +7-929-406-99-66, e-mail: doc-el@mail.ru; Алексеева Ирина Николаевна – врач-бактериолог бактериологической лаборатории КГБУЗ «ККПБ», по совместительству врач-бактериолог КГБУЗ «ККБ № 1», врач высшей квалификационной категории по специальности «Бактериология», тел.+7-924-101-63-45; Гермаш Валерия Ивановна – аспирант кафедры стоматологии детского возраста ДВГМУ, врач-стоматолог детский поликлиники «Уни-Стом», тел. +7-965-674-87-79, e-mail: v.i.germash@gmail.com.

