

О МИКРОБИОТЕ ЛОКУСА РОТОВОЙ ПОЛОСТИ

Д.А. Адамбеков, Б.Д. Хамзаев, А.Д. Адамбекова

Кыргызская государственная медицинская академия им. И.К.Ахунбаева,
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии
г. Бишкек, Кыргызская Республика

Аннотация. Микробиота ротовой полости представляет собой важную часть микробиоты человека и включает от нескольких сотен до нескольких тысяч разнообразных видов. Исследование микробиоты ротовой полости человека, описание ее видового состава позволит понять механизмы влияния микроорганизмов, а также их метаболитов на формирование патологических состояний и организм человека в целом. В обзоре представлено описание нормальной микрофлоры рта, освещены данные программы НОМД, а также краткая характеристика слюны, как питательная среда для микробов.

Ключевые слова: микробиота ротовой полости, слюна, биопленка, микробное сообщество.

ООЗ КӨНДӨЙҮНҮН МИКРОБИОТУНДАГЫ ЛОКУСУ

Д.А. Адамбеков, Б.Д. Хамзаев, А.Д. Адамбекова

И.К. Ахунбаев атындагы Кыргыз мамлекеттик медициналык академиясы,
Микробиология, вирусология жана иммунология кафедрасы
Бишкек ш., Кыргыз Республикасы

Анотация. Ооз көндөйүнүн микробиоту адамдын эң маанилүү бөлүгү болуп саналат жана бир нече жүздөн бир нече миңге чейин ар кандай түрлөрдү камтыйт. Адамдын ооз көндөйүнүн микроб чөйрөсүн изилдөө, микроорганизмдердин түрлөрүн, курамын сүрөттөө саналат жана микроорганизмдердин зат алмашуу процесстеринин астында келип чыккан жалпы адам организмнин тийгизген патологиялык терс таасири эсептелинет. Бул макалада ооздун кадимки микрофлорасынын сүрөттөмөсү келтирилген жана НОМД программасынын маалыматтары, ошондой эле шилекейдин микробдор үчүн азык берүүчү чөйрө катары кыскача сүрөттөлгөн.

Негизги сөздөр: ооз көндөйүнүн микробиоту, шилекей, биочелкабык, микробдор коомчулугу.

HUMAN LOCUS MICROBIOTE

D. Adambekov, B. Khamzaev, A. Adambekova

Kyrgyz State Medical academy named after I.K. Akhunbaev,
Department of Microbiology, Virology and Immunology
Bishkek, Kyrgyz Republic

Summary. Human oral microbiome is a the unique extensive ecosystem which is the most available for studying. Existing data highlight the critical role of opportunistic and pathogenic bacteria in developing infectious diseases such as dental caries, tonsillitis, periodontitis as well as in developing a number of somatic complaints. The study of the human oral microbiome and the composition of species highlight the mechanism of bacterial influence together with bacterial matabolites on the appearance of pathological conditions and on the human organism as a whole. This review describes the normal human oral microbiota, saliva as the nutritional source of microorganisms, metabolism of the oral bacteria, characteristics of biofilms as the forms of existence in communities, and program HOMD.

Keywords: human oral microbiome, saliva, biofilm, microorganism.

Микробиота представляет собой уникальную открытую экосистему для самых разнообразных микроорганизмов [1]. С первых дней жизни ротовая полость обсеменяется микробами, численность и разнообразие которых определяется множеством факторов внутренней среды организма и внешнего окружения. Несмотря на это, существует индивидуальная и анатомическая специфичность состава микроорганизмов, населяющих конкретный биотип. Нормальная микрофлора сложилась эволюционным путем как результат взаимного действия множества факторов, связанных с взаимодействием внешней среды и состоянием макроорганизма, а также в зависимости от взаимоотношений разных видов микробов, входящих в биоценоз.

Микрофлора полости рта представлена многочисленными видами аэробных и анаэробных микроорганизмов, так как для них здесь имеются вполне благоприятные условия – щелочная реакция слюны, наличие пищевых остатков, благоприятная для размножения температура (37°C). Сразу после рождения ребенка в его ротовой полости формируется аэробная флора – кокки, палочки; с прорезыванием зубов появляются анаэробные бактерии, в том числе вибрионы, спириллы, спирохеты, клостридии. В полости рта происходит непрерывное загрязнение микробами и самоочищение под влиянием лизоцима, ингибина и других факторов, вследствие чего формируется более или менее постоянная микрофлора, наиболее частыми представителями которой являются стафилококки, стрептококки,

лактобактерии, нейссерии, спирохеты, вибрионы, постоянно присутствуют анаэробы – вейллонеллы, бактероиды, пептострептококки [2].

В полости рта анаэробов больше, чем аэробов. Здесь обитают разнообразные бактерии: бактероиды, превотеллы, порфиромонады, бифидобактерии, зубактерии, фузобактерии, лактобактерии, актиномицеты, гемофильные палочки, лептотрихии, нейссерии, спирохеты, стрептококки, стафилококки, пептококки, пептострептококки, вейллонеллы и др.

Анаэробы обнаруживаются прежде всего в карманах десен и зубных бляшек. Они представлены родами *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium* и др. Аэробы представлены *Micrococcus spp.*, *Streptococcus spp.* Обнаруживаются также грибы рода *Candida* и простейшие (*Entamoeba gingivalis*, *Trichomonas tenax*). Ассоцианты нормальной микрофлоры и продукты их жизнедеятельности образуют зубной налет. Антимикробные компоненты слюны, особенно лизоцим, антимикробные пептиды, антитела

(секреторный IgA), подавляют адгезию посторонних микробов к эпителиоцитам. С другой стороны бактерии образуют полисахариды: *S. sanguis* и *S. mutans* преобразовывают сахарозу во внеклеточный полисахарид (глюканы, декстраны), участвующие в адгезии к поверхности зубов. Колонизации постоянной частью микрофлоры способствует фибронектин, покрывающий эпителиоциты слизистых оболочек [2].

В полости рта может быть до 100 видов микроорганизмов, по другим данным — до 300. Главными ее обитателями у взрослого человека являются бактерии преимущественно анаэробного типа дыхания (3/4 всех микробных видов), остальные виды представлены факультативными анаэробами. В ротовой полости самую большую группу бактерий составляют кокки. Полость рта – одно из наиболее густонаселенных мест человеческого организма, разных видов зубактерий, архей, грибов и простейших (таблица 1) [3].

Таблица 1 - Микробная флора в полости рта

Микроорганизмы	Частота обнаружения в слюне %	Количество в 1 мл слюны	Частота обнаружения в зубодесневых карманах, %
Резидентная флора			
1. Аэробы и факультативные анаэробы:			
1. <i>S. mutans</i>	100	$1,5 \times 10^5$	100
2. <i>S. salivarius</i>	100	10^7	100

3. S.mitis	100	$10^6 - 10^8$	100
4. Сапрофитные нейссерии	100	$10^5 - 10^7$	++
5. Лактобактерии	90	$10^3 - 10^4$	+
6. Стафилококки	80	$10^3 - 10^4$	++
7. Дифтероиды	80	Не определено	+
8. Гемофилы	60	Не определено	0
9. Пнемококки	60	Не определено	Не определено
10. Другие кокки	30	$10^2 - 10^4$	++
11.Сапофитные микобактерии	++	Не определено	++
12. Тетракокки	++	Не определено	++
13. Дрожжеподобные грибы	50	$10^2 - 10^3$	+
14. Микоплазмы	50	$10^2 - 10^3$	Не определено
2.Облигатные анаэробы:			
1. Вейллонеллы	100	$10^6 - 10^8$	100
2. Анаэробные стрептококки (пептострептококки)	100	Не определено	100
3. Бактероиды	100	Не определено	100
4. Фузобактерии	75	$10^2 - 10^3$	100
5. Нитевидные бактерии	100	$10^2 - 10^4$	100
6. Актиномицеты и анаэробные дифтероиды	100	Не определено	++
7. Спирилы и вибрионы	++	Не определено	++
8. Спирохеты (сапрофитные боррелии, трепонемы и лептоспиры)	+	Не определено	100
3. Простейшие			
1. Entamoeba gingivalis	0	0	45
2. Trichomonas elongate	0	0	25
Непостоянная флора			
1.Аэробы и факультативные анаэробы:			
<i>Грамотрицательные палочки:</i>			
1. Klebsiella	15	$10 - 10^2$	0
2. Escherichia	2	$10 - 10^2$	±
3. Aerobacter	3	$10 - 10^2$	0

4. Pseudomonas	±	Не определено	0
5. Proteus	±	Не определено	0
6. Alkaligenes	±	Не определено	0
7. Бациллы	+	Не определено	0
2.Облигатные анаэробы:			
<i>Клостридии</i>			
1. Clostridium putridium	±	Не определено	0
2. Clostridium perfringens	±	Не определено	0
<i>Примечание: ++ обнаруживаются часто; + не часто; ± редко; 0 не обнаруживается</i>			

Все тело человека, включая кожные покровы, ротовую полость и желудочно-кишечный тракт, заселено огромным количеством микроорганизмов. Согласно современным данным, количество микроорганизмов, населяющих тело человека, в 10 раз превышает количество клеток организма человека, а суммарный микробиом содержит более 5 миллионов генов, что в десятки раз превышает геном человека [4; 5].

Состояние ротовой микробиоты напрямую связано с широким спектром заболеваний человека, таких как болезни полости рта (кариес и заболевания пародонта), сахарный диабет, заболевания сердечно-сосудистой системы и другие. Установлено, что влияние микробиома ротовой полости на развитие заболеваний является комплексным: решающую роль играет не наличие какого-то конкретного микроорганизма, а их сочетание. Установление и поддержание нормального гомеостаза между хозяином и его микрофлорой является важнейшим условием здоровья человека. Современные исследования указывают

ключевую роль микробиоты человека в становлении его гомеостаза, отмечают влияние микробиоты на иммунную систему человека, его развитие и физиологию, включая органы- и морфогенез, а также метаболизм [6,7,8].

Нарушения состава и функционирования микрофлоры приводит к возникновению и развитию различных заболеваний. Установлено, что микроорганизмы, населяющие ротовую полость человека, могут вызывать различные инфекционные заболевания, включая кариес, периодонтиты, тонзиллиты и другие [9]. Современные данные также свидетельствуют, что микрофлора ротовой полости может являться причиной соматических заболеваний [10], таких как инфекционный эндокардит [11], заболевания сердечно-сосудистой системы [12], инсульт [13], диабет [14], пневмония [15].

Микробиота ротовой полости, представляет собой уникальную обширную экосистему [16]. Для предоставления научному сообществу всеобъемлющую информацию о бактериальных видах, присутствующих в

желудочно-кишечном тракте (ADT), которая охватывает верхние пищеварительные и верхние дыхательные пути, включая полость рта, глотки, носовые переходы, пазухи и пищевод была создана база данных микробиома (HOMD). В настоящее время HOMD (Human Oral Microbiome Databasa) включает в себя в общей сложности 771 видов микробов, 687 из версии 14.51 HOMD и 64 добавлены в это расширение на основе общедоступных данных о микробиоте аэропищеварительного тракта за пределами рта (рис.) [9, 17, 18]. По результатам исследований других

авторов, микробное сообщество ротовой полости представлено более чем 1000 видами [19,20].

В настоящее время HOMD включает микроорганизмов, принадлежащих к 16 типам: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chlamydiae*, *Chlorobi*, *Chloroflexi*, *Euryarchaeota*, *Firmicutes*, *Fusobacteria*, *Gracilibacteria*, *Proteobacteria*, *Spirochaetes*, *SR1*, *Synergistetes*, *Tenericutes*, TM7 и WPS-2 [21]. Из всех видов, 57% официально названы, 13% безымянных, но культивируемых и 30% известны только как необработанные флотипы [22].

Distribution of genomes sequenced per phylum

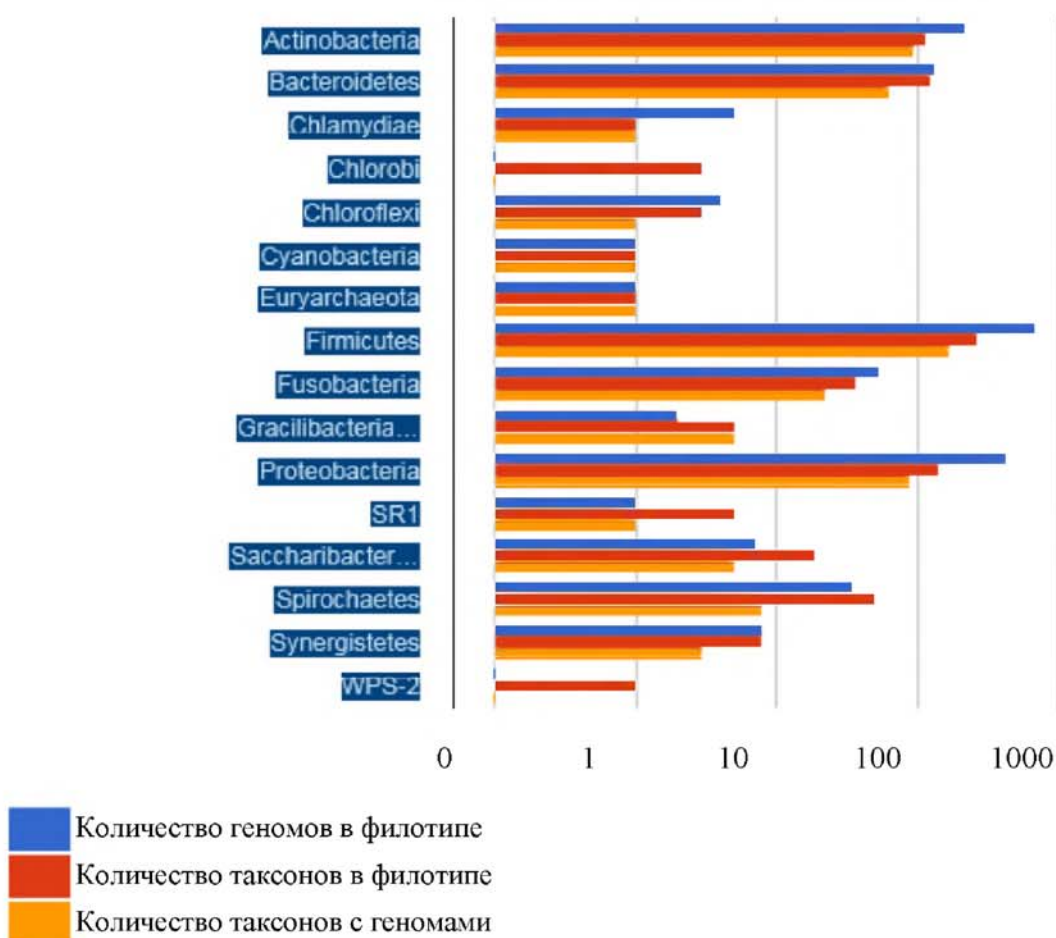


Рис. Распределение геномов секвенирования по типам.

Полость рта человека представлена множеством поверхностей. Суммарная площадь всех поверхностей ротовой полости составляет около 225 см². Зубы, кератинизированные инекератинизированные мягкие ткани составляют 20, 30 и 50% этой площади соответственно [23]. Каждая из анатомических поверхностей ротовой полости покрыта конгломератом микроорганизмов - бактериальной биопленкой [17].

Полость рта представляет собой своеобразный, сложный и стабильный микробиоценоз, и является весьма благоприятной средой для роста и поддержания жизнедеятельности микроорганизмов. Поэтому количество микроорганизмов в ротовой полости, как по числу видов, так и по плотности микробной обсеменённости уступает лишь только толстому кишечнику. Доминирующее место обитающих в ротовой полости микроорганизмов, как по видовому разнообразию, так и по количеству занимают бактерии [24,25,26, 27]. В процессе эволюции между организмом человека и микроорганизмами полости рта сформировались сложные и противоречивые отношения. Микроорганизмы принимают участие в метаболизме пищевых продуктов. Ведущее место в системе антимикробной защиты принадлежит нормальной микрофлоре.

Большинство из представленных видов бактерий являются транзитной микрофлорой, так как они не способны к длительному выживанию в особых

условиях ротовой полости. В полости рта исследуют несколько стандартных типов биологического материала, отражающих состояние того или иного микробного сообщества: слюна, мягкий зубной налет, поддесневой и наддесневой зубной налет, содержимое пародонтального кармана. Причем все эти биотопы, за исключением биотопа пародонтального кармана, являются крайне нестабильными и существенно зависят от интенсивности типа гигиены ротовой полости. Так, исследования микробиоома мягкого зубного налета при помощи высокопроизводительного секвенирования на основе 16S рРНК, дали вариативность состава основных представителей: *Actinobacteria* – 1,0-13,5%, *Bacteroidetes* – 21,4-63,5%, *Firmicutes* – 14,6-30,8%, *Fusobacteria*, – 4,7-12,1%, *Proteobacteria* – 2,6-22,9%, *Spirochaetes* – 0,04-12,9%, *Synergistetes* – 0,0004-0,84% [28].

Все микроорганизмы в полости рта относятся к 15 родам, которые встречаются практически у каждого человека (рис.2). Среди них выделяют микробы, колонизирующие поверхность зубов, включающие *Actinomyces*, *Campylobacter*, *Capnocytophaga*, *Corynebacterium*, *Fusobacterium*, *Granulicatella*, *Neisseria*, *Prevotella*, *Streptococcus* и *Veillonella*, а также анаэробные протелитические бактерии, обитающие ниже уровня десны, такие как *Filifactor*, *Fusobacterium*, *Parvimonas*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Tannerella*, и *Treponema*. Облигатно анаэробные стрептококки, включающие *S. mutans*, *S. mitis*, *S. sanguis* и пептострептококки,

составляют около половины резидентной микрофлоры ротовой полости человека [29]. Установлено, что бактерии демонстрируют специфический тропизм в отношении различных анатомических поверхностей ротовой полости [23]. Различные ткани и органы полости рта человека, такие как, например, зубы, десны, десневые борозды, слизистая языка, щек, твердого и мягкого неба, имеют выраженные отличия в составе микробных сообществ, их населяющих [9].

Слюна человека – биологическая жидкость, вырабатываемая тремя парами крупных слюнных желез и большим количеством мелких слюнных желез. Слюна представляет собой «планктонную фазу» микробиоты полости рта. Подобно бактериальным лабораторным жидкостям слюна содержит до 10^9 микроорганизмов на 1 мл, которые непрерывно проглатываются. Поэтому около 5 г бактерий «ежедневно исчезают» в желудке. Таким образом, слюна не считается собственной микробиотой-резидентом, и количество бактерий в слюне в отличие от зубного налета не увеличивается [5]. Однако слюна является основным источником бактериальной реколонизации оральных мягких и твердых поверхностей.

В среднем слюна на 99% состоит из воды, с растворенными в ней органическими и неорганическими ионами, а также содержит пептиды, протеины и гликопротеины [29, 30]. Главными катионами в составе слюны являются калий и натрий, тогда как ионы

кальция, магния и аммония присутствуют в более низких концентрациях. Среди анионов, присутствующих в слюне, фосфаты и хлориды достаточно распространены, в то время как сульфаты, нитраты и нитриты представлены в довольно низких концентрациях. Органические анионы, обнаруживающиеся в смешанной слюне, такие как, например, лактат, ацетат, формиат и пропионат, чаще всего являются конечными продуктами метаболизма бактерий, населяющих ротовую полость человека [31].

Смешанная слюна также содержит в своем составе такие дополнительные компоненты, как слущенные эпителиальные клетки, жидкость десневой борозды и микроорганизмы, населяющие ротовую полость.

Состав слюны, и следовательно наличие питательных веществ для бактерий ротовой полости, имеет большие межиндивидуальные различия и временную вариабельность [29].

Выделяют две основные формы существования микроорганизмов – планктонную, которая подразумевает свободное движение микроорганизмов в среде в виде свободно плавающих (планктонных) клеток, и существование в виде устойчивых микробных сообществ – биопленок. Как правило, планктонный фенотип бактерий встречается лишь транзиторно, в то время как большинство микроорганизмов, населяющих полость рта человека, существуют в виде смешанных биопленок, в состав которых

входят не только бактерии, но и вирусы, грибы, простейшие и археи [32].

Биопленки - это полимикробные сообщества, формирующиеся на поверхности раздела твердой и жидкой фаз, заключенные в матрикс экстацеллюлярных полимерных веществ. В большинстве биопленок только 10% приходится на микроорганизмы, в то время как матрикс может составлять до 90% общей массы. Внеклеточные полимерные субстанции матрикса, преимущественно полисахариды, протеины, нуклеиновые кислоты и липиды, формируют сложную трехмерную архитектуру биопленки и отвечают за адгезию микроорганизмов к различным поверхностям, а также за коадгезию внутри самой биопленки [32].

Полимикробные, или смешанные, биопленки, состоящие из нескольких сотен видов бактерий, образуют стабильные микроконсорциумы с интенсивной межклеточной коммуникацией и высоким уровнем горизонтальной передачи генов [32].

Существование микроорганизмов в составе биопленок кардинально отличается от планктонной формы жизни, так как микробы биопленки вступают в тесные физические, молекулярные и метаболические взаимодействия, что в свою очередь оказывает влияние на их рост, патогенность и резистентность к антибиотикам [33].

Таким образом, микробиота является важной частью полости рта и включает, по разным оценкам, от несколько сотен до нескольких тысяч разнообразных видов. Изучение микробиоты ротовой полости, описание ее видового состава имеет не только теоретическое, но и большое практическое значение. Оценка состава и свойств микробных ассоциаций слюны человека позволит понять механизмы влияния микроорганизмов, а также их метаболитов на формирование патологических состояний и организм человека в целом.

Литература

1. Адамбеков Д.А., Хамзаев Б.Д., Адамбекова А.Д., Микробиота человека и ее значение. Вестник КГМА имени И.К. Ахунбаева. 2019;5-6:44-55.
2. Бабичев С.А., Коротяев А.И. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология. 2016. 259 с.
3. Зеленова Е.Г., Заславская М.И. Салина Е.В., Рассонов С.П. Микрофлора полости рта: норма и патология: уч.пособие, изд. НГМА, 2004. 158 с.
4. Morgan X.C. Biodiversity and functional genomics in the human microbiome / X.C.

- Morgan, N. Segata, C. Huttenhower // Trends in Genetics. - 2013. - V. 29, № 1. - P. 51-58.
5. Marsh PD, Martin MV, Lewis MAO, Williams DW. Oral microbiology, 5th ed. Churchill Livingstone Elsevier, Edinburgh. 2009, 2010, 2013.
6. Sommer F. The gut microbiota - masters of host development and physiology / F. Sommer, F. Backhed // Nature Reviews Microbiology. - 2013. - № 4. - P. 227-238.
7. Чаплин А.В. Ребриков Д.В. Болдырева М.Н. Микробиом человека. Вестник РГМУ, 2017;2:5-12.

8. Симонова Е.В., Пономарева О.А. Роль нормальной микрофлоры в поддержании здоровья человека // Сибирский медицинский журнал. 2008;8:20-25.
9. Dewhirst F.E. *The human oral microbiome* / F.E. Dewhirst, T. Chen, J. Izard, B.J. Paster, A.C. Tanner, W.H. Yu, A. Lakshmanan, W.G. Wade // *Journal of Bacteriology*. - 2010. - № 192. - P. 5002-5017.
10. Seymour G.J. *Relationship between periodontal infections and systemic disease* / G.J. Seymour, P.J. Ford, M.P. Cullinan, S. Leishman, K. Yamazaki // *Clinical Microbiology and Infection*. - 2007. - 13, № 4. - P. 3-10.
11. Berbari E.F. *Infective endocarditis due to unusual or fastidious microorganisms* / E.F. Berbari, F.R. Cockerill III, J.M. Steckelberg // *Mayo Clinic Proceedings*. - 1997. - № 72. - P. 532-542.
12. Joshipura K.J. *Poor oral health and coronary heart disease* / K.J. Joshipura, E. B. Rimm, C.W. Douglass, D. Trichopoulos, A. Ascherio, W.C. Willet // *Journal of Dental Research*. - 1996. - № 75. - P. 1631-1636.
13. Joshipura K.J. *Periodontal disease, tooth loss, and incidence of ischemic stroke* / K.J. Joshipura, H.C. Hung, E.B. Rimm, W.C. Willett, A. Ascherio // *Stroke*. - 2003. - № 34. - P. 47-52.
14. Genco R.J. *A proposed model linking inflammation to obesity, diabetes, and periodontal infections* / R.J. Genco, S.G. Grossi, A. Ho, F. Nishimura, Y. Murayama // *Journal of Periodontology*. - 2005. - № 76. - P. 2075-2084.
15. Scannapieco F.A. *Role of oral bacteria in respiratory infection* // *Journal of Periodontology*. - 1999. - № 70. - P. 793-802.
16. *Human Oral Microbiome Database*. – URL: <http://www.homd.org/index>.
17. Aas J.A. *Defining the normal bacterial flora of the oral cavity* / J.A. Aas, B.J. Paster, L.N. Stokes, I. Olsen, F.E. Dewhirst // *Journal of Clinical Microbiology*. 2005. V.43, №11. - P. 5721-5732.
18. Paster B.J. *The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites* / B.J. Paster, I. Olsen, J.A. Aas, F.E. Dewhirst // *Periodontology*. - 2006. - V 42, № 1. - P. 80-87.
19. Wade W.G. *The oral microbiome in health and disease* // *Pharmacological Research*. - 2013. -V. 69, № 1. – P. 137-143.
20. Zaura E. *Defining the healthy «core microbiome» of oral microbial communitis* / *BMC Microbiology*. 2009;9:259-71.
21. Chen T. *The Human Oral Microbiome Database: a web accessible resource for investigating oral microbe taxonomic and genomic information* / T. Chen, W.-H. Yu, J. Izard, O.V. Baranova, A.Lakshmanan F.E. Dewhirst // *The Journal of Bacteriological Databases and Curation*. 2010. V. 2010.
22. *Human Microbiome Project Consortium, Structure, function and diversity of the healthy human microbiome* / *Human Microbiome Project Consortium* // *Nature*. - 2012. - V 486, № 7402. - P. 207-214.
23. Mager D.L. *Distribution of selected bacterial species on intraoral surfaces* / D.L. Mager, L.A. Ximenez-Fyvie, A.D. Haffajee, S.S. Socransky // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2003. - № 30. -P. 644-654.
24. Добренъков Д.С. *Характеристика биоценологических отношений бактериальных сообществ полости рта и микробиологическое обоснование принципов биокоррекции: дисс. канд. мед. наук. Волгоград, 2014. – 146 с.*
25. *Микробиология, вирусология и иммунология полости рта: учеб. / [Царёв В.Н. и др.]; под ред. В.Н. Царёва. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013-576 с.*