

ФБОУ ВО РОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМ. Н.И. ПИРОГОВА МИНЗДРАВА РФ

кафедра микробиологии и вирусологии ПФ

МИКРОБИОТА ПОЛОСТИ РТА

методическое пособие для студентов стоматологического факультета

2019

Введение

Изучение микробиоты человека охватывает совокупность всех микробов и геномы микробных сообществ. Доминирующее место в микробиоте как по разнообразию видов (более 700), так и по количеству занимают бактерии.

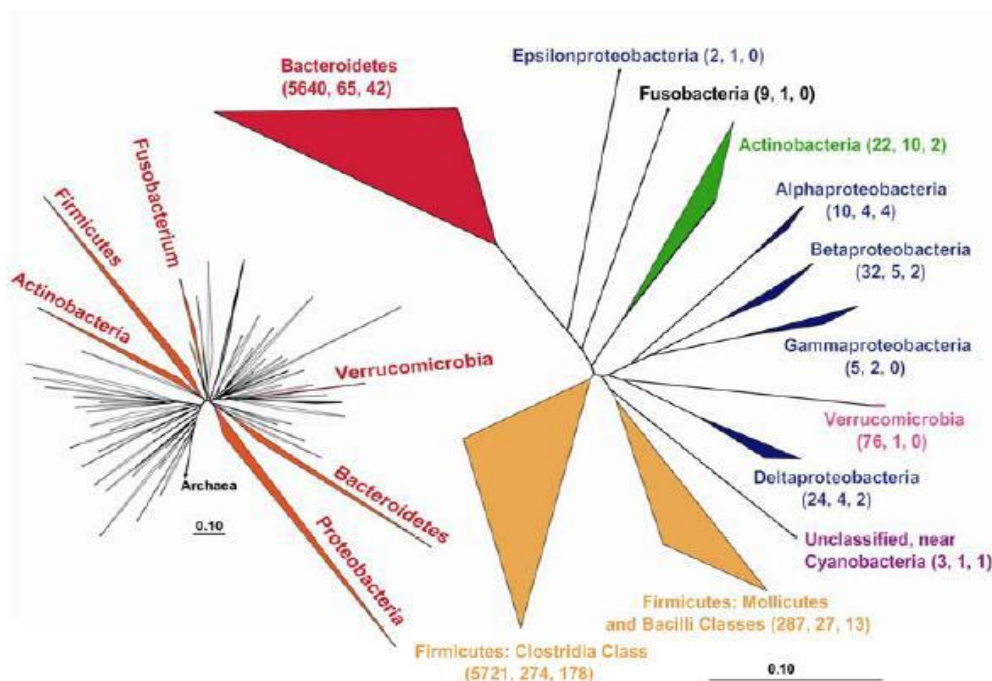


Рисунок 1. Разнообразие бактерий в микробиоте человека

Микробиота человека представляет собой эволюционно сложившуюся совокупность симбиотических бактериальных микробиоценозов, обитающих на коже и слизистых оболочках полостей, сообщающихся с внешней средой.

Микробиоценоз – совокупность популяций различных видов симбиотических микроорганизмов, обитающих в одном биотопе.

Биотоп- относительно однородный по абиотическим факторам участок поверхности, занятый определённым биоценозом.

Микробиота здорового человека находится в состоянии динамического равновесия, обеспечивает колонизационную резистентность макроорганизма, формирует биопленки, участвует в переваривании пищи, синтезе витаминов, оказывает иммуногенное воздействие на организм человека, проявляет антагонистами патогенам.

Микробиоценозы включают:

- ассоциации симбиотических микроорганизмов, которые максимально приспособлены к существованию в условиях макроорганизма и постоянно содержатся в биотопе в высоких концентрациях.

Все постоянные микроорганизмы микробиоты можно разделить условно на две группы: резидентные (индигенные) и факультативные (индивидуальные).

- транзиторную группу составляют микроорганизмы, которые не способны к длительному существованию в организме человека и поэтому являются необязательными компонентами микробиоты. Частота их встречаемости и концентрация в биотопе определяется поступлением микробов из внешних источников и состоянием иммунной системы организма человека.

Аутохтонные и аллохтонные виды. Среди микробов полости рта встречаются аутохтонные — специфические для данного биотопа виды, аллохтонные — мигранты из других биотопов хозяина (носоглотки, иногда кишечника), а также из окружающей среды (заносная микробиота).

Полость рта, слизистая оболочка и лимфоидный аппарат челюстно-лицевой области играют уникальную роль во взаимодействии организма человека с окружающей его миром микробов.

В состав микробиоты полости рта входят бактерии, вирусы, грибы и простейшие. Разнообразие пищевых ресурсов, постоянная влажность, оптимальные значения рН и температуры создают в полости рта благоприятные условия для жизнедеятельности различных видов микроорганизмов. Количество бактерий по числу видов и содержанию в единице материала конкурирует с ЖКТ.

Микроорганизмы в полости рта распределяются неравномерно. Содержание микроорганизмов в ротовой жидкости составляет от 4 млн. до 5 млрд. в 1мл; а в зубном налете - до 1 триллиона в 1г материала.

Несмотря на постоянство видового состава микробиоты, количество микроорганизмов может значительно меняться даже в течение суток. При кратковременных изменениях микробиота полости рта быстро восстанавливается, возвращаясь к равновесному состоянию. Существенные изменения проявляются в результате воздействий, снижающих защитные функции макроорганизма, так динамическое равновесие может нарушиться при частом отбеливании зубов. Нарушения общей реактивности организма и барьерных функций слизистых оболочек могут вызвать такие изменения микробиоты, которые приводят к развитию аутоинфекционных процессов и другим сложным негативным реакциям макроорганизма.

При наличии индивидуального разнообразия в составе микробиоты полости рта выявлено более 200 видов резидентных микроорганизмов, которые встречаются практически у каждого человека. Например, бактерии, колонизирующие поверхность зубов над уровнем десны, такие как *Actinomyces*, *Campylobacter*, *Capnocytophaga*, *Corynebacterium*, *Fusobacterium*, *Granulicatella*, *Neisseria*, *Prevotella*, *Streptococcus* и *Veillonella*, а также

анаэробные протеолитические бактерии, обитающие ниже уровня десны, *Filifactor*, *Fusobacterium*, *Parvimonas*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Tannerella*, и *Treponema*. облигатно анаэробные стрептококки: *S.mutans*, *S.mitis*, *S.sanguis* и пептострептококки составляют около половины резидентной микрофлоры ротовой полости человека.

В полости рта можно выделить несколько биотопов: слизистая полости рта, десневой желобок (карман) с находящейся в нем десневой жидкостью, ротовая жидкость, зубная бляшка.

Характеристика основных представителей бактериальных биоценозов.

Стрептококки являются одними из основных обитателей полости рта, обнаруживаются у 100 % людей в слюне (в 1 мл до 10^8 — 10^9 стрептококков) и в десневых желобках.

Стрептококки (род *Streptococcus*) имеют шаровидную или овальную форму, грамположительны, неподвижны, не образуют спор. В мазках из культур, выращенных на плотных питательных средах, располагаются попарно или короткими цепочками, в препаратах из бульонных культур - в виде длинных цепочек.

По типу дыхания стрептококки относятся к факультативным анаэробам, встречаются и облигатные анаэробы (пептострептококки), по температурному диапазону роста - мезофилы, оптимальная температура около 37°C . На простых питательных средах не растут или дают очень скудный рост. Для культивирования стрептококков используют среды с добавлением крови, сыворотки или асцитической жидкости. На плотных средах стрептококки образуют мелкие (диаметром около 1 мм), полупрозрачные, сероватые или бесцветные колонии, в бульоне - придонно-пристеночный рост, на средах с кровью могут вызывать гемолиз эритроцитов. По характеру гемолиза их делят на три группы: 1) α -гемолитические (зеленящие) — вызывают частичный гемолиз вокруг колоний и дают зеленоватое окрашивание, обусловленное превращением гемоглобина в метгемоглобин; 2) β -гемолитические — колонии окружены зоной полного гемолиза; 3) γ -гемолитические стрептококки — не проявляют гемолитическую активность при выращивании на питательной среде.

Стрептококки ферментируют углеводы с образованием молочной кислоты, чем обусловлена их антагонистическая активность в отношении многих гнилостных бактерий.

Полисахаридный антиген в составе клеточной стенки группоспецифичен и позволяет разделить (реакция преципитации по Ленсфильду) стрептококки на более 20 (от А до V) серогрупп.

Однако в полости рта постоянно обнаруживаются стрептококки, не имеющие группоспецифического С-антигена. Все они α -гемолитические или негемолитические, не способны продуцировать стрептолизины, стрептокиназу, однако часто являются причиной воспалительных процессов в полости рта. Стрептококки, вегетирующие в ротовой полости, составляют особую экологическую группу и получили название «оральных».

Типичными представителями оральных стрептококков являются виды *S.salivarius* и *S.mitis*, которые в 100 % случаев обнаруживаются в полости рта. Характерной особенностью *S.salivarius* является способность образовать капсулу как результат синтеза вязких полисахаридов из сахарозы. В местах наиболее частой локализации кариеса: в области фиссур, на проксимальных поверхностях зубов, обнаруживается *S.mutans*, трудно дифференцируемый от *S.salivarius*. Считается, что *S.mutans*, играет ведущую роль в возникновении кариеса.

S.salivarius легко определяется по форме колоний, образующихся на желатине, содержащем 5% сахарозы - крупные слизистые колонии, содержащие большое количество леванов. На специальном агаре их диаметр составляет до 5 мм. Эти стрептококки встречаются в зубном налете в малых количествах, но их достаточно много на слизистых оболочках и в слюне.

S.mitis представляет доминирующий вид стрептококков, выделяемых из зубного налета. Гетерогенный вид зеленеющих стрептококков со слабой биохимической активностью. Всего лишь несколько штаммов *S.mitis* способны синтезировать экстрацеллюлярные полисахариды.

S.sangiis занимает 2-е место по количественному содержанию в зубном налете. Биохимическая активность выше чем у *S.mitis*. Многие штаммы *S.sangiis* проявляют кариесогенную активность.

Вид *S.mutans* обладает наиболее выраженными кариесогенными свойствами. Впервые *S.mutans* был выделен в 1924 г. Кларком из зубного налета, собранного с кариозных поражений зубов у людей. Вид *S.mutans* имеет различные подвиды, различающиеся по серологическим свойствам: *mutans*, *rattus*, *cricketus*, *sobrinus*. Все штаммы *S.mutans* ферментируют сахарозу, глюкозу, фруктозу, маннит, сорбит, инулин, рафинозу, целлобиозу, трегалозу, салицин, эскулин, мелибиозу, рибозу, α -метилгликозид. *S.mutans* образует большое количество экстрацеллюлярных водонерастворимых полисахаридов типа декстрана и водорастворимый леван.

Streptococcus mutans синтезирует декстран (фермент декстрансахараза) из сахарозы:



Сахароза — единственный сахар, который *Streptococcus mutans* использует для образования внеклеточного декстрана, который и позволяет формировать зубной налёт.

Многие штаммы *S.mutans* продуцируют вещества-антагонисты, ингибирующие рост других стрептококков и актиномицетов. *S.salivarius* ингибируют рост и размножение стрептококков, но не действуют на актиномицеты.

Помимо стрептококков, лишенных группового антигена, в полости рта обнаруживаются представители практически всех остальных серогрупп, но не постоянно и в значительно меньшем количестве.

Пептострептококки условно-патогенные бактерии рода *Peptostreptococcus*, состоящего из нескольких видов: *P.anaerobius*, *P.asaccharolyticus*, *P.heliotrinreducens*, *P.indolicus*, *P.magnus*, *P.micros*, *P.prevotii*, *P.roductus*, *P.tetradius*, являются индигенными представителями микробиоты полости рта, но могут вызывать гнойно-воспалительные заболевания различной локализации в ассоциации с другими микробами.

Пептострептококки - грамположительные кокки, в мазках располагающиеся парами, небольшими неправильными скоплениями или цепочками, неподвижны, не образуют спор. облигатные анаэробы. Хемоорганотрофы, сбраживают углеводы с образованием большого количества кислых продуктов и газа. При ферментации углеводов и пептона образуют кислоты: уксусную, муравьиную, пропионовую, масляную, изомасляную, валериановую, капроновую, янтарную. Нитраты не восстанавливают, каталазы не имеют, индол обычно не образуют, желатин не разжижают. Редко обладают гемолитическими свойствами. Не образуют лецитиназу, липазу и ацетоин.

Обладают высокими адгезивными свойствами по отношению к эпителию и эмали зуба, а также выраженной способностью к агрегации с другими бактериями полости рта, в частности, с бактероидами и фузобактериями, что способствует формированию ассоциаций и развитию гнойно-воспалительных процессов. Типичный представитель — *Peptostreptococcus anaerobius* — часто и в большом количестве определяется в содержимом пародонтальных карманов, гнойном экссудате при одонтогенной инфекции.

Пептококки (род *Peptococcus*)— грамположительные кокки, располагающиеся парами, тетрадами, в виде неправильных скоплений или короткими цепочками. Неподвижны. облигатные анаэробы, требовательны к питательным средам, лучше растут в присутствии жирных кислот. Пептококки обладают слабой сахаролитической активностью, расщепляют пептоны и аминокислоты. Типовой вид *Peptococcusniger*.

Чаще всего пептококки встречаются в ассоциациях с фузобактериями и спирохетами при глубоких пульпитах, пародонтите, абсцессах челюстно-лицевой области.

Стафилококки (род *Staphylococcus*) — грамположительные кокки, в чистой культуре располагаются в виде скоплений, напоминающих виноградные гроздья, а в патологическом материале — небольшими скоплениями. Неподвижны, спор не образуют. Факультативные анаэробы. Обладают значительной ферментативной активностью.

В полости рта здорового человека стафилококки встречаются примерно в 30% случаев. В зубном налете и на деснах здоровых людей присутствуют в основном *Staphylococcus epidermidis*. У некоторых людей могут обнаруживаться и *Staphylococcus aureus*. Патогенные стафилококки (коагулазоположительные) являются частой причиной эндогенных инфекций, вызывая различные гнойно-воспалительные процессы полости рта.

Нейссерии (род *Neisseriae*) — грамотрицательные диплококки, обнаруживаются в различных биотопах полости рта, чаще на поверхностях, которые постоянно соприкасаются с атмосферным воздухом — спинке языка, мягком небе, эмали зубов. Нейссерии активно редуцируют кислород и играют важную роль в поддержании активности облигатно-анаэробных бактерий.

В большом количестве нейссерии встречаются в полости рта здоровых людей (до 1—3 млн. в 1 мл слюны), однако нередко выделяются при воспалительных процессах в ассоциации с другими резидентами. Различают пигментообразующие виды и виды, не образующие пигмент. Последние чаще всего обнаруживают в пульпе и периодонте при остром серозном воспалении и при катаральном воспалении слизистой оболочки полости рта.

Вейлонеллы (сем. *Veillonellaceae*) — грамотрицательные кокки, располагающиеся парами или одиночно, иногда небольшими скоплениями. Неподвижны. Спор не образуют. Облигатные анаэробы. Вейлонеллы плохо растут на питательных средах, разлагают лактат, пируват, ацетат до CO₂ и H₂, способствуя повышению рН среды. Продуцируют сероводород (зловонный запах).

Вейлонеллы содержат эндотоксины липополисахаридной природы.

В полости рта обнаружено два вида: *Veillonella parvula* и *Veillonella alcalescens*.

Концентрация вейлонелл (*V. parvula*) в слюне приблизительно такая же, как зеленящих стрептококков. В полости рта здоровых людей они присутствуют постоянно в больших количествах (в 1 мл слюны до 10⁷ - 10¹¹). Количество их возрастает при воспалительных процессах, при одонтогенных абсцессах полости рта.

Считается, что за счет катаболизма молочной кислоты, образованной зелеными стрептококками, вейлонеллы оказывают противокариозное действие.

Однако вейлонеллы могут вызывать развитие патологических процессов в составе ассоциаций.

Бранхамеллы - грамотрицательные кокки, обычно располагаются попарно, неподвижны, не образуют спор. Типовой вид рода — *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*. По типу дыхания относятся к аэробам. Температурный оптимум — около 37°C. Растут на обычных средах. Углеводы не ферментируют. Бранхамеллы требовательны к условиям культивирования и нуждаются в средах, содержащих аминокислоты, минеральные соли, биотин и лактат (или сукцинат) как источник энергии и углерода. На плотных средах образуют непрозрачные колонии с мелкими складками и приподнятым центром.

У человека виды *Branhamella* обычно вызывают отиты, гаймориты и респираторные инфекции. Реже регистрируют менингиты, эндокардиты и уретриты. В полости рта обнаруживается *Branhamella catarrhalis*, а в мазках со слизистой оболочки часто располагаются внутри лейкоцитов.

N.sicca и *B.catarrhalis* чаще всего обнаруживаются в пульпе и периодонте при остром серозном воспалении. Они усиленно размножаются при катаральном воспалении слизистой оболочки полости рта и верхних дыхательных путей.

Анаэробные спираиллы (роды *Wolinella, Campylobacter, Selenomonas*) относятся к грамотрицательным бактериям, подвижные благодаря пучкам жгутиков, расположенным на полюсах клетки.

В отличие от них представители порядка *Spirochaetaceae*, например, *Treponema denticola* обладают подвижностью за счет эндофибрил.

В патологии спираиллы являются важнейшими представителями пародонтопатогенной флоры и возбудителями язвенно-некротического стоматита в ассоциации с фузобактериями (фузоспирохетоз)

Клостридии (род *Clostridium*) — грамположительные спорообразующие палочки. Некоторые виды подвижны благодаря наличию жгутиков. облигатные анаэробы. Биохимически активны. Входят в состав микробиоценоза кишечника, в полости рта определяются редко.

Клостридии выделяют у больных с гнойными ранами челюстно-лицевой области, редко — при одонтогенных воспалительных процессах. При загрязнении раневой поверхности и обширной травматизации тканей возможно развитие экзогенной клостридиальной анаэробной инфекции, клинические проявления которой сходны с классической газовой гангреной. Основные виды. *C.perfringens, C.septicum, C.clostridiiforme, C.bifermantans* (последний встречается при одонтогенных воспалительных процессах).

Лактобациллы (*под Lactobacillus*) — грамположительные палочки с закругленными концами, часто формируют короткие цепочки. Иногда подвижны (перитрихи). Спор и капсул не образуют. Многие виды являются факультативно-анаэробными, некоторые - микроаэрофилами.

В ротовой полости чаще всего встречаются *Lactobacillus acidophilus*, *L.fermentum*, *L.brevis*, *L.casei*.

Лактобациллы способны существовать при пониженных значениях pH и осуществляют молочнокислое брожение с образованием большого количества молочной кислоты, в связи с чем задерживают рост (являются антагонистами) таких микробов, как стафилококки, кишечная палочка.

Количество лактобацилл в полости рта при кариесе возрастает и зависит от величины кариозных поражений. Они играют решающую роль в деструкции дентина после деформации эмали.

Пропионибактерии (*под Propionibacterium*) представлены полиморфными палочками, реже встречаются кокковидные и слегка ветвящиеся формы. Располагаются в мазках одиночно, короткими цепочками или небольшими скоплениями. Грамположительны. Неподвижны. Спор не образуют. Факультативные анаэробы, лучше растут в анаэробных условиях.

Пропионибактерии являются антагонистами патогенной микрофлоры; редко выделяются при гнойно-воспалительных процессах и в ассоциации с патогенами.

Коринебактерии (*под Corynebacterium*) — прямые или слегка изогнутые палочки, иногда с булавовидными концами. Располагаются в мазках одиночно или парами, образуя конфигурацию в виде латинской буквы V, в виде стопки из нескольких параллельно расположенных клеток. Грамположительны. Накапливают волютин.

Непатогенные представители рода в больших количествах встречаются в полости рта здорового человека. Характерной особенностью коринебактерий, вегетирующих в полости рта, является их способность понижать окислительно-восстановительный потенциал, что содействует росту и размножению анаэробов.

Бактероиды. Семейство *Bacteroidaceae* включает несколько родов. Обитателями полости рта являются представители родов *Bacteroides* и *Leptotrichia*.

Бактероиды — грамотрицательные палочки, значительно варьирующие по размерам. Имеют капсулу. Большинство бактериоидов неподвижны. Obligатные, неспорообразующие анаэробы, осуществляют изомасляное брожение.

Представители рода *Bacteroides* регулярно обнаруживаются в полости рта. Наиболее распространенными видами являются *B.melaninogenicus*, *B.oralis*, *B.fragilis*.

Количество бактероидов увеличивается при гнойно-воспалительных процессах ротовой полости (в нагноившихся зубных гранулемах, при остеомиелите челюстей, актиномикозе, а также при гнойно-воспалительных процессах в других органах — легких, почках и т. д.). Нередко бактероиды обнаруживаются в сочетании с другими микроорганизмами, преимущественно анаэробными. *B.fundiliformis* продуцирует экзотоксин.

Типичный представитель - *B. fragilis* – встречается в складках слизистой у основания зубов, однако наиболее типичен для кишечника. *B.forsythus* является одним из пародонтопатогенных видов микробов.

Порфиромонады (сем. *Porphyromonadaceae*) — короткие палочковидные грамотрицательные бактерии. Неподвижны. облигатные неспорообразующие анаэробы. На кровяном агаре образуют темнопигментированные колонии.

Наиболее часто встречаются *Porphyromonas asaccharolytica* (типовой вид), *P.endodontalis* и *P.gingivalis*. Количество их увеличивается при различных гнойно-воспалительных процессах ротовой полости — в нагноившихся зубных гранулемах, при гнойном остеомиелите челюстей, при актиномикозе.

Превотеллы (сем. *Prevotellaceae*) — грамотрицательные полиморфные палочки. Неподвижны. облигатные неспорообразующие анаэробы, многие из которых образуют темный пигмент.

В ротовой полости чаще встречаются *P.buccae*, *P.denticola*, *P.melaninogenica* (типовой вид), *P.oralis*, *P.oris*. Превотеллы населяют десневой желобок, карманы слизистой оболочки.

Они участвуют в возникновении одонтогенных инфекций в ротовой полости и развитии заболеваний пародонта.

Фузобактерии (сем. *Fusobacteriaceae*) — грамотрицательные бактерии различной длины. Имеют форму тонких полиморфных веретенообразных грамотрицательных палочек. Неподвижны, не образуют спор и капсул. Фузобактерии различаются по сахаролитической и протеолитической активности. облигатные неспорообразующие анаэробы.

К сахаролитической группе относятся *F.plauti* и некоторые другие виды. Фузобактерии сбраживают углеводы с образованием большого количества кислот: молочной, уксусной и пропионовой.

Протеолитические виды (*F. nucleatum*, *F. biacutum*) расщепляют белки с образованием сероводорода.

Фузобактерии постоянно присутствуют в полости рта. Патогенность в большей степени проявляется в смешанных культурах со спирохетами,

вибрионами, анаэробными кокками. При возникновении патологических процессов количество фузобактерий резко возрастает. Так, при язвенно-некротических поражениях (ангина Венсана, гингивит, стоматиты) количество фузобактерий увеличивается в 1000—10000 раз одновременно с резким ростом количества прочих анаэробных микроорганизмов, особенно спирохет. Фузобактерии находят в кариозной dentине и в десневых карманах при пародонтите. Основные поражения у человека вызывают виды *F.nucleatum* и *F.necrophorum*.

Лептотрихии (*под Leptotrichia*) имеют вид длинных нитей разного диаметра с заостренными или утолщенными концами, образуют густые сплетения, могут располагаться попарно в виде зернистых палочек. Лептотрихии неподвижны, спор и капсул не образуют. облигатные анаэробы, ферментируют глюкозу с образованием большого количества молочной кислоты, что приводит к понижению уровня рН до 4,5.

Лептотрихии (*Leptotrichia buccalis*) присутствуют в полости рта постоянно (чаще у шейки зубов) в большом количестве (в 1 мл слюны 10^3 - 10^4). При заболеваниях пародонта количество этих бактерий в полости рта возрастает.

Актиномицеты (*под Actinomyces*) - низшие актиномицеты - грамположительные палочковидные или нитевидные ветвящиеся бактерии. При делении путем фрагментации могут образовывать тонкие прямые, слегка изогнутые палочки, часто с утолщениями на концах, располагаясь в мазках одиночно, парами, в виде букв «V, Y», или скоплений, напоминающих частокол. Неподвижны. облигатные или факультативные анаэробы. Актиномицеты имеют тенденцию образовывать разветвленные нити в тканях (друзы) или на питательных средах. Нити тонкие (диаметр 0,3—1 мкм), не имеют перегородок, легко фрагментируются, что приводит к образованию палочковидных или кокковидных форм. Не образуют спор в отличие от бактерий сем. *Streptomycetaceae*.

Сбраживают углеводы с образованием уксусной, молочной, муравьиной, янтарной кислот. Протеолитической активностью не обладают.

Антигенная структура изучена недостаточно. Обнаружены тип- и видоспецифические антигены.

Возможно, патогенные актиномицеты содержат эндотоксин.

Актиномицеты почти всегда присутствуют в полости рта здорового человека (*A.israelii*, *A.naeslundii*, *A.viscosus*, *A.odontolyticus*), однако часто принимают участие в развитии кариеса, заболеваний пародонта. При понижении сопротивляемости макроорганизма актиномицеты могут вызвать эндогенную инфекцию актиномикоз – заболевание, протекающее в виде хронического гнойного воспаления с развитием гранулем, абсцессов и свищей.

У здоровых людей в полости рта обнаруживается целый ряд других палочковидных и извитых форм бактерий: анаэробные вибрионы (*Vibrio sputorum*), спириллы (*Spirillum sputigenum*) и др.

Спирохеты (сем. *Spirochaetaceae*) заселяют ротовую полость с момента прорезывания молочных зубов у ребенка и с этого времени становятся постоянными обитателями полости рта. Грамотрицательны. Хемоорганотрофы. Очень подвижны, имеют эндофibrиллы.

Некоторые виды могут расти на средах, содержащих сыворотку, асцитическую жидкость, редуцирующие вещества (цистеин, глутаминовая кислота), с добавлением свежих кусочков различных органов. В качестве источника энергии используют углеводы, аминокислоты и жирные кислоты. Сахаролитические свойства у спирохет выражены слабо (расщепляют только глюкозу), протеолитическая активность высокая — они разжижают желатину, яичный белок, свернутую сыворотку, образуют индол, сероводород, аммиак. Спирохеты чувствительны к антибиотикам и устойчивы к действию лизоцима и липазы слюны, слабо фагоцитируются.

У любого здорового человека в полости рта обитает большое количество сапрофитных спирохет. Они обнаруживаются преимущественно в десневых карманах

Боррелии представляют собой тонкие извитые бактерии с 2—6 неравномерными завитками. Спор и капсул не образуют. По Романовскому—Гимзе они окрашиваются в сине-фиолетовый цвет. Облигатные анаэробы.

Выявляются в складках слизистой оболочки и в десневых карманах. Род *Borrelia* представлен в полости рта следующими видами: *B.buccalis*, *B.vincentii*.

Трепонемы (род *Treponema*) имеют вид тонкой извитой нити, имеющей 8—14 равномерных завитков, близко расположенных друг к другу. По Романовскому—Гимзе окрашиваются в слабо-розовый цвет. Облигатные анаэробы.

В ротовой полости встречаются *T. orale*, *T. macrodentium*, *T. denticola*.

Лептоспиры (род *Leptospira*, *Leptospira dentium*) — тонкие спиральные бактерии образуют 15-30 мелких завитков. Спор и капсул не образуют. По Романовскому—Гимзе окрашиваются в красный цвет. Облигатные аэробы.

Спирохеты активно размножаются в полости рта при количественном увеличении всех анаэробных микроорганизмов. Они вызывают патологические процессы в сочетании с другими микробами: кокками, фузобактериями. Спирохеты обнаруживаются при язвенно-некротических поражениях слизистой оболочки (при язвенном стоматите, ангине Венсана), в патологических десневых карманах, при тяжелых формах пародонтита, в кариозных очагах и некротизированной пульпе.

Микоплазмы (сем. *Mycoplasmataceae*, род *Mycoplasma*) — мелкие бактерии, не имеющие клеточной стенки, цитоплазматическая мембрана которых содержит стеролы. Из-за отсутствия клеточной стенки микоплазмы имеют разнообразную форму: кокковидную, нитевидную, колбовидную и др. Факультативные анаэробы. Для культивирования необходимы: экзогенные стеролы, предшественники нуклеиновых кислот, аминокислоты. Размножаются бинарным делением, почкованием, фрагментацией.

В полости рта присутствуют *Mycoplasma orale* и *Mycoplasma salivarium*, обнаруживаются при заболеваниях пародонта.

Микроскопические грибы полости рта.

В полости рта здоровых людей в 40-50 % случаев встречаются дрожжеподобные грибы (эукариоты) рода *Candida*.

Клетки грибов рода *Candida* могут быть округлой, овоидной, цилиндрической, иногда неправильной формы, диаметр их колеблется от 5 до 8 мкм. Размножаются многополюсным почкованием. Не имеют истинного мицелия, образуют псевдомицелий, состоящий из цепочек удлиненных клеток. Грамположительны, могут окрашиваться неравномерно: периферический слой клетки — в фиолетовый цвет, центральная часть — в розоватый; встречаются грамотрицательные клетки. По Цилю-Нильсену клетки грибов окрашиваются в синий цвет с красными включениями липоидов.

По типу дыхания относятся к аэробам. Оптимальная температура роста 30 — 37 °С. Ферментируют многие углеводы до кислоты и газа, разжижают желатин, но очень медленно.

Антигенная структура довольно сложная, в ответ на них в организме развивается специфическая сенсibilизация, и вырабатываются соответствующие антитела.

Патогенные свойства наиболее выражены у *C.albicans*. Кроме того, в полости рта могут встречаться и другие виды дрожжеподобных грибов, например, *C.tropicalis*, *C.casei*. На фоне иммунодефицитных состояний или длительной антибактериальной терапии, вызывают кандидозы, клиническое течение в виде местного поражения полости рта или висцерального (генерализованная форма) кандидоза со множественными поражениями внутренних органов человека.

Простейшие полости рта. Простейшие – одноклеточные эукариоты.

У 50% здоровых людей в полости рта могут вегетировать *Entamoeba gingivalis*, *Trichomonas elongata* (*T.tenax*). Размножение простейших происходит при негигиеническом содержании полости рта. Они обнаруживаются преимущественно в зубном налете, криптах миндалин, гнойном содержимом парадонтальных карманов. В очень большом количестве их обнаруживают при гингивите и пародонтите.

Считается, что у здоровых людей примерно 50% резидентных видов бактерий полости рта представлены стрептококками. Другая половина резидентной микробиоты состоит в равных пропорциях из вейллонелл и коринебактерий. Эти микроорганизмы существуют в антагонистических или синергических отношениях. Стрептококки (*S.salivarius*, *S.sanguis*, *S.mitis*), вейллонеллы и коринебактерии являются стабилизирующей частью микробиоты полости рта, а стрептококки (*S.mutans*), лактобациллы, бактероиды, актиномицеты — агрессивной.

Представители транзитной микрофлоры полости рта обнаруживаются в небольших количествах и в течение короткого периода времени.

При снижении защитных свойств макроорганизма представители транзитной микрофлоры могут задерживаться в полости рта, размножаться и вызывать патологические процессы. Ведущая роль при этом принадлежит бактериям из микробиоценоза толстого кишечника человека. Их можно разделить на две группы:

Первую группу составляют представители шести родов: 1) *Escherichia*; 2) *Aerobacter*; 3) *Proteus*; 4) *Klebsiella*; 5) *Pseudomonas*; 6) *Alcaligenes*. Они не требовательны к питательным средам, обладают выраженной сахаролитической и протеолитической активностью, являются антагонистами молочнокислой флоры полости рта и могут вызывать гнойно-воспалительные процессы.

Вторая представлена бактериями, относящимися к двум родам: *Bacillus* и *Clostridium*. В полости рта здоровых людей встречаются редко и могут быть обнаружены в кариозных полостях, корневых каналах. Важную роль в патологии полости рта играет *C.perfringens*, т.к.способны расщеплять хондроитинсерную кислоту и коллаген, что способствует разрушению дентина при кариесе.

Взаимоотношения в микробиоте полости рта могут быть взаимовыгодными или антагонистическими и направлены на сохранение гомеостаза оральной флоры. Существенное влияние на микрофлору полости рта оказывают: наличие пищевых субстратов, витаминов, окислительно-восстановительный потенциал и рН среды, выделение ингибиторов, влияющих на размножение. С другой стороны, продуцируя кислоты и другие метаболитические ингибиторы они могут действовать разрушающе на твердые ткани зуба, являться одним из этиологических факторов развития кариеса, способствуют накоплению в зубной бляшке иммуносупрессоров, оказывающих токсическое действие на ткани десны, способны к инвазии, с последующим развитием воспалительных заболеваний.

Методы изучения микробиоты полости рта.

Филогения жи

Бактерии

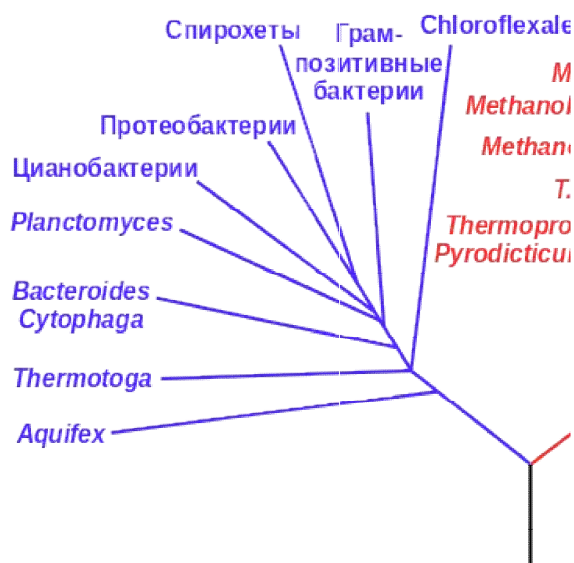


Рисунок 2. Филогения живых организмов.

Материалом для исследования могут служить зубная бляшка, материал из кариозной полости, ротовая жидкость и др. виды материалов.

Ротовую жидкость берут у больных утром через 2 часа после приема пищи, собирают в течение 10 мин в стерильные пробирки, исследуют 0,1 мл (такую слюну называют нестимулированной).

Все виды материалов собирают стерильными инструментами и помещают в транспортную среду.

Культуральный метод. Исследуемый материал при необходимости диспергируют встряхиванием или ультразвуком, готовят серийные разведения, делают посев на селективные (селективные) питательные среды и инкубируют при температуре 37⁰С в аэробных и анаэробных условиях. Для создания анаэробных условий используют микроанаэроостаты. Они представляют собой герметичные камеры, из которых откачивают атмосферный воздух вакуум-насосом, а затем заполняют соответствующей газовой смесью. Оптимальной для развития облигатных анаэробов является

смесь из 85% азота, 10% углекислого газа, 5% водорода. Для нейтрализации остаточного кислорода в анаэробные камеры помещают палладиевые катализаторы, пиррогалол или другие химические соединения, редуцирующие кислород. Например, для выделения *S.mutans* используют высокоселективную среду (митис - саливариус агар с бацитрацином). Далее по культуральным и морфологическим признакам отбирают колонии и выращивают чистые культуры.

Идентификацию проводят по классической технологии на основе биохимических тестов или с использованием современной MALDI-TOF технологии и масс-спектрометрии. Масс-спектрометрия — метод идентификации молекул путем измерения отношения их массы к заряду в ионизированном состоянии. Чувствительность к антибиотикам устанавливают диско-диффузным методом.

Метод флуоресцентной гибридизации. Данная технология позволяет визуализировать микроорганизмы с помощью олигонуклеотидных зондов, меченых флуоресцентными красителями. Для гибридизации используют зонды, комплементарные гену 16S рРНК с уникальными участками, характерными для разных видов бактерий. Готовят мазок исследуемого образца на предметных стеклах с лунками, проводят флуоресцентную гибридизацию и изучают в люминесцентном микроскопе.

Для изучения биоплёнок используют конфокальную, лазерную, электронную микроскопию. Анализируют несколько оптических срезов и реконструируют трёхмерное изображение. Метод позволяет использовать одновременно разные видоспецифичные зонды, меченые отличающимися флуорохромными красителями. Точность результатов зависит от специфичности зондов.

Молекулярно-генетический метод. Исследование направлено на изучение микробной ДНК в клиническом материале. Подготовка к проведению таких исследований связана с выделением ДНК из клинического материала. Один из вариантов – проведение ПЦР с видоспецифическими праймерами для генов, кодирующих 16SpРНК, что позволяет обнаружить даже некультивируемые виды микроорганизмов. Нередко используют праймеры к уникальным генам отдельных видов. Определение продуктов ПЦР проводят с помощью гель-электрофореза.

Для количественной оценки микробиоты используют технологию ПЦР в реальном времени. Для проведения ПЦР в этом случае используют кроме стандартных праймеров ещё меченый олигонуклеотидный зонд, который связывается с последовательностями, расположенными между искомыми генами. 5'-конец зонда несёт флуоресцентную метку, а к 3'-концу прикреплен гаситель флуоресценции. Интенсивность свечения оценивается

флуорометрически. Усиление свечения прямо пропорционально количеству продукта в ПЦР.

Качественно-количественную оценку микробиоты можно провести методом гибридизации ДНК. Метод основан на гибридизации бактериальной ДНК с видоспецифическими полногеномными зондами. Метод позволяет определить 30-40 видов бактерий. Кроме этого разработана модификация метода с использованием олигонуклеотидных зондов, гомологичных генам 16SpРНК.

Клонирование и секвенирование гена 16S рРНК – метод, позволяющий выявлять ранее неизвестные виды бактерий. Продукты амплификации встраивают в вектор – плазида *E.coli*, переносят в клетку кишечной палочки. Трансформированные бактерии культивируют, далее выделяют ДНК и секвенируют для идентификации.

Микробиоценозы основных биотопов полости рта

Полость рта можно разделить на несколько более мелких, но достаточно отличимых друг от друга по составу микрофлоры, биотопов:

1. Слизистая оболочка полости рта.
2. Протоки слюнных желёз с находящихся в них слюной.
3. Десневая жидкость и зона десневого желобка.
4. Ротовая жидкость.
5. Зубная бляшка (налет).

Слизистая оболочка полости рта – самый обширный по площади и разнообразный по условиям обитания биотоп. Поверхность слизистой оболочки колонизирована преимущественно факультативно-анаэробными микроорганизмами (преимущественно стрептококки - *S.oralis* и *S.sanguis*). В подъязычной области, на внутренней поверхности щёк, в складках и криптах слизистой оболочки полости рта чаще встречаются облигатно-анаэробные виды вейллонелл, пептострептококков, лактобактерий, а также стрептококки *S.oralis*, *S.mitis*.

Сосочковая поверхность языка, защищенная от механического удаления, заселяется стрептококками (*S.salivarius* и *S.mitis*), вейллонеллами, пептострептококками, актиномицетами и бактериоидами.

На слизистой оболочке твёрдого и мягкого нёба, нёбных дужках и мидалинах встречаются разнообразные стрептококки, коринебактерии, нейссерии, гемофильные палочки, псевдомонады, нокардии, а также дрожжеподобные грибы.

Протоки слюнных желёз - один из наименее изученных биотопов. Протоки желёз здорового человека из-за высокой бактерицидной активности слюны практически стерильны.

В микробиоценозе десневой жидкости и десневого желобка преобладают облигатно-анаэробные виды бактероидов фузобактерий, лептотрихий, актиномицетов и спирохет, реже встречаются простейшие, дрожжеподобные грибы и микоплазмы.

Ротовая жидкость - важнейший биотоп полости рта, т.к. она осуществляет взаимодействие между всеми микроорганизмами всех биотопов полости рта и участвует в регуляции микробиоты. В ротовой жидкости содержатся стрептококки (*S.salivarius*), нейссерии, вейлонеллы, встречаются вибрионы, спираиллы и спирохеты.

Зубная бляшка - плотное образование над пелликулой, состоит из матрицы, которая образуется за счет белков, полисахаридов, липидов и некоторых неорганических веществ (кальция, фосфатов, магния, калия, натрия и др.) и микроорганизмов, расположенных внутри неё. Бляшка обладает пористой структурой, что позволяет питательным веществам свободно проникать в глубокие ее слои - это легко ферментируемые углеводы: сахароза, фруктоза, глюкоза и др. Чаще всего зубная бляшка располагается над десной, в пришеечной области, в фиссурах.

Зубная бляшка представляет собой наиболее сложный и многокомпонентный биотоп (биопленку), формирующийся на поверхности зуба. В зубной бляшке происходит активная жизнедеятельность микроорганизмов, сопровождаемая кислотообразованием, ферментативной активностью, формированием коммуникативных систем в биоплёнках, другими процессами метаболизма микроорганизмов. Здесь обнаруживаются практически все представители микробиоты полости рта, однако доминирующими считаются стрептококки, актиномицеты, лактобациллы. Формирование данного микробиоценоза зависит от индивидуальных особенностей макроорганизма: диеты, наличия вредных привычек и т.д.

В некариозной зубной бляшке большую часть составляют различные виды родов *Viellonella*, *Neisseria* и меньше всего спирохет (5—6%).

Зубной налёт формируется на поверхности бляшки и на 80-85% состоит из воды, минеральных компонентов: кальция, фосфатов, фторидов.

Мягкий зубной налет накапливается на поверхности зубов, пломб, десны преимущественно в период речевого и жевательного покоя и при отсутствии рациональной гигиены полости рта.

Пелликула, лежащая под слоем зубного налета и представляющая собой тонкую органическую пленку, является структурным элементом поверхностного слоя эмали. Пелликула образуется на поверхности зуба после его прорезывания. Считается, что она является дериватом белково-углеводных комплексов слюны. При электронной микроскопии пелликулы обнаружены зубчатый край и ниши, которые представляют собой вместилища для бактериальных клеток. Ее аминокислотный состав является

чем-то средним между составом зубного налета и преципитата слюнного муцина. В ней много глутаминовой кислоты, аланина и мало серусодержащих аминокислот. В составе пелликулы обнаружено большое количество аминсахаров, которые являются производными клеточной стенки бактерий. В самой пелликуле бактерий не отмечается, но в нее входят компоненты лизированных бактерий. Возможно, образование пелликулы является первоначальной стадией возникновения зубного налета.

Белое вещество налета является конгломератом микроорганизмов, постоянно слущивающихся эпителиальных клеток, лейкоцитов, слюнных протеинов и липидов с частичками пищи или без них.

Мягкий зубной налет не имеет постоянной внутренней структуры. Его раздражающее действие на десну связано с бактериями и продуктами их жизнедеятельности. В зубном налете часто выделяют представителей: *Leptotrichia*, *Micrococcus*, *Bacteroidaceae*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*. В интенсивно развивающемся зубном налете доминируют нейссерии: *N.sicca*, *N.subflava*.

В результате гигиенических мероприятий полости рта, приема пищи (особенно твердой) часть налета постоянно удаляется, однако быстро образуется вновь.

Мягкий зубной налет может быть причиной неприятного запаха изо рта (галитоз), извращения вкусовых ощущений, служит центром минерализации при образовании зубного камня.

Ингибитором образования зубного камня является пирофосфат, предотвращающий преципитацию фосфата кальция и рост кристаллов.

Все поверхностные образования на зубах, за исключением кутикулы и пелликулы, инфицированы и играют отрицательную роль в развитии стоматологических заболеваний.

Динамика формирования микробиоценоза полости рта.

Формирование микробиоценоза полости рта представляет собой многоступенчатый процесс взаимодействия различных его составляющих.

Начальный этап колонизации биотопа связан со способностью бактерий к адгезии.

В адгезии микроорганизмов к клеткам буккального эпителия важную роль играют неспецифические гидрофобные и специфические лиганд - рецепторные взаимодействия. Адгезивными свойствами обладают главным образом белковые компоненты микробных клеток. В процессе адгезии у грамотрицательных бактерий могут участвовать пили или фимбрии, у грамположительных бактерий - липотейхоевые кислоты. Кроме того, адгезивными свойствами обладают гликозилтрансферазы и гликозилированные белки (лектины).

С другой стороны, в процесс адгезии вовлекаются специфические рецепторы эпителиоцитов ротовой полости.

Адгезия обеспечивает устойчивость к току слюны и последующую колонизацию. Например пили или фимбрии *A.viscosus* и поверхностный антиген (белок P1) *S.mutans* могут прикрепляться к богатым пролином белкам; *A.viscosus* и *F.nucleatum* взаимодействуют со статерином (секреторный белок слюны). *S.sanguis* может прикрепляться к олигосахарам, содержащим сиаловую кислоту, низкомолекулярным муцинам слюны. Фимбрии (тип 2) актиномицетов присоединяются через бета-связь галактозы гликопротеина, локализованного на поверхности клеток эпителия.

Некоторые бактерии не имеют собственных адгезинов и прикрепляются к поверхности слизистой, используя адгезины других микроорганизмов, т.е. происходит процесс коагрегации. Коагрегация- пример комменсализма и синергизма между микробными видами. Стрептококки разных видов коагрегируются с актиномицетами, *F.nucleatum*, *Veillonella*, *Haemophilus parainfluenzae*. *F.nucleatum* связывается с *Porphyromonas gingivalis*, *Haemophilus parainfluenzae* и *Treponema spp*. Коагрегация делает возможной непрямую адгезию бактерий на эпителиоцитах и поверхности зубов и может иметь значение в развитии зубных бляшек, т.к. способствует колонизации пелликулы бактериями, неспособными прилипнуть к ней. Другим примером коагрегаций является синтез *S.mutans* внеклеточных полисахаридов из сахарозы. Эти полисахариды способствуют прикреплению бактерий к зубам и стабилизации матрикса бляшки.

В полости рта выявляются и другие примеры позитивного взаимодействия микроорганизмов. Различные виды бактерий кооперируются в использовании субстратов, которые они не способны метаболизировать самостоятельно. Так, *Fusobacterium nucleatum* и *Porphyromonas gingivalis* синергически гидролизуют казеин. Развитие сложных пищевых цепочек способствует разнообразию и стабильности микробиоценозов, так сахароза, поступающая с пищей, активизирует развитие микроаэрофильных стрептококков *S.mutans* и *S.sanguis* и лактобацилл, а продуцируемые молочная и муравьиная кислоты являются источником энергии для пропионибактерий и вейллонелл. Коринебактерии в процессе жизнедеятельности синтезируют витамин К – важнейший фактор роста бактериоидов, пептострептококков, фузобактерий и вейллонелл. Дрожжи и дрожжеподобные грибы синтезируют витамины группы В, стимулирующие рост разнообразных представителей полости рта. Использование кислорода факультативными анаэробами понижает концентрацию O₂ и окислительно-восстановительный потенциал до уровней, пригодных для колонизации слизистых облигатно-анаэробными бактериями.

Качественно-количественный состав микроорганизмов в микробиоценозе поддерживается во многом антагонистическими отношениями между микробами. Например, стрептококки являются антагонистами фузо- и коринебактерий благодаря продукции кислых метаболитов, перекиси водорода, бактериоцинов. Вейллонеллы, утилизирующие органические кислоты, резко повышают рН среды, что в свою очередь, задерживает развитие кариесогенной флоры - стрептококков и лактобацилл.

Лептотрихии и лактобациллы являются антагонистами дрожжей и дрожжеподобных грибов, что приводит к снижению синтеза витаминов и угнетению роста многих микроорганизмов.

Возрастные изменения микробиоты полости рта.

В норме развивающийся плод находится в стерильных условиях. Первичная микробная колонизация начинается в организме ребёнка при прохождении родовых путей матери. В первые 6-8 часов после рождения наблюдается быстрое увеличение количества бактерий в полости рта. Ротовую полость ребёнка колонизируют аэробные и факультативно-анаэробные виды коринеформных бактерий, нейссерий, сарцин, лактобацилл, стафило- и стрептококков, но отсутствуют облигатно анаэробные бактерии.

Максимум разнообразия микрофлоры достигает в период 2-4 месяца жизни ребёнка. В полости рта выявляют лактобациллы, бифидобактерии, нейссерии, гемофильные палочки, микроаэрофильные стрептококки, особенно *S.salivarius*, а также дрожжи и дрожжеподобные грибы. В складках и лакунах слизистой оболочки появляются облигатные анаэробы - вейллонеллы и некоторые виды фузобактерий.

При прорезывании зубов создаются условия для роста облигатно анаэробных бактерий, обладающих высокими адгезивными свойствами по отношению к эмали. Появляются микроаэрофильные стрептококки *S.mutans* и *S.sanguis*, актиномицеты. У детей дошкольного возраста микробиота слизистой оболочки полости рта и десневого желобка напоминает микробиоту взрослых и включает лептотрихии, бифидобактерии, пептострептококки, фузобактерии, спириллы. У большинства детей отсутствуют бактериоды, спирохеты и простейшие.

В период полового созревания в полости рта можно выявить практически все виды микроорганизмов, характерные для взрослого человека. При изменении гормонального фона появляются бактериоды, простейшие и спирохеты.

Потеря зубов в пожилом возрасте приводит к значительному уменьшению содержания облигатных анаэробов.

Адгезия микробов к пломбировочным, реконструктивным и ортопедическим материалам.

Резидентная микрофлора полости рта обладает различной способностью к адгезии, поэтому выбор стоматологического материала при тех или иных вмешательствах во многом влияет на состав микробиоты.

Показателем способности реставрационного материала к адгезии микроорганизмов является поверхностное напряжение. Чем больше поверхностное напряжение пломбировочного материала (50-60 Nm/m), тем выше вероятность адгезии микроорганизмов к этому материалу. Высокое поверхностное напряжение имеют сплавы металлов и керамика.

Следует учитывать, что вещества, используемые для обработки (полировки) конструкций, также влияют на поверхностное напряжение, а значит и на адгезию микробов к реставрационным материалам.

Количественный и качественный состав зубной бляшки на поверхности пломб зависит от характера и качества пломбировочного материала - наиболее богато представлена микрофлора на цементах и амальгамах. Средний уровень колонизации характерен для макрокомпозитных пломбировочных материалов. На макрокомпозитных материалах зубная бляшка формируется плохо, благодаря низкому аффинитету бактерий. Обычно на макрокомпозитных пломбах выявляют в незначительном количестве лишь микроаэрофильные стрептококки и актиномицеты.

Наиболее устойчивым к адгезии кариесогенной микрофлоры композитным пломбировочным материалом является материал светового отверждения.

Наличие протезов меняет количественный и качественный состав резидентной микрофлоры полости рта. Хромоникелевые металлы вызывают снижение общего количества бактерий через 2 недели от начала ношения несъемных протезов. Протезы из нержавеющей стали увеличивают частоту выделения стафилококков, стрептококков и грибов, т.е. обуславливают негативные сдвиги в популяции резидентных микроорганизмов полости рта.

Важнейшие виды резидентных бактерий полости рта (стрептококки, пептострептококки и бактероиды) обладают способностью колонизировать все материалы, использующиеся при протезировании (металлокерамика, металл, акриловая пластмасса)

Съемное протезирование изменяет состав резидентной микрофлоры и приводит к увеличению количества (примерно в 2 раза) через полгода после начала ношения. В большом количестве выявляют кандиды, сарцины, актиномицеты, кишечные палочки, клебсиеллы, уменьшается количество лактобацилл, спирохет. На протезах формируются своеобразные бляшки, состоящие из палочковидных и нитевидных бактерий и грибов рода *Candida*.

Кариесогенная микрофлора.

Кариес – патологический процесс, сопровождающийся деминерализацией поверхности и повреждением дентина, который приводит к образованию полости внутри зуба.

Общие факторы, инициирующие кариозный процесс:

- 1.Неполноценная диета и питьевая вода.
- 2.Соматические заболевания, нарушения в функциональном состоянии органов и систем в период формирования и созревания тканей зуба.
- 3.Стресс.
- 4.Наследственность, обуславливающая особенности структуры и химический состав тканей зуба.

Местные факторы:

1. Особенности микробиоценоза полости рта.
- 2.Нарушение состава и свойств ротовой жидкости.
- 3.Отклонения в биохимическом составе твердых тканей зуба.
- 4.Состояние пульпы зуба.
- 5.Состояние зубочелюстной системы в период закладки, развития и прорезывания постоянных зубов.

Ведущим кариесогенным фактором является микрофлора полости рта. К кариесогенным бактериям относят стрептококки: *S.mutans*, *S.sangius*, лактобациллы и некоторые актиномицеты. Основным этиологическим фактором развития кариеса являются *S.mutans*.

Факторы патогенности *S.mutans*.

1. Факторы адгезии:

- белки клеточной стенки SpaP (AgB, AgL/LL, PI) обеспечивают адгезию к поверхности зуба;
- секретируемые белки, часто связанные с клеточной стенкой (глюкозилтрансферазы DtfB, -C, -D) обеспечивают превращение сахарозы в α 1,3- и α 1,6- связанные полимеры глюкозы и таким образом участвуют в формировании биопленки и адгезии к поверхности зуба;
- глюкансвязывающие белки (GbpA, -B, -C глюкозилтрансферазы) – поверхностные белки клеточной стенки связывают глюканы, участвуют в формировании биопленки и адгезии к поверхности зуба;
- фруктозилтрансфераза Ftf, секретируемый белок, превращает сахарозу в β 2,1- и β 2,6-связанные полимеры фруктозы, которые участвуют в адгезии.

2. Ферменты:

- фруктаназа – секретируемый и связанный с клеточной стенкой белок гидролизует фруктаны и способствует закислению среды;

- декстраназа - секретлируемый белок обеспечивает эндогликолитическое расщепление 1,6-связанных глюкозидов, перестройку глюкозидов, что приводит к увеличению растворимости и высвобождению глюкозы. Глюкоза далее утилизируется клеткой в процессе метаболизма с образованием кислот;
- F-АТФаза- крупный ферментный комплекс в ЦПМ, выводит протоны из цитоплазмы, фактор кислотоустойчивости;
- фосфоенолпируват-зависимая фосфотрансферазная система переноса сахаров (PTS) катализирует высокоаффинное специфическое связывание различных углеводов играет важна для роста и закисления среды.

3. Запасные вещества:

- внутриклеточные полисахариды – подобные гликогену полимеры глюкозы, их расщепление способствует длительному закислению среды.

4. Токсины:

- α -гемолизин

Патогенез кариеса

Основу каждого зуба составляет дентин (70%), который образуется из матричных белков, секретлируемых одонтобластами. Органический матрикс зуба состоит из коллагена, остеопонтин, дентина 1, уникального фосфопротеина, дентинового сиалопротеина и ряда других белков. Кариесогенные микроорганизмы могут связываться с коллагеном и некоторыми другими белками дентина, что способствует инвазии бактерий. Дальнейший механизм возникновения кариеса основан на прогрессирующей деминерализации твердых тканей зуба под действием органических кислот, образование которых связано с деятельностью микроорганизмов зубной бляшки.

Процессы де- и реминерализации, постоянно протекающие в зубной эмали, находятся в состоянии динамического равновесия. Деминерализация обусловлена свободными ионами водорода H^+ , главным источником которых являются органические кислоты – продукты метаболизма микроорганизмов. При этом скорость разрушения эмали значительно повышается, если значение pH среды ниже 5, а развитие кариозного процесса в большой степени зависит от продолжительности контакта кислот с зубной эмалью. Воздействие кислот приводит к увеличению пространств между кристаллами эмалевых призм. В образовавшиеся микродефекты проникают микроорганизмы и повреждают эмаль на участках, расположенных параллельно наружной и внутренней поверхности. Длительный процесс

деминерализации завершается растворением устойчивого поверхностного слоя и образованием полости в зубе.

S.mutans образуют большое количество органических кислот и могут существовать при низких значениях pH. Наряду с кислотообразованием они образуют внеклеточные полисахариды: растворимый и нерастворимый гликан (декстран) и леван (фруктан). Растворимый гликан и леван расщепляются *S.mutans* и другими микроорганизмами, а нерастворимый гликан участвует в процессе адгезии оральных микроорганизмов. Образование гликана вызывает межклеточную агрегацию *S.mutans* с другими бактериями, присутствующими в микробиоценозе бляшки (*Nocardia*, *Neisseriasubflavia*, *Actinomyces viscosus*, *Candida albicans*). Гликаны стабилизируют бляшку. Липкий гликановый матрикс зубной бляшки препятствует диффузии большого количества молочной кислоты, образуемой микробами, что продлевает её пребывание на поверхности зубов и ведёт к деминерализации эмали, вызывая кариес зубов. Кроме того, внеклеточные полисахариды затрудняют процесс реминерализации, препятствуя поступлению в эмаль ионов кальция и фосфатов.

Доминирование стрептококков в полости рта, снижает количество лактобацилл в бляшке до 1% от общего количества микробов. Лактобациллы играют незначительную роль на начальных этапах формирования бляшки. Однако их роль резко возрастает по мере увеличения степени выраженности кариозного поражения. Лактобациллы толерантны к низкой pH, способны синтезировать большое количество молочной кислоты из углеводов и играют ведущую роль в деструкции дентина после деформации эмали. Актиномицеты, возможно, участвуют в кариозных поражениях корней зубов у пожилых людей при обнажении корневого участка. Кроме того, актиномицеты, бактериоды и другие микроорганизмы выделяют протеазы, которые участвуют в разрушении дентина, а, следовательно, увеличивают кариозные поражения.

Агрегирующие факторы слюны способствуют прикреплению микробных клеток к поверхности зуба, но одновременно частично удаляют их при омывании полости рта. Система бикарбонат-карбонная кислота и сиалин в слюне способна повышать значение pH и, обладает противокариозным действием. При снижении pH ниже критического уровня (5 и менее) ионы кальция и фосфора выходят из зубной эмали в окружающую среду, а при повышении pH они входят обратно в состав эмали.

Основной защитный механизм местного иммунитета полости рта при кариесе состоит в способности секреторного IgA препятствовать адгезии S.mutans.

Профилактика кариеса

Для профилактики кариеса разрабатывается ряд направлений:

1. Применение антимикробных веществ.
2. Разработка вакцины.

Профилактика кариеса может быть направлена на уменьшение количества кариесогенных микроорганизмов в полости рта. Механическое удаление зубных бляшек нецелесообразно, более эффективно применение различных бактерицидных и бактериостатических препаратов. Хорошие результаты получают с помощью антисептиков, в частности 0,2% хлоргексидина. При этом количество клеток *S.mutans* в зубных бляшках снижается примерно на 80-85%, а в слюне на 55%. Хлоргексидин оказывает бактерицидное действие, препятствует адгезии, нарушая микробное равновесие.

Угнетающим действием на микроорганизмы обладает фтор и его соединения, особенно соли ZnF_2 и CuF_2 , а также пятиатомный спирт - ксилит, который нарушает процесс гликолиза у бактерий. Например, фтор угнетает у *S.mutans* действие ферментов, участвующих в процессе гликолиза: фосфатазы, эндолазы и фосфоглицеромутаза. Это приводит к торможению кислотообразования. Подобным действием обладает Н-лаурилсаркозинат и гидроацетат натрия.

Снижение кислотообразования и накопления глюканов происходит при замене сахарозы другими углеводами, например, соединениями ксилита, при ферментативном расщеплении которых кислоты не образуются.

Специфическая профилактика

В настоящее время разрабатываются два подхода к созданию искусственного специфического иммунитета в полости рта:

1) создание иммунного ответа непосредственно в ротовой полости. Для этого проводят аппликации антигенов на слизистую полости рта, инъекции антигенов в подслизистый слой, лимфоидные ткани вокруг слюнных желез. В результате такой иммунизации можно получить не только местный, но и системный иммунитет. В свою очередь, антитела из системного кровотока могут попадать в ротовую полость через десневую жидкость;

2) пероральная иммунизация антигенами, что приводит к активации всей системы иммунитета слизистых оболочек. Это значительно увеличивает концентрацию специфического IgA в полости рта.

С целью специфической профилактики кариеса проводят испытания рекомбинантной пероральной вакцины, содержащей антигены *S.mutans*. Также были предприняты попытки иммунизации убитыми вакцинами из кариесогенных штаммов стрептококков. Однако эффективная противокариозная вакцина остается делом будущего.

Микробиологические методы изучения микробиоты при кариесе и его осложнениях.

Исследование микрофлоры при кариесе проводят при помощи бактериологического и молекулярно-генетического методов.

Материалом для исследования могут служить зубная бляшка, материал из кариозной полости, ротовая жидкость.

Для бактериологического исследования материал должен быть сразу помещен в транспортную питательную среду.

Микрофлора пародонта при отсутствии и наличии патологии

Ткани здорового пародонта ограничено контаминированы микрофлорой, расположенной под десной на поверхности зуба. Микробы пародонта составляют слой толщиной от 1 до 20 клеток. В области десневого желобка выявляются грамположительные факультативно-анаэробные кокки (стрептококки, стафилококки, пептострептококки) и актиномицеты: *A. israelii*, *A. naeslundii*, *A. viscosus*, *A. odontolyticus*, а также пропионибактерии. Спирохеты встречаются редко.

Основные заболевания полости рта: кариес и пародонтит, развиваются в результате экологического дисбаланса между компонентами иммунной защиты резидентными микроорганизмами. Воспалительные процессы в полости рта чаще всего возникают вследствие эндогенной инфекции в результате нарушения физиологических защитных приспособлений, снижения естественной резистентности макроорганизма и снижения функций барьера колонизационной резистентности.

Болезни пародонта – разнородная группа заболеваний воспалительной и обменно-дистрофической природы, сопровождающихся разрушением тканей десны, включая коллагеновую основу периодонта и кости.

К заболеваниям пародонта относят:

1. Гингивит (локальное воспаление десны).
2. Пародонтит (прогрессирующий воспалительный процесс с деструкцией тканей пародонта и альвеолярной кости).
3. Пародонтоз (преимущественно дистрофическое поражение тканей пародонта).
4. Пародонтомы (опухолевые и опухолеподобные процессы тканей пародонта).

Воспалительные заболевания пародонта (гингивит и пародонтит) широко распространены среди населения и являются причиной потери зубов у большинства взрослых.

В патогенезе воспалительных заболеваний пародонта проявляется взаимодействие двух патогенетических механизмов: воздействие анаэробной микрофлоры и иммунологической реактивности организма человека.

Среди резидентной микрофлоры полости рта с анаэробным типом дыхания присутствуют пародонтопатогенные виды, отличающиеся высокими адгезивными, инвазивными и токсическими свойствами по отношению к тканям пародонта.

К ним относятся пародонтопатогенные виды 1-го порядка:

1. Грамотрицательные бактерии группы бактериоидов (*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella melaninogenica*, *Tannerella forsythensis* = ранее *Bacteroides forsythus*, в меньшей степени - спирохеты и фузобактерии.
2. Грамположительные бактерии группы актиномицетов *Aggregatibacter* (ранее *Actinobacillus*) *actinomycetemcomitans.*, в меньшей степени - пептострептококки.

Они обладают высокой степенью адгезии к эпителиальным клеткам и коагрегации с грамположительными бактериями.

К пародонтопатогенным видам 2-го порядка относятся:

1. *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola*, *Actinomyces israelii*, *Peptococcus niger*, *Peptostreptococcus micros* и др.
2. *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella melaninogenica* и др. виды бактериоидов.

Они являются необходимым фактором для начала воспалительного процесса.

Пародонтопатогенные микроорганизмы обладают широким спектром факторов патогенности, что индуцирует длительный воспалительный процесс.

- Факторы адгезии – обеспечивают контаминацию эпителиальных клеток и коагрегацию с грамположительными бактериями.
- Факторы инвазии – продукция гистолитических ферментов: гиалуронидазы, ДНК-азы, РНК-азы, коллагеназы.
- Токсические факторы – грамотрицательные бактерии содержат эндотоксин, вырабатывают цитотоксические субстанции: жирные кислоты, индол, амины, аммиак и др. Все эти вещества оказывают разрушающее действие на ткани пародонта. Бактероиды выделяют летучие серные соединения, которые увеличивают проницаемость слизистой оболочки полости рта. Липополисахариды грамотрицательных бактерий являются причиной иммунопатологических процессов, приводящих к деструкции костной ткани.

- Антифагоцитарные факторы: полисахаридная капсула грамотрицательных бактерий, ферменты, способные расщеплять иммуноглобулины и белки системы комплемента. Многие виды бактероидов способны продуцировать ферменты, инактивирующие действие антибиотиков.

Развитие гингивита приводит к увеличению общего числа бактерий в 10-20 раз, чем в здоровом пародонте. Такие изменения могут быть результатом неправильного образа жизни, обменных нарушений в тканях пародонта, эндокринных дисфункций.

При длительном гингивите обнаруживаются грамположительные факультативно-анаэробные палочки *Actinomyces naeslundii*, *A. viscosus*, *A. israelii*, в небольших количествах выделяются пропионибактерии и эубактерии и грамположительные факультативно-анаэробные стрептококки.

Причинами развития пародонтита могут быть функциональные нарушения защитных механизмов макроорганизма, изменения качественно-количественного микробного состава пародонтального кармана.

При пародонтите возрастает количество палочковых форм и спирохет, при этом к цементу адгезированы грамположительные бактерии, а грамотрицательные - в неплотных слоях поддесневой бляшки. Преобладают грамотрицательные анаэробные палочки: *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella melaninogenica*, *Fusobacterium nucleatum*, иногда наблюдается увеличение актиномицетов.

В патогенезе пародонтита важнейшим механизмом является развитие иммунопатологических реакций. При исследовании содержимого десневого кармана у больных пародонтитом определяются иммуноглобулины классов А, G, М, фракции комплемента С3, С5, лейкоциты. Ткани десны обильно инфильтрированы плазматическими клетками, лимфоцитами, макрофагами (моноцитами). Всё это позволяет считать, что многие реакции антиген-антитело, реакции клеточного иммунитета происходят в тканях пародонта и альвеолярной кости.

Иммунопатогенез пародонтопатий можно разделить на две фазы: обратимую и необратимую.

Обратимая фаза связана с нормальным иммунным ответом защитного характера со стороны местных тканей. Механизм обусловлен усиленным размножением грамотрицательных бактерий в десневых карманах и зубных бляшках. Микробные ферменты нарушают структуру краевого эпителия десны, в результате создаются условия для трансфузии эндотоксинов в соединительную ткань. Микробные антигены, продукты распада клеток и обменные продукты зубной бляшки провоцируют усиленную миграцию сегментоядерных лейкоцитов и макрофагов в краевой эпителий.

По мере накопления специфических антител (IgM, IgG) образуются иммунные комплексы с персистирующими антигенами микробной природы, что способствует очищению от них слизистой оболочки рта. Активированные лимфокинами фагоциты осуществляют деградацию иммунных комплексов и продуктов их распада.

Обратимая фаза клинически проявляется признаками местного воспаления - гингивита. Своевременное лечение прекращает массивное поступление антигенов, останавливает или ликвидирует воспаление десны. Если воспалительный процесс не прекращается, происходит освобождение лизосомальных ферментов фагоцитирующими клетками (коллагеназа и эластаза способны расщеплять денатурированный коллаген пародонтальной соединительной и костной тканей), что может привести к последующей деструкции тканей. При этом эпителий набухает, теряет прочную связь с твёрдыми тканями зуба, в результате образуется патологический десневой карман, который служит входными воротами для вторичной гнойной инфекции. В этом случае начинается пародонтит.

Необратимая иммунопатологическая фаза связана с сенсбилизацией Т-лимфоцитов аутоантигенами, образующимися при деструкции пародонта. Важную роль играют при этом микробные эндотоксины, которые усиливают сенсбилизацию лимфоцитов и могут вызывать поликлональную активацию В-лимфоцитов. Таким образом формируются механизмы аутоагрессии, приводящие к прогрессирующему, рецидивирующему, необратимому течению пародонтита с атрофией остеоцитов и альвеолярных отростков челюсти.

Понимание этиологии и патогенеза пародонтита необходимо не только для установления роли микробов в этом процессе, но также и для выяснения условий, способствующих формированию бляшки, определению роли местных и системных факторов, которые могут влиять на резистентность или чувствительность тканей пародонта к бактериям, продуктам их жизнедеятельности и значению индивидуальных особенностей организма хозяина в функционировании деструктивных и защитных механизмов.

Методы изучения микрофлоры при заболеваниях пародонта

В диагностике заболеваний пародонта используют бактериологический и молекулярно-биологический методы. Существующие диагностические наборы для ПЦР позволяют определить 5 основных пародонтопатогенных видов микроорганизмов.

Материалом для исследования может служить десневая жидкость, субгингивальная зубная бляшка.

Одонтогенная инфекция челюстно-лицевой области.

Одонтогенным называется воспалительный процесс, непосредственно связанный с тканями, находящимися внутри и вокруг зуба.

Развитие одонтогенных воспалительных процессов определяется особенностями анатомо-топографических соотношений между входными воротами инфекции — одонтогенным очагом — и окружающими тканями: надкостницей, костью и мягкими тканями челюстно-лицевой области. Анатомическая близость, обилие кровеносных и лимфатических сосудов, соединяющих эти ткани, создают благоприятные возможности для быстрого распространения инфекции.

Кариозный процесс создает возможность попадания микробов через дентинные каналы в пульпу. Дальнейшее распространение микробов и продуктов их жизнедеятельности вызывает развитие периодонтита, а затем воспалительный процесс распространяется на надкостницу, и возникает периостит, остеомиелит. Вовлечение в воспалительный процесс мягких тканей приводит к возникновению околочелюстных абсцессов и флегмон.

Пульпит - острый или хронический воспалительный процесс, протекающий в коронковой или корневой пульпе.

Периодонтит —воспаление периодонта, характеризующееся нарушением целостности связок, удерживающих зуб в альвеоле, кортикальной пластинки кости, окружающей зуб и резорбции костной ткани от незначительных размеров до образования кист больших размеров.

Периостит — воспаление надкостницы.

Остеомиелит — гнойно-некротический процесс, развивающийся в кости и костном мозге.

Абсцесс — гнойное воспаление тканей в сочетании с их расплавлением и образованием гнойной полости, может развиваться в подкожной клетчатке, мышцах, костях (локализованный воспалительный процесс).

Флегмона — острое разлитое гнойное воспаление, распространенное на несколько областей головы и шеи.

Особенностью всех форм одонтогенного воспаления является распространение воспаления в жировой клетчатке по ходу фасций (фасциит). Прогрессирование гнойного воспаления может привести к гематогенному (с током крови) распространению инфекции – сепсису.

Микробная флора при пульпитах

Здоровая пульпа – биологический барьер, препятствующий проникновению различных вредных факторов в ткани периодонта. Острый пульпит носит сначала очаговый характер и протекает как серозное воспаление. Чаще всего при этом обнаруживают зеленящие и негемолитические стрептококки группы Д, стрептококки без группового антигена, лактобациллы. Без лечения острый серозный пульпит переходит в

гнойный пульпит, при котором выделяют пептострептококки, бета-гемолитические стрептококки группы F и G.

Острый пульпит переходит в хронический, а при некрозе ткани – в гангренозный пульпит. При этих формах пульпита из некротизированной пульпы в большом количестве высевают анаэробные бактерии: пептострептококки, бета-гемолитические стрептококки группы F и G, бактероиды, спирохеты, актиномицеты. Могут также присоединиться гнилостные бактерии – протеи, клостридии, бациллы.

Микробная флора при периодонтитах

Периодонтиты – болезни соединительной и прилежащей костной ткани, удерживающей зубы В ткани периодонта микробы попадают: 1) через корневой канал возникает заболевание апикальный периодонтит, 2) из патологического десневого кармана - маргинальный.

При остром серозном периодонтите в составе микробиоты часто встречаются зеленящие и негемолитические стрептококки. Если воспаление связано с проникновением микробов через отверстие корневого канала, то микробный состав связан с флорой гнояного или гангренозного пульпита.

При гнояном периодонтите обнаруживаются коагулазоположительный *Staphylococcus aureus* и β-гемолитические стрептококки.

При переходе острого периодонтита в хронический начинают преобладать анаэробные пептострептококки, к которым присоединяются другие стрептококки с групповым и без группового антигена. В апикальных гранулемах обнаруживают актиномицеты, бактероиды, фузобактерии, извитые формы, клостридии. Показано, что одонтогенные инфекции протекают более тяжело, если в их генезе участвуют анаэробы, особенно *F.nucleatum*.

Патогенез периодонтитов – сложный комплексный процесс, включающий прогрессирование зубной бляшки, высвобождение продуктов метаболизма бактерий и развитие ответной воспалительной реакции.

При периодонтитах десневая щель углубляется и превращается в десневой карман глубиной до 4-12 мм, в котором скапливается от 10^7 до 10^9 бактерий.

Соотношение микробных биоценозов меняется с развитием периодонтита. В десневой щели у здоровых лиц количество патогенных микробов минимально. При неадекватной гигиене полости рта накопление зубного налета приводит к воспалению и усилению циркуляции десневой жидкости. Она может обеспечивать микроорганизмы питательными веществами, что ускоряет их рост. В очаге воспаления снижается редокс-потенциал, что приводит к увеличению количества грамотрицательных анаэробов.

Бактерии многих видов могут выделять факторы патогенности, приводящие к периодонтитам. Главные из них – это представители родов *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Actinobacillus*, *Capnocytophaga* и *Wolinella*. К настоящему времени считается доказанным, что основную роль в развитии большинства случаев периодонтитов играют именно грамотрицательные анаэробы.

Обычно бактерии не пенетрируют в ткань периодонта, однако они выделяют токсины, компоненты клеточной стенки, продукты метаболизма, которые индуцируют воспаление. Иммунный ответ при периодонтитах носит как защитный, так и деструктивный характер. Ферменты макрофагов могут прямо разрушать поддерживающие ткани, в свою очередь, выделение иммунными клетками цитокинов ведет к активации клеточных металлопротеиназ, что приводит к разрушению коллагена, удерживающего зуб.

Выделяют несколько клинических вариантов периодонтита, различающихся по течению: хронический периодонтит, агрессивный периодонтит, периодонтит при системных заболеваниях. Эти варианты болезни могут быть генерализованными и локализованными.

Различают также периодонтиты у лиц молодого возраста (развиваются у больных в возрасте до 35 лет) и у взрослых и пожилых (после 35 лет).

Существуют особые формы периодонтита, в частности ювенильный локальный периодонтит. Ювенильный локальный периодонтит развивается обычно у детей. Быстрые дегенеративные изменения при этой форме болезни (периодонтоз) без лечения часто приводят к утрате пораженных зубов. Характерно, что объем зубного налета при данной патологии невелик, из очагов поражения часто выделяют микроаэрофильные бактерии *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Они культивируются на селективных средах с малахитовым зеленым и антибиотиками (бацитрацином или ванкомицином). Этот возбудитель способен к пенетрации из десны в подлежащие ткани, он продуцирует различные факторы патогенности (ЛПС и лейкотоксин). В ответ на внедрение возбудителя развивается не только местный, но и системный иммунный ответ.

Предполагается, что выраженная клиническая картина периодонтита развивается у детей с генетически нарушенным хемотаксисом нейтрофилов. По мере развития заболевания в процесс вовлекаются анаэробные микроорганизмы, что ухудшает его течение. В результате терапии антибиотиками широкого спектра действия (метронидазол, тетрациклин) прогрессирование болезни прекращается.

Микробная флора при периоститах, остеомиелитах, абсцессах, флегмонах челюстно-лицевой области

При периоститах, остеомиелитах, абсцессах, флегмонах челюстно-лицевой области обнаруживаются микробные ассоциации, в составе которых преобладают анаэробные грамположительные и грамотрицательные палочки, пептострептококки, стафилококки (*S.aureus*), β -стрептококки, гнилостные бактерии.

Роль нормальной микрофлоры в развитии воспалительных процессов челюстно-лицевой области

Воспалительные заболевания, вызываемые бактериями-опортунистами, поражают любые ткани челюстно-лицевой области: слизистую оболочку, жировую клетчатку, мышцы и фасции, связочный аппарат и кости.

Поскольку анаэробы составляют большинство в микробиоценозе полости рта, можно предположить, что они играют основную роль в развитии патологических процессов челюстно-лицевой области. К неспорообразующим анаэробам - представителям оральной микрофлоры, вызывающим одонтогенные гнойно-воспалительные процессы, относят: бактероиды, превотеллы, порфиромонады, фузобактерии, пептококки, пептострептококки, лептотрихии, актиномицеты. Высокий уровень содержания их в полости рта способствует возникновению и развитию эндогенной инфекции, что связано также с природной устойчивостью к большинству антибактериальных препаратов и наличием факторов вирулентности.

Факторы патогенности:

1. Поверхностные структуры клетки (пили, капсула)
2. Ферменты (коллагеназа, нейраминидаза, ДНК-аза, гепариназа, фибринолизин, бета-лактамаза)
3. Токсины (эндотоксин, лейкоцидин, гемолизины, гемагглютинин)
4. Метаболиты (летучие и длинноцепочечные жирные кислоты).

В материале от больного часто выявляются ассоциации из 3-5 и более видов облигатно-анаэробных бактерий или их сочетания с факультативными анаэробами (стафилококки и стрептококки) и аэробами (нейссерии, синегнойная палочка). Симбиотические отношения между различными бактериями слизистой полости рта или зубной бляшки, при развитии инфекционного процесса обеспечивают синергизм патогенного действия в очаге воспаления.

Из гнойных очагов выделяют бактероиды, пептострептококки и стафилококки, что связано с продолжительностью гнойно-воспалительного процесса и проводимого лечения. Концентрация бактерий в гнойном экссудате низкая при ограниченных очагах и высокая при разлитых.

Клиническая картина не зависит от вида возбудителя, а лишь от пораженного органа.

Характерными чертами одонтогенного воспаления являются:

1. выраженная тенденция к генерализации процесса;
2. микст-инфекция;
3. последовательная смена доминирования аэробных, факультативно-анаэробных и облигатно-анаэробных видов.

Условия для развития одонтогенного воспаления:

1. Выход микрофлоры за пределы свойственной ей экологической ниши.
2. Снижение естественной резистентности организма;
3. Наличие условий для размножения анаэробной микрофлоры: низкий ОВП среды, наличие факторов роста.

Условия для транслокации микрофлоры за пределы свойственного ей биотопа могут быть местными (механическими), или общими.

К местным условиям относят: травму слизистой оболочки полости рта, экстракцию зуба, другие оперативные вмешательства, некроз ткани, пункции, эндоскопии, распад опухоли и т.д.

Общие - снижение естественной резистентности организма, что может быть связано с кровопотерей, голоданием, переохлаждением, переутомлением, местным нарушением кровообращения, применением иммунодепрессантов, цитостатиков, антибиотиков и глюкокортикоидов.

Хирургические инфекции чаще возникают на фоне онкологических заболеваний, сахарного диабета, при лучевой терапии, лейкопении, гипогаммаглобулинемии, при состоянии после пересадки органов.

Особое место в патогенезе инфекций, вызываемых анаэробами, занимает их симбиоз с аэробными микроорганизмами. В основном, это связано с поглощением аэробами свободного кислорода в тканях и тем, что они синтезируют факторы роста для анаэробов.

Хронические локализованные процессы в ротовой полости могут явиться причиной системных заболеваний. Хроническими одонтогенными очагами инфекции в полости рта являются хронические гангренозные пульпиты, хронические периодонтиты, пародонтит, хронический перикоронит, хронический остеомиелит.

Острые одонтогенные воспалительные заболевания чаще вызывают неспорообразующие анаэробы: бактероиды, фузобактерии, пептококки, пептострептококки, реже актиномицеты, а также стрептококки.

При хронических одонтогенных воспалениях выделяют ассоциации облигатных анаэробов с факультативно-анаэробными стафилококками, стрептококками.

Для неодонтогенных воспалительных процессов характерно преобладание стафилококков, стрептококков, реже бацилл и облигатных анаэробов. При этом часто выделяются монокультуры.

Методы изучения микрофлоры при одонтогенных заболеваниях.

Ведущая роль в развитии воспалительных заболеваний полости рта и челюстно-лицевой области принадлежит облигатно-анаэробным и микроаэрофильным бактериям, поэтому необходимо создание анаэробных условий при заборе материала и культивировании бактерий.

Материал для исследования при одонтогенных воспалительных процессах берут из корневого канала (при пульпитах), пунктаты, кусочки тканей, гнойное отделяемое.

Основным методом является бактериологический.

При данной патологии бактериологический метод исследования включает выращивание культур в аэробных и анаэробных условиях.

Занятие №1

Микробиота ротовой полости. Биологические свойства резидентной микрофлоры.

Цель - изучить биологические свойства основных представителей резидентной микрофлоры полости рта, особенности распределения в различных биотопах полости рта.

Знать: Основных представителей резидентной микрофлоры полости рта, особенности распределения бактерий в различных биотопах полости рта, роль нормальной микрофлоры полости рта, особенности формирования микробиоценоза полости рта, возрастные изменения микрофлоры.

План занятия:

1. Изучить биологические свойства основных представителей резидентной микрофлоры полости рта, функции микробиоты.
2. Охарактеризовать основные биотопы полости рта и их микрофлору.
3. Изучить морфологию основных представителей стабилизирующих видов бактерий полости рта: *S.sanguis*, *S.salivarius*, *S.mitis* и ряда других представителей - вейллонеллы, нейссерии, коринебактерии, лактобациллы, бактериоды, актиномицеты.

Практическая работа студентов:

Приготовить фиксированные препараты из зубного налета, окрасить по Граму, провести микроскопию с иммерсионной системой. Зарисовать и изучить морфологические и тинкториальные свойства микроорганизмов.

Занятие № 2.

Микробиология кариеса. Роль микробной флоры в возникновении и развитии кариеса.

Цель: изучить роль микрофлоры в возникновении и развитии кариеса, методы забора материала при кариесе

Знать: факторы, способствующие развитию кариеса, основных представителей кариесогенной микрофлоры, микробиологические методы изучения микрофлоры при кариесе.

Демонстрация:

1. Мазки кариесогенных видов микроорганизмов и их антагонистов.

Практическая работа:

1. Зарисовать морфологию кариесогенных видов микроорганизмов и их антагонистов.

Занятие № 3.

Методы изучения микробиоты, определения чувствительности к антибиотикам и тактика антибактериальной терапии в стоматологии.

Цель: изучить способы забора материала методы исследования микробиоты.

Знать: особенности метагеномной диагностики.

Демонстрация:

1. элективные питательные среды

Практическая работа:

1. Зарисовать схемы культурального и молекулярно-генетического методов исследования.

Занятие № 4.

Изучение микрофлоры при воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области (факультативные анаэробы и облигатные анаэробы). Изучение микробной флоры полости рта при воспалительных заболеваниях пародонта.

Цель: познакомиться с основными возбудителями оппортунистической анаэробной инфекции челюстно-лицевой области, рассмотреть особенности

микробиологической диагностики при одонтогенных воспалительных заболеваниях.

Знать: характеристику микробной флоры при различных гнойно-воспалительных процессах челюстно-лицевой области, факторы, способствующие развитию одонтогенной инфекции.

Уметь: забирать материал для исследования микрофлоры при одонтогенных инфекциях.

Демонстрация:

1. Мазки микроорганизмов-возбудителей одонтогенных инфекций.

Практическая работа:

1. Микроскопия готовых мазков, изучить морфологические и тинкториальные свойства микроорганизмов. Зарисовать.

Приложение

Общие правила забора и транспортировки проб для бактериологического исследования

Общие правила:

1. Брать материал до начала антибактериальной терапии или через 10-12 часов после отмены препарата.
2. Брать материал непосредственно из очага инфекции или исследовать соответствующее отделяемое (гной из фистулы, мокроту при пневмонии, мазки с миндалин при ангине и т.д.).
3. Брать материал во время наибольшего содержания в нём возбудителей заболевания.
4. Соблюдать строжайшую асептику во избежание загрязнения пробы микрофлорой окружающей среды.
5. Материал для выделения аэробов и факультативных анаэробов берут стерильными ватными тампонами (отделяемое из раны, мазки со слизистых оболочек, из глаз, носа, зева) и погружают в транспортную среду, шприцем (кровь, гной, экссудат), непосредственно в стерильную посуду.
6. Количество материала должно быть достаточным для проведения исследования и для его повторения в случае необходимости.
7. Транспортировку нативного клинического образца в лабораторию следует производить в максимально короткие сроки (не позднее, чем через 2 часа от момента взятия пробы), т.к. это определяет эффективность микробиологического исследования.

При длительном хранении материала происходит гибель наиболее требовательных к питательным веществам видов микробов, начинают

размножаться менее требовательные и быстро растущие виды, что приводит к нарушениям количественного соотношения видов, и дезориентирует врача-микробиолога при интерпретации полученных результатов. Всё же, если материал нельзя в ближайшие 2-3 часа транспортировать в лабораторию, хранить его следует в холодильнике, используя консервирующие или транспортные среды (кроме проб крови и ликвора).

8. Клинические образцы для культивирования строгих анаэробов следует транспортировать в лабораторию, максимально защищая их от воздействия кислорода воздуха. Используют специальные флаконы, заполненные газом, не содержащим кислорода. Уколом иглы через резиновую крышку, плотно завальцованную, во флакон вносят исследуемый материал. Материал можно транспортировать прямо в шприце, на кончик которого надета стерильная пробка.

Транспортировку материала осуществляют также в транспортных средах, например, в смеси 10% лизированной крови донора, 10% глицерина и 80% изотонического раствора хлорида натрия, в специально предназначенных для этого биксах, пеналах и т.д.

9. К клиническому образцу, направляемому в лабораторию, прилагают сопроводительный документ, содержащий основные сведения, необходимые для проведения микробиологического исследования (характер материала, фамилия, имя и отчество больного, название учреждения или отделения, номер истории болезни, предполагаемый диагноз заболевания, предшествующая антимикробная терапия, дата и время взятия материала, фамилия врача, направляющего материал на исследование).

Цели исследования материала из полости рта

Непосредственной причиной большей части заболеваний в полости рта являются резидентные микроорганизмы (или их этиология вообще не выяснена) и поэтому предметом исследования в этих случаях является адаптированная к организму индигенная микрофлора, ее воздействие на организм и роль микробных ассоциаций в развитии оппортунистических болезней.

Особенности использования микробиологических методов:

1. Использование микробиологических методов при стоматологических заболеваниях (кариесе, пародонтите, афтозном стоматите и т.п.) направленно не на диагностику болезни, а на изучение этиологии и патогенеза этих заболеваний.

2. При одонтогенных воспалительных процессах (периодонтитах, абсцессах, флегмонах и т. п.) методы могут быть использованы для контроля проводимого лечения, прогнозирования исхода болезни.

3. Микробиологические методы позволяют определить чувствительность микробной ассоциации к антибиотикам и, соответственно, выбрать рациональную терапию.

В стоматологии чаще всего используют бактериоскопический и бактериологический методы исследования. Идет разработка тест-систем для диагностики возбудителей методом ПЦР.

При стоматологических заболеваниях в качестве исследуемого материала можно изучать:

- зубную бляшку,
- ротовую жидкость,
- содержимое десневого желобка или патологического десневого кармана,
- материал из кариозной полости,
- материал из корневых каналов,
- гранулемы,
- гнойное отделяемое,
- пунктаты,
- соскобы,
- мазки-отпечатки со слизистой оболочки или элементов поражения.

В практической стоматологии чаще исследуют:

- мазки-отпечатки со слизистой оболочки,
- гнойное отделяемое,
- пунктаты.

Общие правила забора материала при стоматологических заболеваниях.

1. При заборе материала из различных участков следует исключить попадание в пробу слюны. Для этого исследуемую область обкладывают стерильными ватными тампонами.

2. Перед забором материала нельзя обрабатывать полость рта бактерицидными препаратами, а также необходимо выяснить у больного, не принимал ли он в течение последних 3 недель антибиотики.

3. Учитывая, что большая часть резидентов полости рта является облигатными анаэробами, при заборе материала и его транспортировке необходимо соблюдать условия анаэробии.

Количественный учет плотности популяций различных экологических групп производится путем подсчета колониеобразующих единиц (КОЕ) в одном грамме зубного налета, 1 мл ротовой жидкости, на 1 см² поверхности языка и слизистых оболочек щеки, десны и неба.

Занятие № 5.

ЗАБОЛЕВАНИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА.

Цель: изучить этиологию стоматитов

Знать: классификацию заболеваний слизистой полости рта, характеристику основных возбудителей бактериальных, вирусных и грибковых стоматитов.

Уметь: определять грибы рода *Candida* по культуральным, морфологическим и тинкториальным свойствам.

Практическая работа:

1. Изучить рост *Candida albicans* на среде Сабуро.
2. Приготовить мазки из чистой культуры, окрасить метиленовым синим и по Граму. Зарисовать.

Грибковые инфекции полости рта

Возбудителями большинства микозов, поражающих слизистую оболочку полости рта, являются дрожжеподобные грибы рода *Candida*, вызывающие кандидоз. Наиболее патогенным из всех видов грибов рода *Candida* (а их насчитывается около 150) является *C.albicans*.

Кандиды - эукариоты, могут существовать в виде дрожжей, гиф (несептированный мицелий) и псевдогиф (псевдомицелий) — тонких удлинённых клеток, располагающихся друг за другом в виде нитей и не имеющих общей оболочки. По типу дыхания кандиды являются аэробами. Микроорганизмы достаточно устойчивы во внешней среде. Они лучше выживают на влажных поверхностях, чем на сухих неживых объектах, но при достаточной степени загрязнения могут сохраняться на последних до 24 часов.

Если говорить о путях инфицирования, то наиболее часто встречается эндогенное развитие кандидоза, обусловленное носительством грибов. В норме допускается небольшое содержание этих грибов в полости рта, а также на протяжении всего ЖКТ, в половых путях (особенно у женщин) и на поверхности кожи. При снижении резистентности слизистых оболочек (недостаточности неспецифических и специфических защитных факторов, а также антагонистического действия индигенной микрофлоры) количество дрожжеподобных грибов начинает нарастать. Также возможно экзогенное инфицирование (особенно в клинических стационарах). Но развитие заболевания происходит только на фоне иммунодефицитных состояний, обусловленных возрастными особенностями, длительной антибактериальной терапией, применением кортикостероидов, химиотерапией при онкозаболеваниях, ВИЧ-инфекцией и т.д.

Местное проявление кандидоза, или первичный кандидоз в полости рта, протекает в форме острого псевдомембранозного кандидоза (молочницы). При этом полость рта покрывается белым налетом и имеет вид свернутого молока. Заболевание часто встречается у новорожденных, особенно недоношенных и с родовыми травмами, а также детей, находящихся на искусственном вскармливании. У взрослых псевдомембранозный кандидоз встречается редко и поражает главным образом лиц с тяжелыми вторичными иммунодефицитными состояниями - при онкозаболеваниях, после применения стероидных гормонов, цитостатиков, на фоне лучевой терапии.

Как следствие острого псевдомембранозного кандидоза может развиваться острый атрофический кандидоз. Характеризуется болезненностью, жжением, сухостью в полости рта. Слизистая оболочка полости рта огненно-красная, сухая. При локализации на языке его спинка становится малиново-красного цвета, сухая, блестящая, нитевидные сосочки атрофированы. Налет отсутствует или сохраняется в глубоких складках, снимается с трудом, представляет собой конгломерат слущенного эпителия и большого количества грибов рода *Candida* в стадии активного почкования (мицелия, псевдомицелия).

Хронический атрофический кандидоз развивается часто в результате ношения протезов. Поражаются, в основном, изолированные участки губ (кандидозный хейлит), углов рта (заеды), языка (глоссит).

Гиперпластический кандидоз характеризуется появлением на гиперемированной слизистой оболочке крупных, иногда сливающихся белых папул. Поражаются, главным образом, слизистая оболочка щёк рядом с углами губ, спинка языка и задняя часть нёба. Заболевание приобретает хроническое течение и может рассматриваться как предраковое заболевание.

Диагностику проводят с использованием микроскопического, микологического, серологического и аллергологического исследований.

Микробиологическая диагностика стоматитов

При стоматитах полости рта в качестве исследуемого материала берут налет со слизистой оболочки, языка; материал (гной, экссудат) из эрозий, язв и других элементов поражения, а также кровь.

Соскоб со слизистой оболочки, спинки языка можно делать стерильным шпателем, гладилкой. Перед взятием материала из эрозий, язв необходимо удалить поверхностный налет сухим или смоченным изотоническим раствором тампоном, не применяя антисептических препаратов. Этот материал может быть использован для микроскопического и бактериологического методов исследования.

Забор материала со слизистых оболочек и поверхности языка для бактериологического метода проводится стерильным ватным тампоном с площади 1 см² и последующим высевом на питательные среды.

Асептика в стоматологии.

Асептика –система профилактических мероприятий, направленных на предотвращение попадания микроорганизма в рану, лекарственные препараты и другие объекты. Она включает: стерилизацию инструментов, материалов; антисептическую обработку рук персонала; соблюдение определенных правил и приёмов работы (защитная одежда, маска и т.д.); осуществление специальных санитарно-противоэпидемических мероприятий (вентиляция, влажная уборка помещений и т.д.).

В стоматологии необходимо строгое соблюдение правил асептики и антисептики, так как любое стоматологическое вмешательство производится на инфицированных тканях. Важно исключить перенос микробов от одного больного в полость рта другого, а также предотвратить инфицирование здоровых тканей.

I. Обработка помещения стоматологического кабинета

1. Использовать в кабинете воздушные фильтры.
2. Проводить регулярно влажную уборку с использованием различных дезинфицирующих средств и обрабатывать ультрафиолетом воздух.

II. Дезинфекция, стерилизация в стоматологическом кабинете:

1. *Дезинфекция* –комплекс мероприятий, направленных на уничтожение на объектах вегетативных форм возбудителей инфекций.

Дезинфекции должно подвергаться все оборудование, не имеющее контакта с раневой поверхностью или кровью, используются растворы 6% перекиси водорода, 3% хлорамина, 70% спирта и др.

2. *Стерилизация* —комплекс мероприятий, направленных на уничтожение всех форм жизни патогенных и непатогенных микроорганизмов на изделиях медицинского назначения. Стерилизации должны подвергаться все предметы, соприкасающиеся с раневой поверхностью, контактирующие с кровью, и отдельные виды медицинских инструментов, которые в процессе работы соприкасаются со слизистой оболочкой и могут вызвать ее повреждение.

Методы и приборы стерилизации:

Физический метод стерилизации включает действие высоких температур (паром, сухим жаром, гласперленовая стерилизация), ионизирующего излучения.

Стерилизацию паром под давлением осуществляют в автоклавах. Основной режим (время — 20 мин, давление — 1 атм) используется для стерилизации белья, перевязочного материала, изделий из коррозионного металла. Щадящий режим (время — 45 мин, давление пара — 0,5 атм) применяется для стерилизации резиновых перчаток, изделий из латекса и отдельных полимерных материалов. Режим стерилизации позволяет уничтожить не только бактерии, споры, но и такие вирусы, как вирус гепатита В (сывороточный гепатит) и ВИЧ.

Гласперленовый стерилизатор. Время стерилизации — от 20 секунд до 3 мин. Температура — 240°C. Стерилизации подвергается мелкий инструментарий.

Стерилизация сухим жаром в сухожаровых печах проводится при температуре 180°C в течение 2,5 часов. Что также позволяет уничтожить вирусы гепатита В и ВИЧ. Стерилизации подвергают сухие изделия в упаковке из бумаги.

Стерилизация химическим методом. Химическая (холодная) стерилизация осуществляется химическими веществами в виде растворов и газов. Изделия погружаются в раствор 6% перекиси водорода на 6 часов или в камеру с парами 40% формальдегида в этиловом спирте на несколько часов, что зависит от стерилизуемого материала.

Газовый метод стерилизации осуществляется в специальных камерах или настольных газовых стерилизаторах, где находится окись этилена или смесь этилена с бромистым метилом. Стерилизация идет при температуре от 35°C до 42°C в течение нескольких часов или дней в специальных пакетах с маркировкой:

Плазменная стерилизация проводится в плазменных стерилизаторах в сухой атмосфере при температуре 36°C. В качестве стерилизующего агента используются пары водного раствора пероксида водорода и низкотемпературная плазма. Такая технология отличается максимально щадящим воздействием на конструкционные материалы медицинских изделий, что дает уникальные возможности для многократной стерилизации изделий, содержащих высококачественную оптику, электронику, инструментов со специальными покрытиями или красками, а также изделий, содержащих узкие, с трудом поддающиеся стерилизации каналы, которые могут стать входными воротами для инфицирования больного в стационаре.

Тестовые вопросы:

1. Укажите высказывания, характеризующие микробиоту человека:

формируется в процессе эволюции
совокупность микробиоценозов
составная часть открытой экологической системы «хозяин—паразит»
функциональная составляющая барьера колонизационной резистентности
входит в понятие «неспецифический иммунитет» организма

2. Укажите группу микроорганизмов, которая играет ведущую роль в формировании зубного налета:

лактобациллы
нейссерии
фузобактерии
стрептококки
актиномицеты

3. Укажите пункты, характеризующие зубную бляшку:

представлена мягким зубным налетом
является результатом агрегации бактерий
содержит компоненты слюны
содержит продукты метаболизма бактерий
изменяет показатель pH вблизи тканей зуба

4. Формирование зубной бляшки инициируется:

коагрегацией бактерий
плохой гигиеной полости рта
адгезией бактерий к органической пленке на поверхности зуба
большим содержанием углеводов в пище
воспалением в пародонте

5. Укажите бактерии, формирующие основу зубной бляшки:

Bacteroides spp.
Veillonella spp.
S.mutans
S.sanguis
S.salivarius

6. Какие факторы определяют риск возникновения кариеса:

состав микрофлоры полости рта
характер и режим питания
количество и качество слюноотделения
общее состояние макроорганизма
наследственность

7. Укажите факторы и механизмы, вовлеченные в кариозный процесс:

деминерализация зубной эмали кислотами
продукты ферментативной деятельности молочнокислых бактерий
образование зубной бляшки
присутствие фтора в питьевой воде
углеводная диета

8. Укажите факторы, влияющие на формирование зубного налета:

вязкость слюны
адгезия и коагрегация бактерий
наличие местных воспалительных заболеваний
антибиотикотерапия
характер питания

9. Какие позиции, характеризуют заболевания, вызванные представителями микробиоты ротовой полости:

инфекция является эндогенной
инфекция всегда экзогенная
процесс не имеет специфического возбудителя
микст-инфекция
результат изменения микробиоценоза ротовой полости

10. Возбудителями одонтогенных гнойно-воспалительных процессов являются:

микробные ассоциации
стафилококки
стрептококки
актиномицеты
дифтероиды

11. При хроническом периодонтите чаще всего выделяют:

стрептококки
вейллонеллы
пептострептококки
бактероиды
стафилококки

12. К пародонтопатогенным бактериям:

Porphyromonas
Prevotella
Fusobacterium
Streptococcus
Veillonella

13. Укажите утверждения, характеризующие заболевания пародонта:

поддесневые зубные бляшки играют важную роль в развитии воспалительных изменений при пародонте

пародонтопатогенные бактерии индуцируют воспалительные процессы в пародонте

пародонтопатогенные бактерии увеличивают деструкцию альвеолярных костей

при формировании зубодесневого кармана количество бактериоидов значительно увеличивается

стафилококки играют важную роль при заболеваниях пародонта

14. Укажите факторы патогенности, характерные для неспорообразующих облигатно анаэробных бактерий:

эндотоксины

ферменты патогенности (агрессии)

пили

летучие жирные кислоты

капсула

15. Важнейшее значение в возникновении неспецифических заболеваний полости рта имеют:

вся микрофлора полости рта

один микроорганизм-возбудитель

представители резидентной микрофлоры ротовой полости

представители непостоянной группы микрофлоры полости рта

только оральные стрептококки

16. Укажите утверждения, характерные для экосистемы «МАКРООРГАНИЗМ — МИКРОБИОТА»:

обеспечивает резистентность к патогенным микроорганизмам

является резервуаром для бактерий-оппортунистов

влияет на развитие иммунной системы организма

при динамическом равновесии в экосистеме формируются нормальные

метаболические процессы

в состав входят возбудители инфекционных заболеваний

17. Ведущая роль в местной специфической защите слизистых оболочек принадлежит иммуноглобулинам класса:

IgG

IgE

IgD

IgA

IgM

18. Укажите условия, необходимые для формирования нормальной микробиоты:

питательные вещества

оптимальные значения pH

симбиотические взаимоотношения разных видов

оптимальные значения ОВП

антагонистическое действие одних бактерий на другие