

ОРД-СТОМ.ТЕР-22

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования

«Северо-Осетинская государственная медицинская академия»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

(ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России)

---

Кафедра микробиологии

## **МЕТОДИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ**

По- микробиологии

основной профессиональной образовательной программы высшего образования –  
программы ординатуры по специальности 31.08.73 Стоматология терапевтическая,  
утвержденной 30.03.2022 г.

Владикавказ, 2022

Методические материалы предназначены для обучения работы ординаторов по специальности 31.08.73 Стоматология терапевтическая, ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России по дисциплине микробиология

Составитель:

Доцент каф. микробиологии ФГБОУ ВО СОГМА,  
к.м.н. Чертокоева М.Г.

Рецензенты:

Л.В. Бибаева –д.м.н., профессор, зав. кафедрой биологии и гистологии ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России.

Ф.Т. Бекузарова – начальник отдела эпид. надзора Управления Роспотребнадзора по РСО-Алания.

## ПЕРЕЧЕНЬ МЕТОДИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ:

- 1.Сборник методических разработок по микробиологии, вирусологии и иммунологии для ординаторов по специальности 31.08.73 Стоматология терапевтическая.
- 2.Сборник методических разработок по микробиологии, вирусологии и иммунологии для преподавателей (по специальности 31.08.73 Стоматология терапевтическая).

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«СЕВЕРО-ОСЕТИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**КАФЕДРА МИКРОБИОЛОГИИ**

**МИКРОБИОЛОГИЯ**

**Учебно-методическое пособие для ординаторов по специальности: «Стоматология  
терапевтическая»**

**ВЛАДИКАВКАЗ**

## Занятие №1

**Тема: Микробиоценоз полости рта. Резидентная микрофлора различных биотопов ротовой полости. Зубной налёт и его изучение при оценке гигиенического состояния ротовой полости.**

### Учебная цель:

1. Изучить основных представителей резидентной микрофлоры полости рта.
2. Изучить микрофлору зубного налета.

### План занятия:

1. Симбиоз, этапы симбиоза.
2. Полость рта как экологическая ниша организма.
3. Основные представители резидентной микрофлоры полости рта, их свойства.
4. Зубная бляшка. Механизм ее формирования. Локализация.

### Самостоятельная работа ординаторов:

1. Зарисовать в виде схемы морфологию основных резидентов полости рта:
  - 1) анаэробных грам-положительных (пептострептококки, актиномицеты, пропиони- и зубактерии) и грам-отрицательных (вейлонеллы, бактероиды, фузобактерии, извитые формы);
  - 2) аэробных и факультативно-анаэробных грам-положительных (стрептококки, стафилококки, Корине- и лактобактерии) и грам-отрицательных (нейсерии, псевдомонас),
2. Оформление протокола исследования.

## ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

Видовой состав микробной флоры полости рта в норме довольно постоянен. Вместе с тем количество микробов в полости рта подвержено значительным колебаниям. В настоящее время описано несколько сотен видов микроорганизмов, составляющих нормальную микрофлору полости рта. В ее состав входят бактерии, вирусы, грибы и простейшие.

Количество микробной флоры зависит от гигиенического содержания полости рта, курение способствует размножению микроорганизмов, вызывает хроническое воспаление слизистой оболочки. Твердая пища больше влияет на уменьшение количества микробов, т.к. жевание способствует механической очистке ротовой полости от микроорганизмов. Расстройство слюноотделения, жевания и глотания всегда приводит к нарастанию количества микроорганизмов в ротовой полости.

Наличие кариозных полостей, десневых карманов, плохо припасованные зубные несъемные протезы и др. обуславливают довольно высокую частоту формирования очагов хронической инфекции с последующей аллергизацией организма и высокой степенью риска развития общих аутоиммунных заболеваний.

Микрофлора полости рта новорожденного представлена в основном молочно-кислыми палочками, негемолитическими стрептококками и непатогенными стафилококками. Ее довольно быстро (в течение недели) сменяют микроорганизмы, характерные для полости рта взрослого человека.

Главными обитателями полости рта взрослого человека являются бактерии, преимущественно (3/4 всех микробных видов) анаэробного типа дыхания. Среди них

встречаются разнообразные кокки, палочки, извитые формы.

Несмотря на большое разнообразие микроорганизмов полости рта, количественно в ней преобладают микробы трех групп: около половины являются факультативно- и облигатно-анаэробные стрептококки, а другая половина состоит из вейлонелл (меньше 1/4) и дифтероидов (менее 1/4). Остальные многочисленные группы бактерий - стафилококки, лактобактерии, жгутиковые, спирохеты, лептоспиры, фузобактерии, бактериоиды, нейссерии, гемофилы, микоплазмы, дрожжи, простейшие - представляют собой малые популяции по количеству, но равноправные группы по формированию ассоциации резидентов.

Таблица

**Микрофлора полости рта в норме.**

Микроорганизмы	В слюне		В зубно-десневых карманах (частота обнаружения в %)
	частота обнаружен. в %	количество в 1 мл	
<b>Группа А. Резидентная флора 1. Аэробы и</b>			
Streptococcus salvarius	100	$10^7$	100
Streptococcus mitis	100	$10^6-10^8$	100
Сапрофитные нейссерии	100	$10^5-10^7$	++
Лактобактерии	90	$10^3-10^4$	+
Стафилококки	80	$10^3-10^4$	-н-
Дифтероиды	80	Не опред.	+
Гемофилы	60	Не опред.	0
Пневмококки и др.	60	Не опред.	Не определено
Сапрофитные	30	$10^2-10^4$	++
Тетракокки	++	Не опред.	++
Дрожжеподобные грибы	50	$10^2-10^3$	+
Микоплазмы	50	$10^2-10^3$	+
<b>Простейшие:</b> Entamoeba gingivalis	0	0	45
Trichomonas	0	0	25
<b>II. Облигатные анаэробы</b>	100	$10^6-10^8$	100
Анаэробные стрептококк (пептострептококки)			
Бактероиды	100	Не опред.	100
Фузобактерии	75	$10^4-10^5$	100
Нитевидные бактерии	100	$10^2-10^4$	100

Актиномицеты и анаэробные дифтероиды	100	Не опред.	++
Спириллы и вибрионы	++	Не опред.	.1. ++
Спирохеты (сапрофитн	±	Не опред.	100
Группа Б. Непостоянн	15	10-102	.
Klebsbricila	2	10-102	0
Esclierichia	3	10-102	+
Aerobacter	±	Не опред.	0
Pseudomona	±	Не опред.	0
s			
Proteus	±	Не опред.	0
Alcaligenes	±	Не опред.	0
Бациллы			
<b>П. Облигатны е анаэробы</b>			
Клостридии	+	Не опред.	0
Cloatridium putrificun	±	Не опред.	0
Clostridium perfringens	+	Не опред.	0

Обозначение: ++ часто, + не очень часто, ± редко, 0 не обнаружены.

Таблица.

**Основные группы резидентной флоры полости рта по морфологии и типу дыхания.**

Окраска по Граму	Морфология	Питание рода
1 ГРУППА: С анаэробным типом дыхания ( облигатные анаэробы )		
Грам-негативные	кокки	VEILLONELLA
	палочки	BACTEROIDES PORPHYROMONAS PREVOTELLA FUSOBACTERIUM LEPTOTRICHIA
Грам-позитивные	кокки	PEPTOSTREPTOCOCCUS PEPTOCOCCUS
	палочки беспоровые	LACTOBACTERIUM BIFIDOBACTERIUM EUBACTERIUM PROPIONIBACTERIUM ACTINOMYCES
	палочки спорообразующие	CLOSTRIDIUM
2 ГРУППА: С аэробным и смешанным типом дыхания (аэробы и факультативные анаэробы)		
Грам-негативные	кокки	NELSSERIA
	палочки	PSEUDOMONAS BORDETELLA EIKENELLA
Грам-позитивные	кокки	STREPTOCOCCUS STAPHYLOCOCCUS
	палочки беспоровые	CORINEBACTERIUM NOCARDIA, ROTHIA
	палочки спорообразующие	BACILLUS

**Стафилококки.** Отдел Firmicutes, семейство Micrococcaceae, род Staphylococcus. В род Staphylococcus по классификации Байрд— Паркер входят 3 вида: *S. aureus*, *S. epidermidis* и *S. saprophyticus*. Предложенные недавно другие классификации включают большее количество видов стафилококков, но они используются пока только в научных исследованиях.

Все виды стафилококков представляют собой округлые клетки диаметром 0,5—1 мкм. В мазке располагаются обычно несимметричными гроздьями («гроздь винограда»), но встречаются одиночные клетки, пары клеток. Грамположительны. Спор не образуют, жгутиков не имеют. У некоторых штаммов можно обнаружить капсулу. Могут образовывать L-формы. Клеточная стенка содержит большое количество пептидогликана, связанных с ним теихоевых кислот, протеин А.

Стафилококки хорошо растут на простых средах (рН 7,0—7,5); факультативные анаэробы. На плотных средах образуют гладкие круглые выпуклые колонии с различным пигментом. Пигмент не имеет таксономического значения. Могут расти на агаре с высоким содержанием (8—10 %) NaCl. Продуцируют сахаролитические и протеолитические ферменты. Стафилококки вырабатывают гемолизины, фибринолизин, фосфатазу, р-лактамазу, бактериоцинины, энтеротоксины, коагулазу, ДНК-азу, лейкоцидины, лецитовителлазу и др.

Стафилококки очень пластичны: быстро вырабатывают устойчивость к

антибактериальным препаратам. Существенную роль в этом играют плазмиды, передающиеся с помощью трансдуцирующих фагов от одной клетки к другой. Р-плазмиды детерминируют устойчивость к одному или нескольким антибиотикам, в том числе и за счет экстрацеллюлярной продукции р-лактамазы — фермента, разрушающего пенициллин, разрывающего его р-лактамное кольцо.

Возбудителем стафилококковых инфекций чаще бывает *S. aureus*, несколько реже — *S. epidermidis*, очень редко — *S. saprophyticus*. Стафилококки являются представителями нормальной микрофлоры человеческого тела, поэтому микробиологическая диагностика стафилококковых инфекций не может ограничиться выделением и идентификацией возбудителей; необходимы количественные методы исследования, т. е. определение числа микроорганизмов в пробе.

Стафилококки в полости рта здорового человека встречаются в среднем в 30 % случаев. В зубном налете на деснах здоровых людей присутствуют в основном *Staph. epidermidis*. Значительно чаще патогенные стафилококки локализуются на слизистой глотки и носа, обуславливая так называемое "здоровое бактерионосительство". Обладая ферментативной активностью, стафилококки принимают участие в расщеплении остатков пищи в полости рта. Такие постоянные носители патогенного стафилококка являются источником воздушно-капельной инфекции. Патогенные стафилококки, встречающиеся на слизистой носоглотки и в полости рта являются частой причиной аутоинфекции, вызывая различные гнойно-воспалительные процессы полости рта.

Лечение стафилококковых инфекций обычно проводят антибиотиками и сульфаниламидными препаратами. В последние годы от больных часто выделяют стафилококки, резистентные к большинству химиотерапевтических препаратов. В таких случаях для лечения используют антитоксическую противостафилококковую плазму или иммуноглобулин, полученные из крови доноров, иммунизированных стафилококковым анатоксином. Для активной иммунизации (плановых хирургических больных, беременных женщин) может быть использован адсорбированный стафилококковый анатоксин.

**Стрептококки.** Отдел Firmicutes, семейство Streptococcaceae, род Streptococcus. В род Streptococcus входят более 20 видов, среди которых есть представители нормальной микрофлоры человеческого тела и полости рта, а также возбудители тяжелых инфекционных эпидемических заболеваний человека.

Стрептококки — мелкие (меньше 1 мкм) шаровидные клетки, располагающиеся цепочками или попарно, грамположительны, спор не образуют, неподвижны. Большинство штаммов стрептококков образуют капсулу, состоящую из гиалуроновой кислоты. Клеточная стенка содержит белки (M-, T- и R-антигены), углеводы (группоспецифические) и пептидогликаны. Легко переходят в L-формы.

Генетический обмен возможен за счет трансформации и трансдукции, но не конъюгации. Устойчивость к антибиотикам вырабатывается медленно.

Стрептококки группы А вырабатывают более 20 внеклеточных веществ, обладающих антигенной активностью. Наибольшее значение в патогенезе стрептококковых инфекций имеют:

- стрептокиназа (фибринолизин) — протеолитический фермент, расщепляющий фибрин и другие белки;
- ДНК-аза — фермент, деполимеризующий ДНК. Смесь ДНК-азы и фибринолизина способна разжижать экссудаты, лизировать венозные тромбы, поэтому может быть использована для удаления гноя и некротизированных тканей из раны;
- гиалуронидаза — фермент агрессии, разрушающий гиалуроновую кислоту, входящую в состав соединительной ткани («фактор проницаемости»);
- эритрогенин — токсин, продуцируемый р-гемолитическими стрептококками группы А, способными вызывать скарлатину. Выделяется только лизогенными культурами.

Стандартизованный разведенный эритрогенин используют при постановке внутрикожной пробы (проба Дика) для выявления чувствительности к этому токсину (восприимчивость к скарлатине).

Стрептококки являются основными обитателями полости рта. В 1 мл слюны содержится до  $10^8$  -  $10^9$  стрептококков. Тем не менее, в пробах слюны их примерно в 2 раза больше, чем в материале из бляшки или десневого желобка. Наиболее значительной группой стрептококков полости рта следует считать микроаэрофильные а-гемолитические ("зеленящие") стрептококки и j - негемолитические формы. Следует отметить, что от 40 - 90 % штаммов вида *milled* могут быть В-гемолитическими, которые принимают активное участие в процессах, приводящих к поражениям твердых тканей зуба и пародонта. В эту группу входят *Streptococcus mutants*, *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. salivarius*. Они отличаются друг от друга по способности ферментировать углеводы и образовывать перекись водорода.

Сдвиг рН в кислую сторону приводит к декальцинации зубной эмали. Особо следует подчеркнуть высокие способности микроаэрофильных стрептококков к агрегации с другими бактериями, которые показаны, в частности, в отношении актиномицетов, фузобактерий, лактобактерий. Все это способствует обнаружению данных видов в составе ассоциаций возбудителей при различных гнойно-воспалительных процессах в челюстно-лицевой области. Но особенно значительна их роль в развитии кариеса. Ведущее место в этом плане занимают два вида, активно продуцирующие из углеводов пищи молочную и другие кислоты на эмали - *S. mutans* и *S. sanguis*.

Все виды стрептококков плохо растут и погибают на простых питательных средах, т.к. в процессе роста и размножения стрептококки выделяют много перекиси водорода, которая действует на них губительно, т.к. они не продуцируют каталазу. Для создания оптимальных условий роста к питательной среде обычно добавляют кровь, в которой содержится каталаза, разрушающая перекись водорода. На кровяных средах стрептококки хорошо растут в аэробных условиях, при этом одни из них образуют на кровяном агаре колонии, окруженные зоной полного гемолиза (это гемолитические (В) стрептококки), другие окружены зоной зеленоватого цвета (зеленые стрептококки), у третьих (у) гемолиз отсутствует (негемолитические стрептококки).

Стрептококки выделяют экзотоксин и ферменты агрессии. Во внешней среде менее устойчивы, чем стафилококки. Большинство чувствительны к пенициллину и другим антибиотикам. По антигенной структуре все стрептококки делят на 17 серологических групп (А,В,С,Д, ... и до S), чаще других в полости рта обнаруживаются стрептококки групп А, С, Д, F, G, H и O.

**Пептострептококки** - Gr + облигатно-анаэробные кокки, которые включают два рода - *Peptostreptococcus* и *Peptococcus*. Широко представлены во всех нишах полости рта. Чаще всего пептококки встречаются в ассоциациях с фузобактериями и спирохетами при кариесе, пульпите, пародонтите, абсцессах челюстно-лицевой области.

**Вейллонеллы** - это облигатно-анаэробные, Gr -, мелкие кокко-бактерии, неподвижны, спор не образуют. Являются постоянными обитателями полости рта человека и животных. Изолированные колонии на лактат-агаре имеют 1-3 мм в диаметре, гладкие, выпуклые, чечевицеобразные, ромбовидной или сердечной формы, желто-белые, мягкие по консистенции. В полости рта встречаются представители двух видов вейллонелл (*V. parvula*, *V. alcalescens*), которые населяют слизистую оболочку полости рта, нёба, являются доминирующими в слюне и протоках слюнных желез. Хорошо ферментируют уксусную, пировиноградную и молочные кислоты, нейтрализуя кислые продукты метаболизма других бактерий, это позволяет рассматривать вейллонеллы как важнейший фактор, резистентности к кариесу зубов. Патогенная роль вейллонелл не доказана.

**Дифтероиды**, или коринебактерии, представляют собой группу бактерий, количественно сопоставимую с вейллонеллами.

Это полиморфные грам-положительные палочки, располагающиеся упорядоченно («частьколом» или группами) в мазке из чистой культуры. Микробы некоторых видов способны формировать включения - зерна волютина.

Классификация дифтероидов полости рта до настоящего времени остается неразработанной. При исследовании материала дифтероидов зачастую трудно дифференцировать от актиномицетов и пропионибактерий. Факультативно-анаэробные виды дифтероидов составляют приблизительно 13% от числа резидентов, выделяемых со спинки языка, 15% - из десневого желобка и 24% - из зубной бляшки. Представители дифтероидов с облигатно-анаэробным типом дыхания составляют в этих материалах соответственно 8, 20 и 18%.

Дифтероиды играют важную роль в полости рта как стабилизирующий фактор орального микробиоценоза, так как синтезируют витамины, в частности, витамин К, являющийся стимулятором роста анаэробных бактерий. Редуцируя в процессе дыхания молекулярный кислород, они активно содействуют развитию облигатно-анаэробной флоры в аэробных условиях.

Показана мощная иммуномодулирующая активность антигенов дифтероидов (коринебактерии) на организм человека, что используется при лечении иммунодефицитов. Вместе с тем у коринебактерии обнаружены некоторые ферменты агрессии и токсические полимеры, они нередко обнаруживаются в ассоциациях с возбудителями гнойного воспаления.

**Лактобактерии** постоянно находятся в полости рта, неподвижны, спор и капсул не образуют, Гр + отличаются большим полиморфизмом. Растут на элективных питательных средах, содержат такие факторы роста, как витамины и некоторые аминокислоты. Растут в виде мелких, бесцветных, уплотненных колоний. Обладают довольно низкими адгезивными свойствами к эпителию слизистой и особенно к эмали зуба, однако представлены во всех нишах полости рта. Бурно размножаются при поступлении в полость рта углеводной пищи и обильно продуцируют молочную и другие кислоты, что позволяет их рассматривать, как кариесогенный фактор. Вместе с тем, лактобактерии играют важнейшую стимулирующую роль при формировании микробной ассоциации полости рта, так как синтезируют витамины групп В и К, необходимых для развития других бактерий и организма.

Ввиду образования большого количества молочной кислоты в процессе жизнедеятельности лактобактерий, они задерживают рост других микробов: стафилококков, кишечной палочки, брюшнотифозных и дизентерийных палочек. Антагонистические свойства молочнокислых бактерий по отношению к ряду гнилостных микробов были замечены ещё И.И. Мечниковым, который предложил употреблять простоквашу, изготовленную из молока, заквашенного молочнокислыми палочками. До 90 % обитающих в полости рта лактобактерии относятся к видам *Lactobacterium casei*, *Lactobacterium fermenti*.

**Актиномицеты** - представлены мелкими Гр + палочками, имеющими тенденцию к образованию переплетающихся и ветвящихся нитей или более коротких цепочек. Актиномицеты находятся на слизистой оболочке рта, составляют стromу зубного камня и входят в состав зубного налета. Наряду с этим они содержатся в кариозных полостях зубов, в патологических десневых карманах, в протоках слюнных желез.

Представители данного семейства могут принимать участие в образовании зубных бляшек и в развитии кариеса зубов, а также заболеваний парадонта. В полости рта имеются излюбленные места проникновения актиномицетов в глубину тканей - воспаленная десна около зуба мудрости или около разрушенных корней зубов, патологические десневые карманы при парадонтозе, корневые каналы зубов с омертвевшей пульпой, миндалина.

Для возникновения заболевания недостаточно только внесение актиномицета вглубь ткани, определенную роль играет и состояние защитных сил, понижение

сопротивляемости организма к инфекции.

**Бактероиды** - представляют группу коккоподобных, овоидных или полиморфных палочковидных Гр - бактерий. С 1990 года разделены на три рода: Porpluroman (представитель - P. Gingivalis населяют десневой желобок, зубную бляшку), Prevotella (важнейший вид - P. Melaninogenica населяет карманы слизистой оболочки, фиссуры зуба, десневой желобок), Bacteroides (представитель - B. Fragilis встречается в складках слизистой у основания зубов, однако более типичен для кишечника). Для роста на питательных средах этим микроорганизмам необходим гемотин и витамин К. На кровяном агаре B. melaninogenicus формирует черные колонии. Наличие протеолитических ферментов у бактериоидов (коллагеназы, гиалуронидазы, гепариназы, Jg A -; Jg W-; Jg M – протеазы) имеет большое патогенетическое значение в развитии заболеваний пародонта.

**Фузобактерии** - удлиненные Гр - палочки, чаще с заостренными концами, нередко формирующие цепочки и нити. Населяют как слизистую рта, так и зубную бляшку.

Фузобактерии продуцируют мощные гистолитические ферменты - гиалуронидазу, лецитиназу, имеют эндотоксин. Наряду с бактериоидами и пептококками считаются основными возбудителями разнообразных гнойно - воспалительных процессов в полости рта, включая язвенно - некротические фасцииты.

**Нейссерии** - род Neisseria - Гр - диплококки, обнаруживаемые в различных нишах полости рта, особенно на поверхностях, которые постоянно соприкасаются с воздухом - спинка языка, мягкое небо, эмаль зубов. Патогенная роль их не доказана.

**Дрожжеподобные грибы** в полости рта здоровых людей встречаются в 40 - 50 % случаев. Кандида имеют вид овальной или удлиненной формы клеток размером 7 - 10 мкм, часто отпочковываются новой клеткой. Аэроб растут на среде Сабуро, содержащей дрожжевой экстракт и мальтозу, где вырастают выпуклые колонии матового цвета.

В полости рта чаще всего встречаются следующие виды: Candida albicans, Candida tropicalis, Candida crusei. Патогенные свойства наиболее выражены у C. albicans. Грибы вызывают общее заболевание организма - кандидомикоз или местное поражение полости рта - "молочницу".

**Спирохеты** - заселяют ротовую полость с момента прорезывания молочных зубов у ребенка и с того времени становятся постоянными обитателями полости рта. Гр -, подвижны, строгие анаэробы, растут на средах, содержащих сыворотку, асцитическую жидкость с добавлением свежих кусочков различных органов, на средах образуют помутнение в виде облачка. Высокая протеолитическая активность, разжижают желатин, яичный белок, свернутую сыворотку, образуют индол, сероводород, аммиак.

Легче всего их обнаружить в темном поле зрения при микроскопии нативного препарата.

Спирохеты вызывают патологические процессы в полости рта при значительном размножении все анаэробных микроорганизмов.

**Простейшие полости рта** - встречаются у 50 % здоровых людей, преимущественно в зубном налете, криптах миндалин (Entamoeba gingivalis). Размножаются при негигиеническом содержании полости рта. Их обнаруживают в гное из десневых карманов при тяжелой форме альвеолярной пиореи Д - 20 - 30 нм. Аэробы, подвижны, видны лучше в нативном неокрашенном препарате (раздавленная капля). Выращивают на кровяном или сывороточном агаре, залитым слоем жидкости Рингера и с добавлением раствора триптофана (1 : 10000).

Значительно чаще, чем амебы, в полости рта здоровых людей встречаются трихомонады. Слабо подвижны, хорошо видны в нативном препарате, в живом состоянии. При окрашивании по Романовскому - Гимзе ядро блефаропласта и жгутики окрашиваются в красный цвет, протоплазма - в голубой. Усиленное размножение трихомонад происходит

так же, как и амёб, при негигиеническом содержании полости рта. В очень большом количестве они обнаруживаются при пародонтитах, при гингивитах.

**Вирусы полости рта.** Почти у всех здоровых людей в полости рта постоянно находится вирус герпеса (*Herpes vilgaris*). Заражение этим вирусом происходит еще в детстве воздушно-капельным путем от взрослых вирусоносителей. *Herpes vilgaris* относится к группе ДНК-содержащих герпесвирусов, размер 150 Нм. Выращивается на хорионаллантоисной оболочке куриного эмбриона.

При ослаблении защитных сил макроорганизма в результате простуды, переутомлений и т.п. возможен рецидив болезни.

**Клостридии.** Род *Clostridium* - грам-положительные спорообразующие палочки. Некоторые виды подвижны благодаря наличию жгутиков. Биохимически они активны. В норме входят в состав микробиоценоза кишечника. В полости рта определяются некоторые виды непостоянно.

Выделяются 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 соответствуют классической картине газовой гангрены. Основные виды: *C. perfringens*, *C. septicum*, *C. clostridiiforme*, *C. bifermentans* (последний встречается при одонтогенных воспалительных процессах).

**Прочие резиденты.** Среди бактерий с аэробным типом дыхания в полости рта встречаются также представители актиномицетной линии - нокардии и ротии (*Rothia dentocariosae*), которые, обладая высокими адгезивными и коагрегационными свойствами, способствуют формированию зубной бляшки. Последний вид нередко определяется в кариозных полостях и свищах при актиномикозе, а также при неспецифических остеомиелитах челюстно-лицевой области.

Неферментирующие грам-негативные бактерии полости рта представлены родами *Pseudomonas*, *Bordetella*, *Eikenella* (*E. corrodens*) и некоторыми другими. Среди них наиболее известны бактерии *Pseudomonas (Actinobacillus) actinomycetemcomitans*, которые бурно развиваются у некоторых молодых людей, вызывая прогрессирующий гнойный юношеский пародонтит. Их роль в развитии пародонтита взрослых в настоящее время изучается.

#### **Зубная бляшка. Ее значение в развитии кариеса зубов.**

С помощью сканирующей электронной и иммунолюминесцентной микроскопии показано, что зубная бляшка состоит в основном из микробов с незначительным включением бесструктурного вещества органической природы.

В формировании зубной бляшки можно выделить несколько основных механизмов.

1. Адгезия к эмали эпителиальных клеток, инвазированных бактериями, с последующим ростом микроколоний,
2. Преципитация внеклеточных гликанов, продуцируемых *S. mutans* и *S. Sanguis*.
3. Осаждение гликопротеинов слюны, формирующих пелликулу с последующей специфической адгезией к ней бактерий.
4. Агглютинация бактерий антителами с последующей фиксацией на поверхности эмали.

С помощью иммунолюминесцентной микроскопии показано, что бактерии в зубной бляшке покрыты иммуноглобулинами классов А и G.

Зубная бляшка начинает образовываться уже в первые минуты после чистки зубов, причем в динамике ее формирования происходят значительные изменения характера микробиоценоза. Общей тенденцией является изменение состава флоры от доминирования аэробных и факультативно-анаэробных форм, преимущественно

грам-положительных кокков, к облигатно-анаэробным грам-отрицательным палочкам и извитым формам.

1 фаза формирования зубной бляшки - первые 1-4 часа после тщательной чистки зубов (или обработки ультразвуком на аппарате "Пьезон-мастер"). Она преимущественно состоит из кокков (стрептококки, нейссерии, вейллонеллы) и коротких палочек (дифтероиды). Это, так называемая, «ранняя» зубная бляшка.

2 фаза - до 4 - 5 дней. Характеризуется уменьшением доли грам-положительных кокков и нарастанием доли грам-вариабельных нитевидных форм - лептотрихий, а также грам-отрицательных вейллонелл и фузобактерий. Это фаза может быть охарактеризована как "равновесная" или "динамичная" зубная бляшка. У лиц с хорошими адаптационными способностями, с так называемой "высокой естественной санацией" микробиоценоз зубной бляшки может поддерживаться в этом состоянии на протяжении значительных отрезков жизни, не переходя к следующей фазе (при отсутствии систематической чистки зубов).

3 фаза - от 6 - 7 дней и далее. Зубная бляшка принимает окончательный по составу симбионтов вид, хотя количественные сдвиги в ней происходят постоянно. Резко снижается количество аэробных видов - нейссерий, ротий, факультативно-анаэробных стрептококков. Доминируют грам-отрицательные облигатно-анаэробные бактерии-бактероиды, фузобактерии, вейллонеллы и грам-положительные актиномицеты, микроаэрофильные стрептококки и пептострептококки. Это "зрелая" зубная бляшка. Она характеризует отрицательное гигиеническое состояние полости рта и может индуцировать развитие гингивита у лиц, которые не регулярно чистят зубы.

Общее количество бактерий в зубной бляшке увеличивается от 100-5000 в I фазе формирования до 1 - 10 млн/г во 2 фазе. В 3 фазе формирования, в зависимости от многих факторов, количество бактерий исчисляется десятками и сотнями миллиардов в 1 г.

Установлено, что микробы обладают разной способностью к адгезии даже в отношении различных поверхностей зуба. Кроме того, на процесс адгезии влияют и механические факторы, связанные с процессом жевания, физико-химические условия и т. п. Поэтому на разных поверхностях зубов, в ямках и фиссурах состав микрофлоры несколько отличается, даже в пределах одного зуба.

Эти данные имеют важное практическое значение в связи с тем, что состояние зубной бляшки, как известно, является ключевым механизмом возникновения и развития кариеса зубов.

В настоящее время установлено, что после приема пищи, особенно богатой углеводами, в ротовой жидкости происходит резкое усиление ферментативной активности бактерий - «метаболический взрыв». Основой «метаболического взрыва» является активация гликолиза, что приводит к резкому сдвигу pH среды в кислую сторону за счет выброса кислых катаболитов - уксусной, молочной, муравьиной, пировиноградной и других кислот.

В свою очередь, это ведет к выходу ионов кальция из твердых тканей зуба (деминерализация), а также уменьшению содержания фосфатов в процессе фосфорилирования у бактерий. Кроме того, бактерии зубной бляшки накапливают избыток углеводов в виде резервных полисахаридов - декстранов и леванов. У больных кариесом продукция органических кислот значительно выше, а нормализация метаболической активности происходит медленнее.

В последние годы установлена роль некоторых резидентных-участников микробиоценоза зубной бляшки как антагонистов кариесогенных стрептококков. Прежде всего это относится к вейллонеллам - грам-отрицательным анаэробным коккам, которые активно утилизируют кислоты. Это позволяет рассматривать вейллонеллы как важнейший микробиологический фактор кариесрезистентности.

Зубная бляшка формируется также и на поверхности пломб, причем состав ее несколько отличается и зависит от характера и качества пломбировочного материала. Наиболее богато представлена микробная флора на цементах и амальгамах. Средний уровень колонизации характерен для макрокомпозитных пломбировочных материалов. И, наконец, на микрокомпозитных и гибридных материалах зубная бляшка формируется плохо из-за низкого аффинитета бактерий. Обычно в составе бляшки на микрокомпозитных пломбах определяются лишь микроаэрофильные стрептококки и актиномицеты в небольшом количестве.

Эти данные имеют важное практическое значение в связи с тем, что состояние зубной бляшки, как известно, является ключевым механизмом возникновения и развития кариеса зубов.

В настоящее время установлено, что после приема пищи, особенно богатой углеводами, в ротовой жидкости происходит резкое усиление ферментативной активности бактерий — «метаболический взрыв». Основой «метаболического взрыва» является активация гликолиза, что приводит к резкому сдвигу рН среды в кислую сторону за счет выброса кислых катаболитов - уксусной, молочной, муравьиной, пировиноградной кислот.

В свою очередь, это ведет к выходу ионов кальция из твердых тканей зуба (деминерализация), а также уменьшению содержания фосфатов в процессе фосфорилирования у бактерий. Кроме того, бактерии зубной бляшки накапливают избыток углеводов в виде резервных полисахаридов – декстранов и Леванов.

Для изучения состава зубной бляшки используют методику взятия материала зондом, металлическим шпателем или тампоном с последующим взвешиванием на аналитических весах. После этого, в зависимости от задач исследования, проводят механическое растирание бляшки или ее дезинтеграцию ультразвуком и количественный посев с использованием техники анаэробного культивирования. Количество бактерий выражают в колониеобразующих единицах (КОЕ) в грамме материала.

Идентификация выделенных культур до рода и вида позволила выявить существенные различия доли бактерий разных родов в зубной бляшке и на слизистой оболочке полости рта. Так, в составе зубной бляшки доминировали по частоте выделения актиномицеты (20,4 %) и анаэробные кокки рода *Peptostreptococcus* (17,2 %)- По сравнению с частотой выделения со слизистой оболочки в зубной бляшке было также значительно больше альфа-зеленящих стрептококков (почти в 3 раза), лакто- и бифидобактерий (в 9 раз). Бактерии группы бактероидов и рода *Fusobacterium* по частоте выделения конкурировали с доминирующей флорой (14,7 и 5,7 %), однако их доля была значительно меньше, чем при выделении со слизистой оболочки полости рта.

При идентификации штаммов микроорганизмов, выделенных со слизистой оболочки полости рта, доминирующей флорой по частоте встречаемости были беспоровые грам-отрицательные анаэробы группы бактероидов (23,7 %) и рода *Fusobacterium* (14,9 %). При этом надо подчеркнуть, что бактероиды выделялись почти в 2 раза, а фузобактерии - в 2,5 раза чаще, чем из зубной бляшки. Пептострептококки также достаточно часто выделялись со слизистой (15,8 %), хотя несколько реже, чем из зубной бляшки. Частота выделения других кокков - вейллонелл, пептококков, микроаэрофильных стрептококков и стафилококков – практически не отличалась в зубной бляшке и со слизистой.

Обращала на себя внимание значительно более низкая частота выделения со слизистой оболочки актиномицетов, альфа-стрептококков и лактобактерий. Доля факультативно-анаэробных и аэробных бактерий в зубной бляшке и на слизистой практически не отличалась.

## ЗАНЯТИЕ № 2.

**Тема: Кариесогенная микрофлора. Микробиологические методы изучения микрофлоры при кариесе зубов и его осложнениях. Компьютерная кариограмма.**

### Учебная цель:

1. Ознакомиться с методикой забора материала при кариесе для бактериологического метода исследования.
2. Изучить микрофлору при кариесе.
3. Рассмотреть роль микрофлоры в возникновении и развитии кариеса

### План занятия:

1. Особенности микрофлоры полости рта при кариесе зубов.
2. *Streptococcus mutans* и его роль в возникновении кариеса.
3. Экспериментальные подтверждения роли микробов в развитии кариеса.
4. Роль местных факторов резистентности при кариесе. Вакцина для профилактики кариеса.
5. Особенности забора материала из кариозной полости для проведения бактериологического метода исследования.

### Самостоятельная работа ординаторов:

1. Ознакомиться с особенностями забора материала при кариесе для бактериологического метода исследования.
2. Микроскопическое исследование мазков из чистых культур кариесогенных бактерий и их антагонистов:
  - а) демонстрационный мазок из чистой культуры *Streptococcus mutans*. Окр. генцианвиолет;
  - б) демонстрационный мазок из чистой культуры актиномицетов. Окр. генцианвиолет;
  - в) демонстрационный мазок из чистой культуры *вейллонелл*. Окр. фуксин.
3. Методика количественного определения кариесогенной флоры на примере лактобациллин-теста.
4. оформление протокола исследования.

## ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

Кариес - это патологический процесс, при котором происходит деминерализация и размягчение твердых тканей зуба с последующим образованием полости.

В настоящее время известно, что кариозный процесс может развиваться при следующих условиях:

1. Наличие достаточного количества углеводов в пище;
2. Наличие микроорганизмов в полости рта;
3. Контакт углеводов и микроорганизмов с зубами.

Ярким доказательством роли углеводов в возникновении кариозного процесса являются проведенные экспериментальные исследования. Все кариесогенные диеты содержат более 50 % сахарозы. Содержание в рационе экспериментальных животных меньших количеств углеводов либо не вызывает кариозный процесс, либо он развивается медленно.

В настоящее время имеются убедительные доказательства того, что без контакта

зубов с углеводами кариозный процесс не возникает. Несомненно, важная роль принадлежит составу и структуре эмали зуба, слюне, а также характеру питания, составу питьевой воды. Изучение микробной флоры при кариесе дало возможность установить определенную последовательность проникновения различных видов микроорганизмов в ткани кариозного зуба, а также выявить сдвиги в составе всей микробной флоры полости рта при кариесе. Микроорганизмы прежде всего начинают проникать в эмаль кариозного зуба уже после разрушения структуры всех ее слоев. При начальных поражениях обнаруживаются также микроорганизмы, которые с точки зрения их биохимической активности могут быть подразделены на две группы: протеолитическую и кислотообразующую.

В протеолитическую группу входят бактериоиды и пептококки. Они вырабатывают ферменты, способные расщеплять органические вещества кариозного зуба.

К кислотообразующей группе относятся стрептококки, лактобактерии и актиномицеты. Из числа стрептококков здесь чаще всего присутствуют энтерококки. Все эти микроорганизмы могут участвовать в процессе деминерализации твердых тканей кариозного зуба, т.к. они интенсивно расщепляют углеводы и образуют много органических кислот.

В кариозной полости присутствуют все представители постоянной флоры полости рта, главным образом строгие анаэробы. На кариесогенную активность оральных микроорганизмов влияет слюна - ее агрегирующие факторы, которые, с одной стороны, способствуют прикреплению микробных клеток к поверхности зуба, а с другой - удаляют их при омывании полости рта.

При заборе материала при кариесе для проведения бактериологического исследования необходимо придерживаться некоторых правил:

- а) для устранения доступа слюны в кариозную полость необходимо изолировать зуб, для чего его обкладывают ватными валиками;
- б) поверхностные слои размягченного дентина необходимо удалить стерильным бором;
- в) глубокий слой размягченного дентина забирают стерильным экскаватором и производят посев;
- г) посев производят на соответствующие питательные среды для выделения анаэробной и аэробной микрофлоры.

2. Провести микроскопию демонстрационных мазков из чистых культур *Streptococcus mutans*, актиномицетов, вейллонелл под иммерсией.

3. Лактобациллин-тест производят следующим образом:

нестимулированную слюну собирают натошак в стерильную пробирку. Готовят последовательные разведения слюны в стерильных условиях от 1:10 до 1:10 по 0.1 мл из каждого разведения высевают на плотную селективную питательную среду с низким рН, растирая материал шпателем по всей поверхности агара.

После инкубирования при 37 град. производят подсчет количества колоний, выросших на поверхности среды и перерасчет на общий объем слюны.

Например, при разведении слюны 1:10 выросло 10 колоний, значит в 0.1 мл неразведенной слюны содержится 10 000 клеток, а в 1 мл - 100 000 клеток.

Существует определенная зависимость между количеством кариесогенных бактерий в слюне (лактобациллы, стрептококки) и их антагонистов (вейллонелл), что позволяет дать следующие рекомендации:

- а) применять фтористые препараты для профилактики кариеса;
- б) ограничить употребление в пищу углеводов;
- в) усилить гигиену полости рта.

### Занятие №3

**Тема: Пародонтопатогенная микрофлора. Микробиологические методы изучения микрофлоры при болезнях пародонта. Тактика антибактериальной терапии анаэробной инфекции челюстно-лицевой области.**

**Тестовый контроль**

#### Учебная цель:

1. Ознакомиться с особенностями забора исследуемого материала для микроскопического и бактериологического методов исследования.
2. Особенности состава микрофлоры при неспецифических поражениях слизистой оболочки полости рта (хейлиты, глосситы, стоматиты), причины их возникновения.

#### План занятия:

1. Методы изучения количественного и качественного состава микрофлоры десневого желобка и пародонтальных карманов.
2. Основные представители резидентной микрофлоры при отсутствии патологии тканей пародонта.
3. Особенности состава микрофлоры при гингивите
4. Особенности состава микрофлоры при пародонтите
5. Пародонтогенные микробы. Доказательства их участия в патогенезе заболевания
6. Иммунологические изменения, происходящие в ответ на бактериальные антигены и токсины
7. Современные методы лечения заболеваний пародонта в соответствии с последними научными данными
8. Сдача модуля.

#### Самостоятельная работа ординаторов:

Микроскопическое исследование демонстрационного мазка-отпечатка со слизистой оболочки при язвенно-некротическом стоматите (фузоспирохетоз), окраска по Романовскому.

Микроскопическое исследование демонстрационного мазка-соскоба со слизистой языка при лептотрихозе, окраска по Романовскому.

Методы лабораторной диагностики кандидоза.  
оформление протокола исследования.

#### ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

До настоящего времени не совсем ясен вопрос - является ли пародонтит логическим завершением гингивита. В эксперименте на животных (собаках) удалось продемонстрировать эту последовательность, однако у людей гингивит не всегда переходит в пародонтит.

По поводу механизма развития пародонтита существуют, как минимум, две точки зрения:

1. Существуют определённые микробы, вызывающие деструктивное поражение тканей пародонта.

2. К развитию пародонтита приводит сбой в функционировании защитных механизмов организма и изменения в составе и количестве микрофлоры пародонтального кармана.

При темнопольной микроскопии выявляется значительный сдвиг в сторону палочковидных форм и спирохет, количество которых возрастает до 40%. Отношение подвижных форм к неподвижным увеличивается до 1:1 (в норме 1:49).

Электронно-микроскопическое исследование поддесневой бляшки при пародонтите выявило, что к цементу прикреплены, в основном, грамположительные микробы. Грамотрицательные клетки, жгутиковые и спирохеты присутствуют в большом количестве в неплотных слоях поддесневой бляшки, которая распространяется до верхушечной части кармана.

При бактериологическом исследовании материала от больных пародонтитом установлено преобладание грамотрицательных анаэробных палочек, в основном, подвидов несакхаролитических *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Selenomonas sputigena*, *Eikenella corrodens*, *Campylobacter rectus* и др. Однако у некоторых больных наблюдали превалирование актиномицетов. Многие виды анаэробных бактерий не удавалось идентифицировать.

В настоящее время, по данным ВОЗ, к пародонтопатогенным видам относят, прежде всего, двух представителей группы бактериоидов - *Porphyromonas gingivalis* и *Prevotella intermedia*. Данные грамотрицательные микробы обладают способностью прилипать в большом количестве к эпителиальным клеткам, гидроксипатиту и к грамположительным бактериям. Их адгезивные свойства ингибируются в присутствии человеческой слюны и сыворотки крови. Однако способность к коагрегации с грамположительными бактериями при этом не ингибируется.

При пародонтите характерным является образование микробных скоплений, напоминающих кукурузный початок, которые состоят из кокков и извитых форм.

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 и макрофагами (моноцитами). Все это позволяет считать, что многие реакции антиген-антитело, проявления клеточного иммунитета происходят именно здесь, в тканях пародонта и альвеолярной кости.

Если придерживаться только микробной этиологии пародонтита, то, очевидно, что для развития заболевания должны сочетаться следующие условия:

1. Присутствие пародонтопатогенных видов бактерий в количестве, достаточном для того, чтобы начался патологический процесс.
2. Условия обитания в нише должны способствовать росту и размножению бактерий.
3. В тканях пародонта должны отсутствовать микробы-антагонисты пародонтопатогенных бактерий.
4. Микроб должен пространственно локализоваться так, чтобы он или продукты его жизнедеятельности могли действовать на клетки-мишени.
5. Организм человека должен быть чувствительным к микробам или продуктам их жизнедеятельности.

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

**Микрофлора при периодонтитах** - преобладает стрептококковая флора над стафилококковой. В начальных стадиях воспаления это обычно зеленящие и негемолитические стрептококки без группового антигена. При переходе острого периодонтита в хроническую главную роль играет стрептококковая анаэробная флора, т.е. пептострептококки, к которым присоединяются другие стрептококки. В

апикальных гранулёмах обнаруживаются актиномицеты, бактериоиды, фузобактерии, вибрионы и спирохеты.

### **Микробная флора при парадонтозах.**

Парадонтоз является одним из наиболее распространенных заболеваний полости рта и представляет собой воспалительно - дистрофический процесс в альвеолярных отростках, возникающий вследствие нарушения питания альвеол.

По поводу механизма развития парадонтоза существует, как минимум, две точки зрения;

1. Существуют определенные микробы, вызывающие деструктивное поражение тканей парадонта.

2. К развитию парадонтоза приводит сбой в функционировании защитных механизмов организма и изменение в составе и количестве микрофлоры парадонтального кармана.

Все воспалительные процессы в парадонте начинаются с образования зубных бляшек, преимущественно субгингивальных, в результате колонизации поверхности зубов факультативными анаэробами.

В настоящее время, по данным ВОЗ, к парадонтопатогенным видам относят, прежде всего, двух представителей группы бактериоидов - *Porphyromonas gingivalis* и *Prevotella melaninogenica*. Данные Gr - микробы обладают способностью прилипать в большом количестве к эпителиальным клеткам и к Gr + бактериям. Их адгезивные свойства ингибируются в присутствии человеческой слюны и сыворотки крови. При парадонтите характерным является образование микробных скоплений, которые напоминают кукурузный початок и состоят из кокков и известных форм.

При исследовании содержимого десневого кармана у больных парадонтитом определяются иммуноглобулины классов A, G, M, фракции комплемента C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>, лейкоциты. Если придерживаться только микробной этиологии парадонтита, то очевидно, что для развития заболевания должны сочетаться следующие условия:

1. Присутствие парадонтопатогенных видов бактерий в количестве, достаточном для того, чтобы начался патологический процесс.

2. Условия обитания в нише должны способствовать росту и размножению бактерий.

3. В тканях парадонта должны отсутствовать микробы - антагонисты парадонтопатогенных бактерий.

4. Организм человека должен быть чувствительным к микробам или продуктам их жизнедеятельности.

- 1-2. Соскоб со слизистой оболочки, спинки языка можно делать стерильным шпателем, гладилкой. Материал наносится на поверхность предметного стекла, в каплю воды. Окраска по Граму или Романовскому. Перед взятием материала из эрозий и язв целесообразно удалить поверхностный налёт стерильным ватным тампоном, не применяя при этом антисептических препаратов.

При язвенно-некротическом стоматите в мазке наблюдают обилие грам-отрицательных веретенообразных палочек (фузобактерии) и извитых форм (анаэробии-спириллы и спирохеты) на фоне лейкоцитов и слущенного эпителия.

При лептотрихозе в мазке наблюдают скопления грам-вариабельных нитевидных бактериальных форм, причём часть бактерий располагается как б в едином чехле (лептотрихии).

3. Для лабораторной диагностики кандидоза полости рта используют следующие методы:

- а) При микроскопическом исследовании мазка-отпечатка со слизистой оболочки больного кандидомикозом можно увидеть: овальные и резко вытянутые клетки

дрожжеподобного гриба, расположенные в виде длинных цепочек (псевдомицелий). Не псевдомицелии формируются колбовидные вздутия, от которых отшнуровываются хламидоспоры (признак вида *C. albicans*).

б) При бактериологическом методе исследования материал, полученный от больного, высевается на среды Сабуро (агар-агар, углеводы, пептон) при  $t = 37$  град., в течение 3-5 суток. Выросшие колонии на этой среде изучают макроскопически.

Колонии гриба рода *Candida* круглые, беловатые, выпуклые, гладкие с ровными краями, поверхность блестящая. Иногда колония врастает в агар.

При микроскопическом изучении в мазках виден псевдомицелий, состоящий из овальных вытянутых, пальцевидных клеток, расположенных скоплениями. Хламидоспоры круглые, напоминают связки шаров.

в) При висцеральных микозах применяют для диагностики серологические реакции - агглютинации и РСК. Для этих реакций у больного берут сыворотку и определяют наличие антител в сыворотке больного с кандидозным диагностикумом.

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«СЕВЕРО-ОСЕТИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**КАФЕДРА МИКРОБИОЛОГИИ**

**МИКРОБИОЛОГИЯ**

**Учебно-методическое пособие для преподавателей по специальности «Стоматология  
терапевтическая» (ординатура)**

**ВЛАДИКАВКАЗ**

## Занятие №1

**Тема: Микробиоценоз полости рта. Резидентная микрофлора различных биотопов ротовой полости. Зубной налёт и его изучение при оценке гигиенического состояния ротовой полости.**

### Учебная цель:

3. Изучить основных представителей резидентной микрофлоры полости рта.
4. Изучить микрофлору зубного налета.

### План занятия:

5. Симбиоз, этапы симбиоза.
6. Полость рта как экологическая ниша организма.
7. Основные представители резидентной микрофлоры полости рта, их свойства.
8. Зубная бляшка. Механизм ее формирования. Локализация.

### Самостоятельная работа ординаторов:

3. Зарисовать в виде схемы морфологию основных резидентов полости рта:
  - 1) анаэробных грам-положительных (пептострептококки, актиномицеты, пропиони- и зубактерии) и грам-отрицательных (вейлонеллы, бактероиды, фузобактерии, извитые формы);
  - 2) аэробных и факультативно-анаэробных грам-положительных (стрептококки, стафилококки, Корине- и лактобактерии) и грам-отрицательных (нейсерии, псевдомонас),
4. Оформление протокола исследования.

### ОСНАЩЕНИЕ

1. Препараты для асептики и антисептики.
2. Оборудование для дезинфекции и стерилизации материалов (демонстрация).

### ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

Видовой состав микробной флоры полости рта в норме довольно постоянен. Вместе с тем количество микробов в полости рта подвержено значительным колебаниям. В настоящее время описано несколько сотен видов микроорганизмов, составляющих нормальную микрофлору полости рта. В ее состав входят бактерии, вирусы, грибы и простейшие.

Количество микробной флоры зависит от гигиенического содержания полости рта, курение способствует размножению микроорганизмов, вызывает хроническое воспаление слизистой оболочки. Твердая пища больше влияет на уменьшение количества микробов, т.к. жевание способствует механической очистке ротовой полости от микроорганизмов. Расстройство слюноотделения, жевания и глотания всегда приводит к нарастанию количества микроорганизмов в ротовой полости.

Наличие кариозных полостей, десневых карманов, плохо припасованные зубные несъемные протезы и др. обуславливают довольно высокую частоту формирования очагов хронической инфекции с последующей аллергизацией организма и высокой степенью риска развития общих аутоиммунных заболеваний.

Микрофлора полости рта новорожденного представлена в основном молочно-кислыми палочками, негемолитическими стрептококками и непатогенными стафилококками. Ее довольно быстро (в течение недели) сменяют микроорганизмы,

характерные для полости рта взрослого человека.

Главными обитателями полости рта взрослого человека являются бактерии, преимущественно (3/4 всех микробных видов) анаэробного типа дыхания. Среди них встречаются разнообразные кокки, палочки, извитые формы.

Несмотря на большое разнообразие микроорганизмов полости рта, количественно в ней преобладают микробы трех групп: около половины являются факультативно- и облигатно-анаэробные стрептококки, а другая половина состоит из вейлонелл (меньше 1/4) и дифтероидов (менее 1/4). Остальные многочисленные группы бактерий - стафилококки, лактобактерии, жгутиковые, спирохеты, лептоспиры, фузобактерии, бактериоиды, нейссерии, гемофилы, микоплазмы, дрожжи, простейшие - представляют собой малые популяции по количеству, но равноправные группы по формированию ассоциации резидентов.

Таблица

**Микрофлора полости рта в норме.**

Микроорганизмы	В слюне		В зубно-десневых карманах (частота обнаружения в %)
	частота обнаружен. в %	количество в 1 мл	
<b>Группа А. Резидентная флора 1. Аэробы и</b>			
<i>Streptococcus salivarius</i>	100	$10^7$	100
<i>Streptococcus mitis</i>	100	$10^6-10^8$	100
Сапрофитные нейссерии	100	$10^5-10^7$	++
Лактобактерии	90	$10^3-10^4$	+
Стафилококки	80	$10^3-10^4$	-н-
Дифтероиды	80	Не опред.	+
Гемофилы	60	Не опред.	0
Пневмококки и др.	60	Не опред.	Не определено
	30	$10^2-10^4$	++
Сапрофитные	++	Не опред.	++
Тетракокки	++	Не опред.	++
Дрожжеподобные грибы	50	$10^2-10^3$	+
Микоплазмы	50	$10^2-10^3$	+
<b>Простейшие:</b> <i>Entamoeba gingivalis</i>	0	0	45
<i>Trichomonas</i>	0	0	25
<b>II. Облигатные анаэробы</b>	100	$10^6-10^8$	100
Анаэробные стрептококк (пептострептококки)	100	Не опред.	100
Бактериоиды	100	Не опред.	100
Фузобактерии	75	$10^4$	100

Нитевидные бактерии	100	102-104	100
Актиномицеты и анаэробные дифтероиды	100	Не опред.	++
Спириллы и вибрионы	++	Не опред.	.1. ++
Спирохеты (сапрофитн	±	Не опред.	100
Группа Б. Непостоянн	15	10-102	. 0
Klebsbrieila	2	10-102	+
Esclierichia	3	10-102	0
Aerobacter	±	Не опред.	0
Pseudomona	±	Не опред.	0
s Proteus	±	Не опред.	0
Alcaligenes	±	Не опред.	0
Бациллы			
<b>II.</b> <b>Облигатны</b> <b>е анаэробы</b>			
Клостридии	+	Не опред.	0
Cloatridium putrificun	±	Не опред.	0
Clostridium perfringens	+	Не опред.	0

Обозначение: ++ часто, + не очень часто, ± редко, 0 не обнаружены.

Количество микробов в полости рта неодинаково в разных его экологических нишах: слизистой оболочке, зоне десневого желобка, протоках слюнных желез, слюне и ротовой жидкости, зубной бляшке.

Так, например, содержание бактериальных клеток в слюне (ротовой жидкости) составляет от 50 млн. до 5 млрд., причем большинство бактерий попадает в слюну со спинки языка. В зубном налете (бляшке) микробов значительно больше: от 100 до 1000 млрд. в грамме материала. Самую большую группу среди встречающихся в полости рта бактерий составляют кокки.

**Основные группы резидентной флоры полости рта по морфологии и типу дыхания.**

Окраска по Граму	Морфология	Питание рода
1 ГРУППА: С анаэробным типом дыхания ( облигатные анаэробы )		
Грам-негативные	кокки	VEILLONELLA
	палочки	BACTEROIDES PORPHYROMONAS PREVOTELLA FUSOBACTERIUM LEPTOTRICHIA
Грам-позитивные	кокки	PEPTOSTREPTOCOCCUS PEPTOCOCCUS
	палочки беспоровые	LACTOBACTERIUM BIFIDOBACTERIUM EUBACTERIUM PROPIONIBACTERIUM ACTINOMYCES
	палочки спорообразующие	CLOSTRIDIUM
2 ГРУППА: С аэробным и смешанным типом дыхания (аэробы и факультативные анаэробы)		
Грам-негативные	кокки	NELSSERIA
	палочки	PSEUDOMONAS BORDETELLA EIKENELLA
Грам-позитивные	кокки	STREPTOCOCCUS STAPHYLOCOCCUS
	палочки беспоровые	CORINEBACTERIUM NOCARDIA, ROTHIA
	палочки спорообразующие	BACILLUS

**Стафилококки.** Отдел Firmicutes, семейство Micrococcaceae, род Staphylococcus. В род Staphylococcus по классификации Байрд— Паркер входят 3 вида: *S. aureus*, *S. epidermidis* и *S. saprophyticus*. Предложенные недавно другие классификации включают большее количество видов стафилококков, но они используются пока только в научных исследованиях.

Все виды стафилококков представляют собой округлые клетки диаметром 0,5—1 мкм. В мазке располагаются обычно несимметричными гроздьями («гроздь винограда»), но встречаются одиночные клетки, пары клеток. Грамположительны. Спор не образуют, жгутиков не имеют. У некоторых штаммов можно обнаружить капсулу. Могут образовывать L-формы. Клеточная стенка содержит большое количество пептидогликана, связанных с ним тейхоевых кислот, протеин А.

Стафилококки хорошо растут на простых средах (рН 7,0—7,5); факультативные анаэробы. На плотных средах образуют гладкие круглые выпуклые колонии с различным пигментом. Пигмент не имеет таксономического значения. Могут расти на агаре с высоким содержанием (8—10 %) NaCl. Продуцируют сахаролитические и протеолитические ферменты. Стафилококки вырабатывают гемолизины, фибринолизин, фосфатазу, р-лактамазу, бактериоцинины, энтеротоксины, коагулазу, ДНК-азу, лейкоцидины, лецитовителлазу и др.

Стафилококки очень пластичны: быстро вырабатывают устойчивость к антибактериальным препаратам. Существенную роль в этом играют плазмиды,

передающиеся с помощью трансдуцирующих фагов от одной клетки к другой. R-плазмиды детерминируют устойчивость к одному или нескольким антибиотикам, в том числе и за счет экстрацеллюлярной продукции р-лактамазы — фермента, разрушающего пенициллин, разрывающего его р-лактамное кольцо.

Возбудителем стафилококковых инфекций чаще бывает *S. aureus*, несколько реже — *S. epidermidis*, очень редко — *S. saprophyticus*. Стафилококки являются представителями нормальной микрофлоры человеческого тела, поэтому микробиологическая диагностика стафилококковых инфекций не может ограничиться выделением и идентификацией возбудителей; необходимы количественные методы исследования, т. е. определение числа микроорганизмов в пробе.

Стафилококки в полости рта здорового человека встречаются в среднем в 30 % случаев. В зубном налете на деснах здоровых людей присутствуют в основном *Staph. epidermidis*. Значительно чаще патогенные стафилококки локализуются на слизистой глотки и носа, обуславливая так называемое "здоровое бактерионосительство". Обладая ферментативной активностью, стафилококки принимают участие в расщеплении остатков пищи в полости рта. Такие постоянные носители патогенного стафилококка являются источником воздушно-капельной инфекции. Патогенные стафилококки, встречающиеся на слизистой носоглотки и в полости рта являются частой причиной аутоинфекции, вызывая различные гнойно-воспалительные процессы полости рта.

Лечение стафилококковых инфекций обычно проводят антибиотиками и сульфаниламидными препаратами. В последние годы от больных часто выделяют стафилококки, резистентные к большинству химиотерапевтических препаратов. В таких случаях для лечения используют антитоксическую противостафилококковую плазму или иммуноглобулин, полученные из крови доноров, иммунизированных стафилококковым анатоксином. Для активной иммунизации (плановых хирургических больных, беременных женщин) может быть использован адсорбированный стафилококковый анатоксин.

**Стрептококки.** Отдел Firmicutes, семейство Streptococcaceae, род Streptococcus. В род Streptococcus входят более 20 видов, среди которых есть представители нормальной микрофлоры человеческого тела и полости рта, а также возбудители тяжелых инфекционных эпидемических заболеваний человека.

Стрептококки — мелкие (меньше 1 мкм) шаровидные клетки, располагающиеся цепочками или попарно, грамположительны, спор не образуют, неподвижны. Большинство штаммов стрептококков образуют капсулу, состоящую из гиалуроновой кислоты. Клеточная стенка содержит белки (M-, T- и R-антигены), углеводы (группоспецифические) и пептидогликаны. Легко переходят в L-формы.

Генетический обмен возможен за счет трансформации и трансдукции, но не конъюгации. Устойчивость к антибиотикам вырабатывается медленно.

Стрептококки группы А вырабатывают более 20 внеклеточных веществ, обладающих антигенной активностью. Наибольшее значение в патогенезе стрептококковых инфекций имеют:

- стрептокиназа (фибринолизин) — протеолитический фермент, расщепляющий фибрин и другие белки;
- ДНК-аза — фермент, деполимеризующий ДНК. Смесь ДНК-азы и фибринолизина способна разжижать экссудаты, лизировать венозные тромбы, поэтому может быть использована для удаления гноя и некротизированных тканей из раны;
- гиалуронидаза — фермент агрессии, разрушающий гиалуро-новую кислоту, входящую в состав соединительной ткани («фактор проницаемости»);
- эритрогенин — токсин, продуцируемый р-гемолитическими стрептококками группы А, способными вызывать скарлатину. Выделяется только лизогенными культурами.

Стандартизованный разведенный эритрогенин используют при постановке внутрикожной пробы (проба Дика) для выявления чувствительности к этому токсину (восприимчивость к скарлатине).

Стрептококки являются основными обитателями полости рта. В 1 мл слюны содержится до  $10^8$  -  $10^9$  стрептококков. Тем не менее, в пробах слюны их примерно в 2 раза больше, чем в материале из бляшки или десневого желобка. Наиболее значительной группой стрептококков полости рта следует считать микроаэрофильные а-гемолитические ("зеленящие") стрептококки и j - негемолитические формы. Следует отметить, что от 40 - 90 % штаммов вида *milled* могут быть В-гемолитическими, которые принимают активное участие в процессах, приводящих к поражениям твердых тканей зуба и пародонта. В эту группу входят *Streptococcus mutants*, *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. salivarius*. Они отличаются друг от друга по способности ферментировать углеводы и образовывать перекись водорода.

Сдвиг рН в кислую сторону приводит к декальцинации зубной эмали. Особо следует подчеркнуть высокие способности микроаэрофильных стрептококков к агрегации с другими бактериями, которые показаны, в частности, в отношении актиномицетов, фузобактерий, лактобактерий. Все это способствует обнаружению данных видов в составе ассоциаций возбудителей при различных гнойно-воспалительных процессах в челюстно-лицевой области. Но особенно значительна их роль в развитии кариеса. Ведущее место в этом плане занимают два вида, активно продуцирующие из углеводов пищи молочную и другие кислоты на эмали - *S. mutans* и *S. sanguis*.

Все виды стрептококков плохо растут и погибают на простых питательных средах, т.к. в процессе роста и размножения стрептококки выделяют много перекиси водорода, которая действует на них губительно, т.к. они не продуцируют каталазу. Для создания оптимальных условий роста к питательной среде обычно добавляют кровь, в которой содержится каталаза, разрушающая перекись водорода. На кровяных средах стрептококки хорошо растут в аэробных условиях, при этом одни из них образуют на кровяном агаре колонии, окруженные зоной полного гемолиза (это гемолитические (В) стрептококки), другие окружены зоной зеленоватого цвета (зеленые стрептококки), у третьих (у) гемолиз отсутствует (негемолитические стрептококки).

Стрептококки выделяют экзотоксин и ферменты агрессии. Во внешней среде менее устойчивы, чем стафилококки. Большинство чувствительны к пенициллину и другим антибиотикам. По антигенной структуре все стрептококки делят на 17 серологических групп (А,В,С,Д, ... и до S), чаще других в полости рта обнаруживаются стрептококки групп А, С, Д, F, G, H и O.

**Пептострептококки** - Gr + облигатно-анаэробные кокки, которые включают два рода - *Peptostreptococcus* и *Peptococcus*. Широко представлены во всех нишах полости рта. Чаще всего пептококки встречаются в ассоциациях с фузобактериями и спирохетами при кариесе, пульпите, пародонтите, абсцессах челюстно-лицевой области.

**Вейллонеллы** - это облигатно-анаэробные, Gr -, мелкие кокко-бактерии, неподвижны, спор не образуют. Являются постоянными обитателями полости рта человека и животных. Изолированные колонии на лактат-агаре имеют 1-3 мм в диаметре, гладкие, выпуклые, чечевицеобразные, ромбовидной или сердечной формы, желто-белые, мягкие по консистенции. В полости рта встречаются представители двух видов вейллонелл (*V. parvula*, *V. alcalescens*), которые населяют слизистую оболочку полости рта, нёба, являются доминирующими в слюне и протоках слюнных желез. Хорошо ферментируют уксусную, пировиноградную и молочные кислоты, нейтрализуя кислые продукты метаболизма других бактерий, это позволяет рассматривать вейллонеллы как важнейший фактор, резистентности к кариесу зубов. Патогенная роль вейллонелл не доказана.

**Дифтероиды**, или коринебактерии, представляют собой группу бактерий, количественно сопоставимую с вейллонеллами.

Это полиморфные грам-положительные палочки, располагающиеся упорядоченно («частьколом» или группами) в мазке из чистой культуры. Микробы некоторых видов способны формировать включения - зерна волютина.

Классификация дифтероидов полости рта до настоящего времени остается неразработанной. При исследовании материала дифтероидов зачастую трудно дифференцировать от актиномицетов и пропионибактерий. Факультативно-анаэробные виды дифтероидов составляют приблизительно 13% от числа резидентов, выделяемых со спинки языка, 15% - из десневого желобка и 24% - из зубной бляшки. Представители дифтероидов с облигатно-анаэробным типом дыхания составляют в этих материалах соответственно 8, 20 и 18%.

Дифтероиды играют важную роль в полости рта как стабилизирующий фактор орального микробиоценоза, так как синтезируют витамины, в частности, витамин К, являющийся стимулятором роста анаэробных бактерий. Редуцируя в процессе дыхания молекулярный кислород, они активно содействуют развитию облигатно-анаэробной флоры в аэробных условиях.

Показана мощная иммуномодулирующая активность антигенов дифтероидов (коринебактерии) на организм человека, что используется при лечении иммунодефицитов. Вместе с тем у коринебактерии обнаружены некоторые ферменты агрессии и токсические полимеры, они нередко обнаруживаются в ассоциациях с возбудителями гнойного воспаления.

**Лактобактерии** постоянно находятся в полости рта, неподвижны, спор и капсул не образуют, Гр + отличаются большим полиморфизмом. Растут на элективных питательных средах, содержат такие факторы роста, как витамины и некоторые аминокислоты. Растут в виде мелких, бесцветных, уплотненных колоний. Обладают довольно низкими адгезивными свойствами к эпителию слизистой и особенно к эмали зуба, однако представлены во всех нишах полости рта. Бурно размножаются при поступлении в полость рта углеводной пищи и обильно продуцируют молочную и другие кислоты, что позволяет их рассматривать, как кариесогенный фактор. Вместе с тем, лактобактерии играют важнейшую стимулирующую роль при формировании микробной ассоциации полости рта, так как синтезируют витамины групп В и К, необходимых для развития других бактерий и организма.

Ввиду образования большого количества молочной кислоты в процессе жизнедеятельности лактобактерий, они задерживают рост других микробов: стафилококков, кишечной палочки, брюшнотифозных и дизентерийных палочек. Антагонистические свойства молочнокислых бактерий по отношению к ряду гнилостных микробов были замечены ещё И.И. Мечниковым, который предложил употреблять простоквашу, изготовленную из молока, заквашенного молочнокислыми палочками. До 90 % обитающих в полости рта лактобактерии относятся к видам *Lactobacterium casei*, *Lactobacterium fermenti*.

**Актиномицеты** - представлены мелкими Гр + палочками, имеющими тенденцию к образованию переплетающихся и ветвящихся нитей или более коротких цепочек. Актиномицеты находятся на слизистой оболочке рта, составляют стromу зубного камня и входят в состав зубного налета. Наряду с этим они содержатся в кариозных полостях зубов, в патологических десневых карманах, в протоках слюнных желез.

Представители данного семейства могут принимать участие в образовании зубных бляшек и в развитии кариеса зубов, а также заболеваний парадонта. В полости рта имеются излюбленные места проникновения актиномицетов в глубину тканей - воспаленная десна около зуба мудрости или около разрушенных корней зубов, патологические десневые карманы при парадонтозе, корневые каналы зубов с омертвевшей пульпой, миндалина.

Для возникновения заболевания недостаточно только внесение актиномицета вглубь ткани, определенную роль играет и состояние защитных сил, понижение

сопротивляемости организма к инфекции.

**Бактероиды** - представляют группу коккоподобных, овоидных или полиморфных палочковидных Гр - бактерий. С 1990 года разделены на три рода: Porpluroman (представитель - P. Gingivalis населяют десневой желобок, зубную бляшку), Prevotella (важнейший вид - P. Melaninogenica населяет карманы слизистой оболочки, фиссуры зуба, десневой желобок), Bacteroides (представитель - B. Fragilis встречается в складках слизистой у основания зубов, однако более типичен для кишечника). Для роста на питательных средах этим микроорганизмам необходим гемотин и витамин К. На кровяном агаре B. melaninogenicus формирует черные колонии. Наличие протеолитических ферментов у бактериоидов (коллагеназы, гиалуронидазы, гепариназы, Jg A -; Jg W-; Jg M - протеазы) имеет большое патогенетическое значение в развитии заболеваний пародонта.

**Фузобактерии** - удлиненные Гр - палочки, чаще с заостренными концами, нередко формирующие цепочки и нити. Населяют как слизистую рта, так и зубную бляшку.

Фузобактерии продуцируют мощные гистолитические ферменты - гиалуронидазу, лецитиназу, имеют эндотоксин. Наряду с бактериоидами и пептококками считаются основными возбудителями разнообразных гнойно - воспалительных процессов в полости рта, включая язвенно - некротические фасцииты.

**Нейссерии** - род Neisseria - Гр - диплококки, обнаруживаемые в различных нишах полости рта, особенно на поверхностях, которые постоянно соприкасаются с воздухом - спинка языка, мягкое небо, эмаль зубов. Патогенная роль их не доказана.

**Дрожжеподобные грибы** в полости рта здоровых людей встречаются в 40 - 50 % случаев. Кандида имеют вид овальной или удлиненной формы клеток размером 7 - 10 мкм, часто отпочковываются новой клеткой. Аэроб растут на среде Сабуро, содержащей дрожжевой экстракт и мальтозу, где вырастают выпуклые колонии матового цвета.

В полости рта чаще всего встречаются следующие виды: Candida albicans, Candida tropicalis, Candida crusei. Патогенные свойства наиболее выражены у C. albicans. Грибы вызывают общее заболевание организма - кандидомикоз или местное поражение полости рта - "молочницу".

**Спирохеты** - заселяют ротовую полость с момента прорезывания молочных зубов у ребенка и с того времени становятся постоянными обитателями полости рта. Гр -, подвижны, строгие анаэробы, растут на средах, содержащих сыворотку, асцитическую жидкость с добавлением свежих кусочков различных органов, на средах образуют помутнение в виде облачка. Высокая протеолитическая активность, разжижают желатин, яичный белок, свернутую сыворотку, образуют индол, сероводород, аммиак.

Легче всего их обнаружить в темном поле зрения при микроскопии нативного препарата.

Спирохеты вызывают патологические процессы в полости рта при значительном размножении все анаэробных микроорганизмов.

**Простейшие полости рта** - встречаются у 50 % здоровых людей, преимущественно в зубном налете, криптах миндалин (Entamoeba gingivalis). Размножаются при негигиеническом содержании полости рта. Их обнаруживают в гное из десневых карманов при тяжелой форме альвеолярной пиореи Д - 20 - 30 нм. Аэробы, подвижны, видны лучше в нативном неокрашенном препарате (раздавленная капля). Выращивают на кровяном или сывороточном агаре, залитым слоем жидкости Рингера и с добавлением раствора триптофана (1 : 10000).

Значительно чаще, чем амебы, в полости рта здоровых людей встречаются трихомонады. Слабо подвижны, хорошо видны в нативном препарате, в живом состоянии. При окрашивании по Романовскому - Гимзе ядро блефаропласта и жгутики окрашиваются в красный цвет, протоплазма - в голубой. Усиленное размножение трихомонад происходит

так же, как и амёб, при негигиеническом содержании полости рта. В очень большом количестве они обнаруживаются при пародонтитах, при гингивитах.

**Вирусы полости рта.** Почти у всех здоровых людей в полости рта постоянно находится вирус герпеса (*Herpes vilgaris*). Заражение этим вирусом происходит еще в детстве воздушно-капельным путем от взрослых вирусоносителей. *Herpes vilgaris* относится к группе ДНК-содержащих герпесвирусов, размер 150 Нм. Выращивается на хорионаллантоисной оболочке куриного эмбриона.

При ослаблении защитных сил макроорганизма в результате простуды, переутомлений и т.п. возможен рецидив болезни.

**Клостридии.** Род *Clostridium* - грам-положительные спорообразующие палочки. Некоторые виды подвижны благодаря наличию жгутиков. Биохимически они активны. В норме входят в состав микробиоценоза кишечника. В полости рта определяются некоторые виды непостоянно.

Выделяются 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 соответствуют классической картине газовой гангрены. Основные виды: *C. perfringens*, *C. septicum*, *C. clostridiiforme*, *C. bifermentans* (последний встречается при одонтогенных воспалительных процессах).

**Прочие резиденты.** Среди бактерий с аэробным типом дыхания в полости рта встречаются также представители актиномицетной линии - нокардии и ротии (*Rothia dentocariosae*), которые, обладая высокими адгезивными и коагрегационными свойствами, способствуют формированию зубной бляшки. Последний вид нередко определяется в кариозных полостях и свищах при актиномикозе, а также при неспецифических остеомиелитах челюстно-лицевой области.

Неферментирующие грам-негативные бактерии полости рта представлены родами *Pseudomonas*, *Bordetella*, *Eikenella* (*E. corrodens*) и некоторыми другими. Среди них наиболее известны бактерии *Pseudomonas (Actinobacillus) actinomycetemcomitans*, которые бурно развиваются у некоторых молодых людей, вызывая прогрессирующий гнойный юношеский пародонтит. Их роль в развитии пародонтита взрослых в настоящее время изучается.

#### **Зубная бляшка. Ее значение в развитии кариеса зубов.**

С помощью сканирующей электронной и иммунолюминесцентной микроскопии показано, что зубная бляшка состоит в основном из микробов с незначительным включением бесструктурного вещества органической природы.

В формировании зубной бляшки можно выделить несколько основных механизмов.

1. Адгезия к эмали эпителиальных клеток, инвазированных бактериями, с последующим ростом микроколоний,
2. Преципитация внеклеточных гликанов, продуцируемых *S. mutans* и *S. Sanguis*.
5. Осаждение гликопротеинов слюны, формирующих пелликулу с последующей специфической адгезией к ней бактерий.
6. Агглютинация бактерий антителами с последующей фиксацией на поверхности эмали.

С помощью иммунолюминесцентной микроскопии показано, что бактерии в зубной бляшке покрыты иммуноглобулинами классов А и G.

Зубная бляшка начинает образовываться уже в первые минуты после чистки зубов, причем в динамике ее формирования происходят значительные изменения

характера микробиоценоза. Общей тенденцией является изменение состава флоры от доминирования аэробных и факультативно-анаэробных форм, преимущественно грам-положительных кокков, к облигатно-анаэробным грам-негативным палочкам и извитым формам.

3 фаза формирования зубной бляшки - первые 1-4 часа после тщательной чистки зубов (или обработки ультразвуком на аппарате "Пьезон-мастер"). Она преимущественно состоит из кокков (стрептококки, нейссерии, вейллонеллы) и коротких палочек (дифтероиды). Это, так называемая, «ранняя» зубная бляшка.

4 фаза - до 4 - 5 дней. Характеризуется уменьшением доли грам-положительных кокков и нарастанием доли грам-вариабельных нитевидных форм - лептотрихий, а также грам-негативных вейллонелл и фузобактерий. Это фаза может быть охарактеризована как "равновесная" или "динамичная" зубная бляшка. У лиц с хорошими адаптационными способностями, с так называемой "высокой естественной санацией" микробиоценоз зубной бляшки может поддерживаться в этом состоянии на протяжении значительных отрезков жизни, не переходя к следующей фазе (при отсутствии систематической чистки зубов).

3 фаза - от 6 - 7 дней и далее. Зубная бляшка принимает окончательный по составу симбионтов вид, хотя количественные сдвиги в ней происходят постоянно. Резко снижается количество аэробных видов - нейссерий, ротий, факультативно-анаэробных стрептококков. Доминируют грам-негативные облигатно-анаэробные бактерии-бактероиды, фузобактерии, вейллонеллы и грам-положительные актиномицеты, микроаэрофильные стрептококки и пептострептококки. Это "зрелая" зубная бляшка. Она характеризует отрицательное гигиеническое состояние полости рта и может индуцировать развитие гингивита у лиц, которые не регулярно чистят зубы.

Общее количество бактерий в зубной бляшке увеличивается от 100-5000 в I фазе формирования до 1 - 10 млн/г во 2 фазе. В 3 фазе формирования, в зависимости от многих факторов, количество бактерий исчисляется десятками и сотнями миллиардов в 1 г.

Установлено, что микробы обладают разной способностью к адгезии даже в отношении различных поверхностей зуба. Кроме того, на процесс адгезии влияют и механические факторы, связанные с процессом жевания, физико-химические условия и т. п. Поэтому на разных поверхностях зубов, в ямках и фиссурах состав микрофлоры несколько отличается, даже в пределах одного зуба.

Эти данные имеют важное практическое значение в связи с тем, что состояние зубной бляшки, как известно, является ключевым механизмом возникновения и развития кариеса зубов.

В настоящее время установлено, что после приема пищи, особенно богатой углеводами, в ротовой жидкости происходит резкое усиление ферментативной активности бактерий - «метаболический взрыв». Основой «метаболического взрыва» является активация гликолиза, что приводит к резкому сдвигу рН среды в кислую сторону за счет выброса кислых катаболитов - уксусной, молочной, муравьиной, пировиноградной и других кислот.

В свою очередь, это ведет к выходу ионов кальция из твердых тканей зуба (деминерализация), а также уменьшению содержания фосфатов в процессе фосфорилирования у бактерий. Кроме того, бактерии зубной бляшки накапливают избыток углеводов в виде резервных полисахаридов - декстранов и леванов. У больных кариесом продукция органических кислот значительно выше, а нормализация метаболической активности происходит медленнее.

В последние годы установлена роль некоторых резидентов-участников микробиоценоза зубной бляшки как антагонистов кариесогенных стрептококков. Прежде всего это относится к вейллонеллам - грам-негативным анаэробным

коккам, которые активно утилизируют кислоты. Это позволяет рассматривать вейллонеллы как важнейший микрoэкологический фактор кариесрезистентности.

Зубная бляшка формируется также и на поверхности пломб, причем состав ее несколько отличается и зависит от характера и качества пломбирoвочного материала. Наиболее богато представлена микробная флора на цементах и амальгамах. Средний уровень колонизации характерен для макрокомпозитных пломбирoвочных материалов. И, наконец, на микрокомпозитных и гибридных материалах зубная бляшка формируется плохо из-за низкого аффинитету бактерий. Обычно в составе бляшки на микрокомпозитных пломбах определяются лишь микроаэрофильные стрептококки и актиномицеты в небольшом количестве.

Эти данные имеют важное практическое значение в связи с тем, что состояние зубной бляшки, как известно, является ключевым механизмом возникновения и развития кариеса зубов.

В настоящее время установлено, что после приема пищи, особенно богатой углеводами, в ротовой жидкости происходит резкое усиление ферментативной активности бактерий — «метаболический взрыв». Основой «метаболического взрыва» является активация гликолиза, что приводит к резкому сдвигу рН среды в кислую сторону за счет выброса кислых катаболитов - уксусной, молочной, муравьиной, пировиноградной кислот.

В свою очередь, это ведет к выходу ионов кальция из твердых тканей зуба (деминерализация), а также уменьшению содержания фосфатов в процессе фосфорилирования у бактерий. Кроме того, бактерии зубной бляшки накапливают избыток углеводов в виде резервных полисахаридов – декстранов и Леванов.

Для изучения состава зубной бляшки используют методику взятия материала зондом, металлическим шпателем или тампоном с последующим взвешиванием на аналитических весах. После этого, в зависимости от задач исследования, проводят механическое растирание бляшки или ее дезинтеграцию ультразвуком и количественный посев с использованием техники анаэробного культивирования. Количество бактерий выражают в колониеобразующих единицах (КОЕ) в грамме материала.

Идентификация выделенных культур до рода и вида позволила выявить существенные различия доли бактерий разных родов в зубной бляшке и на слизистой оболочке полости рта. Так, в составе зубной бляшки доминировали по частоте выделения актиномицеты (20,4 %) и анаэробные кокки рода *Peptostreptococcus* (17,2 %) - По сравнению с частотой выделения со слизистой оболочки в зубной бляшке было также значительно больше альфа-зеленящих стрептококков (почти в 3 раза), лакто- и бифидобактерий (в 9 раз). Бактерии группы бактероидов и рода *Fusobacterium* по частоте выделения конкурировали с доминирующей флорой (14,7 и 5,7 %), однако их доля была значительно меньше, чем при выделении со слизистой оболочки полости рта.

При идентификации штаммов микроорганизмов, выделенных со слизистой оболочки полости рта, доминирующей флорой по частоте встречаемости были бесспорные грам-отрицательные анаэробы группы бактероидов (23,7 %) и рода *Fusobacterium* (14,9 %). При этом надо подчеркнуть, что бактероиды выделялись почти в 2 раза, а фузобактерии - в 2,5 раза чаще, чем из зубной бляшки. Пептострептококки также достаточно часто выделялись со слизистой (15,8 %), хотя несколько реже, чем из зубной бляшки. Частота выделения других кокков - вейллонелл, пептококков, микроаэрофильных стрептококков и стафилококков — практически не отличалась в зубной бляшке и со слизистой.

Обращала на себя внимание значительно более низкая частота выделения со слизистой оболочки актиномицетов, альфа-стрептококков и лактобактерий. Доля факультативно-анаэробных и аэробных бактерий в зубной бляшке и на слизистой практически не различалась.

## **ХРОНОМЕТРАЖ**

- |   |          |
|---|----------|
| 1. Определение исходного уровня знаний                | 90 мин.  |
| 2. Самостоятельная работа                             | 130 мин. |
| 3. Проверка протоколов                                | 45мин.   |
| 4. Уборка рабочего стола                              | 45мин.   |
| 5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом. | 55 мин.  |

## **ЗАНЯТИЕ № 2.**

**Тема: Кариесогенная микрофлора. Микробиологические методы изучения микрофлоры при кариесе зубов и его осложнениях. Компьютерная кариограмма.**

### **Учебная цель:**

4. Ознакомиться с методикой забора материала при кариесе для бактериологического метода исследования.
5. Изучить микрофлору при кариесе.
6. Рассмотреть роль микрофлоры в возникновении и развитии кариеса

### **План занятия:**

6. Особенности микрофлоры полости рта при кариесе зубов.
7. *Streptococcus mutans* и его роль в возникновении кариеса.
8. Экспериментальные подтверждения роли микробов в развитии кариеса.
9. Роль местных факторов резистентности при кариесе. Вакцина для профилактики кариеса.
10. Особенности забора материала из кариозной полости для проведения бактериологического метода исследования.

### **Самостоятельная работа ординаторов:**

3. Ознакомиться с особенностями забора материала при кариесе для бактериологического метода исследования.
4. Микроскопическое исследование мазков из чистых культур кариесогенных бактерий и их антагонистов:
  - а) демонстрационный мазок из чистой культуры *Streptococcus mutans*. Окр. генцианвиолет;
  - б) демонстрационный мазок из чистой культуры актиномицетов. Окр. генцианвиолет;
  - в) демонстрационный мазок из чистой культуры вейллонелл. Окр. фуксин.
3. Методика количественного определения кариесогенной флоры на примере лактобациллин-теста.
4. оформление протокола исследования.

## **ОСНАЩЕНИЕ**

1. Демонстрация препаратов *Streptococcus mutans*.
2. Оснащение для приготовления мазка и окраски по Граму.

## ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

Кариес - это патологический процесс, при котором происходит деминерализация и размягчение твердых тканей зуба с последующим образованием полости.

В настоящее время известно, что кариозный процесс может развиваться при следующих условиях:

4. Наличие достаточного количества углеводов в пище;
5. Наличие микроорганизмов в полости рта;
6. Контакт углеводов и микроорганизмов с зубами.

Ярким доказательством роли углеводов в возникновении кариозного процесса являются проведенные экспериментальные исследования. Все кариесогенные диеты содержат более 50 % сахарозы. Содержание в рационе экспериментальных животных меньших количеств углеводов либо не вызывает кариозный процесс, либо он развивается медленно.

В настоящее время имеются убедительные доказательства того, что без контакта зубов с углеводами кариозный процесс не возникает. Несомненно, важная роль принадлежит составу и структуре эмали зуба, слюне, а также характеру питания, составу питьевой воды. Изучение микробной флоры при кариесе дало возможность установить определенную последовательность проникновения различных видов микроорганизмов в ткани кариозного зуба, а также выявить сдвиги в составе всей микробной флоры полости рта при кариесе. Микроорганизмы прежде всего начинают проникать в эмаль кариозного зуба уже после разрушения структуры всех ее слоев. При начальных поражениях обнаруживаются также микроорганизмы, которые с точки зрения их биохимической активности могут быть подразделены на две группы: протеолитическую и кислотообразующую.

В протеолитическую группу входят бактерииды и пептококки. Они вырабатывают ферменты, способные расщеплять органические вещества кариозного зуба.

К кислотообразующей группе относятся стрептококки, лактобактерии и актиномицеты. Из числа стрептококков здесь чаще всего присутствуют энтерококки. Все эти микроорганизмы могут участвовать в процессе деминерализации твердых тканей кариозного зуба, т.к. они интенсивно расщепляют углеводы и образуют много органических кислот.

В кариозной полости присутствуют все представители постоянной флоры полости рта, главным образом строгие анаэробы. На кариесогенную активность оральных микроорганизмов влияет слюна - ее агрегирующие факторы, которые, с одной стороны, способствуют прикреплению микробных клеток к поверхности зуба, а с другой - удаляют их при омывании полости рта.

Противокариозным действием обладает система буферов, бикарбонат - карбоновая кислота, а также протеин и спалим, находящиеся в слюне. Профилактика кариеса может быть направлена на уменьшение количества кариесогенных микроорганизмов в полости рта. 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 на 80 - 85 %, а в слюне на 55 %. Покрывая зубную поверхность, хлоргексидин не только оказывает на микроорганизмы бактерицидное действие, но и препятствует их адгезии, не нарушая при этом микробного равновесия. Угнетающим действием на микроорганизмы обладает фтор и его соединения. Другой путь снижения кислотообразования и накопления глюканов - замена сахарозы другими углеводами, при ферментативном расщеплении которых эти продукты не образуются.

При заборе материала при кариесе для проведения бактериологического исследования

необходимо придерживаться некоторых правил:

- а) для устранения доступа слюны в кариозную полость необходимо изолировать зуб, для чего его обкладывают ватными валиками;
- б) поверхностные слои размягченного дентина необходимо удалить стерильным бором;
- в) глубокий слой размягченного дентина забирают стерильным экскаватором и производят посев;
- г) посев производят на соответствующие питательные среды для выделения анаэробной и аэробной микрофлоры.

2. Провести микроскопию демонстрационных мазков из чистых культур *Streptococcus mutans*, актиномицетов, вейллонелл под иммерсией.

3. Лактобациллин-тест производят следующим образом:

нестимулированную слюну собирают натошак в стерильную пробирку. Готовят последовательные разведения слюны в стерильных условиях от 1:10 до 1:10 по 0.1 мл из каждого разведения высевают на плотную селективную питательную среду с низким рН, растирая материал шпателем по всей поверхности агара.

После инкубирования при 37 град. производят подсчет количества колоний, выросших на поверхности среды и перерасчет на общий объем слюны.

Например, при разведении слюны 1:10 выросло 10 колоний, значит в 0.1 мл неразведенной слюны содержится 10 000 клеток, а в 1 мл - 100 000 клеток.

Существует определенная зависимость между количеством кариесогенных бактерий в слюне (лактобациллы, стрептококки) и их антагонистов (вейллонелл), что позволяет дать следующие рекомендации:

- а) применять фтористые препараты для профилактики кариеса;
- б) ограничить употребление в пищу углеводов;
- в) усилить гигиену полости рта.

4. Оформление протокола исследований:

Таблица. Забор исследуемого материала из кариозной полости.

Исследуемый материал	Описание результатов микроскопии	Рисунок

## ХРОНОМЕТРАЖ

1.Определение исходного уровня знаний	80 мин.
2.Самостоятельная работа	90 мин.
3.Проверка протоколов	45мин.
4.Уборка рабочего стола	45мин.
5.Контроль конечного уровня знаний и задание на дом.	55 мин.

## Занятие №3

**Тема: Пародонтопатогенная микрофлора. Микробиологические методы изучения микрофлоры при болезнях пародонта. Тактика антибактериальной терапии анаэробной инфекции челюстно-лицевой области.**

**Тестовый контроль**

### Учебная цель:

1. Ознакомиться с особенностями забора исследуемого материала для микроскопического и бактериологического методов исследования.
2. Особенности состава микрофлоры при неспецифических поражениях слизистой оболочки полости рта (хейлиты, глосситы, стоматиты), причины их возникновения.

### План занятия:

1. Методы изучения количественного и качественного состава микрофлоры десневого желобка и пародонтальных карманов.
2. Основные представители резидентной микрофлоры при отсутствии патологии тканей пародонта.
3. Особенности состава микрофлоры при гингивите
4. Особенности состава микрофлоры при пародонтите
5. Пародонтогенные микробы. Доказательства их участия в патогенезе заболевания
6. Иммунологические изменения, происходящие в ответ на бактериальные антигены и токсины
7. Современные методы лечения заболеваний пародонта в соответствии с последними научными данными
8. Сдача модуля.

### Самостоятельная работа ординаторов:

Микроскопическое исследование демонстрационного мазка-отпечатка со слизистой оболочки при язвенно-некротическом стоматите (фузоспирохетоз), окраска по Романовскому.

Микроскопическое исследование демонстрационного мазка-соскоба со слизистой языка при лептотрихозе, окраска по Романовскому.

Методы лабораторной диагностики кандидоза.

4. оформление протокола исследования.

### ОСНАЩЕНИЕ

3. Демонстрация препаратов Porf. Gingivalis.
4. Оснащение для приготовления мазка и окраски по Граму.

### ИНФОРМАЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМЕ

До настоящего времени не совсем ясен вопрос - является ли пародонтит логическим завершением гингивита. В эксперименте на животных (собаках) удалось продемонстрировать эту последовательность, однако у людей гингивит не всегда переходит в пародонтит.

По поводу механизма развития пародонтита существуют, как минимум, две точки зрения:

1. Существуют определённые микробы, вызывающие деструктивное

поражение тканей пародонта.

2. К развитию пародонтита приводит сбой в функционировании защитных механизмов организма и изменения в составе и количестве микрофлоры пародонтального кармана.

При темнопольной микроскопии выявляется значительный сдвиг в сторону палочковидных форм и спирохет, количество которых возрастает до 40%. Отношение подвижных форм к неподвижным увеличивается до 1:1 (в норме 1:49).

Электронно-микроскопическое исследование поддесневой бляшки при пародонтите выявило, что к цементу прикреплены, в основном, грамположительные микробы. Грамотрицательные клетки, жгутиковые и спирохеты присутствуют в большом количестве в неплотных слоях поддесневой бляшки, которая распространяется до верхушечной части кармана.

При бактериологическом исследовании материала от больных пародонтитом установлено преобладание грамотрицательных анаэробных палочек, в основном, подвидов несакхаролитических *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Selenomonas sputigena*, *Eikenella corrodens*, *Campylobacter rectus* и др. Однако у некоторых больных наблюдали превалирование актиномицетов. Многие виды анаэробных бактерий не удавалось идентифицировать.

В настоящее время, по данным ВОЗ, к пародонтопатогенным видам относят, прежде всего, двух представителей группы бактериоидов - *Porphyromonas gingivalis* и *Prevotella intermedia*. Данные грамотрицательные микробы обладают способностью прилипать в большом количестве к эпителиальным клеткам, гидроксипатиту и к грамположительным бактериям. Их адгезивные свойства ингибируются в присутствии человеческой слюны и сыворотки крови. Однако способность к коагрегации с грамположительными бактериями при этом не ингибируется.

При пародонтите характерным является образование микробных скоплений, напоминающих кукурузный початок, которые состоят из кокков и извитых форм.

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 и макрофагами (моноцитами). Все это позволяет считать, что многие реакции антиген-антитело, проявления клеточного иммунитета происходят именно здесь, в тканях пародонта и альвеолярной кости.

Если придерживаться только микробной этиологии пародонтита, то, очевидно, что для развития заболевания должны сочетаться следующие условия:

1. Присутствие пародонтопатогенных видов бактерий в количестве, достаточном для того, чтобы начался патологический процесс.

2. Условия обитания в нише должны способствовать росту и размножению бактерий.

6. В тканях пародонта должны отсутствовать микробы-антагонисты пародонтопатогенных бактерий.

7. Микроб должен пространственно локализоваться так, чтобы он или продукты его жизнедеятельности могли действовать на клетки-мишени.

8. Организм человека должен быть чувствительным к микробам или продуктам их жизнедеятельности.

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

организма хозяина в функционировании деструктивных и защитных механизмов при пародонтите позволяет оптимизировать комплексное лечение данного заболевания.

**Микрофлора при периодонтитах** - преобладает стрептококковая флора над стафилококковой. В начальных стадиях воспаления это обычно зеленящие и негемолитические стрептококки без группового антигена. При переходе острого периодонтита в хроническую главную роль играет стрептококковая анаэробная флора, т.е. пептострептококки, к которым присоединяются другие стрептококки. В апикальных гранулёмах обнаруживаются актиномицеты, бактероиды, фузобактерии, вибрионы и спирохеты.

#### **Микробная флора при парадонтозах.**

Парадонтоз является одним из наиболее распространенных заболеваний полости рта и представляет собой воспалительно - дистрофический процесс в альвеолярных отростках, возникающий вследствие нарушения питания альвеол.

По поводу механизма развития парадонтоза существует, как минимум, две точки зрения;

1. Существуют определенные микробы, вызывающие деструктивное поражение тканей парадонта.

2. К развитию парадонтоза приводит сбой в функционировании защитных механизмов организма и изменение в составе и количестве микрофлоры парадонтального кармана.

Все воспалительные процессы в парадонте начинаются с образования зубных бляшек, преимущественно субгингивальных, в результате колонизации поверхности зубов факультативными анаэробами.

В настоящее время, по данным ВОЗ, к парадонтопатогенным видам относят, прежде всего, двух представителей группы бактероидов - *Porphyromonas gingivalis* и *Prevotella melaninogenica*. Данные Gr - микробы обладают способностью прилипать в большом количестве к эпителиальным клеткам и к Gr + бактериям. Их адгезивные свойства ингибируются в присутствии человеческой слюны и сыворотки крови. При парадонтите характерным является образование микробных скоплений, которые напоминают кукурузный початок и состоят из кокков и известных форм.

При исследовании содержимого десневого кармана у больных парадонтитом определяются иммуноглобулины классов А, G, М, фракции комплемента C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>, лейкоциты. Если придерживаться только микробной этиологии парадонтита, то очевидно, что для развития заболевания должны сочетаться следующие условия:

1. Присутствие парадонтопатогенных видов бактерий в количестве, достаточном для того, чтобы начался патологический процесс.

5. Условия обитания в нише должны способствовать росту и размножению бактерий.

6. В тканях парадонта должны отсутствовать микробы - антагонисты парадонтопатогенных бактерий.

7. Организм человека должен быть чувствительным к микробам или продуктам их жизнедеятельности.

- 1-2. Соскоб со слизистой оболочки, спинки языка можно делать стерильным шпателем, гладилкой. Материал наносится на поверхность предметного стекла, в каплю воды. Окраска по Граму или Романовскому. Перед взятием материала из эрозий и язв целесообразно удалить поверхностный налёт стерильным ватным тампоном, не применяя при этом антисептических препаратов.

При язвенно-некротическом стоматите в мазке наблюдают обилие грам-отрицательных веретенообразных палочек (фузобактерии) и извитых форм (анаэробно-

спириллы и спирохеты) на фоне лейкоцитов и слущенного эпителия.

При лептотрихозе в мазке наблюдают скопления грам-вариабельных нитевидных бактериальных форм, причём часть бактерий располагается как б в едином чехле (лептотрихии).

3. Для лабораторной диагностики кандидоза полости рта используют следующие методы:

а) При микроскопическом исследовании мазка-отпечатка со слизистой оболочки больного кандидомикозом можно увидеть: овальные и резко вытянутые клетки дрожжеподобного гриба, расположенные в виде длинных цепочек (псевдомицелий). Псевдомицелии формируются колбовидные вздутия, от которых отшнуровываются хламидоспоры (признак вида *C.albicans*).

б) При бактериологическом методе исследования материал, полученный от больного, высевает на среды Сабуро (агар-агар, углеводы, пептон) при  $t = 37$  град., в течение 3-5 суток. Выросшие колонии на этой среде изучают макроскопически.

Колонии гриба рода *Candida* круглые, беловатые, выпуклые, гладкие с ровными краями, поверхность блестящая. Иногда колония врастает в агар.

При микроскопическом изучении в мазках виден псевдомицелий, состоящий из овальных вытянутых, пальцевидных клеток, расположенных скоплениями. Хламидоспоры круглые, напоминают связки шаров.

в) При висцеральных микозах применяют для диагностики серологические реакции - агглютинации и РСК. Для этих реакций у больного берут сыворотку и определяют наличие антител в сыворотке больного с кандидозным диагностикумом.

#### Схема реакции агглютинации

Компоненты пробирок	1	2	3	4	5	6	7
1. Физ. р-р	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
2. Исследуемая сыворотка 1:40	1.0 1:80	1.0 1:160	1.0 1:320	1.0 1:640	1.0 1:1280	1.0 1:80	- -
3. Клеточный антиген (диагностикум)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	-
УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ							

Учет результатов проводят, начиная с контрольных пробирок (6 и 7). О результатах реакции судят по образованию осадка в опытных пробирках.

4-6. Теоретически разобрать клинические проявления в полости рта при сифилисе, дифтерии, туберкулёзе, герпесе, ящуре пользуясь учебным пособием. Результаты оформить в виде таблицы (по графам: нозологическая форма; возбудитель и его морфология; клинические симптомы в полости рта).

7. Оформление протокола исследования по пп. №1-3.

Таблица. Забор исследуемого материала при пародонтите

Исследуемый материал	Описание результатов микроскопии	Рисунок

Исследуемый материал	Описание результатов микроскопии	Рисунок

Таблица. Забор исследуемого материала при гингивите

### **ХРОНОМЕТРАЖ**

- |  |         |
|--|---------|
| 1.Определение исходного уровня знаний                | 80 мин. |
| 2.Самостоятельная работа                             | 90 мин. |
| 3.Проверка протоколов                                | 45мин.  |
| 4.Уборка рабочего стола                              | 45мин.  |
| 5.Контроль конечного уровня знаний и задание на дом. | 55 мин. |