

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАНИЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Институт развития образования
Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии

На правах рукописи



Хайруллин Наиль Ильшатovich

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОФЛОРЫ
ЗУБНОГО КАМНЯ

Научный руководитель:
заведующий кафедрой фундаментальной и
прикладной микробиологии, к.м.н.



И. А. Гимранова

Уфа – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

3	Список сокращений и условных обозначений	
4	ВВЕДЕНИЕ	
6	Глава 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	
6	1.1 Актуальность	
7	1.2 Нормальная микробиота полости рта	
9	1.3 Образование биоплёнки	
13	1.4 Формирование зубного камня	
16	1.5 Принципы механического удаления зубных отложений по методике А. Pattison	
19	1.6 Действие препаратов для химического удаления зубного камня	
25	Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	
25	2.1 Взятие биоматериала	
26	2.2 Подготовка лабораторной посуды	
27	2.3 Приготовление питательных сред для культивирования бактерий	
33	2.4 Метод культурального посева на питательные среды	
34	2.5 Метод идентификации бактерий методом масс-спектрометрии	
36	Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ.	
36	3.1 Анализ полученных данных и их статистическая обработка	
37	3.1.1 Частота встречаемости микроорганизмов	
40	3.1.2 Разнообразие микробиоты	

3.1.3 Роль молочнокислых бактерий	42
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	44
ВЫВОДЫ	45
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	46

Список сокращений и условных обозначений

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека;

СПИД - синдром приобретённого иммунодефицита;

ГАП – гидроксиапатит;

HOMD – Human Oral Microbiome Database (База данных микробиома полости рта человека);

ЖСА – желточно-солевой агар;

ЭКДА - экстракт кормовых дрожжей агаризованный;

MALDI – Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization (Матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация);

ToF – Time of flight (Время пролёта);

ЖКТ – Желудочно-кишечный тракт;

ВВЕДЕНИЕ

Зубной камень —твёрдый налёт на зубах, формирующийся из белков, минеральных солей, а также различных органических компонентов. В настоящее время образование зубного камня является одной из самых распространённых проблем в области здоровья зубов. Он может привести к различным заболеваниям полости рта, например таким как кариес, пародонтит и т.д. Фактически, основную роль в образовании зубного камня играет микробиота полости рта, так как находящиеся в ней микроорганизмы являются основным источником белка и других органических веществ, которые составляют основу зубного камня. Микробиота зубного камня представляет собой сообщество различных видов бактерий, грибов и вирусов. Они участвуют в процессе минерализации, который способствует формированию твердых отложений на поверхности зуба. Также стоит отметить, что состав микробиоты может сильно отличаться у разных людей. Данное различие может зависеть от многих факторов, таких как возраст пациента, рацион питания, гигиенические привычки, состояние иммунной системы и наличие системных заболеваний. В последнее время вопрос о исследовании микробиоты ротовой полости становится всё более важным, так как появляется понимание того, что микробиота полости рта играет ключевую роль не только в местных воспалительных процессах, но и на всём здоровье организма в целом.

Цель дипломной работы: изучить микробиоту зубного камня.

Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи:

Задачи:

1. Проведение бактериологического исследования зубных камней пациентов с различной стоматологической патологией;
2. Идентификация до вида полученных чистых культур бактерий методом масс-спектрометрии.
3. Сравнить видовой состав микробиоты зубных камней при различной стоматологической патологии;

Научная новизна — исследование микробиоты зубного камня, различной стоматологической патологией, а также изучение процесса образования зубного камня.

Научно-практическая новизна — изучение способов профилактики образования зубных камней.

Глава 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1 Актуальность

Тело человека полностью состоит из клеток, которые поддерживают жизнедеятельность организма. Но помимо клеток в организме также обитают различные микроорганизмы, которые влияют на его работу. Согласно современным данным, в теле человека живёт микроорганизмов порядка в 10 раз больше, чем самих клеток. Также установлено, что суммарный микробиом содержит более 5 миллионов генов, что в несколько десятков раз превышает весь геном самого человека. [28]. Микроорганизмы могут влиять на здоровье организма человека как положительно, так и отрицательно. Но сами по себе патогенные микроорганизмы не проявляют агрессивности против организма хозяина до тех пор, пока степень их вирулентности не достигнет критического максимума, который уже позволит эффективно обойти иммунную защиту хозяина.

Бактерии могут являться причиной стоматологических заболеваний, так и могут положительно влиять на здоровье организма в целом. Микроорганизмы могут проживать на всех частях тела, которые имеют контакт с окружающей средой. То есть, они проживают на поверхности кожи, на слизистых оболочках, на поверхности рта.

На поверхности рта в ходе исследований было обнаружено и идентифицировано более 350 штаммов бактерий [29]. Эти бактерии прикрепляются к поверхности рта благодаря их способности к адгезии.

На сегодняшний день этот налёт, который образуют бактерии, прикрепившиеся к поверхности рта, называют «биопленкой, которая является специализированной бактериальной экосистемой, обеспечивающей жизнеспособность и сохранение составляющих ее видов микроорганизмов и увеличение общей популяции» [10].

Образование бактериальной биопленки в полости рта — это постоянно текущий динамический процесс, который не прекращается даже при постоянной чистке зубов. Этот процесс состоит из трёх фаз. Первая фаза — это отложение гликопротеинов слюны на поверхности зуба. Вторая — начальная колонизация грамположительными бактериями и подготовка условий для следующей фазы колонизации. Третья фаза — колонизация различными, в том числе патогенными, штаммами бактерий, и внутреннее созревание структуры [20].

1.2 Нормальная микробиота полости рта.

В полости рта человека обитает огромное количество микроорганизмов. Их всех можно разделить на 3 группы: постоянные микроорганизмы, которые постоянно обитают в полости рта и характерны для данного биотопа, непостоянные — микроорганизмы, которые попали в полость рта случайно и в основном обитают в других биотопах, например в кишечнике или носоглотке и третья группа — микроорганизмы, которые попали в полость рта из окружающей среды.

При таком большом видовом разнообразии микробиоты полости рта, её состав довольно-таки постоянен. Однако количество микроорганизмов может меняться в зависимости от различных условий [6]:

1. Состояние слизистой полости рта;
2. Физические условия;
3. Состояние слюны;

4. Состав пищи;
5. Гигиена полости рта;
6. Состояние эмали зубов;
7. Состояние иммунной системы организма;
8. Отсутствие патологий слюнных желёз;

Для систематизации представителей бактерий ротовой полости была создана Human Oral Microbiome Database

К представителям нормальной микробиоты полости рта можно отнести представителей актиномицетов (*A. cardiffensis*, *A. dentalis*, *A. oris*, *A. odontolytics* и т. д.), рода *Bacteroidetes* (таксоны 505, 507, 509, 511 и другие), рода *Bifidobacterium* (*B. dentium*, *B. longum*, *B. breve* и другие), рода *Campylobacter* (*C. gracilis*, *C. gingivalis*, *C. sputorum* и другие), рода *Staphylococcus* (*S. warneri*, *S. epidermidis* и другие), рода *Streptococcus* (*St. lactarius*, *St. intermedius*, *St. mutans*), рода *Fusobacterium* (*F. gonidaformans*, *F. hwasookii*, *F. periodonticum*), рода *Aggregatibacter* (*Ag. actinomycetemcomitans*, *Ag. aphrophilus*, *Ag. paraphrophilus*)[26].

Следует рассмотреть некоторых представителей данных видов:

1. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* – вид грамотрицательных, факультативно аэробных, неподвижных бактерий. Входит в семейство *Pasteurellaceae*.

Данная бактерия входит в нормальный состав микробиома подавляющего большинства людей. Их распространённость зависит от многих факторов, такие как возраст, географическая расположенность и образ жизни конкретного индивида.

В нормальном состоянии *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* обитает в слизистой полости рта. Но данная бактерия может заселять и остальное пространство, например поддесневое пространство, тем самым вызывая воспаление и разрушение тканей пародонта.

Чаще всего *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ассоциируется с тяжёлой инфекцией пародонта. Это заболевание характеризуется

избирательным разрушением костной ткани, которое затрагивает передние резцы и первые моляры. Если данное заболевание не лечить, то бактерия может стать причиной хронического периодонтита [19].

2. *Streptococcus mutans* – вид грамположительных, факультативно анаэробных бактерий.

Данный вид стрептококка играет главную роль в разрушении эмали зубов, переводя сахарозу в молочную кислоту. Во время этого процесса, во рту образуется кислая среда.

Сахароза необходима *Streptococcus mutans* для создания липкого полисахарида, который позволяет им связываться между собой и образовывать биоплёнку [30].

3. *Staphylococcus epidermidis* – наиболее распространённый представитель рода стафилококков в полости рта. Это вид грамположительных, факультативно анаэробных, неподвижных бактерий.

Staphylococcus epidermidis преимущественно располагается на дёснах и зубном налёте. Данная бактерия расщепляет остатки пищи в полости рта и в последующем вызывает образование зубного налёта и зубного камня.

1.3 Образование биоплёнки.

Следует понимать, что под понятием биоплёнка понимается сообщество микроорганизмов, которые объединены для увеличения выживаемости. Микроорганизмы, входящие в состав биоплёнки, вовлечены в различные цепи физических, метаболических и молекулярных взаимодействий, что даёт им резистентность к различным видам антибиотиков, ускоряет их рост, а также увеличивает их патогенность [14].

Процесс формирования биоплёнки в полости рта состоит из 3 фаз:

1. Прикрепление микроорганизмов к поверхности во рту организма хозяина;
2. Рост и развитие микроорганизмов, входящих в состав биоплёнки;

3. Дальнейшее открепление биоплёнки от поверхности рта организма хозяина.

Некоторые исследователи разделяют стадию прикрепления (или адгезии) на две:

1. Первичная адгезия, этот процесс начинается с образования клейкой бактериальной плёнки на поверхности клеток организма хозяина. Но этот процесс обратим, так как адгезия ещё очень слабая.

2. Необратимое прикрепление (её также называют «стадией монослоя»). При воздействии слабых сил притяжения к месту возникновения плёнки притягиваются различные бактерии. Эти силы ковалентны водородным связям, вследствие чего образуется диффузный слой, что приводит к необратимому прикреплению микроорганизмов на субстрате (в данном случае- на поверхности зубов во рту организма хозяина).

За стадией прикрепления микроорганизмов к поверхности путём адгезии следует стадия роста. Стадия роста подразумевает собой формирование биоплёнки путём аутоагрегации бактерий одного вида и коагрегации бактерий различных видов между собой. Это приводит к организованности микроорганизмов между собой. Матрица биоплёнки, вырабатываемая микроорганизмами, содержит в своём составе в основном различные полисахариды, белки, а также может содержать внеклеточную ДНК.

Так же, как и в стадии прикрепления, в стадии роста выделяют следующие подстадии:

1. Стадия микроколоний (также именуемая стадией роста) – на данном этапе происходит формирование структурно-функциональных единиц биоплёнки, а также запускаются процессы биосинтеза матрикса.

2. Стадия зрелой биоплёнки – на этой стадии формируются архитектуры, необходимые для нормального функционирования сообщества микроорганизмов, организуются процессы, способствующие

коммуникации между отдельными бактериальными клетками. Внутри уже зрелой биоплёнки можно выделить клеточную популяцию, обладающую особой устойчивостью к различным видам антибиотиков — это так называемые персистеры. В составе зрелой биоплёнки имеется от 80 до 85 процентов матрикса (это продукты жизнедеятельности бактерий). Лишь оставшиеся 15–25 процентов занимают сами бактериальные клетки.

Следом за стадией роста следует стадия диссимиляции (открепление бактериальных клеток). Эта стадия необходима бактериям для дальнейшего расселения клеток по всей полости рта. Помимо расселения, бактериальные клетки могут также оказывать негативное влияние на организм хозяина в целом [32]. Стадия диссимиляции может происходить вследствие нарушений питания бактериальных клеток в биоплёнке. Бактерии из сообщества выбрасываются в полость рта и переходят в планктонную форму – дисперсия.

Нужно отметить тот факт, что у каждого отдельного организма формирование биоплёнок есть как нормальный процесс симбиоза клеток хозяина с бактериями, так и патологический процесс, который был вызван внедрением внешних патогенных бактериальных клеток в систему организма.

Рост биоплёнки запускается уже в следующие полтора – два часа после приёма пищи или чистки зубов. Для полного созревания, плёнке требуется около трёх – семи дней. Биоплёнки, выросшие на открытых участках зубов, могут способствовать воспалительным процессам пародонта. Пародонт является опорно-удерживающим аппаратам, который состоит из множества тканей. В его состав входят десна, альвеолярные отростки, периодонт, надкостница, а также цемент зуба. Хоть пародонт и является хорошо продуманным и защищённым комплексом, у него есть слабые места, например- щель, располагающаяся под десной, может стать местом обитания и размножения различных патогенных микроорганизмов [18].

На сегодняшний день периодонтит считается болезнью, которую вызывает не один вид микробов, а их целое сообщество, которое и вызывает воспаление. При этом различные виды микроорганизмов находятся в дисбиотическом состоянии, который и способствует образованию различных хронических воспалений, что в конечном счёте приводит к полному разрушению тканей, которые поддерживают зуб.

Существует различное множество факторов, которые вызывают развитие биоплёнки. Все они делятся на две группы:

1. Плохая гигиена полости рта. Гигиена играет ключевую роль в образовании биоплёнки и в последующем развитии воспалительных процессов пародонта. При периодонтите основными найденными бактериями являются *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* и *Tannerella forsythia*. При проникновении глубоко в периодонт эти микроорганизмы вызывают воспалительные процессы [22].

2. Специфические условия, которые можно разделить ещё на 2 подгруппы:

- Местные факторы риска. Эти факторы могут располагать к накоплению бактериального налёта в одном определённом месте. Так же они могут создать благоприятную нишу для развития биоплёнки [22]. К местным факторам риска так же можно отнести факторы, которые способствуют удержанию зубного налёта (включают некоторые анатомические особенности зуба) – они благоприятствуют накоплению зубного налёта на краю десны, способствуя прикреплению и развитию биоплёнки, а также усложнению механического её очищения. К местным факторам риска можно ещё отнести сухость во рту- ксеростомия. Ксеростомия — это состояние, при котором уменьшается или же полностью прекращается выработка слюны. Это может приводить к ощущению дискомфорта и сухости во рту, затруднению при глотании, жевании и речи. Причинами сухости во рту могут стать такие факторы как

медикаментозное лечение (различные лекарства, такие как антигистамины, антидепрессанты, мочегонные средства, и обезболивающие), различные заболевания (синдром Шегрена, диабет, ВИЧ, СПИД, болезнь Паркинсона). Синдром Шегрена проявляется, когда ацинусы слюнных желёз заменяются фиброзом после аутоиммунного разрушения.

- Системные факторы риска – это факторы, которые присутствуют у человека и которые могут негативно влиять на иммунно-восстановительную реакцию и, следовательно, положительно влиять на рост биоплёнки, что может приводить к воспалению пародонта [27].

К системным факторам риска можно отнести курение (один из основных факторов риска, вызывающий воспаление пародонта и развития пародонтита. Так же известно, что постоянное поглощение сигаретного дыма вызывает сужение микрососудов и фиброз), метаболические факторы (сахарный диабет, гипергликемия), факторы питания (недостаток некоторых витаминов и минералов может вызывать разрушение тканей и заселение туда бактерий), повышенный уровень половых гормонов (во время полового созревания, приёма контрацептивов и беременности) [16].

1.4 Формирование зубного камня.

Зубной камень начинает образовываться уже спустя 12 часов после чистки зубов. Для полного его формирования необходимо от 4 до 6 месяцев. Зубной камень формируется в таких областях как шейка и коронка зуба, а также может образовываться на части корней зубов (Рис. 1).



Рис. 1 Зубной камень

Формирование зубного камня обусловлено наличием зубного налёта и последующем появлении на нём центров кристаллизации. Без этих двух факторов зубной камень образовываться не будет. Основную массу (около 90%) зубного камня составляют различные минеральные вещества. Наиболее распространёнными являются кальций, магний и различные фосфаты. Львиную долю всех кристаллических веществ приходится на фосфат кальция ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) – около 50%. Накопление фосфата кальция приводит к образованию слабоминерализованного зубного камня, который можно довольно легко удалить с поверхности зубов.

В составе зубных камней ещё встречаются соединения фтора в виде фторпатита CaF_2 и различные органические вещества, которые содержат фтор. Также, из органических веществ, входящих в состав зубного камня, можно выделить белки, углеводы и различные аминокислоты.

Образование зубного камня сопровождается процессом минерализации. Минерализация – это процесс поступления в эмаль зуба необходимых веществ, которые образуют кристаллы ГАП. Есть так же и противоположный этому процесс – деминерализация. При этом процессе идёт растворение кристаллов и происходит разрушение эмали. Оба этих процесса могут находиться в равновесии, но периодически может

преобладать один из них. Избыток ГАП в слюне сохраняется в пределах рН от 6,0 до 6,2. В более кислой среде идёт ускорение процесса разрушения кристаллов ГАП и запускается процесс деминерализации. Когда уровень рН опускается до 6–5, степень насыщенности слюны ГАП снижается примерно в 6,3 раза, а при повышении уровня рН до 6–8, концентрация ГАП в слюне возрастает почти в 100 раз. Когда слюна становится более щелочной начинаются процессы минерализации на поверхности тканей зубов, ГАП становится менее растворимым, что приводит к образованию зубных камней [5].

Зубной камень – это патологическое образование, располагающееся на поверхности зубов. Различают два вида зубных камней- наддесневой, который находится на поверхности десны и поддесневой, который может располагаться в поверхности между зубом и десной. Различают также зубные камни по цвету, так, например у темного зубного камня количество находящихся в нём минеральных веществ несколько больше, чем у светлых. Выявлено, что чем более камень минерализован, тем больше в нём находится следующих элементов: магний, кремний, стронций, алюминий, свинец. Сначала образуются маломинерализованные вещества зубного камня, которые состоят наполовину из бруслита $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; октокальцийфосфат $\text{Ca}_8(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$; карбонатные апатиты $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{CO}_3$; гидроксиапатит $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$; виктолит $\text{CaMg}(\text{PO}_4)$.

Стартовые биохимические изменения образуются на границе, находящейся между поверхностью эмали и самим основанием зубного камня [5].

Зубной камень образуется благодаря следующим факторам:

1. Употребление только мягкой пищи;
2. Неправильный прикус;
3. Нарушение обмена веществ;
4. Несоблюдение гигиены полости рта;

5. Жевание только на одной стороне челюсти;
6. Особенности структурного строения зубов.

Зубной камень образуется в основном в тех местах, где нет достаточного самоочищения при жевании пищи. После этого происходит пропитывание отложений минеральными компонентами, что как раз таки и приводит к образованию камней.

Наддесневой зубной камень можно обнаружить невооруженным глазом. Он светлый, имеет белый или желтоватый оттенок. В нём содержится небольшое количество минерализованных элементов. Данный зубной камень достаточно просто отделяется от поверхности зуба, что делает его очистку при помощи специальных инструментов довольно простой задачей.

Поддесневой зубной камень, наоборот, более плотный и твёрдый. Имеет более тёмную окраску, которая может перейти уже в чёрно-зелёный или же тёмно-коричневый цвета. Обнаружить такой камень возможно лишь у стоматолога с использованием специальных инструментов (зонда). Удалить такой камень является уже более сложной задачей, так как он достаточно плотно прилегает к поверхности зуба, а за счёт его твёрдости и жёсткости он довольно устойчив к внешним воздействиям [1].

1.5 Принципы механического удаления зубных отложений по методике A. Pattison.

Для удаления зубных камней с помощью стоматологических инструментов существуют различные методики. В книге «Periodontal instrumentation» Анна Паттисон сформулировала 15 принципов удаления твёрдого зубного налёта с помощью инструментов с различных поверхностей зубов.

Позиция оператора. Для удобства очистки, врачу нужно занять позицию между 7 и 8 часами по отношению к пациенту.

Принцип 1. Давление пальцев на точку опоры. Нужно надавить на средний палец и сделать скользящее движение по дистальной поверхности правого центрального резца, находящегося на нижней челюсти [11].

Принцип 2. Опорный и средний палец вместе. Следующий важный принцип при очистке от зубных отложений- соединение удерживающего и опорного пальцев. Если пальцы соединить таким образом, то движения станут сильными и крепкими [11].

Принцип 3. Место точки опоры. Точка опоры должна располагаться на латеральном крае левого резца. Опорный палец должен располагаться таким образом, чтобы нижнее лезвие инструмента было расположено параллельно обрабатываемой поверхности [11].

Принцип 4. Использование боковой поверхности среднего пальца для бокового давления. Для этого принципа необходимо, чтобы та часть инструмента, соединяющая ручку и само лезвие располагалась на боку среднего пальца, достаточно близко к ногтю. Нужно занять позицию на 9 часах по отношению к пациенту и начать скалировать дистальную поверхность нижнего правого второго моляра [11].

Принцип 5. Положение большого пальца и боковое давление. Существует также другой принцип удержания инструмента, при котором ручка инструмента располагается сбоку по отношению к среднему пальцу. Чтобы добиться нужного давления бокового давления с помощью большого пальца, нужно чтобы его ноготь находился на одной линии с лезвием инструмента [11].

Принцип 6. Указательный палец. При удалении зубных отложений, которые находятся над десной или под ней необходимо согнуть указательный палец и отвести его назад на ручке инструмента [11].

Принцип 7. Средний палец слегка согнут. При удалении над- и поддесневых зубных камней средний палец всегда должен быть слегка согнут и отведён назад, но уже чуть меньше, чем указательный. Опорой

должен служить безымянный палец, находящийся на центральном резце [11].

Принцип 8. Средний и указательный пальцы. Для того чтобы хорошо провести очистку зубных отложений необходимо всегда держать средний и указательный пальцы вместе. Даже когда указательный палец находится в согнутом положении, он всегда должен быть прижат к среднему пальцу [11].

Принцип 9. Положение ручки инструмента. Ручка инструмента и нижняя его часть всегда должны находиться параллельно очищаемой стороны зуба. Такая позиция позволяет лезвию хорошо проникать в труднодоступные места, а именно к самому основанию зубодесневого кармана [11].

Принцип 10. Движение кисти и гибкое движение пальца. Необходимо соблюдать баланс, который сочетает движение кисти и гибкие движения пальцев. При слишком малом движении кисти происходит не удаление зубного камня, а его полировка. При слишком активном – угол может получиться неправильным, что так же приведёт к плохому удалению камней [11].

Принцип 11. Движения кистью с боковым давлением. Необходимо большим пальцем создать достаточное давление на инструмент и одновременно вращать кисть из стороны в сторону. Если всё сделано правильно, то при удалении зубного камня будет слышен характерный скребущий звук [11].

Принцип 12. Срединная часть подушечки большого пальца на ручке. Для правильного использования данного принципа необходимо разместить подушечку большого пальца на ручку инструмента. Вследствие этого давление на зуб возрастёт и, соответственно, улучшится очищающий эффект [11].

Принцип 13. Регулирование положения большого пальца. Инструмент, которым производится очистка зубных отложений, нужно

вращать по направлению к себе. Но при такой работе есть недостаток-указательный палец может соскальзывать вниз по ручке. Для того чтобы не допустить соскальзывание пальца, нужно ослабить его давление на ручку инструмента. Также необходимо периодически немного изменять положение пальца каждый раз, как он соскальзывает вниз [11].

Принцип 14. Вращение на точке опоры. Во время произведения очистки зубной поверхности необходимо не только вращать инструмент в пальцах, но и производить вращение самой точки опоры. Одновременно с вращением инструмента большим пальцем необходимо вращать и точку опоры для предотвращения соскальзывания пальца с нужной позиции и сохранения необходимого давления на поверхность очищаемого зуба [11].

Принцип 15. Положение инструмента. Если брать ручку инструмента всеми пальцами, соединёнными вместе, то потеряется контроль над инструментом и нужное давление. Для предотвращения этого нужно большой палец разместить так, чтобы он одновременно упирался в зуб, что будет обеспечивать равномерное давление по всей длине инструмента. Также нужно помнить, что нельзя удерживать инструмент всеми пальцами в одной точке — это ведёт к полному потере контроля над ним и стабильности [11].

1.6 Действие препаратов для химического удаления зубного камня.

Химический метод удаления зубных камней применяется в случае, когда противопоказаны иные методы удаления противопоказаны или когда зубной камень очень прочно прикреплен к поверхности зуба [33].

Но в химическом методе есть свои недостатки. Главный недостаток — при химической очистке можно убрать только наддесневые зубные камни,

так как реагенты не могут проникнуть вглубь под десну и в область между зубами. Вследствие этого микробы, которые провоцируют появление зубного налёта, не погибают. Из-за этого уже через короткий промежуток времени налёт появляется вновь. Также недостатком в химическом методе удаления зубных камней является агрессивное воздействие веществ, находящихся в составе препаратов, на зубную эмаль. Главным образом вымываются ионы фтора, что способствует разрушению эмали. Применять эти химические вещества нужно с большой осторожностью, соблюдая их концентрацию и время воздействия на поверхность рта.

Средства для удаления зубного камня представлены различными гелями, суспензиями и пастами [9].

1. Detartrol ultra – жидкость для удаления зубных камней. (Septodont, Франция) (рис. 2)



Рис. 2 Detartrol ultra

Состав: концентрированная соляная кислота (20%), йод (0,75%) и хлороформ (20%).

Данный препарат имеет сильное воздействие на зубные отложения, но в то же время он не так агрессивен по отношению к зубной эмали. Detartrol ultra также может временно окрашивать все виды отложений (живые или неживые), что позволяет стоматологу выявить те отложения, которые сложно обнаружить иными методами.

Противопоказания: аллергия на йод, беременность и период лактации.

2. Скалинг – гель для размягчения тканей (Омега-Дент Россия) (рис. 3)



Рис. 3 Скалинг-гель

Состав: соляная кислота, многоатомные спирты, аэросил, йодид калия, загуститель, дистиллированная вода.

Препарат обладает мягким воздействием на десну и эмаль зубов, удаление камней происходит благодаря их размягчению и растворению. Гель также обладает окрашивающим эффектом. Он способен обнаруживать различные трещины и инфицированную ткань.

Противопоказания: аллергия на йод или на любой другой компонент, находящийся в составе геля.

3. Белгель Р – гель, для размягчения тканей (ВладМиВа, Россия). (рис. 4).

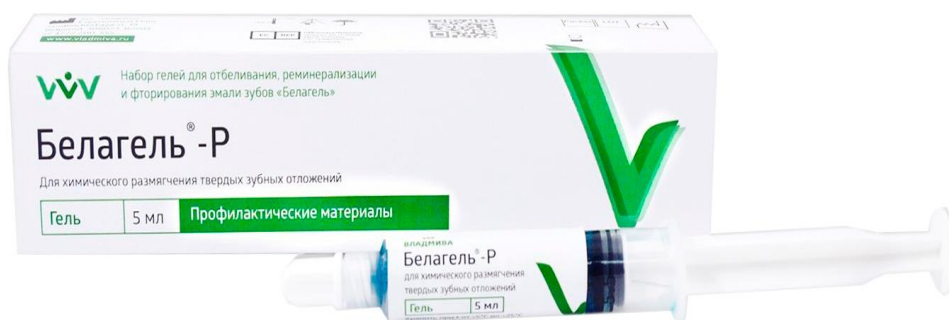


Рис. 4 Белгель Р

Состав: эфирные масла и кислотный компонент.

Препарат работает следующим образом- кислотный компонент, входящий в состав геля, разрушает соли, которые входят в состав зубного камня. Эфирные масла нужны для придания свежести. Гель также может окрашивать зубной налёт. Окрас идёт в синий цвет, что даёт хороший контраст с зубной эмалью и помогает врачу контролировать процесс снятия камня [15].

Противопоказания: отсутствуют.

4. Полидент №1 – паста, предназначенная для мягкого удаления зубного камня, а также удаления тёмного налёта. (ВладМиВа, Россия). (рис. 5)



Рис. 5 Полидент №1

Состав: абразив, антисептик и кислотный компонент.

Главным отличием данной пасты от предыдущих является наличие абразива, что делает очистку от зубного камня более эффективным. Сочетает химическое и физическое удаление зубных отложений.

Противопоказания: отсутствуют.

5. ПолирПаст-Z – паста, предназначенная для удаления зубных камней. (Омега-Дент, Россия) (рис. 6)



Рис. 6 ПолирПаст-Z

Состав: мелкодисперсный абразив, ароматизатор, связующие компоненты и силиконовые добавки.

Данная паста работает благодаря мелкодисперсному абразиву, входящий в его состав. Абразив снимает зубные отложения, не повреждая эмаль и поверхность зубов. Также обладает полирующим эффектом [8].

Противопоказания: Отсутствуют.

6. MiraZr – абразивная паста, предназначенная для удаления полировки и удаления твёрдого зубного камня. (Kagayaki (Кагаяки) Россия). (рис. 7)



Рис. 7 Mira Zr

Состав: спечённые наноабразивные частицы, измельчённый цирконий, водоудерживающие добавки.

Входящие в состав абразивные частицы позволяют мягко убрать зубные отложения на поверхности эмали, не травмируя её. Также паста позволяет полировать достаточно глубокие царапины, вызванные при очистке инструментом. Цирконий усиливает абразивные функции пасты. Водоудерживающие добавки нужны для предотвращения высыхания пасты в труднодоступных местах, что даёт возможность легко её вымыть оттуда [12].

Противопоказания: отсутствуют.

7. Аэр-Клинз – суспензия для удаления зубного камня (ВладМиВа, Россия.) (рис.8)



Рис. 8 Аэр-Клинз.

Состав: ГАП (размер частиц составляет 5-7 мкм.), вещества, образующие суспензию – эмульгатор, консерванты и ароматизаторы. Плотность суспензии – 1-1,1 г/см³.

Благодаря тому что Аэр-Клинз является суспензией, это позволяет препарату проникать в труднодоступные места, например в поддесневой карман. Очищает поверхность рта от биоплёнки и зубного налёта, не травмируя при этом зубную эмаль [15].

Противопоказания: при наличии аллергии на компоненты, входящие в состав препарата, использовать его не рекомендуется.

8. Полирен №1 – паста на основе лимонной кислоты, размягчающая и удаляющая зубной камень без повреждения эмали. (Технодент, Россия). (рис. 9)



Рис. 9 Полирен №1

Состав: мелкодисперсный абразивный наполнитель, лимонная кислота (20%)

Содержащаяся в пасте лимонная кислота способствует мягкому и быстрому удалению зубных отложений в полости рта без повреждения эмали зуба [7].

Противопоказания: аллергия на цитрусовые и другие компоненты, находящиеся в пасте.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве основного материала для проведения бактериологического исследования микробиоты были взяты зубные камни 20 пациентов с различной стоматологической патологией. Клинический материал был получен на приеме врача стоматолога стоматологической клиники «Примадент» г. Уфа.

Практическая часть эксперимента была выполнена на кафедре фундаментальной и прикладной микробиологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России.

Методы исследования:

1. Метод культурального посева на питательные среды, получение чистых культур бактерий;
2. Идентификация чистых культур полученных штаммов методом масс-спектрометрии на основе Малди-тоф;
3. Обработка полученных данных.

2.1 Взятие биоматериала

Зубные камни брали механическим способом с помощью стоматологической кюретки. Взятые камни были помещены в пробирки с тиогликолевой средой. Затем пробирки с материалом помещали в шейкер-инкубатор (рис. 10) на сутки для их раздробления и последующего посева биоматериала на питательные среды.



Рис. 10 Шейкер-инкубатор

2.2 Подготовка лабораторной посуды

Лабораторная посуда должна быть чисто вымыта, для этой цели используют нейтральные моющие средства, дополнительно для чистки могут использоваться специальные ершики и щетки. Вымытую в водопроводной воде посуду ополаскивают дистиллированной водой, после чего высушивают на лабораторных подносах при комнатной температуре.

Чистые и высушенные чашки Петри и флаконы заворачивают в бумагу и размещают в сухожаровые шкафы не слишком плотно друг к другу. Стерилизацию проводят 90 минут при температуре 180°C (для чашек) и 60 минут при температуре 160°C (для флаконов и пробирок). По завершению стерилизации сухожаровой шкаф не открывают до тех пор, пока температура в нем не снизится до комнатной. После чего посуда может быть использована по необходимости.

Стерильные флаконы с питательной средой стерилизуют насыщенным паром под давлением (автоклавирование) при 1,1 атм (121°C) в течение 15 минут. По завершению стерилизации автоклав отключают, флакон со средой удаляют из автоклава, после чего производят разлив среды в необходимую посуду.

2.3 Приготовление питательных сред для культивирования бактерий

Приготовление питательных сред

Для исследования микробиоты зубного камня были сварены следующие среды:

1. ГМ-Ф-Агар (рис. 11)

Состав, г/л:

Пептон мясной - 15.0

Натрий хлористый – 8.0

Агар бактериологический – 10.0 ± 3.0

Способ приготовления:

Для приготовления ГМ-Ф-Агара взяли 36.0 граммов питательной среды и размешали её в 1 литре дистиллированной воды. Далее кипятили 2 минуты до полного расплавления агара. После кипячения, горячую среду профильтровали через ватно-марлевый фильтр, разлили в стеклянные флаконы и стерилизовали в автоклаве при температуре 121 °С в течение 15 минут. Следом среду остудили до температуры 48 °С и разлили в стерильные чашки Петри слоем до 4–5 миллиметров. После того как среда застыла, при соблюдении правил асептики, подсушили чашки в течение 40–60 минут при температуре 37 °С. В таком виде агар пригоден для использования в течение 7 суток при температуре хранения от 2 до 8 °С.

2. MRS (рис. 12)

Состав среды г/л:

Протеозопептон – 10,00

Мясной экстракт – 10,00

Дрожжевой экстракт – 5,00

Глюкоза (безводная) – 20,00

Твин-80 -1,00

Аммония цитрат – 2,00

Натрия ацетат – 5,00

Магния сульфат – 0,10

Марганца сульфат – 0,05

Калия гидрофосфат – 2,00

Способ приготовления:

Для приготовления среды MRS суспензировали 55,15 граммов среды в 1 литре дистиллированной воды. Далее кипятили среду 3 минуты до полного растворения компонентов в жидкости. Следом поместили в автоклав на 15 минут при температуре 121 °С и давлении 1,1 атм. После автоклавирования среды охладили до температуры 45- 50 °С, тщательно перемешали и разлили в стерильные чашки Петри до уровня примерно 4-5 миллиметров.

3. Сабуро (рис. 13)

Состав г/л:

Панкреатический гидролизат рыбной муки – 10,0

Панкреатический гидролизат казеина – 10,0

Дрожжевой экстракт – 2,0

Натрия фосфат однозамещённый – 2,0

Д-глюкоза – 40,0

Агар бактериологический – $10,0 \pm 3,0$

Способ приготовления:

54 грамма среды размешали в 1 литре дистиллированной воды. Далее кипятили до полного расплавления среды. Варили в течение 2–3 минут. Далее разлили среды в стерильные колбы и стерилизовали в автоклаве при температуре 112 °С. После автоклавирования в условиях асептики остудили среды и разлили их по чашкам Петри до уровня примерно 4–5 миллиметров.

4. ЖСА (рис. 14)

Состав г/л:

Агар бактериологический – $35,0 \pm 1,8$

Натрия хлорид – 75

Натрий углекислый – 0,15

Динатрия фосфат обезвоженный – 0,5

Способ приготовления:

Для приготовления взяли 108 граммов сухой среды и размешали её в 1 литре дистиллированной воды. Далее кипятили до полного расплавления среды. Следующим шагом являлось стерилизация среды путём автоклавирования при давлении 1,1 атм. и температуре 121 °С в течение 15 минут. Далее остудили среду и с учётом всех условий асептики разлили их в чашки Петри до уровня примерно 4–5 миллиметров.

5. Эндо (рис. 15)

Состав г/л:

Агар бактериологический – 26,5

ЭКДА – 1,22

Фуксин основной – 0,23

Сахар молочный – 10,7

Динатрия фосфат – 0,48

Натрия сульфат безводный – 0,83

Натрия карбонат – 0,03

Способ приготовления:

40 граммов сухой среды размешали в 1 литре дистиллированной воды. Кипятили до полного расплавления среды в течение 3-х минут. Далее профильтровали через ватно-марлевый фильтр и снова довели до кипения. Следом среду охладили до температуры примерно 45–50 °С, перемешали и с условием соблюдения всех правил асептики разлили в чашки Петри до уровня примерно 3–4 миллиметров. После застывания среды чашки подсушили при температуре 37 °С в течение 40–60 минут.

6. Эритрит агар (рис. 16)

Состав г/л:

Питательный агар сухой – 35,0

Тиамин бромид – 0,005

Д (+) – глюкоза – 1,0

Эритрит – 0,0122

Способ приготовления:

36 граммов сухой среды размешали в 1 литре дистиллированной воды. Далее кипятили до полного расплавления агара в течение 2-3 минут. В среду при варке добавили витамин К₂, а также альбумин. Далее среду профильтровали через ватно-марлевый фильтр, разлили в стерильные флаконы, закрыли ватно-марлевыми пробками и автоклавировали при температуре 121 °С в течение 20 минут. Далее с соблюдением всех условий асептики среду разлили в чашки Петри до уровня примерно 4-5 миллиметров.

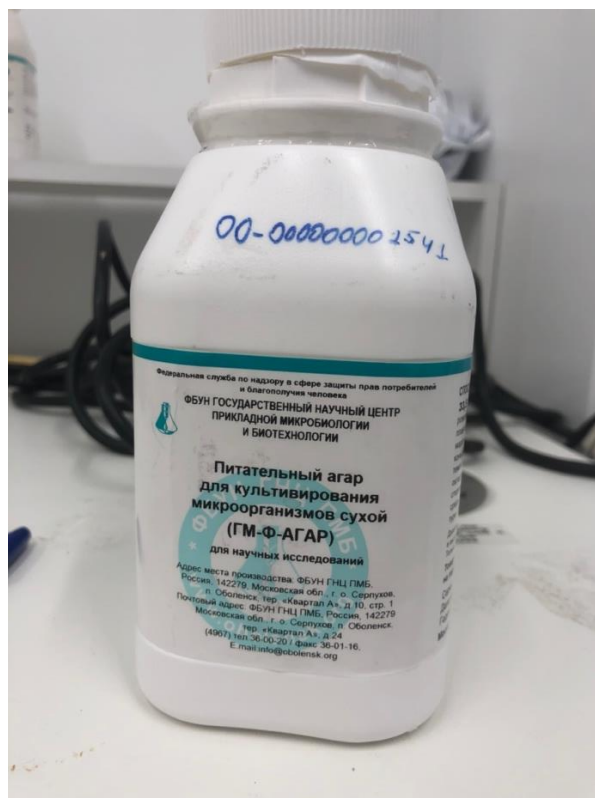


Рис. 11 ГМ-Ф Агар



Рис. 12 Среда MRS

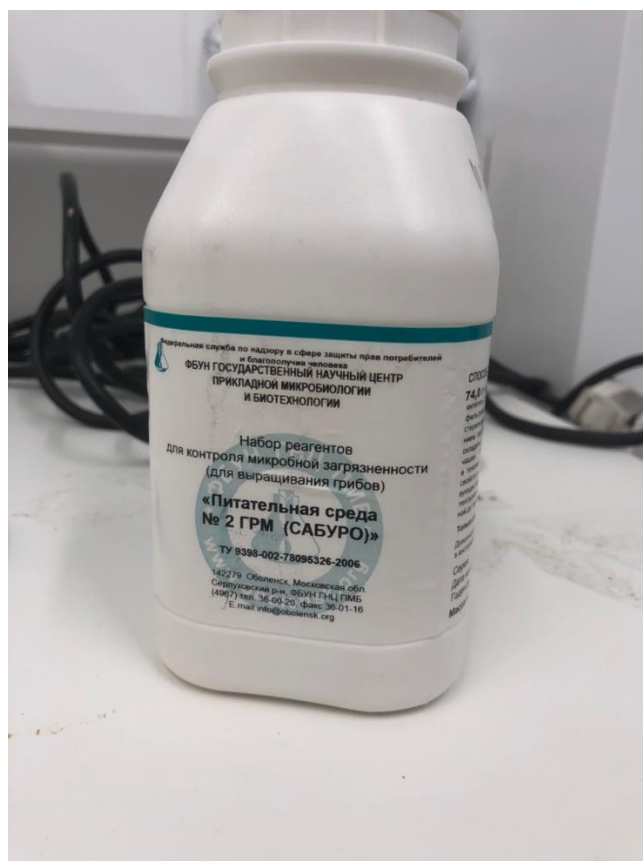


Рис. 13 Среда Сабура

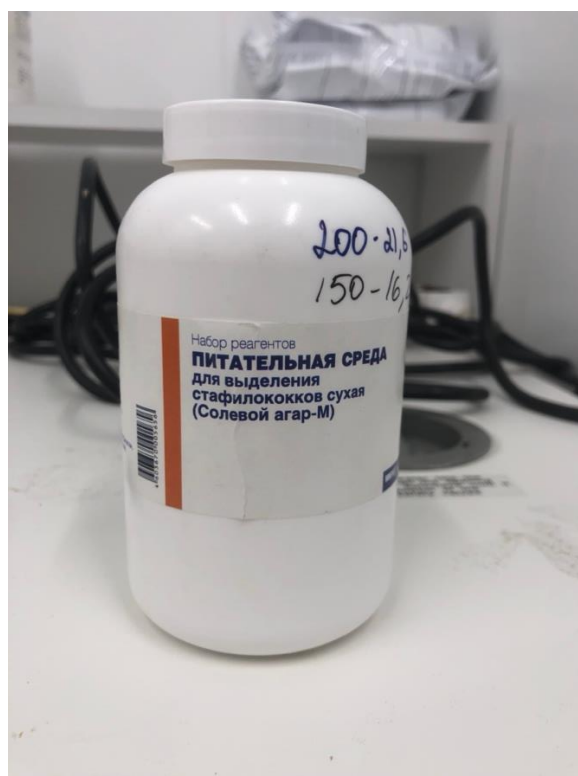


Рис. 14 Желточно-солевой агар

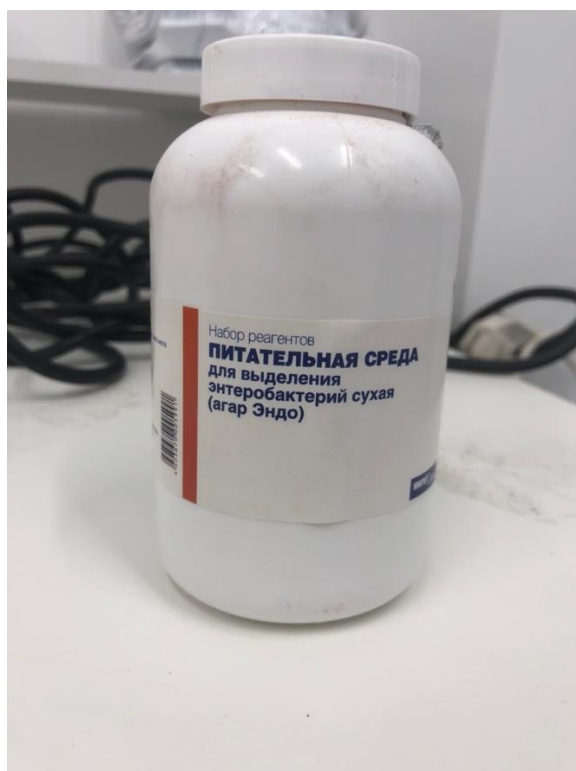


Рис. 15 Среда Эндо

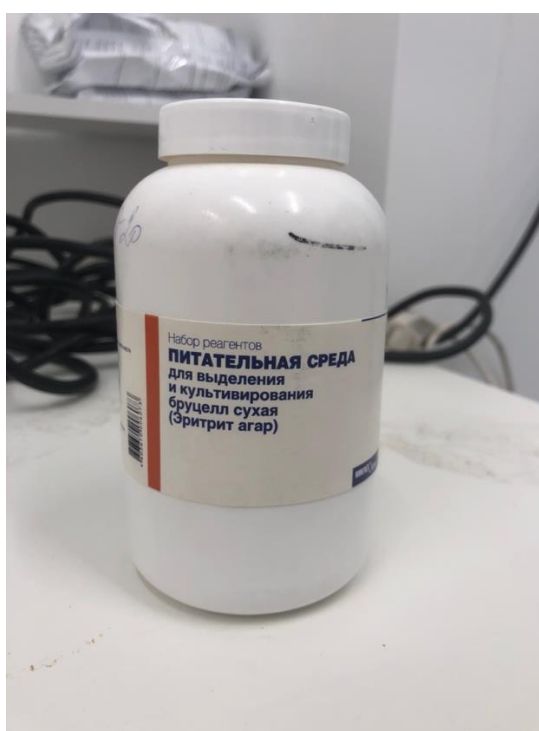


Рис. 16 Эритрит агар

2.4 Метод культурального посева на питательные среды

Перед посевом берут сосуд с расплавленной и остуженной до 45°C питательной средой и разливают в стерильные стеклянные чашки Петри по 25мл. После застывания среды чашки Петри подсушивают при 37°C 40-60

минут. Далее используют по необходимости либо помещают в холодильник на хранение.

Первичный посев биологических жидкостей производился в первый же день получения материала. Биоматериал тщательно растирали петлей в первом секторе чашки Петри, после чего петлю прожигали, затем от 1 сектора проводили штрихи во 2 секторе, после чего проделывали те же действия со 3 и 4 секторами. Инкубация проводилась в термостате при 37°C в течение 24ч, энтерококк агар, ЖСА – 48ч; чашки с MRS-агаром – до 2х суток при 37°C в термостате с подачей углекислого газа. Посев на агар Сабуро проводился другим методом: тремя проколами в толщу среды. Инкубирование – до 4х суток при 28°C.

После чего проводили вторичные пересевы выросших бактерий для получения чистых культур с целью их идентификации: отдельные культуры микроорганизмов тщательно растирали петлей в первом секторе чашки Петри, после чего петлю прожигали и снова проводили петлей по 1 сектору, делая при этом 4 линии, перенося материал на 2 сектор, далее проделывали те же действия со 3 и 4 секторами. Либо производили посев методом истощающего штриха в модификациях. Инкубация проводилась по той же схеме, что и при первичных посевах.

2.5 Метод идентификации бактерий методом масс-спектрометрии

Использование метода MALDI-ToF необходимо для идентификации бактериальных клеток с точностью до 1 фемтомоля (10^{-15} моль). Благодаря такой точности есть возможность правильно определять те или иные микроорганизмы.

MALDI-ToF представляет собой прибор, где используется (рис. 17):

MALDI – система получения ионов из твёрдой фазы. Это метод «мягкой» ионизации сухого вещества, обусловленный воздействием лазерного облучения на смесь матрицы с анализируемым веществом.

ToF – время-пролётный метод разделения ионов в вакууме [17].

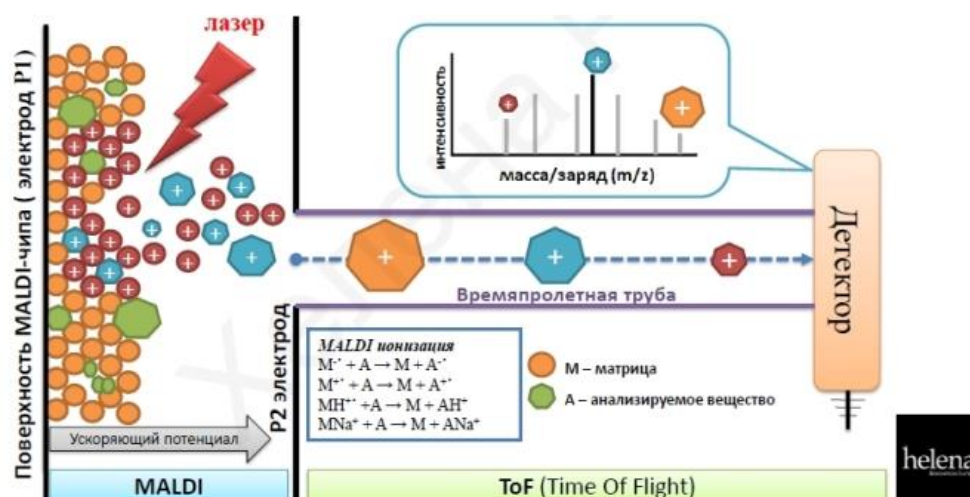


Рис. 17 Схема работы MALDI-ToF

В нашей работе использовался прибор MALDI-ToF AUTOF MS2600 от компании Autobio Diagnostics Co., Ltd (Китай) (рис. 18)



Рис. 18 MALDI-ToF AUTOF MS2600

Для проведения анализа путём масс-спектрометрии с чашек Петри берётся часть чистой колонии и наносится на специальную планшетку, где есть деления на ячейки. Далее на эти ячейки поверх микроорганизмов наносится небольшое количество матрицы, и пластинка высушивается (5 минут). Далее идёт процесс калибровки.

Весь дальнейший процесс после калибровки полностью автоматизирован. Аппарат испускает поочерёдно в каждую из ячеек пучок

лазера, тем самым определяя его спектр. Далее этот спектр с помощью встроенного программного обеспечения сравнивается со спектром, хранящимся в системной библиотеке. В конечном счёте аппарат показывает результат исследователю в виде процентов соответствия искомого микроорганизма с библиотекой данных, что отражает степень достоверности идентификации.

Глава 3. Результаты и обсуждения.

3.1 Анализ полученных данных и их статистическая обработка

После анализа биоматериала на масс-спектрометре аппарат предоставил результаты, которые были занесены в таблицу (таблица 1):

Таблица 1. Результаты бактериологического исследования образцов.

1	<i>Streptococcus oralis</i> , <i>Streptococcus anginosus</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Enterococcus faecium</i> .
2	<i>Streptococcus oralis</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Altenaria alternata</i> .
3	<i>Streptococcus oralis</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Kocuria rhizophila</i> , <i>Penicillium spp.</i> , <i>Candida dubliniensis</i> , <i>Streptococcus anginosus</i> , <i>Trichophyton interdigitale</i> , <i>Actinomucor elegans</i> , <i>Candida tropicalis</i> .
4	<i>Streptococcus oralis</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Streptococcus anginosus</i> .
5	<i>Streptococcus oralis</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i> , <i>Staphylococcus hominis</i> .
6	<i>Streptococcus oralis</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i> , <i>Candida kefyr</i> , <i>Mycobacterium sherrisii</i> .
7	<i>Streptococcus oralis</i> , <i>Streptococcus anginosus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Streptococcus salivarius</i> , <i>Neurospora crassa</i> .

8	<i>Streptococcus oralis</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Rothia dentocariosa</i> , <i>Staphylococcus hominis</i> , <i>Streptococcus anginosus</i> .
9	<i>Streptococcus oralis</i> , <i>Streptococcus anginosus</i> , <i>Streptococcus salivarius</i> , <i>Microbacterium murale</i> .
10	<i>Streptococcus oralis</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Aspergillus chevalieri</i> , <i>Staphylococcus hominis</i> , <i>Microbacterium murale</i> .
11	<i>Streptococcus oralis</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Streptococcus anginosus</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> .
12	<i>Staphylococcus hominis</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Rhodococcus wratislaviensis</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i> , <i>Mycobacterium bovis</i> .
13	<i>Penicillium urticae</i> , <i>Streptococcus mitis</i> , <i>Streptococcus sinensis</i> , <i>Streptococcus oralis</i> , <i>Streptococcus constellatus</i> , <i>Streptococcus anginosus</i> .
14	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Streptococcus salivarius</i> , <i>Staphylococcus haemolyticus</i> , <i>Streptococcus constellatus</i> , <i>Streptococcus vestibularis</i> , <i>Staphylococcus hominis</i> .
15	<i>Streptococcus gallolyticus</i> , <i>Streptococcus koreensis</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Streptococcus oralis</i> , <i>Arthrobacter sulfonivorans</i> .
16	<i>Streptococcus salivarius</i> , <i>Streptococcus vestibularis</i> , <i>Staphylococcus hominis</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Streptococcus oralis</i> , <i>Arthrobacter sulfonivorans</i> , <i>Microsporum audouinii</i> , <i>Trichophyton indotineae</i> , <i>Candida allociferrii</i> , <i>Candida albicans</i> .
17	<i>Streptococcus salivarius</i> , <i>Streptococcus parasanguinis</i> , <i>Micrococcus luteus</i> .
18	<i>Escherichia coli</i> , <i>Streptococcus oralis</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> .
19	<i>Lactobacillus fermentum</i> .
20	<i>Micrococcus luteus</i> .

По данным таблицы можно составить следующие выводы:

3.1.1 Частота встречаемости микроорганизмов.

Были составлены следующие диаграммы (рис.19) (рис.20):

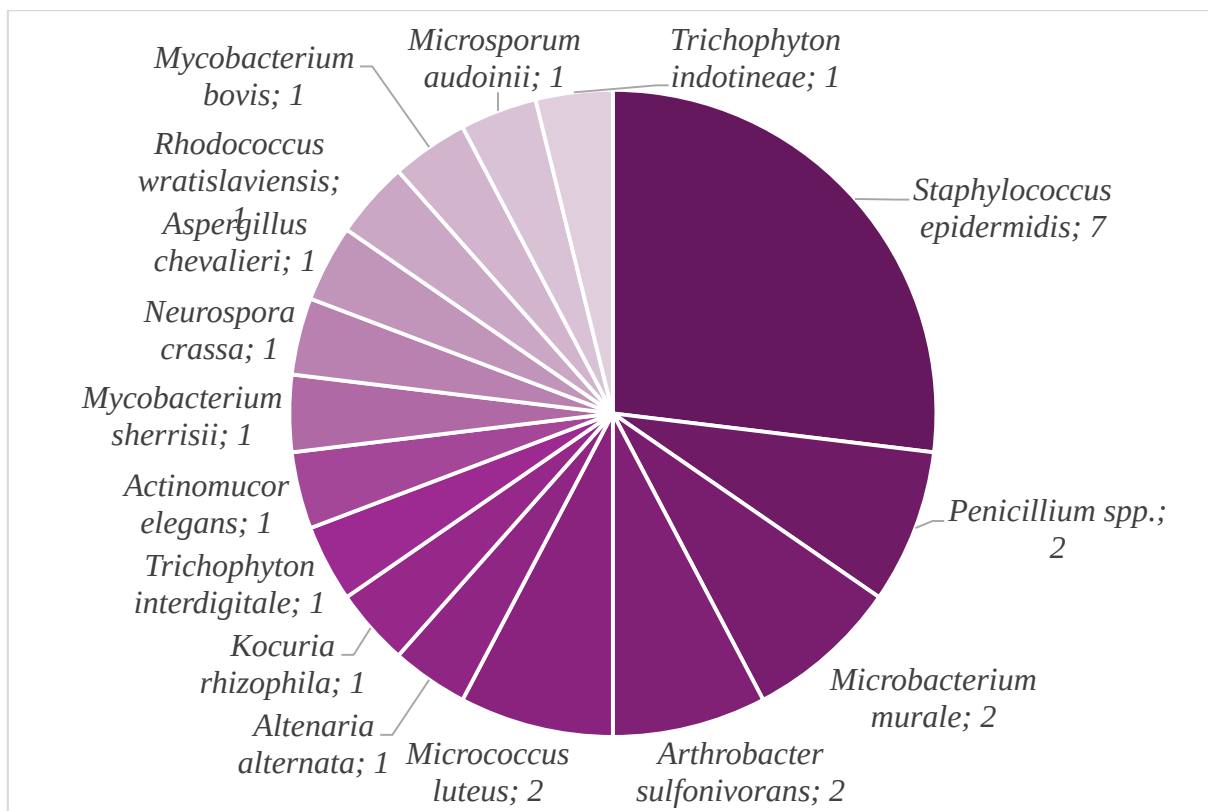


Рисунок 19 Аэробные микроорганизмы, частота встречаемости %.

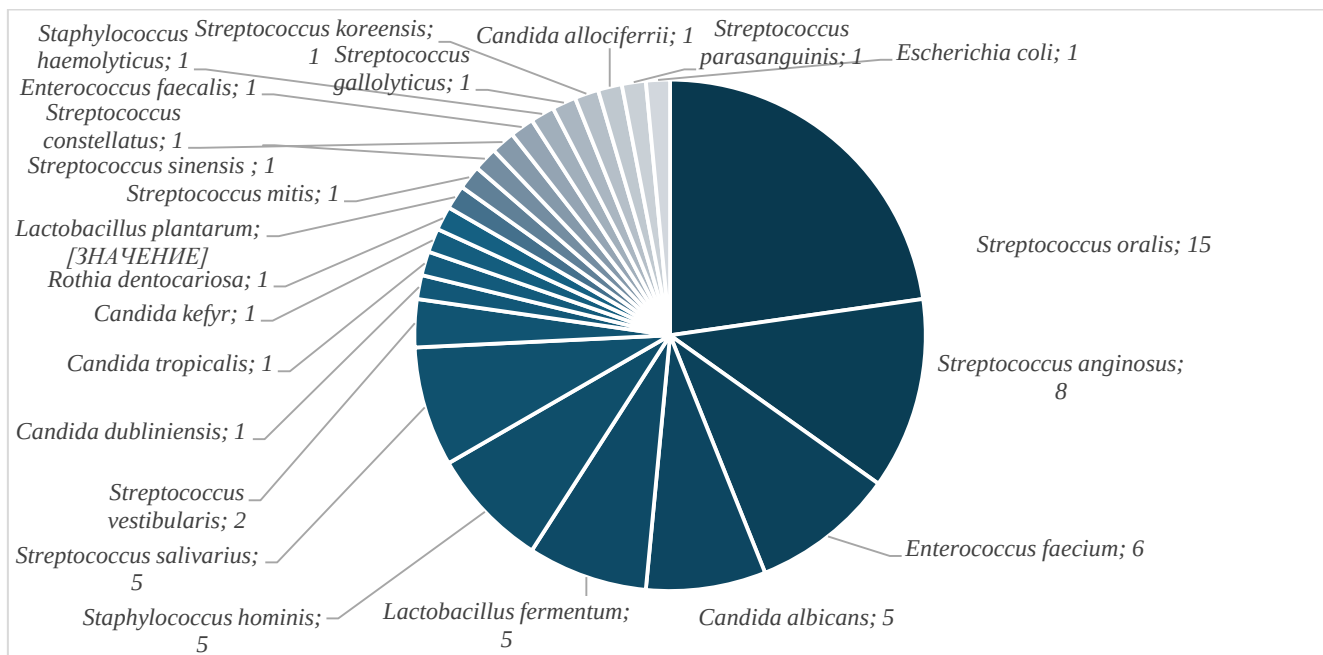


Рисунок 20 Факультативно-анаэробные микроорганизмы, частота встречаемости %.

Из данных диаграмм можно отдельно выделить бактерию *Streptococcus oralis* – она встречается чаще всего среди всех 20 пациентов, а именно – у 15 человек. Также можно выделить бактерию *Staphylococcus epidermidis* – из всех пациентов она встречается у 7 человек.

Практически во всех образцах зубных камней присутствует *Streptococcus oralis*, что может говорить о его важной роли в формировании биопленок. Представители рода *Streptococcus*: *Streptococcus mitis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pseudopneumoniae*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus massilensis*, *Streptococcus parasanguinis*, *Streptococcus oligofermentas*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus orisratti*, *Streptococcus cristatus*, *Streptococcus sinensis*, *Streptococcus infantis*, *Streptococcus australis*, *Streptococcus peroris*. Участники данной группы являются постоянными обитателями слизистой полости рта, ЖКТ, мочеполовой системы и кожи [3].

При наличии некоторых факторов риска, у пациентов, которые подвергались использованию различных зубных нитей, а также при хирургических и различных инвазивных манипуляциях, возможно развитие процесса инфекции в виде бактериального эндокардита [23].

Также большую роль в столь частой встречаемости рода *Streptococcus* играет тот факт, что представители этого рода являются одними из первичных колонизаторов зубной поверхности, так как они способны адгезироваться к пелликуле зубов, что позволяет им закрепиться на поверхности и начать процесс колонизации [24].

По имеющимся данным была составлена диаграмма (рис. 21):

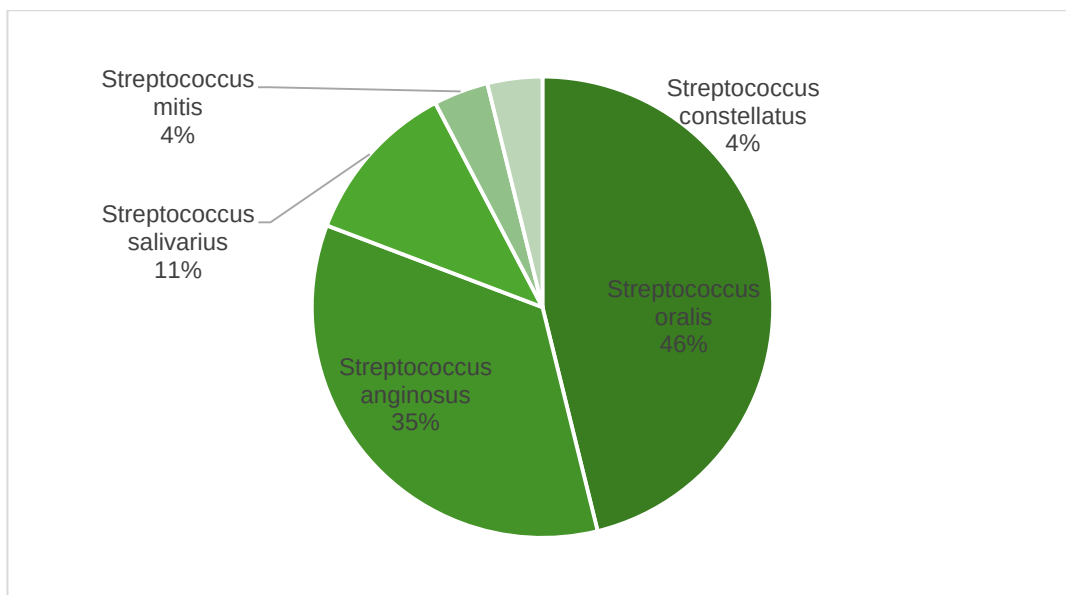


Рис. 21 Диаграмма, построенная на основе полученных данных о бактериях рода *Streptococcus*.

По диаграмме хорошо видно, что из всех представителей рода *Streptococcus* наиболее часто встречаются именно *Streptococcus oralis* и *Streptococcus anginosus*, которые являются представителями нормальной микрофлоры полости рта.

3.1.2 Разнообразие микробиоты.

У некоторых пациентов микробиота представлена несколько более разнообразными видами микроорганизмов, чем у остальных. Рассмотрим пациента под номером 3. В составе его зубных камней были обнаружены как бактерии (*Streptococcus oralis*, *Streptococcus anginosus*, *Kocuria rhizophila*), так и грибы (*Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Penicillium spp.*, *Trichophyton interdigitale*, *Actinomucor elegans*). Столь большое разнообразие микроорганизмов в слизистой может говорить о биоплёнке в полости рта, что может рассказать нам об гигиенических привычках пациента, диете, состоянии иммунной системы.

Также у некоторых пациентов, а именно у пациентов под номерами 1, 2, 3, 10 были найдены грибы рода *Candida*. Грибы этого рода хоть и могут иногда встречаться в качестве нормальной микробиоты в полости рта, но зачастую они являются возбудителями таких заболеваний как стоматит и

гингивит. Основным возбудителем этих болезней является *Candida albicans*. Также, грибы этого вида образуют биоплёнки, которые характеризуются большой резистентностью к различным антибиотикам и азолам, включая и новые препараты данного класса – вориконазол и позаконазол. Также известно, что грибы, находящиеся в составе биоплёнки в 1000 раз более устойчивы к различным антибиотикам, чем их свободноживущие формы [13].

У этих пациентов также был ранее поставлен диагноз гингивит – кандидозная инфекция дёсен.

Также благодаря последним исследованиям стало известно, что биоплёнка, которая формируется грибами, становится местом колонизации представителей таких бактерий как: стрептококки, энтерококки, лактобациллы и другие. Многие из них обладают высоким патогенным потенциалом [2].

Наличие грибов рода *Candida* является свидетельством о нарушении баланса микрофлоры полости рта. Хотя у данных пациентов и не наблюдалось признаков заболевания стоматитом, само наличие данных грибов может в будущем вызвать проблемы с полостью рта.

У пациентов под номерами 1, 4, 5, 6, 8, 11 были найдены *Enterococcus faecium*.

Enterococcus faecium – это грамположительный, факультативный неподвижный анаэроб, не образующий спор [25]. В полости рта данная бактерия считается транзитной, так как основным её местом обитания считается желудочно-кишечный тракт.

Известно, что энтерококки способны колонизировать слизистую оболочку полости рта, что делает её основным резервуаром, содержащим данную бактерию [21].

Enterococcus faecium является доминирующим видом энтерококков. Он вызывает такие заболевания как кариес, пульпит, периодонтит и

периимплантит [31]. Что примечательно – у данных пациентов также проявляется кариес в той или иной степени.

Одной из главных проблем в лечении болезней, вызванных данным энтерококком, является его большая резистентность к различным видам асептических и антисептических мероприятий, таким как ультрафиолетовое облучение, устойчивость к этанолу, перекиси водорода, гипохлорита натрия. Также они прекрасно себя чувствуют при температуре 60 °С в течение 30 минут, растут при температуре 10 °С, а также при pH 9,6 и в 6,5% растворе NaCl [4].

3.1.3 Роль молочнокислых бактерий.

У пациентов под номерами 4, 5, 6 были найдены бактерии *Lactobacillus fermentum*, а у 11 – *Lactobacillus plantarum*.

Эти бактерии в основном обитают в кишечнике человека и в полости рта попадают транзитом. В большинстве случаев эти бактерии непатогенны. В полости рта бактерии рода *Lactobacillus* в основном своём выполняет положительные функции- могут понижать уровень pH, что препятствует росту патогенных микроорганизмов; конкурируют с патогенными микроорганизмами за место обитания в полости рта – они могут вырабатывать пероксид водорода, а также различные бактериоцины, тем самым истребляя их; лактобактерии также могут образовывать биоплёнки на поверхности зубов и дёсен, но главное их отличие от других биоплёнок заключается в том, что она в основном своём не наносит вреда тканям человека. Благодаря этой биоплёнке бактерии рода *Lactobacillus* не дают патогенным микроорганизмам колонизировать полость рта. Поэтому можно предположить, что у пациента под номером 19, у которого в зубном камне были обнаружены только лактобактерии, эти бактерии могли истребить другие патогенные и не только микроорганизмы.

У пациентов под номерами 17, 19 и 20 никаких отклонений обнаружено не было – эти люди пришли на простую чистку от зубных отложений. Это может быть связано с тем, что у них в составе микрофлоры

ротовой полости имеются только те микроорганизмы, которые входят в нормофлору слизистой рта.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Зубной камень — это результат жизнедеятельности микроорганизмов, которые обитают в сообществе между собой, образуя биоплёнку. В основном камень образуется вследствие несоблюдения гигиены полости рта.

В данной работе мы определили, какие микроорганизмы чаще всего встречаются в нормальной микрофлоре ротовой полости человека. Наибольший процент встречаемости оказался у бактерии вида *Streptococcus oralis* – из всех 20 пациентов он встречается у 15, то есть у 75% всех человек.

Также у некоторых пациентов были обнаружены грибок *Candida albicans*. Он встречается у 5 из 20 пациентов, то есть у 25% всех обследуемых людей. У всех этих пациентов был заранее поставлен диагноз гингивит, что может говорить о том, что именно данный вид гриба играет ключевую роль в развитии этого заболевания.

Выявленная в ходе микробиологического исследования состава микробиоты зубного налета необходимо учитывать при планировании профилактической работы и лечения со стороны врачей стоматологов – терапевтов, врачей - ортодонтотв и гигиенистов стоматологических.

ВЫВОДЫ

1. В ходе бактериологического исследования определена микробиота зубного камня у двадцати пациентов с различной стоматологической патологией.

2. В результате идентификации до вида выделенных чистых культур методом масс-спектрометрии были детектированы 40 различных видов микроорганизмов в анализируемых образцах. Наиболее встречаемыми оказались бактерии рода *Streptococcus oralis* 15,9%, *Streptococcus anginosus* 8,5%, а также *Enterococcus faecium* 6,4%.

3. Видовой состав заметно отличается у пациентов с различными стоматологическими патологиями. У пациентов не имеющих патологий стоматологического профиля, состав микроботы характеризовался преобладанием *Streptococcus* spp., *Lactobacillus* spp. У пациентов с диагнозом гингивит, состав микрофлоры характеризовался преобладанием *Streptococcus oralis*, *Lactobacillus fermentum*, *Candida albicans*. У пациентов с диагнозом кариес, состав микрофлоры характеризовался преобладанием *Streptococcus* spp., *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecium*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Азизова Д.А., Хафизов Р.Г., Хафизова Ф.А., Зарипова Э.М., Житко А.К. Современные материалы и методы профилактики стоматологических заболеваний: учеб.-метод. пособие. – Казань: Казан. ун-т. - 2014. – 52 с.
2. Арутюнов А.С., Царева Т.В., Киракосян Л.Г., Левченко И.М. Особенности и значение адгезии бактерий и грибов полости рта как эта- па формирования микробной биопленки на стоматологических полимерных материалах // Стоматология. – 2020. - №1. – С. 79-84.
3. Бажутова И.В., Исмагуллин Д.Д., Лямин А.В., Трунин Д.А., Жестков А.В., Разумный В.А. Клиническое значение представителей рода *Streptococcus* при развитии пародонтита // Инфекция и иммунитет. – 2022. - №1. - С.51–58.
4. Баранцевич Н.Е, Орехова Л.Ю, Баранцевич Е.П. Роль *Enterococcus faecalis* при апикальном периодонтите // Пародонтология. – 2021. - №1. – С. 275-283.
5. Биохимия твердых тканей полости рта в норме и при патологии. Учебное пособие предназначено для самостоятельной работы студентов по специальности «Стоматология» // ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздрава России. – М.: Издательство – 2019. – 71 С.
6. Зеленова Е.Г., Заславская М.И., Салина Е.В., Рассанов С.П. Микрофлора полости рта: норма и патология: Учебное пособие. Нижний Новгород: Издательство НГМА, 2004. - 158с.
7. Инструкция по применению. Набор стоматологический для обработки эмали, удаления зубного камня и полирования пломб из композитных материалов «Полирен» [Электронный ресурс] // Мир стоматолога. – 2024. - №1. – Доступно из URL: <https://shop.dentomir.ru/a89d96c3db1a0cf50860530bff411064.pdf?ysclid=lo001co5va559435296> [Дата обращения 11.06.2024]

8. Инструкция по применению. Паста для удаления камней и окончательной полировки пломб «ПолирПаст – Z» [Электронный ресурс] // OmegaDent. – 2009. – №1. – Доступно из URL: <https://omegadent.ru/upload/iblock/a39/a3963cdd6acef1c80b0abee670e7f66e.pdf> [Дата обращения: 11.06.2024]
9. Кузьмина Э. М. Гигиенист стоматологический: учебник. - Москва: МГСМУ, 2012. - 417 с.;
10. Леус П. А. Коммунальная стоматология. — Брест, 2000.— 234с.
11. Лобко С.С., Палий Л.И., Петрук А.А., Сахар Г.Г. Зубные отложения и принципы их механического удаления // Современная стоматология. – 2012. – №2. – С.44-52.
12. Паста для удаления зубного налета Mira Zr [Электронный.ресурс] // Альдера. – 2024. – №1. – Доступно из URL: <https://aldera.ru/catalog/2-stomatologicheskie-materialy/26-profilaktika-i-gigiena/pasta-dlya-udaleniya-zubnogo-naleta-mira-zr-kagayaki-50g/?ysclid=lo003qv91f407356731> [Дата обращения: 11.06.2024]
13. Пинегина О.Н., Рауш Е.Р., Васильева Н.В. Определение чувствительности к антимикотикам *Candida spp.* в составе биопленок // Проблемы медицинской микологии. – 2014. - №1. – С. 46-48.
14. Побожьева Л.В., Копецкий И.С. Роль биоплёнки в патогенезе воспалительных заболеваний полости рта и способы её устранения // Лечебное дело. – 2012. - №2. – С.9-13.
15. Посохова В.Ф., Лыкова И.В., Лягина Л.А., Чуев В.П., Поздняков С.Н. Профилактические материалы. – Белгород: ВЛАДМИВА. – 2023. – 28 с.;
16. Романова Р. О., Кашлевская М. Е., Левенков Д. С. Особенности формирования микробной биопленки при воспалительных заболеваниях пародонта // Вестник Пензенского государственного университета. – 2022. - №1. - С. 19–23.

17. Что такое MALDI-ToF? [Электронный ресурс] // MALDI Biotyper. – 2013. - №1. – Доступно из URL: <https://биотайпер.рф/articles/34001> [Дата обращения: 10.06.2024]
18. Abusleme L, Hoare A, Hong BY, Diaz PI. Microbial signatures of health, gingivitis, and periodontitis // Periodontology. – 2021. - №1. – P. 26-52
19. Aggretibacter actinomycetemcomitans [Электронный ресурс] // Функциональная гастроэнтерология. – 2022. - №1. – Доступно из URL: <https://www.gastroscan.ru/handbook/118/9588> [Дата обращения: 10.06.2024]
20. Asikainen S, Chen C. Oral ecology and person-to-person transmission of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* // Periodontology. – 2000. - №1. – P. 36-48
21. Carrero Martínez C, González Gilbert M.C., Martínez Lapiolo M.A. Low frequency of *Enterococcus faecalis* in the oral mucosa of subjects attending dental consultation // Revista Facultad de odontología. – 2015. - №1. – P. 261-270.
22. Gasner N., Schure R. Periodontal Disease [Electronic resource] // StatPearls. – 2023. - №1. – Доступно из URL: <https://www.statpearls.com/pharmacist/ce/activity/110200> [Дата обращения: 08.06.2024]
23. Jensen A., Ladegaard Grønkjær L., Holmstrup P., Vilstrup H., Kilian M. Unique subgingival microbiota associated with periodontitis in cirrhosis patients // Science Report. – 2018. - №1. – P. 50-56
24. Kolenbrander, P. E., Palmer, R. J., Periasamy, S. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell–cell distance // Nature Reviews Microbiology. – 2010. - №1. – P. 26-38.
25. Krawczyk B, Wityk P, Gałęcka M, Michalik M. The Many Faces of *Enterococcus* spp. Commensal, Probiotic and Opportunistic Pathogen // Microorganisms. – 2021. - №1. – P. 25-63.
26. List of human Microbial Taxa [Electronic resource] // expanded Human Oral Microbiome Database. – 2007. - №1. – Доступно из URL:

https://v2.homd.org/index.php?name=HOMD&file=index&order_column=&order= [Дата обращения: 10.06.2024]

27. Mealey B.L., Bartold P.M., Dommisch H., Eickholz P. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions // Journal Periodontology. – 2018. - №1. – P. 20-72

28. Morgan X.C., Segata N., Huttenhower C. Biodiversity and functional genomics in the human microbiome // Trends in Genetics. - 2013. - №1. - P. 51-58.

29. Quirynen M. Management of oral malodour // Journal of Clinical Periodontology. – 2003. - №1. – P. 45-50.

30. Ryan K.J; Ray C.G. Sherris Medical Microbiology // Journal of Biosciences and Medicines. —2015. — №7. — P. 73-92

31. Salah R, Dar-Odeh N, Abu Hammad O, Shehabi A.A. Prevalence of putative virulence factors and antimicrobial susceptibility of *Enterococcus faecalis* isolates from patients with dental Diseases // BMC oral health. – 2008. - №1. – P. 56-73.

32. Thomas C, Minty M, Vinel A, Canceill T, Loubières P, Burcelin R, Kaddech M. Oral Microbiota: A Major Player in the Diagnosis of Systemic Diseases. // Diagnostics (Basel). – 2021. - №1. – P. 100-112

33. Volkova, M.N. Guideline on therapeutic dentistry for the 5-th term: educational and methodical edition. – Vitebsk: VGMU, 2016. – 250 c.;

СПРАВКА

о результатах проверки текстового документа
на наличие заимствований

Башкирский государственный медицинский
университет

ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.ВУЗ

Автор работы: Хайруллин Н. И.
Самоцитирование
рассчитано для: Хайруллин Н. И.
Название работы: МИКРОБИОТА ЗУБНОГО КАМНЯ
Тип работы: Выпускная квалификационная работа
Подразделение: Башкирский Государственный Медицинский Университет

РЕЗУЛЬТАТЫ

■ ОТЧЕТ О ПРОВЕРКЕ КОРРЕКТИРОВАЛСЯ: НИЖЕ ПРЕДСТАВЛЕНЫ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕРКИ ДО КОРРЕКТИРОВКИ

СОВПАДЕНИЯ 33.6%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ 54.12%
ЦИТИРОВАНИЯ 12.28%
САМОЦИТИРОВАНИЯ 0%

СОВПАДЕНИЯ 33.15%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ 65.74%
ЦИТИРОВАНИЯ 1.12%
САМОЦИТИРОВАНИЯ 0%

ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 24.06.2024

ДАТА И ВРЕМЯ КОРРЕКТИРОВКИ: 24.06.2024 11:44

Структура документа: Проверенные разделы: библиография с.46-49, титульный лист с.1, содержание с.2, основная часть с.3-45
Модули поиска: Интернет Плюс*; Цитирование; Шаблонные фразы; ИПС Адилет; Переводные заимствования*; Публикации eLIBRARY; Библиография; Издательство Wiley; Диссертации НББ; Перефразирования по Интернету (EN); СПС ГАРАНТ: аналитика; Патенты СССР, РФ, СНГ; Перефразирования по Интернету; Переводные заимствования по Интернету (EnRu); Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования); Коллекция НБУ; Перефразирования по коллекции издательства Wiley; Переводные заимствования IEEE; Переводные заимствования издательства Wiley; Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте; Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте; СМИ России и СНГ; Перефразирования по коллекции IEEE; Переводные заимствования (RuEn); Публикации РГБ;

Работу проверил: Банникова Ольга Сергеевна

ФИО проверяющего

Дата подписи:

Подпись проверяющего



Чтобы убедиться
в подлинности справки, используйте QR-код,
который содержит ссылку на отчет.

Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование
корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего.
Предоставленная информация не подлежит использованию
в коммерческих целях.