

Царев В.Н.

**Микробиология,
вирусология и иммунология
полости рта**

Год издания 2013

Микробиология, вирусология и иммунология полости рта [Электронный ресурс] : учеб. / Царев В.Н. и др. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. - <http://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970425824.html>

Авторы Царев В.Н. и др.

Издательство ГЭОТАР-Медиа

Год издания 2013

Прототип Электронное издание на основе: Микробиология, вирусология и иммунология полости рта : учеб. / [Царев В. Н. и др.] ; под ред. В. Н. Царева. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. - 576 с. : ил. - ISBN 978-5-9704-2582-4.

Оглавление

СПИСОК СОКРАЩЕНИИ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИИ	10
ВВЕДЕНИЕ.....	11
ИСТОРИЧЕСКИЙ ОЧЕРК.....	12
ЧАСТЬ 1. ОБЩИЕ ВОПРОСЫ МИКРОБИОЛОГИИ И ОСОБЕННОСТИ МИКРОФЛОРЫ ПОЛОСТИ РТА ЧЕЛОВЕКА.....	19
ГЛАВА 1. ПРИНЦИПЫ КЛАССИФИКАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ ПОЛОСТИ РТА.....	19
1.1. МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ ПРИНЦИП.....	20
1.2. БИОХИМИЧЕСКИЙ ПРИНЦИП.....	26
1.3. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПРИНЦИП.....	27
ГЛАВА 2. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБЛИГАТНО-АНАЭРОБНОЙ МИКРОФЛОРЫ ПОЛОСТИ РТА: ТАКСОНОМИЯ, ЭКОЛОГИЯ, РОЛЬ В ПАТОЛОГИИ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ.....	28
2.1. ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ (СПОРОНЕОБРАЗУЮЩИЕ) АНАЭРОБНЫЕ БАКТЕРИИ.....	28
2.2. ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ СПОРОНЕОБРАЗУЮЩИЕ АНАЭРОБНЫЕ БАКТЕРИИ.....	36
2.3. ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ СПОРООБРАЗУЮЩИЕ АНАЭРОБНЫЕ БАКТЕРИИ.....	39
ГЛАВА 3. ХАРАКТЕРИСТИКА ФАКУЛЬТАТИВНО- АНАЭРОБНОЙ И АЭРОБНОЙ МИКРОФЛОРЫ ПОЛОСТИ РТА: ТАКСОНОМИЯ, ЭКОЛОГИЯ, РОЛЬ В ПАТОЛОГИИ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ.....	40
3.1. ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ ФАКУЛЬТАТИВНО-АНАЭРОБНЫЕ И АЭРОБНЫЕ БАКТЕРИИ.....	41
3.2. ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ ФАКУЛЬТАТИВНО-АНАЭРОБНЫЕ И АЭРОБНЫЕ БАКТЕРИИ.....	44
ГЛАВА 4. ХАРАКТЕРИСТИКА ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ ПОЛОСТИ РТА: ТАКСОНОМИЯ, ЭКОЛОГИЯ, РОЛЬ В ПАТОЛОГИИ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ	45
4.1. ГРИБЫ.....	45
4.2. ПРОСТЕЙШИЕ.....	47
ГЛАВА 5. МИКРОЭКОЛОГИЯ ПОЛОСТИ РТА.....	47
5.1. ПОЛОСТЬ РТА - ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ НИША ДЛЯ СООБЩЕСТВА МИКРОБОВ.....	47
5.2. ОСНОВНЫЕ БИОТОПЫ ПОЛОСТИ РТА И МЕТОДЫ ИХ ИССЛЕДОВАНИЯ	49
5.3. ФАКТОРЫ, СПОСОБСТВУЮЩИЕ КОЛОНИЗАЦИИ ПОЛОСТИ РТА МИКРООРГАНИЗМАМИ.....	55
5.4. ФАКТОРЫ, ПРЕПЯТСТВУЮЩИЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КОЛОНИЗАЦИИ ПОЛОСТИ РТА	59
5.5. ФОРМИРОВАНИЕ МИКРОФЛОРЫ ПОЛОСТИ РТА В ПРОЦЕССЕ ЖИЗНИ.....	63
ГЛАВА 6. МИКРОБИОЦЕНОЗ И УЧЕНИЕ О БИОПЛЕНКАХ.....	64
6.1. ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННАЯ МОДЕЛЬ ФОРМИРОВАНИЯ МИКРОБИОЦЕНОЗА ПОЛОСТИ РТА.....	64

6.2. ФОРМИРОВАНИЕ ЗУБНОЙ БЛЯШКИ	68
6.3. ОСОБЕННОСТИ ЗУБНОЙ БЛЯШКИ ПРИ ПАТОЛОГИИ	72
6.4. ФОРМИРОВАНИЕ ЗУБНОГО КАМНЯ.....	75
6.5. МЕХАНИЗМЫ КВОРУМ-СЕНСИНГА МЕЖДУ МИКРООРГАНИЗМАМИ В БИОПЛЕНКЕ ПОЛОСТИ РТА.....	75
ГЛАВА 7. ПРИНЦИП ДЕКОНТАМИНАЦИИ В СТОМАТОЛОГИИ	78
7.1. ПРИНЦИП ДЕКОНТАМИНАЦИИ.....	78
7.2. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ДЕКОНТАМИНАЦИИ.....	80
7.3. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ И ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ	86
7.4. ФИЗИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ДЕКОНТАМИНАЦИИ.....	88
7.5. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ДЕКОНТАМИНАЦИИ.....	90
7.6. АСЕПТИКА И АНТИСЕПТИКА	92
7.7. ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ И РЕАГЕНТЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ДЛЯ ДЕЗИНФЕКЦИИ И СТЕРИЛИЗАЦИИ	93
7.8. ПРЕДСТЕРИЛИЗАЦИОННАЯ ОБРАБОТКА	94
7.9. СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ СТЕРИЛИЗАЦИИ	95
ЧАСТЬ 2. ИММУНОЛОГИЯ И ИММУННЫЕ ЯВЛЕНИЯ В ПОЛОСТИ РТА.	104
ГЛАВА 8. ОСНОВЫ ИНФЕКЦИОННОЙ ИММУНОЛОГИИ.....	104
8.1. РОЛЬ ВОСПАЛЕНИЯ В РАЗВИТИИ ИММУННОГО ОТВЕТА	106
8.2. ФАГОЦИТОЗ	106
8.3. ФАКТОРЫ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА	109
8.4. АНТИГЕНЫ.....	112
8.5. ИММУННЫЙ ОТВЕТ И ИММУННАЯ РЕАКТИВНОСТЬ.....	116
8.6. ИММУННАЯ СИСТЕМА ЧЕЛОВЕКА	116
8.7. КООПЕРАЦИЯ КЛЕТОК В ПРОЦЕССЕ ИММУННОГО ОТВЕТА.....	127
ГЛАВА 9. МЕСТНЫЙ ИММУНИТЕТ ПОЛОСТИ РТА И МИКРОФЛОРА БИОПЛЕНОК	142
9.1. ПОНЯТИЕ О МЕСТНОМ ИММУНИТЕТЕ ПОЛОСТИ РТА	142
9.2. ФАКТОРЫ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА.....	143
9.3. КЛЕТОЧНЫЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ФАКТОРЫ АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА ПОЛОСТИ РТА.....	150
9.4. ИММУННОЕ РЕГУЛИРОВАНИЕ РЕЗИДЕНТНОЙ МИКРОФЛОРЫ ПОЛОСТИ РТА.....	153
Часть 3. МЕТОДЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ В СТОМАТОЛОГИИ.	162
ГЛАВА 10. ОБЩИЕ ПРАВИЛА И НОРМАТИВЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ БИОТОПОВ ПОЛОСТИ РТА.....	162
10.1. ПРАВИЛА И НОРМАТИВЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ.....	162
10.2. ПОЛУЧЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА ИЗ ПОЛОСТИ РТА.....	165

ГЛАВА 11. МИКРОСКОПИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ	168
11.1. ФАЗОВО-КОНТРАСТНАЯ, ИЛИ ТЕМНОПОЛЬНАЯ, МИКРОСКОПИЯ	168
11.2. СВЕТОВАЯ ИММЕРСИОННАЯ МИКРОСКОПИЯ	168
11.3. ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ МИКРОСКОПИЯ	169
11.4. СКАНИРУЮЩАЯ МИКРОСКОПИЯ	170
ГЛАВА 12. БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ (КУЛЬТУРАЛЬНОЕ) ИССЛЕДОВАНИЕ С ПРИМЕНЕНИЕМ ТЕХНИКИ АНАЭРОБНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ.....	170
12.1. ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ	170
12.2. ПРИНЦИПЫ ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРОФЛОРЫ ПОЛОСТИ РТА	172
12.3. ОСОБЕННОСТИ ИДЕНТИФИКАЦИИ КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ГРУПП МИКРОФЛОРЫ ПОЛОСТИ РТА	175
ГЛАВА 13. МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ.....	178
13.1. ПРИНЦИПЫ ИНДИКАЦИИ И ИДЕНТИФИКАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИМ МЕТОДОМ	178
13.2. ВЫДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ДНК ИЗ КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА	179
13.3. ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ.....	180
13.4. ГИБРИДИЗАЦИЯ ДНК	183
13.5. КЛОНИРОВАНИЕ И СЕКВЕНИРОВАНИЕ ГЕНА 16S РИБОСОМНОЙ РНК	185
ГЛАВА 14. ДРУГИЕ МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОГО И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЙ.....	186
14.1. ИММУНОФЕРМЕНТНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИТЕЛ	186
14.2. ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ИММУННОГО СТАТУСА ПАЦИЕНТА	187
14.3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ АДГЕЗИИ МИКРООРГАНИЗМОВ К СТОМАТОЛОГИЧЕСКИМ МАТЕРИАЛАМ	189
Часть 4. ПРИНЦИПЫ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ И ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ В СТОМАТОЛОГИИ.	200
ГЛАВА 15. АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ ПРЕПАРАТЫ И ПРОБЛЕМА УСТОЙЧИВОСТИ (РЕЗИСТЕНТНОСТИ) МИКРОФЛОРЫ	200
15.1. АНТИБИОТИКИ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ	200
15.2. КЛАССИФИКАЦИЯ АНТИБИОТИКОВ.....	201
15.3. ПРИНЯТИЕ РЕШЕНИЯ О НАЗНАЧЕНИИ АНТИБИОТИКА.....	206
15.4. ПРИНЦИПЫ ПРИМЕНЕНИЯ АНТИБИОТИКОВ	207
15.5. АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ШТАММОВ И ЕЕ ПРЕОДОЛЕНИЕ	208
15.6. СПОСОБЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КУЛЬТУР К АНТИБИОТИКАМ	212
15.7. СТРАТЕГИЯ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ РАЗВИТИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ И РАСПРОСТРАНЕНИЯ РЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ	219
ГЛАВА 16. ПРИНЦИПЫ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ И ТЕРАПИИ В СТОМАТОЛОГИИ	219

16.1. ОСНОВНЫЕ ПОКАЗАНИЯ К ПРОВЕДЕНИЮ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ ПРИ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ.....	219
16.2. ВЫБОР АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА.....	221
16.3. КЛИНИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ АНТИБИОТИКОВ.....	222
16.4. ПРИМЕНЕНИЕ АНТИБИОТИКОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИЙ	229
16.5. ПРОТИВОГРИБКОВЫЕ АНТИБИОТИКИ И ХИМИОПРЕПАРАТЫ (АНТИМИКОТИКИ)	231
16.6. СТУПЕНЧАТАЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ.....	232
16.7. КОМБИНИРОВАННАЯ АНТИБИОТИКОТЕРАПИЯ	235
16.8. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ	239
16.9. ПОБОЧНЫЕ ДЕЙСТВИЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ.....	240
ГЛАВА 17. ПРИНЦИПЫ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ В СТОМАТОЛОГИИ	242
17.1. ИММУНОДЕФИЦИТНЫЕ СОСТОЯНИЯ В СТОМАТОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ	242
17.2. ИММУНОТРОПНАЯ ТЕРАПИЯ В СТОМАТОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ.....	243
17.3. МЕСТНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ В СТОМАТОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ.....	246
Часть 5. МИКРОФЛОРА И ИММУННЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ КАРИЕСЕ ЗУБОВ.....	251
ГЛАВА 18. ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ КАРИЕСОГЕННОСТИ И КАРИЕСОРЕЗИСТЕНТНОСТИ.....	251
18.1. КАРИЕСОГЕННАЯ МИКРОФЛОРА.....	251
18.2. КАРИЕСЛИМИТИРУЮЩАЯ МИКРОФЛОРА.....	258
18.3. ЛОКАЛИЗАЦИЯ КАРИОЗНОГО ПРОЦЕССА ЗУБОВ	260
18.4. КЛИНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КАРИЕСА ЗУБОВ. ЭНДОДОНТИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ.....	261
18.5. МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ КАРИЕСА ЗУБОВ	262
ГЛАВА 19. БИОПЛЕНКА ЗУБНОЙ ПОВЕРХНОСТИ И ПАТОГЕНЕЗ КАРИЕСА ЗУБОВ	263
19.1. ОСОБЕННОСТИ БИОПЛЕНКИ ЗУБНОЙ ПОВЕРХНОСТИ.....	263
19.2. АДГЕЗИЯ И КОЛОНИЗАЦИЯ <i>S. MUTANS</i>	264
19.3. СТРЕССОВЫЕ ОТВЕТЫ МИКРООРГАНИЗМОВ В БИОПЛЕНКЕ И ИХ РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ КАРИЕСА.....	266
19.4. ГЕНОМИКА БАКТЕРИЙ ПОЛОСТИ РТА И ДОСТИЖЕНИЯ В ИЗУЧЕНИИ КАРИЕСА ЗУБОВ	267
ГЛАВА 20. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ РАЗВИТИЯ КАРИЕСА ЗУБОВ	268
20.1. МОДЕЛИ КАРИЕСА НА ГРЫЗУНАХ.....	268
20.2. ПЕРСПЕКТИВЫ МОДЕЛИРОВАНИЯ КАРИЕСА	269
ГЛАВА 21. ИММУНОЛОГИЯ КАРИЕСА ЗУБОВ И ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ ВАКЦИНЫ	270
21.1. СЕКРЕТОРНЫЕ ИММУНОГЛОБУЛИНЫ - ДОМИНИРУЮЩИЕ ИММУНОГЛОБУЛИНЫ СЛЮНЫ	270

21.2. ПРОБЛЕМА ВЫБОРА ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ АНТИГЕНОВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ВАКЦИНЫ И СИСТЕМ ИХ ДОСТАВКИ.....	271
21.3. ПРОБЛЕМА ПЕРЕКРЕСТНО РЕАГИРУЮЩИХ АНТИТЕЛ.....	272
21.4. ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ КАРИЕСА.....	273
Часть 6. МИКРОФЛОРА И ИММУННЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПАРОДОНТА	278
ГЛАВА 22. ХАРАКТЕРИСТИКА ПАРОДОНТОПАТОГЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ.....	278
22.1. <i>PORPHYROMONAS GINGIVALS</i> (ДЕСНЕВАЯ ПОРФИРОМОНАДА).....	281
22.2. <i>AGGREGATIBACTER ACTINOMYCETEMCOMITANS</i> (ПО СТАРОЙ НОМЕНКЛАТУРЕ - <i>ACTINOBACILLUS ACTINOMYCETEMCOMITANS</i>).....	287
22.3. <i>TANNERELLA FORSYTHIA</i> (СТАРОЕ НАЗВАНИЕ - <i>BACTEROIDES FORSYTHUS</i>).....	294
22.4. <i>TREPONEMA DENTICOLA</i> (ТРЕПОНЕМА ДЕНТИКОЛА).....	295
22.5. <i>PREVOTELLA INTERMEDIA</i> (ПРЕВОТЕЛЛА СРЕДНЯЯ).....	297
22.6. <i>EIKENELLA CORRODENS</i> (ЭЙКЕНЕЛЛА).....	299
22.7. <i>FUSOBACTERIUMNUCLEATUM</i> (ВЕРЕТЕНООБРАЗНАЯ ПАЛОЧКА).....	300
ГЛАВА 23. ЭТИОЛОГИЯ И ПАТОГЕНЕЗ ГИНГИВИТА.....	302
ГЛАВА 24. ЭТИОЛОГИЯ И ПАТОГЕНЕЗ ПАРОДОНТИТА.....	307
ГЛАВА 25. ИММУННЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПАРОДОНТА.....	314
25.1. ВИРУЛЕНТНЫЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИЙ И ИХ СПОСОБНОСТЬ УКЛОНЯТЬСЯ ОТ ИММУННОЙ ЗАЩИТЫ.....	314
25.2. РОЛЬ ОТДЕЛЬНЫХ ФАКТОРОВ ИММУННОЙ ЗАЩИТЫ: НЕЙТРОФИЛЫ И АНТИТЕЛА.....	316
25.3. НЕСОСТОЯТЕЛЬНОСТЬ ФАКТОРОВ ЗАЩИТЫ ДЕСНЕВОЙ БОРОЗДЫ.....	317
25.4. НЕСОСТОЯТЕЛЬНОСТЬ ФАКТОРОВ ДОИММУННОЙ ЗАЩИТЫ (ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА).....	317
25.5. НЕСОСТОЯТЕЛЬНОСТЬ ФАКТОРОВ ПРИОБРЕТЕННОГО ИММУНИТЕТА.....	318
25.6. TN1-ЗАВИСИМАЯ ВЫРАБОТКА АНТИТЕЛ ПРИ АГРЕССИВНОМ ПАРОДОНТИТЕ.....	318
25.7. РОЛЬ КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В РЕЗОРБЦИИ КОСТИ.....	319
ГЛАВА 26. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ПАТОГЕНЕЗА ПАРОДОНТИТА.....	319
26.1. МОДЕЛИ НА ПРИМАТАХ И ГРЫЗУНАХ.....	319
26.2. МОДЕЛИ НА МЫШАХ.....	320
26.3. МОДЕЛИ НА КРЫСАХ.....	321
ГЛАВА 27. ЗНАЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ДЛЯ ВОСПРИИМЧИВОСТИ К ИНФЕКЦИЯМ ПАРОДОНТА.....	322
27.1. РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ИНФЕКЦИИ.....	322
27.2. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРАХ РИСКА РАЗРУШЕНИЯ ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА.....	324
ЧАСТЬ 7. МИКРОФЛОРА И ИММУННЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ ОДОНТОГЕННОЙ ИНФЕКЦИИ.....	334

ГЛАВА 28. ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИИ ПУЛЬПЫ И КОРНЕВЫХ КАНАЛОВ ЗУБА	334
28.1. ВОЗБУДИТЕЛИ ИНФЕКЦИИ ПУЛЬПЫ И КОРНЕВЫХ КАНАЛОВ ЗУБА	334
28.2. ПАТОГЕНЕЗ ИНФЕКЦИИ ПУЛЬПЫ И КОРНЕВЫХ КАНАЛОВ ЗУБА	337
28.3. СТРАТЕГИЯ ЛЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИИ ПУЛЬПЫ И КОРНЕВЫХ КАНАЛОВ ЗУБА	337
ГЛАВА 29. ЭТИОЛОГИЯ И ПАТОГЕНЕЗ ОДОНТОГЕННОЙ ИНФЕКЦИИ.....	341
29.1. ВОЗБУДИТЕЛИ ОДОНТОГЕННОЙ ИНФЕКЦИИ	341
29.2. ПАТОГЕНЕЗ ОДОНТОГЕННОЙ ИНФЕКЦИИ	342
29.3. СОСТАВ МИКРОФЛОРЫ ОДОНТОГЕННЫХ ОЧАГОВ	348
29.4. ВАРИАНТЫ ИММУННОЙ РЕАКТИВНОСТИ ПАЦИЕНТОВ И ИММУНОБАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАЛЛЕЛИ В РАЗВИТИИ ОДОНТОГЕННОЙ ИНФЕКЦИИ	350
29.5. СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ЭТИОЛОГИЮ АКТИНОМИКОЗА	358
29.6. МИКРОФЛОРА ПРИ НЕОДОНТОГЕННЫХ ПРОЦЕССАХ И ТРАВМАХ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ.....	360
ГЛАВА 30. МИКРОФЛОРА ПОЛОСТИ РТА КАК ЭТИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКТОР ПРИ СИСТЕМНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ОРГАНИЗМА	360
30.1. ЗНАЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКИХ ОЧАГОВ ИНФЕКЦИИ В ПОЛОСТИ РТА В РАЗВИТИИ ОБЩЕЙ СОМАТИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ	360
30.2. РОЛЬ МИКРОФЛОРЫ ПОЛОСТИ РТА В РАЗВИТИИ ИНФЕКЦИОННОГО ЭНДОКАРДИТА	361
30.1. ЗНАЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКИХ ОЧАГОВ ИНФЕКЦИИ В ПОЛОСТИ РТА В РАЗВИТИИ ОБЩЕЙ СОМАТИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ	362
30.2. РОЛЬ МИКРОФЛОРЫ ПОЛОСТИ РТА В РАЗВИТИИ ИНФЕКЦИОННОГО ЭНДОКАРДИТА	362
30.3. СИНДРОМ ДИССЕМНИРОВАННОГО ВНУТРИСОСУДИСТОГО СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ	364
30.4. ИММУНОКОМПЛЕКСНЫЕ СИНДРОМЫ.....	364
30.5. АУТОИММУННЫЕ СИНДРОМЫ	365
30.6. СТОМАТОГЕННОЕ ВОСПАЛЕНИЕ И РАЗВИТИЕ АТЕРОСКЛЕРОЗА	366
ЧАСТЬ 8. МИКРОФЛОРА И ИММУННЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА.	372
ГЛАВА 31. ЗАБОЛЕВАНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЭТИОЛОГИИ С ПОРАЖЕНИЕМ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА	372
31.1. СТОМАТИТЫ	372
31.2. ГОНОРЕЯ	374
31.3. ДИФТЕРИЯ	375
31.4. ЛИСТЕРИОЗ.....	375
31.5. СКАРЛАТИНА.....	376
31.6. СИФИЛИС	377

31.1. СТОМАТИТЫ	381
31.7. НЕВЕНЕРИЧЕСКИЕ ТРЕПОНЕМАТОЗЫ	383
31.8. БОРРЕЛИОЗЫ (ВОЗВРАТНЫЕ ТИФЫ И ЛИХОРАДКИ)	384
31.9. ЛЕПТОСПИРОЗЫ (РОД <i>LEPTOSPIRA</i>)	388
31.10. ТУБЕРКУЛЕЗ	390
31.11. ЛЕПРА (ПРОКАЗА).....	391
31.12. ПИОДЕРМИЯ.....	392
ГЛАВА 32. ЗАБОЛЕВАНИЯ ГРИБКОВОЙ ЭТИОЛОГИИ С ПОРАЖЕНИЕМ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА	393
32.1. КАНДИДОЗ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА.....	393
32.2. <i>CANDIDA</i> -АССОЦИИРОВАННЫЙ ПАРОДОНТИТ.....	395
32.3. ДРУГИЕ СИСТЕМНЫЕ МИКОЗЫ С ПРОЯВЛЕНИЯМИ В ПОЛОСТИ РТА	397
ГЛАВА 33. ЗАБОЛЕВАНИЯ ВИРУСНОЙ ЭТИОЛОГИИ С ПОРАЖЕНИЕМ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА	398
33.1. ГЕРПЕС-ВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ.....	398
33.2. ЭНТЕРОВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ	401
33.3. КОРЬ.....	403
33.4. ПАПИЛЛОМАВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ	403
33.5. ПРОЯВЛЕНИЯ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ В ПОЛОСТИ РТА	404
33.6. ЯЦУР	406
ПРИЛОЖЕНИЯ	409
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	413

СПИСОК СОКРАЩЕНИИ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИИ

® - не зарегистрированный в РФ препарат

♣ - торговое наименование препарата

АПК - антигенпрезентирующие клетки

АТФ - аденозинтрифосфат

ВИЧ - вирус иммунодефицита человека

ВПЧ - вирус папилломы человека

ВЭЛ - внутриэпителиальные лимфоциты

МНС - главный комплекс гистосовместимости

ДВС-синдром - синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

ИФА - иммуноферментный анализ

КОЕ - колониеобразующая единица

ЛПС - липополисахарид

МБК - минимальная бактерицидная концентрация

МПК - минимальная подавляющая концентрация

ПЦР - полимеразная цепная реакция

РНК - рибонуклеиновая кислота

СПИД - синдром приобретенного иммунодефицита

СРБ - С-реактивный белок

ХОБЛ - хроническая обструктивная болезнь легких

IL - интерлейкин (ИЛ)

IFN - интерферон (ИФ)

TCR - Т-клеточный рецептор

TLR - Toll-подобные рецепторы

TNF - фактор некроза опухоли (ФНО)

MRSA - метициллин-резистентные

S. Aureus MRSE - метициллин-резистентные

S. epidermidis VREF - ванкомицин-резистентные энтерококки

ВВЕДЕНИЕ

Микробиология полости рта - раздел медицинской микробиологии, рассматривающий закономерности функционирования микробного сообщества полости рта и организма человека во всем многообразии их взаимодействия между собой и внешним миром микроорганизмов. В последние годы изучению так называемой нормальной, или резидентной, микробной флоры посвящается все больше и больше исследований.

Микробная флора полости рта - совокупность разнообразных микроскопически малых живых существ, способных вступать в симбиотические отношения между собой и с человеком как биологическим видом.

Микрофлора полости рта крайне разнообразна и сложна для изучения. И чем больше мы познаем этот мир, тем больше вопросов возникает у исследователей. Несомненное преобладание представителей бактерий с анаэробным типом дыхания в составе микробного сообщества полости рта требует специальных условий для культивирования и идентификации этих микроорганизмов, что существенно осложняет диагностику вызываемых ими заболеваний. Не менее сложны и многогранны механизмы неспецифической и иммунной защиты, контролирующие процессы микробной колонизации, формирование биопленок и т.п.

Все это определяет необходимость изучения студентами стоматологических факультетов медицинских вузов такого важного раздела, как микробиология, вирусология и иммунология полости рта, и послужило основанием для выделения микробиологии полости рта в качестве отдельной учебной дисциплины. В настоящем учебнике, представляющем первое в отечественной практике издание такого рода, изложен материал по микробиологическим аспектам отдельных направлений стоматологии: терапевтической стоматологии, пародонтологии и эндодонтии, хирургической и ортопедической стоматологии, что позволит использовать его для модульного обучения студентов на соответствующих кафедрах стоматологических факультетов медицинских вузов.

ВВЕДЕНИЕ

Большое внимание в соответствующих разделах учебника уделено особенностям физиологических защитных механизмов и иммунных явлений в полости рта и особенно основным принципам антимикробной и иммуномодулирующей химиотерапии, которым не уделяется достаточного внимания в традиционных учебниках для медицинских вузов.

Авторы настоящего издания стремились обобщить основные сведения о микробной флоре полости рта в норме и при патологических состояниях, используя как собственный опыт, накопленный на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии Московского государственного медико-стоматологического университета имени А.И. Евдокимова, так и опыт одноименных кафедр Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, Ставропольской государственной медицинской академии, Северо-Осетинской государственной медицинской академии, других вузов России, данные современной иностранной литературы.

Материал изложен в соответствии с новым Федеральным государственным образовательным стандартом (ФГОС 3-го поколения) по специальности «Стоматология» и новой образовательной программой, в которых предусмотрено выделение 52 ч на изучение микробиологии полости рта и до 106 ч - на изучение клинической иммунологии.

Все замечания и пожелания в отношении структуры и содержания учебника по микробиологии и вирусологии полости рта, характера изложения материала и иллюстраций будут с благодарностью приняты авторами.

Доктор медицинских наук, профессор *В.Н. Царев*

ИСТОРИЧЕСКИЙ ОЧЕРК

к 70-летию кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии Московского государственного медико-стоматологического университета

Памяти основоположников отечественной школы микробиологии полости рта посвящается...

Основание первой в России кафедры микробиологии в институте стоматологического профиля связано с именем профессора Петра Федоровича Беликова (1892-1961), который в 1923 г. организовал химико-бактериологическую лабораторию в Государственном институте стоматологии и одонтологии (ГИСО, ныне МГМСУ - Московский государственный медико-стоматологический университет). Уже в 1927 г. на итоговой научной сессии института прозвучали доклады П.Ф. Беликова и его сотрудников В.Ф. Гроссе, О.Г. Кюзель, Е.М. Приказчиковой, Б.И. Мигунова, в которых были изложены физико-химические, биохимические и микробиологические подходы к изучению кариеса зубов и пародонтоза. В начале 1940-х гг. профессор М.Л. Капуто начал преподавание микробиологии, а в 1943 г. на базе химико-бактериологической лаборатории была сформирована кафедра микробиологии как самостоятельная структурная единица стоматологического института.

Правду расскажет история

Кто не любит свободы и истины, может стать человеком лишь силой, но никогда не будет.

Вольтер

"Поздним вечером 14 сентября 1930 г. в квартиру № 1 по Пальмовой улице вошли трое в штатском. Даже остались у двери, и один показал листок оформленный по всем правилам ордер на обыск. Пригласили почитать и начали перерывать и перетряхивать всю домашнюю библиотеку — искали книги, журналы и газеты. Книги вытаскивали прямо на пол. Личные вещи, постель и обувь в углу, на котором мы с женой проводили всю ночь, трогать не стали. Закончив обыск и выйдя слыша, следователи продавили стеной ордер на арест, и он, про- стоявший с нами, ушел и сопроводившись конвоиром..."

Петру Федоровичу Беликову арест в тюрьме длился несколько месяцев. Впоследствии воспоминание о том, как он пребывал в этой тюрьме в психиатрической больнице, в которой вместе с ним находилось 30 человек содержалось 80 заключенных, перешло в места у двери, около порога, на которые жаркие шары у окна, ставшие его любимым рассказом среди друзей. После тюрьмы Петр Федорович был интернирован по адресу в Косихинском. Подобным образом государство "разобралось" со многими сотрудниками Института имени Н.И.Пирогова.

Судьбу решили... суслики

25 июня 1892 г. в Москве родился будущий известный ученый Петр Федорович Беликов. Он был старшим сыном в семье богатейшего пред- ставителя семьи Воробьев Смоленской губернии. Жена Беликова простила подруга и чужака в большой русской семье, для которой она не могла "полюбоваться" — даже неговорящая, продолжала жить. Также семейство Федор Александрович был преданным мастером пе- ченьки зарабатывать деньги на обучение, принадле- жала давать частные уроки. В 1910 г. он с отцом начал получать реальное образование и получил аттестат зрелости. В том же году действительный сын Петра Беликов становится студентом медицин- ского факультета Московского император- ского университета. Это событие стало крупней- шей радостью всей семьи.

В годы учебы Петр продолжал подрабатывать домашним уроками. А в 1913-м его пригласили в медицинскую академию в Калинин и Ма-

Москва. I городская больница им. Н.И.Пирогова

Стоматологическое образование в России. - 2004. - № 11. - С. 4-7

Длительный период времени проф. П.Ф. Беликов работал вместе с основателями и первыми ректорами ГИСО: чл.-кор. РАМН А.И. Евдокимовым, профессором Г.Н. Белецким, занимая должность проректора по науке. П.Ф. Беликову принадлежит свыше 60 работ, значительная часть которых посвящена микробиологии полости рта. Одновременно П.Ф. Беликов являлся зам. директора по науке Научно-исследовательского института вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, где он активно работал над решением проблем

детских инфекций: дифтерии, кори, скарлатины, паротита, детских пневмоний, гриппа, полиомиелита. В 1930 г. он был арестован по делу врачей-микробиологов и в 1931 г. сослан в Казахстан, где вместе с другими ссыльными микробиологами участвовал в создании кафедры микробиологии Казахского медицинского института и налаживал производство осповакцины и дифтерийного анатоксина в Казахстане. После возвращения из ссылки, в 1934 г., он организовал лабораторию клинической микробиологии МОНКИ им. Владимирского. В первые годы Великой Отечественной войны П.Ф. Беликов сумел отредактировать и выпустить в свет изданный на газетной бумаге труд одного из основоположников эпидемиологии академика Л.Ф. Громашевского. Эта книга была справочником для каждого полкового врача. В 1943 г. П.Ф. Беликов вернулся в ГИСО и стал заведующим кафедрой микробиологии, а в 1947 г. он по инициативе ректора ГИСО Г.Н. Белецкого одновременно стал проректором по научно-учебной работе (до 1955 г.). Являясь членом Ученого совета Министерства здравоохранения России и Правления общества микробиологов профессор П.Ф. Беликов внес значительный вклад в организацию здравоохранения и микробиологической лабораторной службы в стране. Он и его соратники впервые создали бактериологическую службу в отечественной стоматологии.



Петр Федорович Беликов (1892-1961)



Лидия Николаевна Ребрева (1907-1990)

Доктор медицинских наук Лидия Николаевна Ребрева исполняла обязанности заведующего кафедрой микробиологии с 1961 по 1964 г. Выпускница Ленинградского медицинского института, в 1930-е гг. по распределению работала врачом в Казахстане. По возвращении защитила кандидатскую диссертацию и в 1939 г. была принята на работу ассистентом кафедры микробиологии ГИСО. В годы Великой Отечественной войны работала бактериологом военно-полевого госпиталя, а затем вернулась на кафедру. Ее деятельность отмечена высокими правительственными наградами. В трудный для коллектива период, в начале 1960-х гг., исполняла обязанности заведующего кафедрой микробиологии ММСИ им. Н.А. Семашко (так стал называться бывший ГИСО). Под ее руководством проводились интереснейшие исследования в области микрофлоры полости рта, развивались концепции микробной этиологии кариеса зубов, одонтогенной инфекции, дисбактериоза и другие актуальные вопросы стоматологии. Под руководством Лидии Николаевны в 1962 г. было издано первое и тогда единственное в стране пособие

«Микробиология полости рта для студентов стоматологических факультетов». Классические научные исследования Л.Н. Ребреевой, ее докторская диссертация определили новое научное направление в России - анаэробную микробиологию полости рта. Л.Н. Ребреева написала главу «Микробиология полости рта» в «Руководстве по стоматологии» под ред. чл.-кор. АМН СССР А.И. Евдокимова - основателя советской системы стоматологической службы. В 1968 г. Л.Н. Ребреева защитила диссертацию доктора медицинских наук по микробиологии одонтогенной инфекции. После ухода из ММСИ длительное время работала в бактериологической лаборатории ЦНИИС. Являясь не только выдающимся ученым, но и замечательным педагогом, Л.Н. Ребреева закрепила приоритет кафедры микробиологии ММСИ в области разработки проблем микробиологии полости рта в СССР и определила судьбы своих учеников - в настоящее время профессора М.М. Давыдовой, доцентов Ф.Ф. Волченко, С.И. Тихоновой, которые и сейчас продолжают это направление, поддерживая традиции школы.



Владимир Иванович Сачков(1924-1977)

Доктор медицинских наук, профессор Владимир Иванович Сачков был заведующим кафедрой микробиологии ММСИ им. Н.А. Семашко с 1965 по 1973 г. Родился в Ростове-на-Дону. В 1943 г. стал курсантом Гурьевского пехотного училища средних командиров. В действующей армии был до мая 1943 г., когда демобилизовался в связи с тяжелым ранением. Имеет правительственные награды. С 1965 г. под руководством В.И. Сачкова происходит расширение штатного состава сотрудников кафедры микробиологии ММСИ им. Н.А. Семашко, впервые появляются аспиранты. Количество преподавателей с 3 человек (1963) возрастает до 11 (1972). На кафедре силами сотрудников был создан большой фонд диапозитивов и других демонстрационных материалов для студентов. Основное направление научной работы кафедры в тот период - изучение микрофлоры полости рта, особенно стрептококков и стафилококков. За этот период сотрудники кафедры опубликовали более 70 научных работ. Широкую известность получила монография В.И. Сачкова «Антигенные свойства сывороточных белков при некоторых коллагеновых болезнях» (1969). В.И. Сачков подготовил 2 докторов и 40 кандидатов медицинских наук.



Иван Иванович Олейник (1932-1991)

Доктор медицинских наук, профессор Иван Иванович Олейник - выпускник, а затем преподаватель Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова в Ленинграде. С 1973 по 1991 г. И.И. Олейник возглавлял кафедру микробиологии, иммунологии и вирусологии Московского медицинского стоматологического института им. Н.А. Семашко. Будучи очень энергичным человеком, Иван Иванович проявил себя не только как выдающийся ученый-педагог, замечательный лектор, но и как прекрасный организатор. Длительное время он являлся главным редактором многотиражной газеты ММСИ, был членом ряда ученых советов по микробиологии и иммунологии (при I ММИ, НИИВС и ММСИ), членом редакционной коллегии центрального журнала «Стоматология». С 1983 г. кафедра микробиологии как режимное в санитарном плане учреждение была расположена в отдельном корпусе. С 1973 по 1992 г. под руководством И.И. Олейника было опубликовано 5 монографий и более 100 научных работ, а также выполнено 4 докторских и более 20 кандидатских диссертаций. Приоритетным направлением кафедры было изучение микробиологии и иммунологии ротовой полости. Известны также исследования И.И. Олейника и его учеников в области пульмонологии, стафилококковой инфекции и клинической иммунологии. В 1990 г. вышла в свет ключевая монография по вопросам биологии ротовой полости под редакцией выдающихся отечественных стоматологов Е.В. Боровского и В.А. Леонтьева, в которой главы по микробиологии полости рта в норме и при патологических состояниях зубочелюстной системы написал И.И. Олейник. Это было первое отечественное издание такого рода. В 2001 г. «Биология полости рта» была переиздана. Под руководством И.И. Олейника сложился современный коллектив кафедры, развивались современные методы анаэробного исследования, иммуно-люминесцентная микроскопия, иммуноферментный анализ (ИФА).

Ученики и соратники И.И. Олейника продолжают развивать научные направления отечественной школы микробиологии полости рта: проф. Е.А. Кузнецов (учение о симбиозе и инфекции), проф. В.Н. Покровский, проф. В.Н. Царев, проф. Е.Н. Николаева (клиническая микробиология и молекулярная генетика полости рта), проф. Р.В. Ушаков, проф. А.Г. Пономарева, проф. Э.Л. Краева, проф. О.Г. Крамарь (стоматогенная инфекция, фито- и антибиотикотерапия) и доценты - М.Н. Борисова, Е.М. Москвина, Э.Г. Пушкарь, И.В. Спиранде, В.И. Чувилкин (микробиология и иммунология полости рта), Т.И. Графова, О.А. Гусева, Л.А. Горелова, И.В. Тарадайко, А.С. Носик (дезинфектология в стоматологии, влияние электромагнитных полей на микроорганизмы), В.Г. Мельников (микробиология коринебактерий и актиномицет), Л.П. Жданова, В.Г. Жуховицкий, Т.Г. Козлова, А.С. Самойленко, Г.Н. Ширко (микробиология анаэробной внутрибольничной инфекции, хеликобактериоза и дисбактериозов).

Активно работают в области современной молекулярной микробиологии, изучения процессов адгезии, колонизации и формирования биопленки полости рта молодые представители отечественной школы - преподаватели кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии Московского государственного медико-стоматологического университета и научные сотрудники НИМСИ: канд. мед. наук А.А. Ласточкин, Р.В. Завадский, Е.В. Ипполитов, А.Г. Трефилов, А.А. Ходоров, Е.А. Горбачева, В.О. Артемова, Л.К. Ваганова.



Профессорско-преподавательский состав кафедры микробиологии Московского государственного медико-стоматологического университета (слева направо): А.С. Носик, Ф.Ф. Волченко, С.И. Тихонова, Е.В. Ипполитов, А.А. Ласточкин, В.Н. Царев, В.Н. Покровский, И.В. Спиранде, Т.И. Графова, Е.А. Горбачева, О.А. Гусева, В.И. Чувилкин, Р.В. Завадский, Л.А. Горелова, И.В. Тарадайко

ЧАСТЬ 1. ОБЩИЕ ВОПРОСЫ МИКРОБИОЛОГИИ И ОСОБЕННОСТИ МИКРОФЛОРЫ ПОЛОСТИ РТА ЧЕЛОВЕКА.

ГЛАВА 1. ПРИНЦИПЫ КЛАССИФИКАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ ПОЛОСТИ РТА

В настоящее время все большее внимание ученых привлекает изучение бактериального сообщества, которое формируется в организме человека с момента рождения и на протяжении всей последующей жизни. Это объясняется значением симбиотных отношений в регуляции жизненно важных функций организма, а также актуальностью для практического здравоохранения патологических состояний и заболеваний, в развитии которых принимают участие многие представители нормальной, или резидентной, микрофлоры.

С жизнедеятельностью отдельных представителей резидентной микрофлоры или нарушением их соотношения связаны такие важные проблемы современной медицины, как развитие дисбиоза, иммунодефицитных состояний, вторичной оппортунистической инфекции, заболеваний сердца, сосудов, эндокринной и других систем организма и даже процессов ожирения, метаболического синдрома, атеросклероза, дегенеративных заболеваний нервной системы.

Бактерии, грибы, простейшие и вирусы, находящиеся в полости рта человека, не являются в этом плане исключением и играют значительную роль во всех перечисленных процессах. Не менее велико их значение в возникновении дисбаланса микрoэкологических механизмов в полости рта и развитии различных заболеваний зубов, одонтогенных воспалительных процессов, тканей пародонта, слизистой оболочки полости рта.

Полость рта - единственный участок, где твердые ткани организма (зубы) в норме сообщаются с внешней средой. Бактериальные сообщества прочно прикрепляются к поверхности зубов, формируя сложную биопленку, называемую зубным налетом, или бляшкой. Сложность микрoэкологической системы полости рта обусловлена также и различиями образующих ее тканей - слизистых оболочек губ, щек, твердого нёба, языка, дна полости рта. Каждая из них имеет свои особенности и спектр колонизирующих микроорганизмов.

Полость рта, ее слизистая оболочка и органы челюстно-лицевой области играют уникальную роль во взаимодействии организма человека с окружающим его миром микроорганизмов. В процессе эволюции между человеком и микроорганизмами полости рта сформировались сложные многокомпонентные и противоречивые отношения. Микроорганизмы:

- способствуют перевариванию пищи, синтезу витаминов и в то же время продуцируют органические кислоты, способствующие развитию кариеса зубов;
- оказывают мощное модулирующее воздействие на иммунную систему организма и в то же время обеспечивают накопление в биопленке зуба адьювантов и иммуносупрессорных агентов, оказывающих токсическое воздействие на ткани десны и периодонт;
- являются сильнейшими антагонистами патогенной микрофлоры и в то же время сами способны к инвазии и диссеминации с последующим развитием серьезных заболеваний.

Доминирующее место как по разнообразию обитающих в полости рта видов, так и по количеству занимают прокариоты - бактерии (царство *Procariae*). По данным различных исследователей, число видов бактерий в этой экологической нише организма человека составляет от 400 до 700, причем около половины являются труднокультивируемыми или некультивируемыми. Количество бактерий в полости рта по числу видов и по содержанию в единице материала конкурирует с толстой кишкой. Содержание микроорганизмов в

слюне (ротовой жидкости) составляет от 5 млн до 5 млрд клеток в 1 мл, в зубном налете (бляшке) - от 1 млн до 1 млрд в 1 г материала.

Естественно, что для ориентировки в таком многообразном мире необходимо знание строгих критериев, позволяющих различать разные виды микроорганизмов, многие из которых очень близки и схожи как по внешнему виду, так и по своим свойствам.

Современная систематика предлагает различные принципы классификации и дифференциации микрофлоры, в том числе анаэробной, которая занимает до 90% общей бактериальной массы полости рта.

Важнейшими среди этих принципов считают:

- морфологический;
- биохимический;
- хемотаксономический;
- серологический;
- молекулярно-генетический.

Это особенно важно, если учесть, что многие виды анаэробов вызывают тяжелые инфекционные процессы и гнойные осложнения ран и хирургических операций. Они могут также быть причиной хронических гнойно-воспалительных процессов - пневмонии, менингитов, пиелонефритов и других заболеваний у ослабленных пациентов (например, с гиповитаминозом и иммунодефицитными состояниями).

1.1. МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ ПРИНЦИП

Морфологический принцип - один из важнейших в ориентировочной классификации микроорганизмов. Среди анаэробов полости рта можно найти все возможные морфологические формы бактерий - кокки, палочковидные и извитые.

Так, морфологию кокков имеют грамположительные бактерии полости рта: пептококки (рис. 1-1), пептострептококки (рис. 1-2), а также грамотрицательные кокки вейллонеллы (рис. 1-3).

Более детально изучить морфологию микроорганизмов можно с помощью сканирующей электронной микроскопии, которая дает увеличение в десятки тысяч раз.

При дифференциации палочковидных форм большое значение имеет спорообразование. Грамположительные палочки, не образующие спор, относят к группам коринебактерий (дифтероидов, рис. 1-5), актиномицетов (рис. 1-6), лактобактерий и др. Спорообразующие палочки (рис. 1-7 - видны споры, выявленные специальным методом окрашивания по Ожешко) включают две группы - бациллы и клостридии (рис. 1-8). Все перечисленные морфологические формы, за исключением некоторых видов бацилл, являются анаэробами.

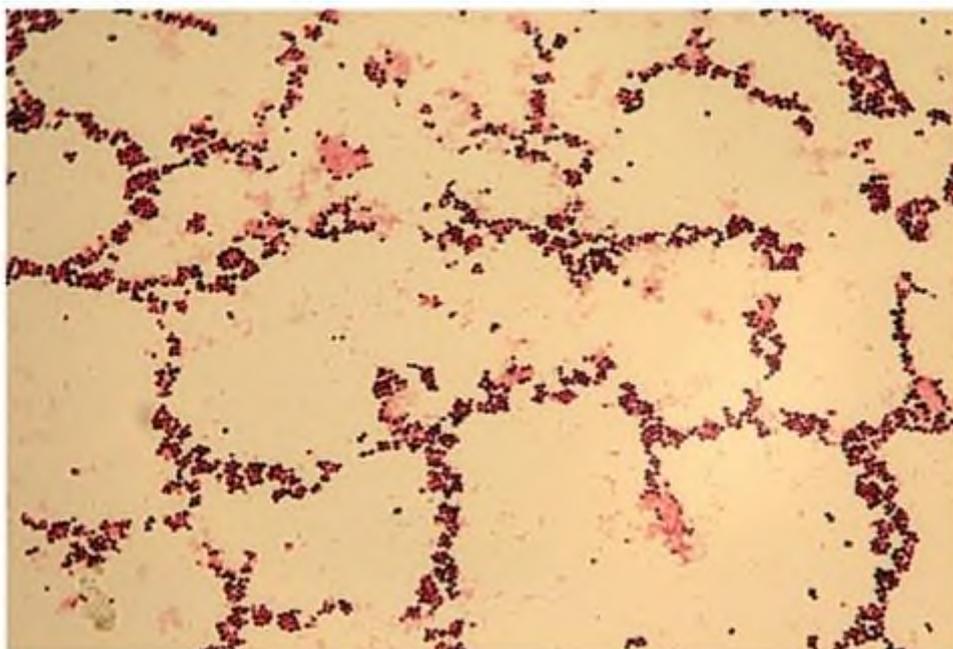


Рис. 1-1. Пептококки. Окрашивание по Граму (+)

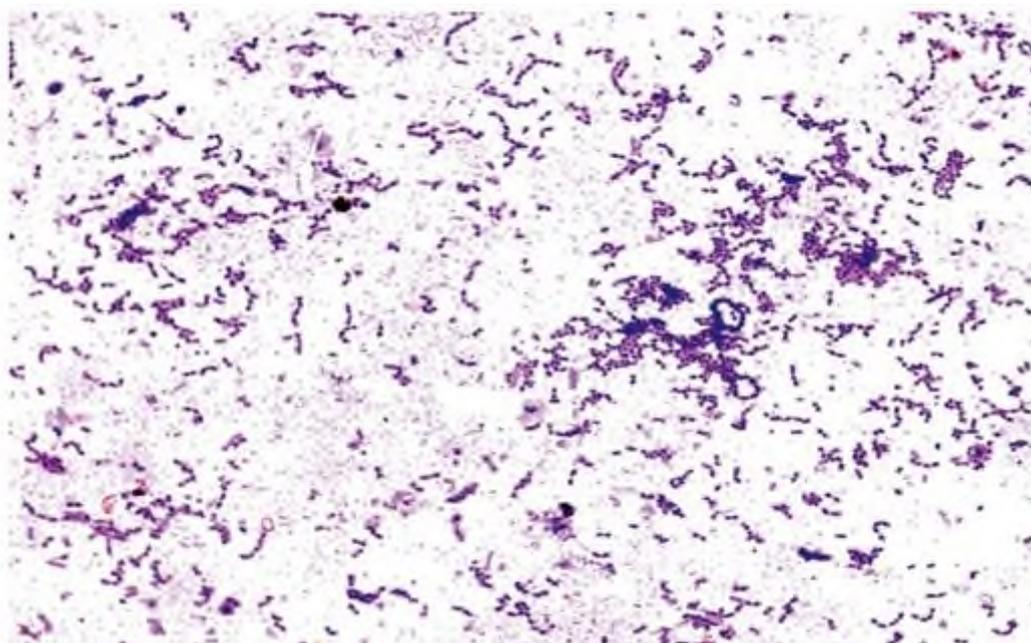


Рис. 1-2. Пептострептококки. Окрашивание по Граму (+)

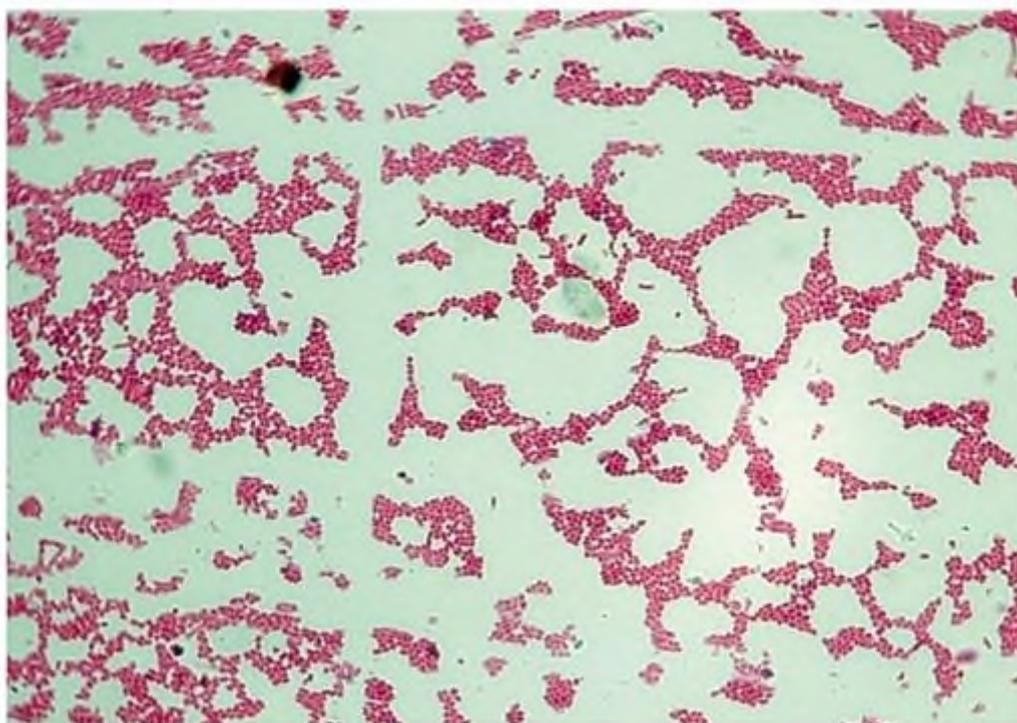


Рис. 1-3. Вейллонеллы. Окрашивание по Граму (-)

Большим многообразием форм и видов отличаются грамотрицательные анаэробные палочки - от коккобактерий и овоидов до резко вытянутых и нитевидных форм бактерий.

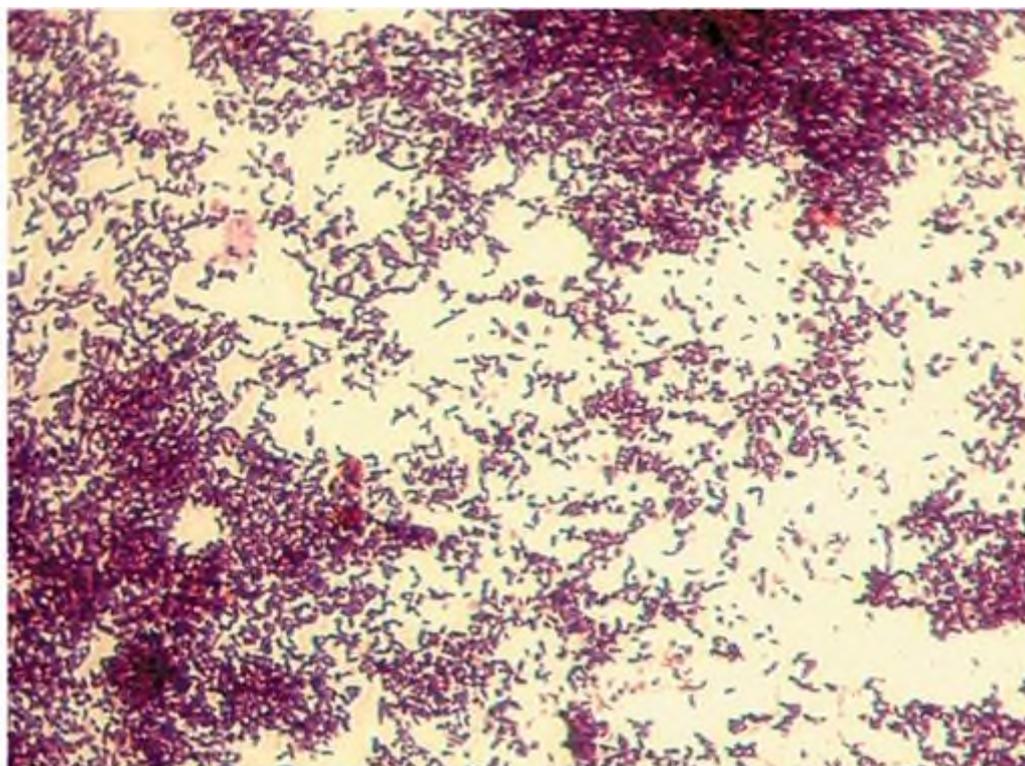


Рис. 1-5. Дифтероиды

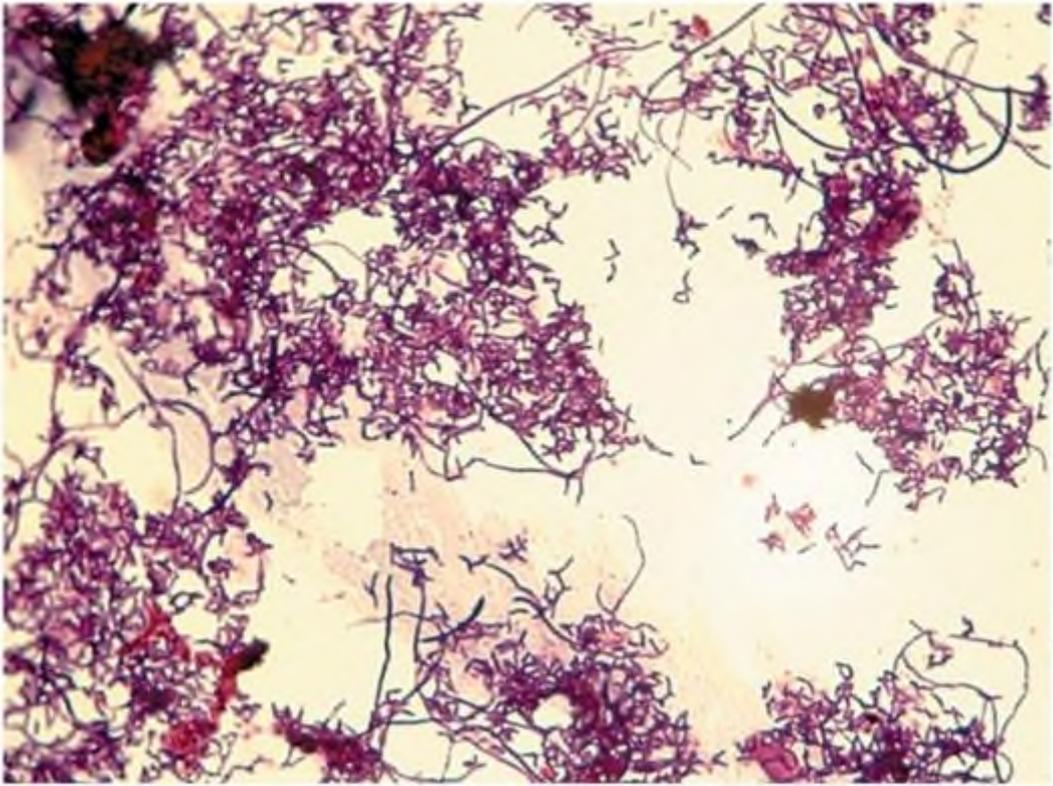


Рис. 1-6. Актиномицеты

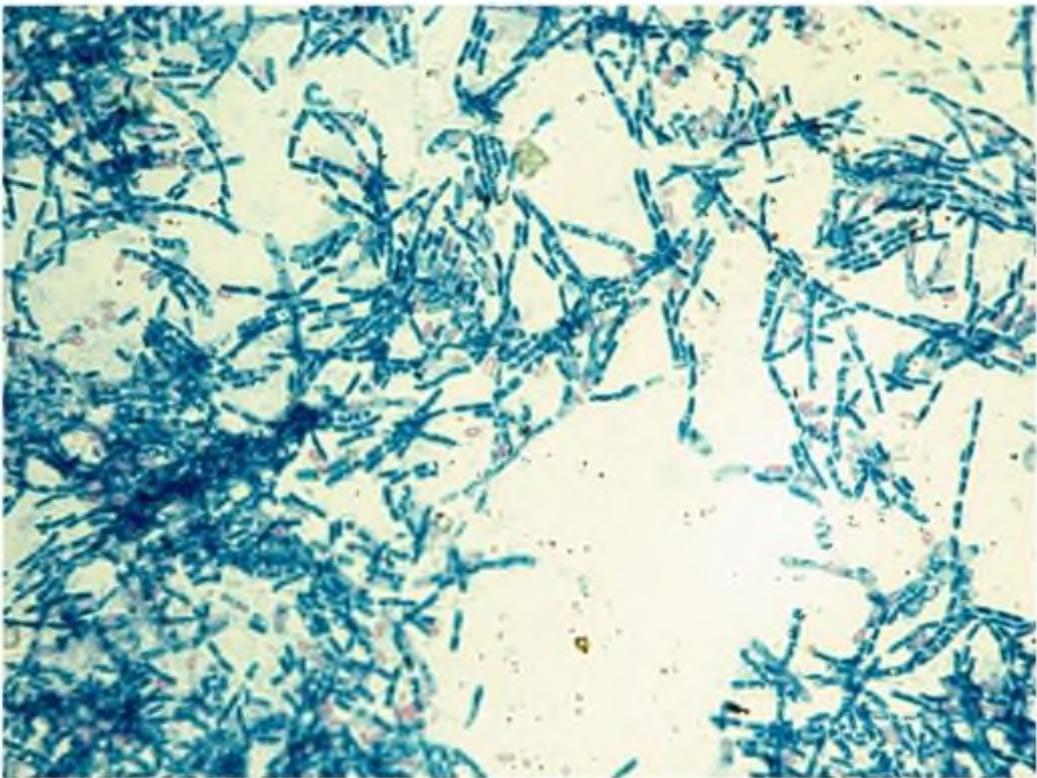


Рис. 1-7. Споры. Окрашивание по Ожешко

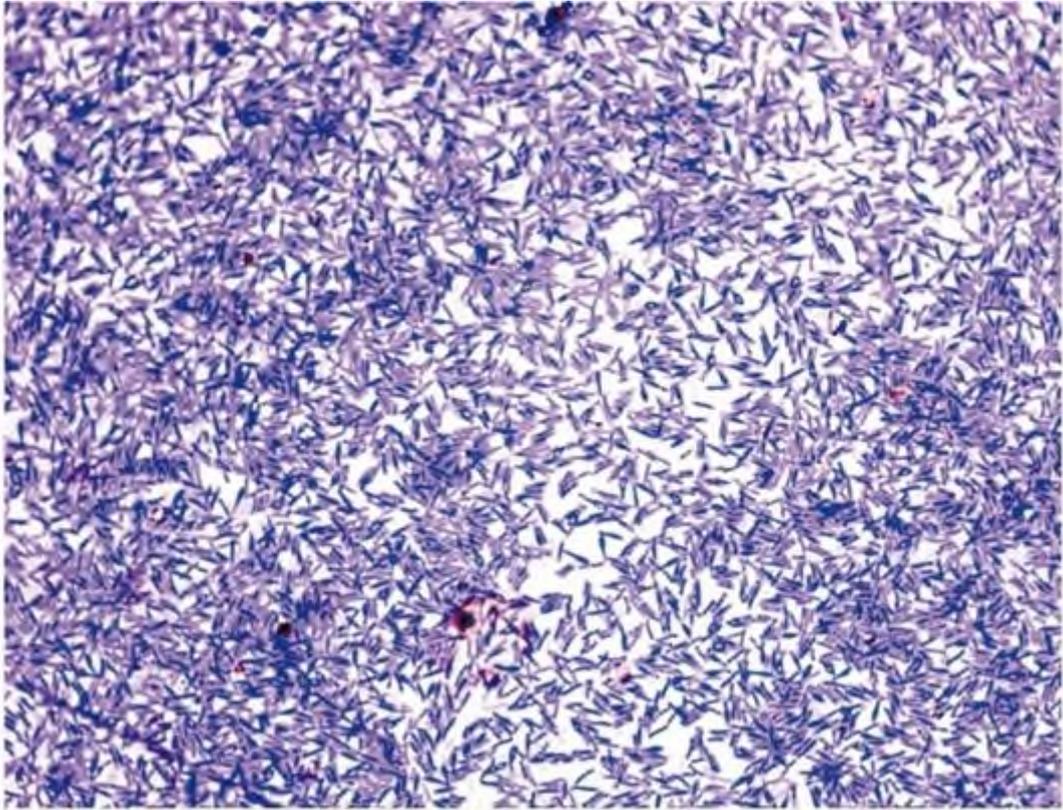


Рис. 1-8. Клостридии. Окрашивание по Граму (споры не окрашены)

Примером коротких овоидных палочек являются бактериоды. Многие из них весьма вирулентны и могут образовывать капсулу (рис. 1-9).

Напротив, другой возбудитель гнойной анаэробной инфекции - фузобактерии - представляют собой веретенообразно вытянутые палочки с заостренными концами (рис. 1-11). На рис. 1-12 представлено сообщество фузобактерий и извитых форм - трепонем в зубном налете человека.

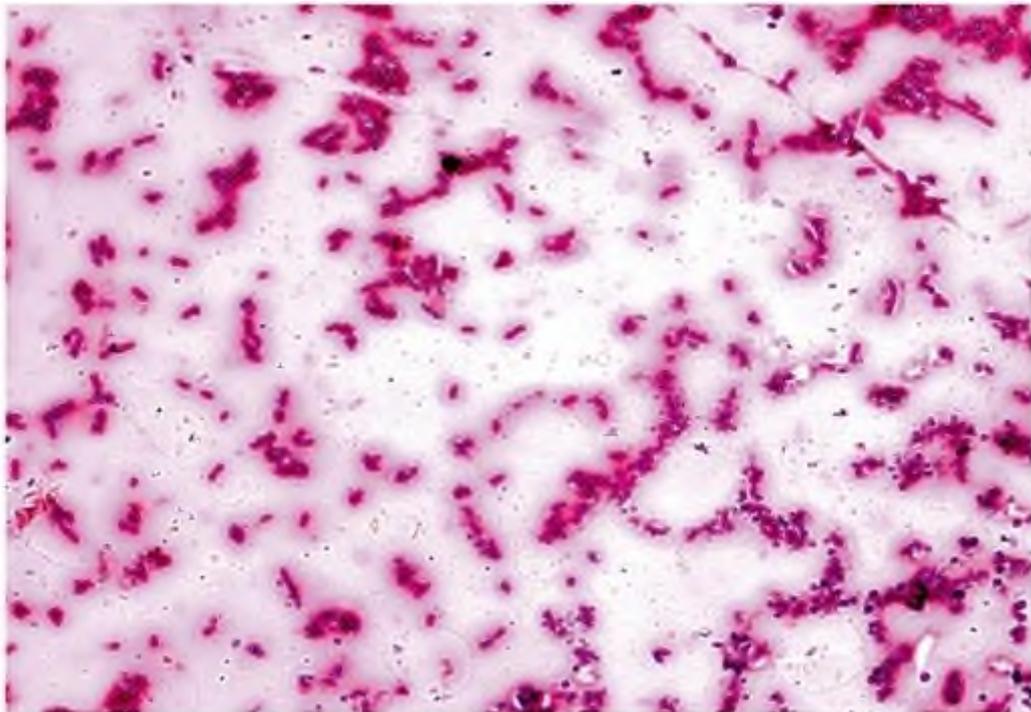


Рис. 1-9. Бактериоды. Окрашивание по Граму (-). Виден капсульный слой

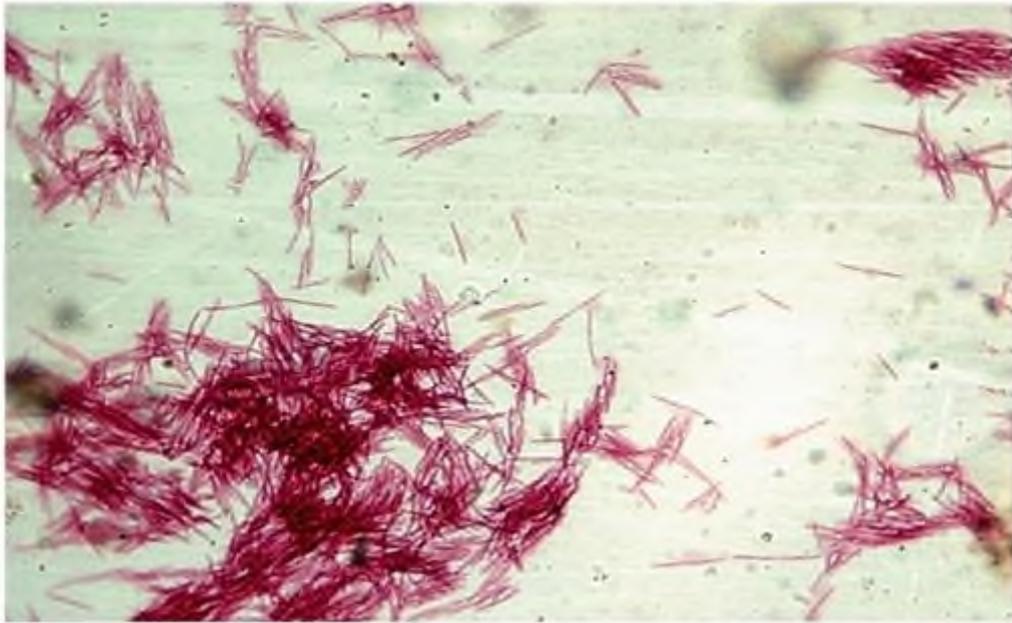


Рис. 1-11. Фузобактерии. Окрашивание по Граму (-)

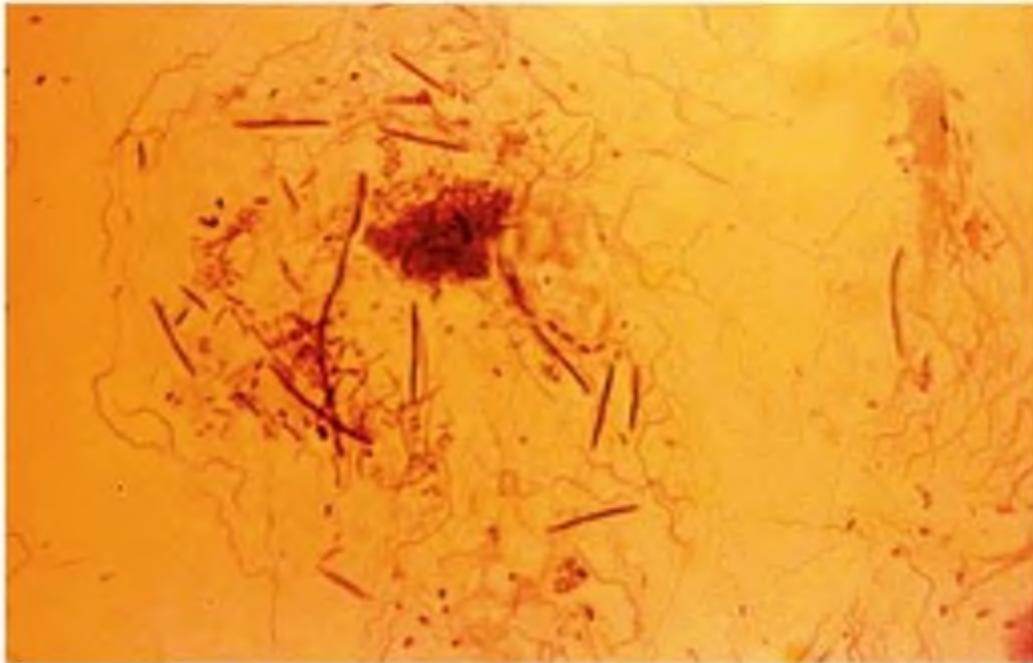


Рис. 1-12. Фузобактерии и трепонемы в зубном налете. Окрашивание по Граму (-)

Значительное место в бактериальном пейзаже слизистой оболочки и полостей организма занимают извитые формы: вибрионы, кампилобактерии (волинеллы), хеликобактерии, селеномонады, спириллы и спирохеты. Они являются облигатными анаэробами, реже - микроаэрофилами (растут при сниженном количестве кислорода в атмосфере) и отличаются большим многообразием видов. Например трепонемы (из группы спирохет) являются возбудителями тяжелого заболевания десен - пародонтита; более вирулентные виды спирохет вызывают сифилис, возвратный тиф, болезнь Лайма.

На рис. 1-14 представлена морфология представителей кампилобактерий - вибрионов, вызывающих гастриты, язву желудка и двенадцатиперстной кишки, воспалительные заболевания слизистой оболочки полости рта и кишечника.

Таким образом, микроскопическое исследование с применением сложных методов окрашивания, прежде всего по Граму, позволяет дифференцировать близкородственные

виды анаэробных бактерий и проводить ориентировочную идентификацию. Большую практическую помощь в этом могут оказать специальные методы окрашивания - по Ожешко (выявление спор) и Бури-Гинсу (выявление капсулы).

Еще более информативны методы электронной и атомно-силовой лазерной микроскопии, позволяющие не только получить более крупное увеличение, но и наблюдать живые объекты (зондовая сканирующая микроскопия) в организме, где микроорганизмы формируют симбионтные сообщества - биопленки.

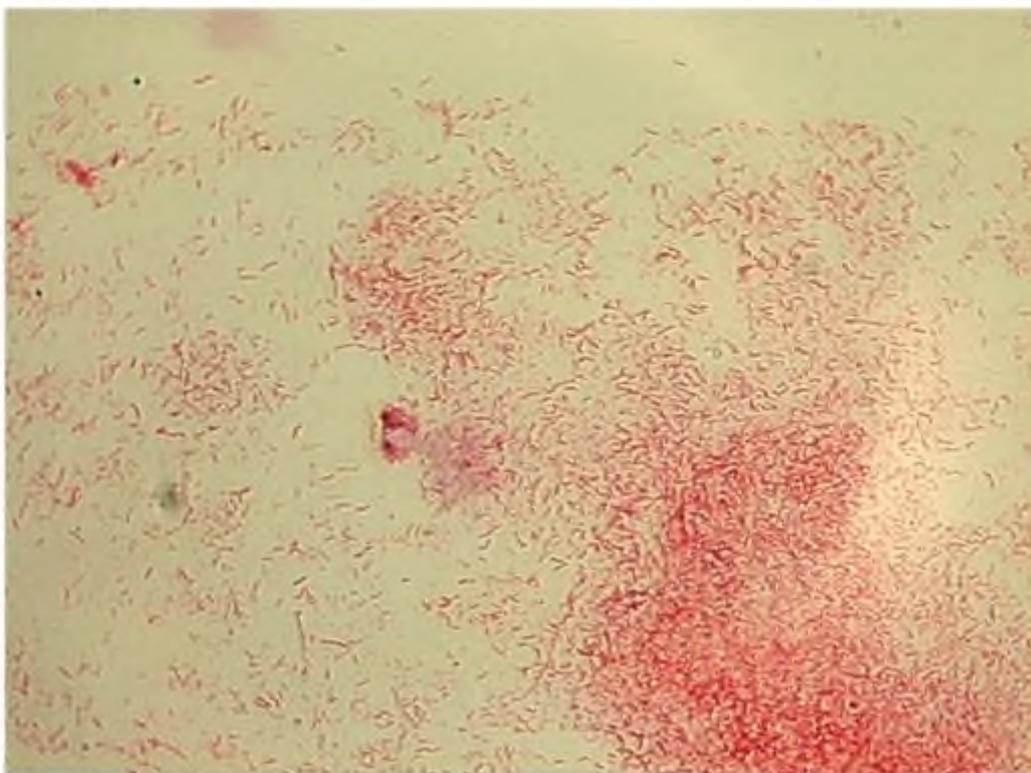


Рис. 1-14. Кампилобактер (вибрион). Сканирующая микроскопия

Вместе с тем морфология, особенно палочковидных форм, весьма однообразна, что не позволяет дифференцировать по данному признаку даже такие далекие в филогенетическом отношении группы, как, например, бактероиды и неферментирующие грамотрицательные бактерии или кишечные бактерии и синегнойная палочка.

1.2. БИОХИМИЧЕСКИЙ ПРИНЦИП

Второй важнейший принцип классификации и дифференциации бактерий полости рта - биохимический, который включает определение типа дыхания и аэротолерантности (устойчивости к кислороду), наряду с другими биохимическими свойствами.

Известно, что важной чертой нормальной микрофлоры организма человека является способность размножаться при низком парциальном давлении кислорода. Эволюционно эти бактерии не приобрели (или утратили) способность продуцировать ферментные системы типа супероксиддисмутазы и пероксидазы-каталазы, которые нейтрализуют токсические для клеток метаболиты кислорода: супероксиданион, перекись водорода, гидроксил-анион. Это приводит к быстрой гибели таких бактерий в присутствии кислорода воздуха. Данная группа бактерий получила название строгих или облигатных анаэробов. К ним относятся, например, пептококки, вейллонеллы, фузобактерии, бактероиды.

Часть представителей микрофлоры организма сохранила способность продуцировать необходимые для аэробных условий ферменты (например, каталазу), но для их хорошей

вегетации необходимо наличие повышенной концентрации углекислого газа. Такие бактерии получили название микроаэрофильных. Они, как правило, аэротолерантны (т.е. не погибают в присутствии кислорода, но для их размножения в лабораторных условиях предпочтительно создание анаэробнозона с повышенным содержанием углекислого газа). В последнем случае они называются капнофилами. Примером таких бактерий могут быть многочисленные стрептококки полости рта и носоглотки, актиномицеты, многие представители лактобактерий и коринебактерий.

Сходство морфологических и биохимических свойств разных видов бактерий заставляет искать новые подходы к систематике и идентификации. Установлено, что многие традиционные возбудители заболеваний, идентифицированные первыми ввиду их быстрого роста на питательных средах, не являются доминирующими видами и могут присутствовать у больного лишь в очень низких концентрациях, которые на самом деле не обеспечивают развития патологического процесса.

1.3. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПРИНЦИП

Наиболее стандартизированные и точные методы идентификации бактерий основаны на сопоставлении видоспецифических последовательностей гена *16S* РНК. Этот ген кодирует последовательности РНК, расположенные в малой субъединице рибосом. С помощью рибосом транслируются нуклеотидные последовательности ДНК с образованием соответствующего белка. Важные для процесса трансляции участки ДНК представлены высококонсервативными последовательностями, менее важные - варибельными, позволяющими различать схожие микроорганизмы.

В настоящее время более 125 000 бактериальных *16S*-последовательностей ДНК представлены в общедоступных базах данных (*GenBank* и *Ribosomal Database Project*). В них с помощью поисковой системы BLAST неизвестные бактерии можно идентифицировать по их ДНК-последовательности гена *16S* (поэтому процесс такой идентификации обычно называют «бластинг»).

Консервативные и варибельные области гена *16S* - мишени для полимеразной цепной реакции (ПЦР) (см. гл. 13). ДНК-последовательности *16S* любых бактерий можно амплифицировать, используя гомологичные гену *16S* праймеры («затравки»). Это позволяет изучать ранее неизвестные бактерии. Приготовив видоспецифические праймеры, гомологичные варибельным областям этого гена, можно определять присутствие соответствующих бактерий в клиническом материале.

Сравнение последовательностей в гене *16S* не только позволяет идентифицировать бактерии, но и классифицировать их: чем раньше в процессе эволюции разошлись два вида, тем больше различий в их генах *16S*. Используя для сравнения консервативные области этих генов у многих бактерий и подсчитав количество различий в их варибельных областях, можно составить диаграмму эволюционных связей между ними - филогенетическое древо (см. рис. 2-1, 2-2 в гл. 2).

Этот прием лежит в основе современной филогенетики бактерий. Так можно выявить степень родства у бактерии одного рода или вида.

Филогенетические данные важны для разработки праймеров для ПЦР, например праймера, гомологичного всем представителям рода *Streptococcus* или родов *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Tannerella*, которые раньше относили к одному роду - *Bacteroides*.

На рисунках в главе 2 представлено несколько групп анаэробных грамотрицательных неспорообразующих бактерий, встречающихся в полости рта. Филогенетический анализ рибосомных *16S*-последовательностей получил наиболее широкое распространение, но его выводы нуждаются в уточнении, так как для бактерий характерна передача генов не только по вертикали (от материнской клетки - дочерним), но и по горизонтали (генетический обмен). Такое смешивание генов может не отражать эволюцию гена *16S* и в то же время

выполнять важные для бактерий функции (например, детерминировать факторы патогенности).

Классификация и номенклатура бактерий постоянно совершенствуются и обновляются. Решения по любым изменениям и добавлениям к современному перечню бактерий выносит специальная юридическая комиссия, которая рассматривает постоянно поступающие предложения. Официальное признание бактерий считается состоявшимся, если их описание, основанное на изучении культуральных свойств, опубликовано в специальном международном журнале *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*». У многих бактерий геном полностью расшифрован, и по мере пополнения этого списка в конечном счете появится возможность для их более точной филогенетической классификации.

Однако многие бактерии, определяемые только молекулярными методами, до сих пор не имеют узаконенных названий. Некультивируемые бактерии обычно называют по роду ближайших культивируемых родственников с добавлением буквенно-цифрового кода, например *Veillonella spp.*, клон X042 (из полости рта). Новые данные о генетических связях часто влекут за собой изменение названия известных бактерий. Например, фенотипически близкие к фузобактериям *Fusobacterium alocis* после секвенирования их *16S-гена* были отнесены к другому роду и получили название *Filifactor alocis*.

ГЛАВА 2. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБЛИГАТНО-АНАЭРОБНОЙ МИКРОФЛОРЫ ПОЛОСТИ РТА: ТАКСОНОМИЯ, ЭКОЛОГИЯ, РОЛЬ В ПАТОЛОГИИ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ

Накопленный за последние десятилетия опыт исследования микрофлоры при воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области свидетельствует, что материал, взятый у таких больных, в преобладающем большинстве случаев (80-97%) содержит анаэробные бактерии.

Их количество, как правило, значительно превышает число аэробных и факультативно-анаэробных видов и составляет от 10 млн до 100 млрд КОЕ/мл или КОЕ/г в зависимости от характера исследуемого материала (ротовая жидкость, гнойный экссудат, десневая жидкость, экссудат пародонтального кармана, зубной налет и т.п.).

Преобладающее большинство видов анаэробных бактерий, выделяемых при этой патологии, являются представителями резидентной микрофлоры полости рта, однако среди них встречаются условно патогенные и патогенные виды с высокой вирулентностью. Роль отдельных видов и родов в составе микробиоценоза полости рта, а следовательно, и в патологии, неоднозначна.

2.1. ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ (СПОРОНЕОБРАЗУЮЩИЕ) АНАЭРОБНЫЕ БАКТЕРИИ

Систематика

Грамотрицательные (споронеобразующие) анаэробные бактерии представляют собой обширную группу анаэробных микроорганизмов, относящихся к различным таксонам, не образующих споры и способных удовлетворять свои энергетические потребности только при отсутствии кислорода (в пределах 0,5-0,8% для строгих анаэробов и от 1 до 8% - для умеренных).

Основные представители, имеющие медицинское значение, относятся к семействам *Acidaminococcaceae* (ацидаминококки) и *Veillonellaceae* (вейллонеллы), *Bacteroidaceae* (бактероиды), *Prevotellaceae* (превотеллы), *Porphyromonadaceae* (порфиромонады), *Fusobacteriaceae* (фузобактерии), а также

к *Desulfobacteriaceae*, *Lachnospiriacae*, *Succinovibrionaceae* и другим извитым формам (анаэробные вибрионы, спириллы и трепонемы).

В последние годы классификация анаэробных бактерий базируется на принципах генотипической гомологии, позволяющей определить их филогенетическое родство (рис. 2-1).

Морфология бактерий данной группы очень разнообразна. Они могут быть представлены тремя известными морфологическими группами - кокками, палочками и извитыми формами. Характерной чертой, затрудняющей диагностику, является полиморфизм в пределах одного рода и даже вида.

Многие анаэробы имеют жгутики, спор не образуют, также имеют хорошо развитый адгезивный аппарат (разнообразные пили, микроворсинки и везикулы), позволяющий анаэробным бактериям колонизировать различные биотопы организма. Некоторые виды способны образовывать капсулу в организме человека, выполняющую адгезивную и протективную функции.

Физиология

Основная характеристика - отсутствие толерантности к кислороду ввиду недостаточности ферментных систем (каталаз, пероксидаз, супероксиддисмутаза), нейтрализующих токсические продукты окислительного метаболизма (перекись водорода, гидроксильные радикалы, одноатомный кислород, супероксидные анионы). Однако у разных видов анаэробов этот признак варьирует. Так, многие анаэробные бактерии под действием кислорода начинают продуцировать индуцибельные супероксиддисмутазы, что является важным их преимуществом перед многими грамположительными анаэробами. Продукция каталаз широко варьирует у разных видов и не коррелирует с устойчивостью к кислороду. Пероксидазная активность не выявлена.

Экология и патогенность для человека. К граммотрицательным палочковидным бактериям относятся представители 33 родов, объединенных в 16 семейств (включая и извитые формы), а кокковидным - 5 родов, объединенных в 2 семейства. Среди палочковидных анаэробных бактерий особое место занимают 5 родов (из 5 разных семейств), являющихся сульфатредуцирующими бактериями, у которых форма клеток варьирует от овальной до нитевидной. Характеризуя экологию данной группы бактерий, необходимо подчеркнуть, что все они являются симбионтами человека и животных, за исключением спорообразующих форм (кlostридий), пропионибактерий, а также некоторых видов анаэровибрио и представителей группы бактериоидов, населяющих бескислородные придонные отложения и скважинные илы, но в окружающей среде они не встречаются.

→ *Fusobacteria* → *Fusobacteriales* → *Fusobacteriaceae* → *Fusobacterium*/*F. nucleatum* +
 → *Fecalibacterium*/*F. prausnitzii* (1)
 → *Leptotrichia*/*L. buccalis* +
 → *Propionigenium*/*P. modestum*
 → *Sneathia*/*S. sanguinegens* (2)
 → *Bacteroides* → *Bacteroidales* → *Bacteroidaceae* → *Anaerorhabdus*/*A. furcosa* (3)
 → *Bacteroides*/*B. fragilis* +
 → *Megamonas*/*M. hypermegale* (3)
 → *Porphyromonadaceae* (3) → *Porphyromonas*/*P. gingivalis* +
 → *Tannerella*/*T. forsythensis*
 → *Prevotellaceae* (3) → *Prevotella*/*P. intermedia* +
 → *Hallella*/*H. sergens*
 → *Clostridia* → *Clostridiales* → *Acidaminococcaceae* → *Acidaminococcus*/*A. fermentans*
 → *Anaeroglobus*/*A. geminatus*
 → *Dialister*/*D. pneumosintes* (3)
 → *Megasphaera*/*M. elsdenii* +
 → *Selenomonas*/*S. artemidis* +
 → *Veilonella*/*V. parvula* +
 → *Lachnospiraceae* → *Butyrvibrio*/*B. crossotus* +
 → *Catonella*/*C. morbi*
 → *Jonsonella*/*J. ignava*
 → *Oribaculum*/*O. catoniae*
 → *Betaproteobacteria* → *Burkholderiales* → *Alcaligenaceae* → *Sutterella*/*S. wadsworthensis*
 → *Oxalobacteriaceae* → *Oxalobacter*/*O. formigens*
 → *Deltaproteobacteria* → *Desulfobacterales* → *Desulfobacteriaceae* →
Desulfobacter/*D. postgatei*
 → *Desulfobulbaceae* → *Desulfobulbus propionicus*
 → *Desulfovibrionales* → *Desulfovibrionaceae* → *Bilophyla*/*B. wadsworthia*
 → *Desulfovibrio*/*D. desulfuricans* +
 → *Desulfohalbiaceae* → *Desulfomonas*/*D. pigra*
 → *Desulfomicrobiaceae* → *Desulfomicrobium*/*D. orale* +
 → *Gammaproteobacteria* → *Aeromonadales* → *Succinivibrionaceae* →
Anaerobiospirillum/*A. thomassii* +
 → *Succinivibrio*/*S. dextrinosolvens*
 → *Chlamidia*/*Verrucomicrobia gr.* → *Lentisphaera* → *Victivallaceae* →
Victivales/*V. vadensis*

Рис. 2-1. Филогенетическое древо грамотрицательных спорообразующих анаэробных бактерий (класс → порядок → семейство → род → вид): 1 - ранее относились к *Fusobacterium*; 2 - ранее относились к *Leptotrichia*; 3 - ранее относились к *Bacteroides*; + - другие виды данного рода

Микробиологическая диагностика. До настоящего времени морфология грамотрицательных спорообразующих анаэробных бактерий и отношение к окрашиванию по Граму являются основой лабораторной диагностики. Однако недостатки такой систематики очевидны, поскольку размеры и форма клеток у анаэробных бактерий варьируют не только в пределах рода, но и вида, а вариант и интенсивность окрашивания (впрочем, так же как и морфология) нередко зависят от возраста культуры и условий культивирования. Идентичные по морфологии и окрашиванию по Граму анаэробы могут принадлежать не только к разным семействам и порядкам, но даже и к разным классам бактерий (см. рис. 2-2).

Именно поэтому основным методом считают бактериологический с расширенной идентификацией по биохимическим свойствам, а также использование газовой хроматографии (хемотаксономии) и ПЦР (генодиагностики).

Место обитания большинства видов анаэробных бактерий - ротовая полость, кишечник, мочевыводящие пути. Они могут вызывать неспецифические воспалительные

процессы разной локализации. Однако патогенность разных видов, так же как и генетическая восприимчивость человека к разным видам, существенно варьирует. Известно, что наиболее частыми возбудителями оппортунистической гнойной инфекции являются бактериоиды, превотеллы, порфиромонады, фузобактерии и анаэробные спираиллы.

В последние годы установлена высокая инфективность и вирулентность у представителей ряда видов, колонизирующих полость рта, которые получили название пародонтопатогенных. К ним относятся, в частности, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella for-sithia*. Исследователи приходят к выводу, что эти бактерии являются патогенами и способны передаваться от человека к человеку. Носительство данных видов в человеческой популяции варьирует от 6-8 до 12%. Возможно, что аналогичные патогенные виды (которые в настоящее время считаются представителями нормальной микрофлоры) существуют также и в других биотопах организма человека.

- *Actinobacteria* → *Coriobacteridae* → *Coriobacteriaceae* → *Atopobium*/*A. minutum* (1)
- *Collinsella* /*C. stercoris* +
- *Cryptobacterium*/*C. curtum* (2)
- *Olsenella*/*O. profusa*, *O. uli*
- *Slackia*/*S. exigua* (2) +
- *Eubacteriaceae* → *Eubacterium*/*E. limosum* +
- *Mogibacterium*/*M. diversum* +
- *Actinobacteridae* → *Bifidobacteriaceae* → *Bifidobacterium*/*B. dentium*+
- *Parascardovia*/*P. denticolens* (3)
- *Scardovia*/*S. inopinata* (3)
- *Actinomycetaceae* → *Actinomyces*/*A. israelii* +
- *Arcanobacterium*/*A. pyogenes* (4) +
- *Propionibacteriaceae* → *Propionibacterium*/*P. acnes* +
- *Mollicutes* → *Anaeroplasmatales* → *Erysipelotrichaceae* → *Erysipelotrich* /*E. rhusiopathiae*
- *Bulleidia*/*B. extracta*
- *Clostridia* → *Clostridiales* → *Acidaminococcaceae* → *Centipeda*/*C. periodontii*
- *Clostridiaceae* → *Clostridium*/*C. septicum* +
- *Sarcina*/*S. ventriculi*
- *Lachnospiraceae* → *Ruminicoccus*/*R. productus* (5)
- *Peptococcaceae* → *Peptococcus*/*P. niger*
- *Peptostreptococcaceae* → *Peptostreptococcus*/*P. anaerobius*
- *Peptoniphilus*/*P. asacharolyticus* (5)
- *Micromonas*/*M. micros* (5)
- *Bacilli* → *Lactobacillales* → *Lactobacillaceae* → *Lactobacillus*/*L. salivarius* +

Рис. 2-2. Филогенетическое древо грамотрицательных споронеобразующих анаэробных бактерий (класс → порядок → семейство → род → вид): 1 - ранее относились к *Lactobacillus*; 2 - ранее относились к *Eubacterium*; 3 - ранее относились к *Bifidobacterium*; 4 - ранее относились к *Actinomyces*; 5 - ранее относились к *Peptostreptococcus*; + - другие виды данного рода

Ниже рассмотрены представители основных таксономических групп грамотрицательных споронеобразующих анаэробных бактерий, имеющих важное медицинское значение (краткую характеристику родов - см. в табл. 2-1).

2.1.1. Ацидаминококки и вейллонеллы

Род *Veillonella* - один из доминирующих (количественно) обитателей полости рта и слизистой оболочки пищеварительной системы. Представители рода *Acidaminococcus* являются обитателями кишечника, но могут определяться при патологии придаточных пазух носа - синуситах. В патологии полости рта, по-видимому, не участвуют.

Таблица 2-1. облигатно-анаэробные бактерии микробиоценоза полости рта

Морфология	Окрашивание по Граму	Хемотаксономия	Род
Кокки, не образуют спор	Грамположительные	Плохо ферментируют углеводы	<i>Peptostreptococcus</i> <i>Peptococcus Peptoniphilus</i> <i>Micromonas</i>
		Активно ферментируют углеводы	<i>Ruminicoccus</i>
	Грамотрицательные	Продуцируют уксусную и пропионовую кислоты	<i>Veillonella</i>
		Продуцируют уксусную и масляную кислоты	<i>Acidaminococcus Dialister</i>
Палочки, не образуют спор	Грамположительные	Плохо ферментируют углеводы	<i>Actinomyces Eubacterium</i>
		Продуцируют пропионовую кислоту	<i>Propionibacterium</i>
		Активно ферментируют углеводы	<i>Bifidobacterium</i> <i>Lactobacillus</i>
	Грамотрицательные	Продуцируют только молочную кислоту	<i>Leptotrichia</i>
		Продуцируют преимущественно масляную кислоту	<i>Fusobacterium</i>
		Продуцируют разнообразные жирные кислоты	<i>Bacteroides Porphyromonas</i> <i>Prevotella Tannerella</i>
Палочки, образуют споры	Грамположительные	Активно ферментируют углеводы	<i>Clostridium</i>

Вейллонеллы представляют собой облигатно-анаэробные грамотрицательные мелкие коккобактерии. Неподвижные, спор не образуют. В мазке из чистой культуры представлены в виде сферических диплококков, скоплений в виде гроздьев или коротких цепочек.

Изолированные колонии вейллонелл на лактатагаре достигают в диаметре 1-3 мм, гладкие, выпуклые, чечевицеобразной или ромбовидной формы, опалового или желто-белого цвета, мягкие по консистенции.

Они населяют слизистую оболочку полости рта, нёба, десен, глубоких слоев биопленки зуба (зубной бляшки), являются доминирующими в слюне и протоках слюнных желез.

Благодаря особенностям биохимической активности вейллонеллы хорошо ферментируют уксусную, пировиноградную и молочную кислоты и играют важную роль в полости рта, нейтрализуя кислые продукты метаболизма других бактерий. Это позволяет рассматривать вейллонеллы как антагонисты кариесогенных стрептококков и важнейший фактор резистентности человека к кариесу зубов. Патогенная роль вейллонелл в развитии воспалительных процессов полости рта не доказана, хотя они нередко выделяются из гнойного экссудата в ассоциации с другими анаэробными бактериями.

В полости рта встречаются представители двух видов: *V. parvula* и *V. alcalescens*. Их обнаруживают в слюне, на слизистой оболочке полости рта и десен, в глубоких слоях зубной бляшки. Часто выделяют при различных патологических процессах из гнойного экссудата и содержимого пародонтальных карманов.

2.1.2. Бактероиды, превотеллы и порфиромонады

Bacteroides - группа грамотрицательных анаэробных бактерий, которых в настоящее время насчитывают свыше 30 видов, объединенных в три основных рода: *Prevotella*, *Porphyromonas* и собственно *Bacteroides*.

В настоящее время в эту группу объединяют мелкие грамотрицательные палочки, овоиды и коккобактерии, не образующие спор. Не имеют жгутиков, неподвижны.

Строгие (облигатные) анаэробы продуцируют разнообразные жирные кислоты, что используют при идентификации родов и видов.

В полости рта встречаются пигментообразующие и непигментированные виды, относящиеся в основном к родам *Prevotella* (*P. melaninogenica*, *P. nigrescens*, *P. intermedia*, *P. heparinolytica*), *Porphyromonas* (*Porphyromonas gingivalis*). Такое деление основано на том, что из пародонтальных карманов и полости рта выделяют пигментообразующие виды. Бактерии данной группы *in vitro* продуцируют различные ферменты агрессии: коллагеназу, гиалуронидазу, хондроитинсульфатазу, гепариназу, IgA-, IgG-, IgM-протеазы, что позволяет рассматривать их как важнейших потенциальных возбудителей одонтогенной инфекции.

В бронхиальном дереве, урогенитальной системе и особенно в толстой кишке типичными обитателями являются представители собственно рода *Bacteroides* - *B. fragilis*, *B. ruminicola*, *B. thetaiotaomicron*, *B. uniformis*.

Бактероиды, как правило, являются доминирующей микрофлорой в гнойном экссудате при абсцессах, флегмонах, остеомиелитах челюстно-лицевой области, содержимом пародонтального кармана при пародонтите и гингивите. К основным пародонтопатогенным видам относят *B. forsythia* (выделен в новый род - *Tannerella*), *Prevotella nigrescens*, *P. intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*). При инвазии в ткани пародонта они обычно окружены капсульным слоем.

Бактероиды выделяют при разнообразных воспалительных процессах челюстно-лицевой области, чаще в ассоциации с анаэробными кокками (пептострептококками, вейллонеллами), фузобактериями, стрепто- и стафилококками. В последние годы настороженность клиницистов вызывает появление штаммов бактериоидов с множественной резистентностью к метронидазолу, пенициллинам, тетрациклинам, цефалоспорином и клиндамицину.

Основные виды: *Bacteroides fragilis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia/nigrescens*, *Tannerella forsythia*. Последние три включены Всемирной организацией здравоохранения в перечень так называемых пародонтопатогенных видов бактерий. Наряду с актинобациллами и *Treponema denticola* их относят к основным возбудителям пародонтального воспаления.

2.1.3. Фузобактерии и лептотрихии

Представляют собой анаэробные, неспорообразующие грамотрицательные, с заостренным концом палочки. Представители рода *Fusobacterium* были впервые описаны в 1880-х гг. при язвенном гингивите, а позже было обнаружено, что их присутствие связано с наличием спирохет (симбиоз) при ангине Венсана. Первоначально в полости рта было выделено 2 вида *Fusobacterium*: *Fusobacterium nucleatum* и *Fusobacterium plauti*. Первые образуют полупрозрачные колонии на 5% кровяном геминагаре, а последние - серо-белые колонии.

В настоящее время выделяют несколько видов фузобактерий. *Fusobacterium nucleatum* может быть изолирован из верхних дыхательных путей, где он является самым распространенным видом. Увеличение количества *Fusobacterium nucleatum* в полости рта связывают с пародонтитом. При наличии спирохет (трепонем), с которыми они проявляют синергизм патогенного действия, *Fusobacterium nucleatum* быстро размножаются и занимают доминирующее положение в микрофлоре полости рта. Фузобактерии *F. nucleatum*, *F. necroforum*, *F. mortiferum* продуцируют мощные гистолитические ферменты: гиалуронидазу, хондроитинсульфатазу, лецитиназу, имеют эндотоксин.

В процессе метаболизма продуцируют преимущественно масляную кислоту, иногда и в небольших количествах - изомаляную и изовалериановую.

В норме населяют как слизистую оболочку полости рта, так и зубные бляшки. Однако многие виды не имеют факторов адгезии к эпителию слизистой оболочки полости рта и колонизируют ее за счет коагрегации с другими видами бактерий. В то же время легко колонизируют сформировавшийся пародонтальный карман, раневые поверхности, клетчатку, коллагеновые и мышечные волокна, вызывая при этом гнойное воспаление.

При патологии челюстно-лицевой области фузобактерии выделяют из гнойного экссудата (неклостридиальная анаэробная инфекция - абсцессы, флегмоны, остеомиелиты), содержимого пародонтального кармана (генерализованный пародонтит), а также при язвенно-некротическом стоматите и ангине Венсана в ассоциации с трепонемами. Основные виды: *F. nucleatum*, *F. necroforum*, *F. mortiferum*.

Наряду с бактероидами и пептострептококками, фузобактерии считаются основными возбудителями разнообразных гнойно-воспалительных процессов в полости рта, абсцессов легких, мозга, печени, холецистита и перитонитов, включая быстро прогрессирующие формы (в ассоциации с извитыми формами микроорганизмов).

Представители рода *Leptotrichia* являются резидентами полости рта. Ранее лептотрихии было трудно классифицировать из-за путаницы с названиями (нередко их смешивали с сапрофитными бактериями водоемов - *Leptotrix*). Длительное время считалось, что этот род представлен одним видом - *Leptotrichia buccalis*. Его можно рассматривать как грамвариабельный микроорганизм, однако по генетическим признакам он родственен фузобактериям, а структура его клеточной стенки и состав липополисахаридов (ЛПС) характерны для споронеобразующих грамотрицательных анаэробных микроорганизмов.

Характерно, что в различных исследованиях *Leptotrichia* описывались как неразветвленные, неподвижные, неспорообразующие, прямые или слегка изогнутые палочки, с одним или двумя заостренными концами в молодых культурах и, наоборот, в виде изогнутых, перекручивающихся нитей и цепочек - в старых культурах. Действительно, в культурах возрастом менее 6 ч микроорганизмы окрашиваются грамположительно, но к 24 ч становятся грамотрицательными.

Хотя этот микроорганизм рассматривается как анаэробный, для его выделения и оптимального роста необходим 5% CO₂. Ферментирует углеводы подобно гомоферментным лактобактериям полости рта.

В норме лептотрихии колонизируют слизистую оболочку полости рта, языка, миндалин, зрелую зубную бляшку. Есть предположение об ассоциации лептотрихий с *Helicobacter pylori*, так как наблюдалось увеличение выделения бактерий у пациентов с гастритом и язвенной болезнью желудка.

Как полагают, лептотрихии неспособны вызывать серьезные заболевания и относятся к основным стабилизирующим видам. Именно поэтому нозологическая форма заболевания, известная в России как лептотрихиоз, на самом деле не имеет научного обоснования и должных доказательств.

2.1.4. Извитые формы грамотрицательных анаэробных бактерий

Относятся к родам *Campylobacter*, *Selenomonas*, *Treponema* и другим извитым (изогнутым, спиралевидным) бактериям. Многие виды являются факультативными анаэробами и микроаэрофилами.

Среда ротовой полости - прекрасное место для обитания подвижных извитых форм. У взрослых с нормальной зубочелюстной системой обитает достаточно большое количество спирохет, чего нельзя сказать о людях с адентией; также трудно выделить спирохеты у детей до прорезывания зубов. У 2/3 исследованных детей были обнаружены единичные спирохеты, тогда как у взрослых - множество.

Анаэробные спиралилы и вибрионы относятся к грамотрицательным бактериям, которые активно перемещаются благодаря жгутикам, пучкообразно расположенным на полюсах клетки.

Род *Campylobacter* включает как минимум 3 вида бактерий, имеющих непосредственное отношение к полости рта, а именно *Campylobacter sputorum* (ранее известный как *Vibrio sputorum*), *Campylobacter concisus* и *Campylobacter rectus* (по старой классификации - *Wollinella recta*). Эти бактерии представляют собой изогнутые подвижные микроаэрофильные вибрионы. Они, очевидно, не ферментируют и не окисляют углеводы, но эти виды можно отличать на основе биохимических тестов, ингибиторов роста, температуры и устойчивости к антибиотикам.

Недавно идентифицированный *Campylobacter concisus* представляет изогнутые клетки с закругленными концами, растет в присутствии кислорода. Все виды были выделены из десневой жидкости человека в период воспаления десны, при этом наблюдается увеличение числа *Campylobacter sputorum*, но все еще не ясно, есть ли прямая зависимость между их увеличением и болезнью. В пародонтальном кармане и в инфицированном канале зуба нередко обнаруживают *Campylobacter rectus*.

Род *Selenomonas* включает 3 подвида *Selenomonas ruminantium* и один вид, обитающий в полости рта, - *Selenomonas sputigena*. Три подвида обнаружены в пищеварительной системе как людей, так и животных, а вид *Selenomonas sputigena* - в пародонтальных карманах. Роль и участие последнего в возникновении заболеваний пародонта остается невыясненной. В настоящее время выделены новые виды: *S. artemidis*, *S. diana*, *S. flueggei*, *S. infelix*, *S. noxia*, которые встречаются в полости рта и пищеварительной системе. В основном это облигатно-анаэробные подвижные палочки в виде полумесяца.

В отличие от перечисленных извитых жгутиковых бактерий, представители порядка *Spirochetaceae*, например, *Treponema denticola*, совершают активное движение благодаря штопорообразному движению удлиненной клетки за счет внутренней сократительной нити. Они строгие анаэробы.

Все спирохеты полости рта объединены в род *Treponema*: *T. macro-dentium*, *T. denticola*, *T. orale*, *T. vincentii*, *T. microdentium*, *T. sclioidentium*, *T. mucosum*, *T.*

baccae, которые различаются по культуральным и биохимическим свойствам в анаэробных условиях культивирования. Рост *T. macrodentium* не зависит от присутствия сыворотки, ему необходимы изомасляная кислота, полиамины и глюкоза; *T. denticola* также хорошо растет без сыворотки, но в присутствии бычьего сывороточного альбумина, пропитанного олеиновой и пальмитиновой кислотами. *T. orale* может разлагать лактат.

Спирохеты могут быть вовлечены в пищевые цепочки с другими микроорганизмами. *T. vincentii* часто обнаруживают при язвенно-некротическом гингивите. При этом заболевании наблюдается отек, появляются язвы на десне и слизистых оболочках полости рта, покрывающиеся корками, удаление которых приводит к кровотечению. Затем, после присоединения других бактерий, может развиваться некроз мягких тканей полости рта и лица. Фузоспирохетный симбиоз обладает высокой степенью общей патогенности, может привести к инфекции верхних дыхательных путей, абсцессам легких, подкожным абсцессам. Симбионты также участвуют в формировании трофических язв.

Таким образом, в патологии полости рта спирохеты имеют значение как важнейшие представители пародонтопатогенной микрофлоры (*T. den ticola*), а также как возбудители язвенно-некротического стоматита в ассоциации с фузобактериями (фузоспирохетоза). Безусловно патогенной бактерией, вызывающей тяжелое венерическое заболевание человека - сифилис, является *T. pallidum sbsp. pallidum*. Существуют также тропические инфекционные трепонематозы: беджель, фрамбезия и пинта (карате), вызываемые патогенными трепонемами *T. pallidum sbsp. endemicum*, *T. pallidum sbsp. pertenuae* и *T. carateum* соответственно.

2.2. ГРАМПЛОЖИТЕЛЬНЫЕ СПОРОНЕОБРАЗУЮЩИЕ АНАЭРОБНЫЕ БАКТЕРИИ

Систематика

Грамположительные анаэробные бактерии представляют собой весьма обширную группу анаэробных микроорганизмов, относящихся к различным таксонам и отличающихся по морфологии (кокки, овоиды, палочки), физиологии, генетике, но имеющих одно фундаментальное общее свойство - все они способны удовлетворять свои энергетические потребности при отсутствии кислорода (в пределах до 0,5-1% для строгих анаэробов и 1-8% - для умеренных).

Основные представители, имеющие медицинское значение, относятся к семействам *Peptostreptococcaceae* (пептострептококки и пептококки), *Actinomycetaceae* (актиномицеты), *Propionbacteriaceae* (пропионибактерии), *Eubacteriaceae* (эубактерии), *Corynebacteriaceae* (коринебактерии), *Lactobacillaceae* и др.

Морфология бактерий этой группы очень разнообразна. Они могут быть кокками, овоидами и палочками разного размера и формы (полиморфизм). Так же как и у грамотрицательных анаэробных бактерий, полиморфизм отмечается в пределах одного рода, вида, штамма.

Некоторые анаэробные бактерии этой группы имеют жгутики и образуют споры (клубоциды).

Все грамположительные анаэробы имеют хорошо развитый адгезивный аппарат (разнообразные пили, микроворсинки и везикулы), позволяющий колонизировать различные биотопы организма. Некоторые виды способны образовывать капсулу в организме человека, выполняющую адгезивную и протективную функции.

Благодаря этим свойствам пептострептококки, актиномицеты и коринебактерии являются основой бактериального сообщества полости рта, которая создает условия для

обитания других симбионтов. Например, коринебактерии (дифтероиды) синтезируют витамин К, необходимый для размножения грамотрицательных анаэробных видов.

Физиология

Основная характеристика - гибель в присутствии кислорода из-за недостаточности ферментных систем (каталазы, пероксидазы, супероксиддисмутазы), нейтрализующих токсические продукты окислительного метаболизма (перекись водорода, гидроксильные радикалы, одноатомный кислород, супероксидные анионы).

Однако у разных видов анаэробов этот признак варьирует. Некоторые представители актиномицетов, коринебактерий, лактобактерий продуцируют каталазы и пероксидазы, супероксиддисмутазы, что объясняет их толерантность к кислороду. Эти виды являются аэротолерантными (не погибают в присутствии кислорода) и микроаэрофильными (растут на питательных средах в анаэроостате при небольшом парциальном давлении кислорода).

Экология и патогенность для человека. К грамположительным палочковидным бактериям относятся представители 32 родов, объединенных в 11 семейств, а кокковидным - 11 родов, объединенных в 5 семейств. Среди палочковидных анаэробных грамположительных бактерий особое клиническое значение имеют 8 родов (из 7 разных семейств): клостридии (спорообразующие), актиномицеты, бифидобактерии, пропионибактерии, зубактерии, лактобактерии, пептококки, пептострептококки.

Характеризуя экологию данной группы бактерий, необходимо подчеркнуть, что все они являются симбионтами человека и животных, за исключением спорообразующих форм (клостридий), пропионибактерий, актиномицетов, населяющих наряду с организмом человека и животных также и бескислородные придонные отложения, илы в стоячих водоемах, почву. Кроме того, значительная часть видов этой группы относится к молочнокислой микрофлоре: представители лактобактерий, бифидобактерий, некоторых анаэробных кокков.

Таким образом, представители грамположительных анаэробных бактерий более широко распространены в окружающей среде, чем грам-отрицательных.

Микробиологическая диагностика. До настоящего времени морфология грамположительных анаэробных бактерий и отношение к окрашиванию по Граму являются важной частью лабораторной диагностики, однако проведение даже родовой идентификации при этом невозможно. Именно поэтому основным методом является бактериологический с расширенной идентификацией по биохимическим свойствам, а также использование газовой хроматографии (хемотаксономии) и ПЦР (генодиагностики).

Характеристика основных представителей таксономических групп грамположительных анаэробных бактерий, имеющих важное медицинское значение, представлены ниже.

2.2.1. Пептококки и пептострептококки

Представители родов *Peptostreptococcus*, *Peptococcus* - грамположительные, не образующие спор кокки округлой или слегка вытянутой формы, нередко формирующие короткие цепочки в материале и на плотных питательных средах. При росте на жидких питательных средах образуют длинные, иногда переплетающиеся цепочки. Обладают низкой сахаролитической активностью, но разлагают пептон и аминокислоты.

По новой классификации к этим родам относят только по одному виду, которые, однако, имеют важное медицинское значение в патологии полости рта, - это *Peptostreptococcus anaerobius* и *Peptococcus niger*.

Большая часть остальных видов выделена в отдельный род - *Pepto-niphilus* (*P. asacharolyticus*, *P. harei*, *P. indolicus*, *P. ivorii*, *P. lacrimalis*).

Еще один вид (по старой классификации - *P. micros*), довольно часто выделяемый при патологии челюстно-лицевой области, отнесен к отдельному роду - *Micromonas* (*M. micros*).

Большинство этих микроорганизмов в значительном количестве содержатся в зубных бляшках. Их выделяют также из кариозных полостей, корневых каналов при пульпите и пародонтите, из пародонтальных карманов, гнойного экссудата (при острых и хронических воспалительных процессах челюстно-лицевой области).

Наряду с бактероидами, они считаются основными возбудителями неклостридиальной анаэробной инфекции. Представителей этих родов следует отличать от руминикокков из семейства *Lachnospiraceae*, которых выделяют из фекалий, а также из гемокультуры при абдоминальном сепсисе.

2.2.2. Актиномицеты

Род *Actinomyces* - грамположительные, не образующие спор палочки, иногда с выраженным полиморфизмом. Склонны формировать цепочки и ветвящиеся нитчатые элементы, которые, в частности, составляют основу зубной бляшки. На них, за счет адгезии, фиксируются другие симбионты зубной бляшки, например, разнообразные виды кокков. При этом формируются причудливые образования в виде колосков, початков, пальм и других форм.

Показано, что актиномицеты имеют значение в этиологии важнейших стоматологических заболеваний - кариеса зубов и пародонтита, а также неспецифических воспалительных процессов и актиномикоза. При ферментации углеводов актиномицеты образуют лактат, уксусную, муравьиную и янтарную кислоты, обладающие сильным кариесогенным действием. За счет факторов коагрегации с другими бактериями они способствуют заселению полости рта пиогенными кокками, фузобактериями и др.

Актиномицеты выделяются в значительных количествах из зубной бляшки в норме и при развитии патологии, из кариозных полостей, пародонтальных карманов; они содержатся в гнойных материалах при актиномикозе, хронических воспалительных процессах мягких тканей и остеомиелите челюстно-лицевой области. Основные виды: *A. israelii*, *A. naeslundii*, *A. viscosus*, *A. odontolyticus*.

При оценке их патогенности и роли в развитии актиномикоза следует учитывать, что практически всегда актиномицеты выделяются в ассоциации с другими анаэробными видами, т.е. имеет место синергизм патогенного действия, и поэтому актиномикоз следует считать оппортунистическим процессом, протекающим как микст-инфекция. В значительном числе случаев (до 40-60%) из «актиномицетических» очагов выделяются бактероиды, фузобактерии и пептострептококки, но не актиномицеты.

2.2.3. Пропионибактерии, коринебактерии и эубактерии

Относятся к родам *Propionibacterium*, *Corynebacterium*, *Eubacterium* (исторический термин - «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 микрофлоры в аэробных условиях.

Мощная иммуномодулирующая активность антигенов дифтероидов (коринебактерий) на организм человека используется при лечении иммунодефицитов. Вместе с тем у коринебактерий выявлены некоторые ферменты агрессии и токсические полимеры, их нередко обнаруживают в ассоциациях с возбудителями гнойного воспаления.

Более выражены агрессивные свойства у представителей родов *Propionibacterium* (обладают гемолитической активностью) и *Eubacterium*. Представители этих родов продуцируют ферменты, поражающие ткани микроорганизма. Нередко эти бактерии выделяют при пульпитах, периодонтитах, абсцессах и флегмонах челюстно-лицевой области.

2.2.4. Лактобактерии и бифидобактерии

Существенную часть анаэробных грамположительных палочек, выделенных из полости рта, составляют лактобациллы и бифидобактерии. Несмотря на внешнее и функциональное сходство, эти семейства филогенетически довольно далеки друг от друга. Так, род *Lactobacillus* относится к классу бацилл, а род *Bifidumbacterium* - к актинобактериям и, соответственно, стоит ближе к актиномицетам и коринебактериям.

Исследования последних лет показали, что они попадают в полость рта в младенчестве и практически не имеют токсичных свойств. Тем не менее отдельные авторы считают, что представители этих таксонов могут вызывать эндогенные оппортунистические заболевания у ослабленных пациентов, не являясь при этом прямыми возбудителями заболеваний зубов и пародонта. Часть лактобацилл являются факультативными анаэробами.

Очень часто лактобактерии и бифидобактерии фиксируются на различных тканях благодаря коагрегации с различными другими бактериями-симбионтами, в частности, с пептострептококками и микроаэрофильными стрептококками полости рта. В фиссурах зубов, складках слизистой оболочки они задерживаются чисто механически.

Лактобациллы 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 лактобациллы и бифидобактерии играют важнейшую стабилизирующую роль при формировании микробиоценоза полости рта, так как синтезируют витамины группы В и К, необходимые для развития других бактерий и организма. Известно, что витамин К и его метаболиты являются мощными стимуляторами роста бактериоидов и фузобактерий.

2.3. ГРАМПЛОЖИТЕЛЬНЫЕ СПОРООБРАЗУЮЩИЕ АНАЭРОБНЫЕ БАКТЕРИИ

2.3.1. Клостридии

Относятся к роду *Clostridium* - грамположительные спорообразующие палочки. Некоторые виды подвижны (имеют жгутики). Биохимически активны. В норме входят в состав микробиоценоза кишечника. Некоторые виды присутствуют в полости рта не постоянно.

Их выделяют у больных с гнойными ранами челюстно-лицевой области, редко - при одонтогенных воспалительных процессах. При загрязнении раневой поверхности и обширной травматизации тканей возможно развитие экзогенной клостридиальной анаэробной инфекции, клинические проявления которой соответствуют классической картине газовой гангрены.

Основные виды: *C. perfringens*, *C. septicum*, *C. clostridiiforme*, *C. bifermentans* (последний чаще встречается при одонтогенных воспалительных процессах).

2.3.2. Споросарцины

Относятся к роду *Sarcina* - грамположительные спорообразующие кокки, имеющие типичное расположение в форме объемных скоплений, штабелей или пакетов. Большинство видов довольно устойчивы в окружающей среде. В полости рта не патогенны.

Типичный представитель - *Sarcina ventriculi* - нормальный обитатель желудка, откуда может попадать в ротовую полость. Его количество увеличивается при процессах брожения в желудке, при язве пилорического отдела желудка, пилоростенозе, когда резко снижается рН желудочного сока. Также выделяется из фекалий.

ГЛАВА 3. ХАРАКТЕРИСТИКА ФАКУЛЬТАТИВНО- АНАЭРОБНОЙ И АЭРОБНОЙ МИКРОФЛОРЫ ПОЛОСТИ РТА: ТАКСОНОМИЯ, ЭКОЛОГИЯ, РОЛЬ В ПАТОЛОГИИ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ

Если проанализировать литературу по этиологии воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области до 70-х гг. XX в., то может создаться впечатление, что основными возбудителями данной патологии в тот период времени были пиогенные кокки - стафилококки и стрептококки. Как известно, они являются факультативно-анаэробными бактериями. Однако к этим данным следует относиться с большой осторожностью, так как они были получены исследователями без использования техники анаэробного культивирования и на весьма «бедных» питательных средах.

В результате этого значительная часть микрофлоры - облигатные анаэробы и виды, отличающиеся высокой требовательностью к составу питательных сред, - выпадали из поля зрения ученых. Подтверждением этого являлся высокий процент так называемых стерильных высевов из воспалительных очагов (15-20%).

Каковы же положение и реальное значение пиогенных кокков и других представителей факультативно-анаэробной и аэробной микрофлоры полости рта в развитии патологии челюстно-лицевой области сегодня?

По результатам исследований под руководством академиков Российской академии медицинских наук Н.Н. Бажанова и А.А. Воробьева (1980), профессора И.И. Олейника (1983-1991), проведенных с использованием техники анаэробного культивирования, установлено, что на долю *S. aureus* приходится не более 15% всех штаммов, выделенных из воспалительного очага при данной патологии. Еще реже выделяли виды коагулазонегативных стафилококков: *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. hominis*, *S. warneri*, *S. xylosus* (в сумме около 10-12%).

Выделение пиогенных стрептококков и энтерококков: *S. pyogenes*, *S. haemolyticus*, *Enterococcus faecalis*, *E. faecium* - при гнойно-воспалительных процессах, как правило, не превышает 10%. Как показывают последние данные, микроаэрофильные стрептококки играют огромную роль в микробиоценозе полости рта. Частота их выделения из гнойного экссудата или содержимого пародонтальных карманов - от 10 до 35%, они составляют значительную часть материала зубной бляшки и других биотопов полости рта.

В последние годы разработка высококачественных питательных сред и усовершенствование методов микробиологической диагностики позволили получить новые данные об этиологической роли аэробных неферментирующих грамотрицательных бактерий, относящихся к родам *Acinetobacter*, *Eikenella*, *Moraxella*, а также *Pseudomonas* и *Neisseria*. При гнойно-воспалительных процессах и, возможно, в развитии пародонтита существенную роль играют виды *Eikenella corrodens* (грамотрицательные палочки) и *Rotia dentocariosae* (грамположительные нитчатые и коккоподобные полиморфные бактерии, близкие к актиномицетам). При развитии юношеского прогрессирующего пародонтита показана роль грамотрицательных бактерий *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (по новой классификации - *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*).

Кроме того, в отдельных случаях, особенно при низкой реактивности организма, гнойно-воспалительные процессы челюстно-лицевой области бывают связаны с энтеробактериями (грамотрицательными, факультативно-анаэробными, спорообразующими представителями родов *Esche richia*, *Entero bacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Providencia*) и бациллами (грамположительными, факультативными и аэробными, спорообразующими видами *B. licheniformis*, *B. coagulans*, *B. cereus*).

Распространение этих групп бактерий, считавшихся ранее большей частью сапрофитными, исследователи связывают с инфицированием боров, зондов, наконечников для турбин, других инструментов и оборудования стоматологических кабинетов. Недостаточно эффективные методы стерилизации, подчас используемые в стоматологических учреждениях, приводят к развитию внутрибольничной инфекции, вызываемой данными видами бактерий, чему способствуют их достаточно большая стойкость к дезинфицирующим растворам и сохранение жизнеспособности при инфицировании наконечников турбин, боров, ирригационных систем и катетеров.

3.1. ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ ФАКУЛЬТАТИВНО-АНАЭРОБНЫЕ И АЭРОБНЫЕ БАКТЕРИИ

3.1.1. Стрептококки

Классификацию стрептококков строят по разным принципам. По биохимическим свойствам выделяют следующие основные виды стрептококков: *Streptococcus pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. anginosus*, *S. bovis*, *S. pneu moniae*, *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. sanguis*, *S. milleri*. Особенности биохимической активности у разных штаммов позволяют дифференцировать разные биовары, например, *S. sanguis* I и II.

По гемолитическим свойствам на кровяном агаре (например, с кровью барана) различают α -гемолитические, или зеленящие, стрептококки (неполный гемолиз с частичным разложением гемоглобина до билевердина - зеленого пигмента), β -гемолитические (полный гемолиз) и γ -негемолитические (не дают видимого гемолиза).

По антигенным свойствам полисахарида кокки рода *Streptococcus* делят на 17 серогрупп (по Лэнсфильд): А, В, С, D, Е, F, G и др. В свою очередь, серогруппы состоят из сероваров, которые различают по белковым антигенам: М-, Т- и F-белки. Кроме того, по капсульному полисахариду выделяют 83 серотипа *S. pneumoniae*. Серогруппы и серотипы определяют в реакции преципитации с иммунными сыворотками или ИФА. Зеленящие стрептококки не подразделяются на серогруппы, но типизируются с помощью ПЦР.

Микроаэрофильные стрептококки относятся к роду *Streptococcus*, однако эту группу следует рассматривать особо, учитывая, что они занимают промежуточное положение между облигатными анаэробами и аэробами. Выделять из материала эту группу бактерий предпочтительнее в анаэробных условиях или при повышенном парциальном давлении углекислого газа.

Особенность метаболизма одного из них (*S. mutans*) - выделение значительного количества молочной кислоты, ведущее к декальцинации эмали зуба за счет низкой рН среды, в сочетании с высокими адгезивными свойствами к эмали зуба, что позволяет рассматривать его в качестве одного из ведущих факторов развития кариеса зубов. По последним данным, не меньшую роль в развитии кариеса играют также стрептококки *S. sobrinus* (ранее их рассматривали как один из серотипов *S. mutans*) и в меньшей степени - группы *S. sanguis*.

За счет липотейхоевых кислот клеточной стенки и пилей они обладают высокими коагрегационными свойствами с другими бактериями орального микробиоценоза, и прежде

всего - с актиномицетами. Из патологического материала их выделяют обычно в ассоциации с облигатными анаэробами.

Микроаэрофильные стрептококки *S. sanguis*, *S. salivarius*, *S. milleri*, *S. mitis*, *S. intermedius* (облигатно-анаэробный пародонтопатогенный вид) довольно часто обнаруживают в патологическом материале при периодонтитах, абсцессах, флегмонах и остеомиелитах челюстно-лицевой области, содержимом пародонтальных карманов и гнойном отделяемом при генерализованном пародонтите.

Микроаэрофильные стрептококки, особенно *S. sanguis*, являются довольно частым этиологическим фактором инфекционного эндокардита.

3.1.2. Энтерококки

В классификации Берджи (2001) род *Enterococcus* выделен в отдельное семейство *Enterococcaceae*. Морфологически сходны со стрептококками, однако менее требовательны к составу питательных сред. При культивировании на питательных средах довольно устойчивы к желчи и NaCl. В отличие от стафилококков, не имеют каталазы.

Основные виды энтерококков - *Enterococcus faecalis* и *Enterococcus faecium* - колонизируют преимущественно слизистую оболочку пищеварительной системы, но довольно часто встречаются на слизистой оболочке полости рта, дыхательных и урогенитальных путей.

Энтерококки, как и другие кокки, являются довольно легко передаваемым типом инфекционного агента, например, во время приема врачом-стоматологом. Аэрозоль, формируемый при работе бормашин, турбин, ирригаторов, легко контаминирует все окружающие предметы, попадает в дыхательные пути медицинского персонала и глаза, если они не защищены марлевой повязкой, очками или шлемом. Частицы, попавшие на окружающие предметы (столик стоматолога, поручни кресла, инструменты и т.д.), в течение нескольких часов могут являться фактором заражения других пациентов.

Энтерококки довольно часто обнаруживают в патологическом материале при разных формах одонтогенной инфекции, стоматитах, содержимом пародонтальных карманов и гнойном отделяемом при генерализованном пародонтите. Являются наиболее частым этиологическим фактором инфекционного эндокардита, что усугубляется множественной резистентностью к антибиотикам, которая встречается также довольно часто. Основным маркером полирезистентных штаммов считают наличие генов резистентности к ванкомицину - ванкомицинрезистентных штаммов.

3.1.3. Стафилококки

По классификации Бэйрда-Паркера, которую используют в лечебно-профилактических учреждениях России, выделяют три вида рода *Staphylococcus*: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*. В основе такого деления лежат биохимические тесты - анаэробная ферментация маннита, коагуляция цитратной плазмы (*S. aureus*), наличие видоспецифических антигенов А или В (*S. epidermidis*, *S. saprophyticus*), резистентность к новобиоцину (*S. saprophyticus*). Однако для более точных эпидемиологических исследований во всем мире используют классификацию Клусса-Шляйфера (1975), которая включает 19 видов по комплексу биохимических параметров.

Стафилококки представляют собой грамположительные кокки 0,5-1,5 мкм, расположенные в мазке в виде небольших групп или виноградных гроздьев, что определило название рода. Последнее более характерно для мазка, приготовленного из чистой культуры. Неподвижны (не имеют жгутиков), не образуют спор, некоторые штаммы *S. aureus* образуют микрокапсулу. Имеют фермент каталазу.

Стафилококки нетребовательны к условиям культивирования, хорошо растут на простых питательных средах. Поскольку бактерии устойчивы к повышенному

осмотическому давлению, селективными питательными средами для них служат среды, содержащие 7-10% NaCl, в частности, молочно-солевой и желточно-солевой агары.

Стафилококки вызывают гнойно-воспалительные процессы любой локализации, т.е. обладают полиморфным тропизмом. Известны около 120 клинических форм стафилококковой инфекции: заболевания носоглотки, отиты, бронхопневмонии, фурункулы, абсцессы, флегмоны, остеомиелиты, пиелонефриты, менингит и другие, в том числе системного характера (септикопиемия, септицемия). Стафилококки, продуцирующие энтеротоксин, вызывают пищевые отравления - гастроэнтериты. Очень часто они размножаются в молочных продуктах, сливках, креме (торты, пирожные).

При патологии челюстно-лицевой области их роль считается незначительной, за исключением отдельных случаев, связанных с травмами или внутрибольничной инфекцией в хирургических стационарах. В последнем случае существенную угрозу представляют полирезистентные штаммы, маркером которых является резистентность к метициллину. Они встречаются как среди коагулазопозитивных *S. aureus*, так и среди коагулазонегативных *S. epidermidis*.

3.1.4. Actinobacиллы

Род *Actinobacillus* (по новой номенклатуре - *Aggregatibacter*) раньше относили к семейству *Pasteurellaceae* наряду с 4 другими видами актинобацилл, но среди микрофлоры полости рта обнаруживается только *Actinobacillus actinomycetemcomitans*; он выделен в отдельный род. Этот вид бактерий нередко выделяют от больных актиномикозом как проявление симбиоза с *Actinomyces israelii*.

Aggregatibacter actinomycetemcomitans - небольшой грамвариабельный коккоподобный микроорганизм, морфологически сходный с *Haemophilus aphrophilus*. В настоящее время доказано, что *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* - один из основных микроорганизмов, участвующих в деструктивных процессах пародонта. Его особенно часто выделяют при локализованном ювенильном пародонтите, который отличается прогрессирующим течением с быстрым разрушением тканей и потерей костей у подростков.

В конце XX в. было обнаружено, что некоторые штаммы *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* продуцируют внеклеточный лейкотоксин, способный уничтожать лейкоциты в пародонтальном кармане. В настоящее время в популяции *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* выделяют различные генетические варианты и серотипы, обладающие повышенной вирулентностью, цитотоксическим и иммуносупрессивным действием. Существует два основных серотипа: резидентный (a) и вирулентный (b). У последнего расшифрован ген, кодирующий синтез лейкотоксина. Именно с этим серотипом связывают развитие быстро прогрессирующего и ювенильного пародонтита. Обсуждается также роль этого возбудителя в этиологии актиномикоза.

3.1.5. Эйкенеллы

Род *Eikenella* представлен единственным видом *Eikenella corrodens* - грамотрицательными факультативно-анаэробными коккобациллами. Название «*corrodens*» появилось благодаря свойству этих бактерий вызывать коррозию или как бы вдавливать поверхность агаровой питательной среды при выращивании микроорганизмов. Клетки этих бактерий небольшие, не образуют спор, не имеют капсулы. Эйкенеллы - неподвижные микроаэрофильные грамотрицательные бактерии.

Eikenella corrodens выделяют как из нормальной комменсальной микрофлоры, так и из абсцессов различных областей, а также при инфекционных поражениях органов полости рта, инфекционном эндокардите. Эти микроорганизмы обнаружены в пародонтальных карманах.

Eikenella corrodens часто выявляют при ювенильном препубертатном и быстро прогрессирующем пародонтите, несколько реже - при пародонтите взрослых. При экспериментальном введении в пародонтальные карманы крыс происходило разрушение кости.

3.2. ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ ФАКУЛЬТАТИВНО-АНАЭРОБНЫЕ И АЭРОБНЫЕ БАКТЕРИИ

3.2.1. Нейссерии

Представители рода *Neisseriae* - грамотрицательные диплококки бобовидной формы. Естественное место обитания - слизистые оболочки организма человека, где выполняют важную роль как резидентный стабилизирующий бактериальный вид. Являются антагонистами многих патогенных бактерий, способных поражать слизистую оболочку полости рта.

Резидентные виды - *N. flava*, *N. catarrhalis* - в развитии стоматитов и воспалительных процессов мягких тканей челюстно-лицевой области участвуют редко, главным образом в случаях иммунодефицитных ситуаций.

Однако два представителя этого рода являются экзогенными патогенными бактериями. *N. meningitidis* вызывает эпидемическую менингококковую инфекцию (назофарингит, эпидемический менингит и менингококкцемию); *N. gonorrhoeae* вызывают острое венерическое заболевание - гонорею, которая в некоторых случаях может сопровождаться специфическим поражением слизистой оболочки полости рта.

3.2.2. Гемофильные бактерии

К гемофильным бактериям относятся аэробные и факультативно-анаэробные представители родов *Haemophilus*, *Bordetella*, *Moraxella* и некоторых других. Представляют собой мелкие овоиды или палочки, иногда диплобактерии, образующие капсулу.

H. influenzae и *H. parainfluenzae* - капсулообразующие диплобактерии, которые выявляют в носоглотке у практически здоровых взрослых людей в 90% случаев. Первичный контакт ребенка до 3 лет с возбудителем нередко приводит к развитию инфекции. *H. influenzae* могут вызывать синуситы, фарингиты, конъюнктивиты, отиты, воспалительные заболевания дыхательных путей (тяжелые пневмонии у детей и взрослых в период эпидемии гриппа), а также оболочек мозга (менингиты). Роль *H. parainfluenzae* в патологии менее существенна.

Наиболее вирулентным является *H. influenzae* серовара b, вызывающий острый эпиглоттит (воспаление надгортанника) с септическим течением у детей и иммунокомпрометированных пациентов. Высокие вирулентные свойства выявлены также и *H. influenzae* биовара *aegyptius*, который является возбудителем конъюнктивита и пурпурной лихорадки у детей.

Роль микроорганизмов данной группы в патологии полости рта невелика, за исключением случаев, связанных с поражением носоглотки.

3.2.3. Псевдомонады

Синежной палочка *Pseudomonas aeruginosa* относится к роду *Pseudomonas* семейства *Pseudomonadaceae*. Своё название получила благодаря выделению с гноем сине-зеленого пигмента, который окрашивает бинты. *P. aeruginosa* - грамотрицательная палочка длиной 1,5-3,0 и шириной 0,5-0,8 мкм, подвижная (имеет 1-2 жгутика на полюсах клетки), имеет фимбрии и слизистый слой - гликокаликс, обуславливающие адгезию возбудителя на клетках организма человека. Спор не образует.

Большинство штаммов нетребовательны к питательным средам. По типу дыхания - облигатный аэроб. Продуцируют два пигмента - зеленый флуоресцеин (диффундирует в среду) и пиоциазин (растворим в воде и хлороформе). Именно поэтому многие культуры пигментированы и издаются резкий запах, напоминающий аромат жасмина или черемухи. Биохимическая активность определяется высокоактивными протеолитическими ферментами - разжижают желатин, свернутую сыворотку, гидролизуют казеин. Характерна положительная проба на оксидазу. Сахаролитическая активность слабая - могут ферментировать только глюкозу.

В стоматологии этиологическим фактором гнойной инфекции является относительно редко, за исключением нагноений, связанных с носоглоткой, которая нередко является резервуаром бактерий. Именно поэтому нужно анализировать все случаи, связанные с осложнениями операций синус-лифтинга, пластики придаточных пазух, дентальной имплантации верхней челюсти и др.

В настоящее время частота воспалительных процессов, в этиологии которых участвует синегнойная палочка, значительно возросла. Этот возбудитель внутрибольничной инфекции отличается также и высокой частотой циркуляции штаммов с множественной резистентностью к антибиотикам.

3.2.4. Энтеробактерии

Из представителей семейства *Enterobacteriaceae* в полости рта могут вегетировать бактерии родов *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Providencia*, *Escherichia*. Однако назвать их типичными представителями микрофлоры полости рта нельзя - скорее, находки этих микроорганизмов носят случайный характер (транзиторная флора).

Наиболее часто при гнойной инфекции челюстно-лицевой области в составе ассоциаций с облигатными анаэробами и энтерококками выделяют представителей родов *Enterobacter* и *Klebsiella*.

Замечено, что резкое увеличение обсемененности этими бактериями отмечается у пациентов с ослабленной реактивностью, на фоне тяжелой соматической патологии, при ожогах (в том числе химических) слизистой оболочки полости рта и лучевых некрозах тканей после лечения онкологических заболеваний, а также у больных с иммунодефицитами, в частности, при СПИДе

ГЛАВА 4. ХАРАКТЕРИСТИКА ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ ПОЛОСТИ РТА: ТАКСОНОМИЯ, ЭКОЛОГИЯ, РОЛЬ В ПАТОЛОГИИ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ

4.1. ГРИБЫ

Микроскопические грибы - типичные представители эукариотических микроорганизмов. Они имеют дифференцированное клеточное ядро, сложные мембранные структуры и специализированные органеллы.

Общей для всех грибов особенностью строения, позволяющей рассматривать процессы их разрушения при стерилизации, считают то, что стенка гриба состоит из хитина (азотсодержащего полисахарида, сходного по составу и строению с пептидогликаном бактерий). Благодаря этой особенности строения грибы чрезвычайно устойчивы во внешней среде, особенно при высокой влажности и в замкнутых пространствах. Именно поэтому грибы представляют серьезную проблему для орбитальных космических комплексов и подводных лодок, так как, колонизируя различные поверхности, замкнутые источники водоснабжения и приборы, приводят к их коррозии и разрушению.

По своему метаболизму грибы относятся к факультативным анаэробам.

Грибы подразделяют на две обширные группы: дрожжеподобные (например, грибы рода *Candida*) и мицелиальные (дерматотропные, плесневые и другие, формирующие многоядерный мицелий).

Грибы обитают в полости рта в норме. Они проявляют болезнетворные свойства лишь при снижении защитных сил организма или вследствие нарушения биологического равновесия между симбионтами.

Грибы могут вызывать заболевания у человека. Существует огромное разнообразие грибов, присутствие и размножение которых непереносимо на поверхностях инструментов медицинского назначения. Поскольку многие грибы активируются при иммунодефицитах, развитие грибковых поражений может быть первым клиническим признаком СПИДа.

Грибы, особенно плесневые или мицелиальные, образуют споры иного типа, нежели бактерии. Споры грибов, как правило, являются фазой развития гриба, чаще - органом размножения, позволяющим грибу не только эффективно размножаться, но и пережить неблагоприятные условия. Споры разных видов грибов сильно различаются, что обусловлено строением и типом размножения гриба (ооспора, зооспора, зигоспора, аскоспора, базидиоспора и др.).

Наиболее существенное значение в патологии полости рта имеют дрожжеподобные грибы рода *Candida*, которые являются возбудителями целого ряда заболеваний.

Грибы *Candida* в большинстве своем бифазны, так как дрожжи, разрастаясь, особенно в период активной тканевой инвазии, образуют микроколонии, напоминающие мицелий. Именно поэтому *Candida* и рассматривается как дрожжеподобный гриб. Появление псевдомицелия является результатом непрерывного почкования клеток (бластоспор) и образования разветвленных цепей вытянутых микроорганизмов, разграниченных определенными структурами-перегородками. Мицелиальная форма обычно ассоциируется с патологическим состоянием, поэтому изменение формы (от гриба к мицелию), как полагают, означает переход от комменсализма (сосуществования бактерий) к паразитизму.

Причины таких изменений следующие:

- снижение доступа метаболитов, необходимых для роста грибов, может заставить *Candida* проникать внутрь ткани в поисках субстратов для метаболизма. Это и приводит к ее разрушению;
- снижение доступа кислорода, что может вызвать образование мицелия;
- нарушение биологического равновесия симбионтов - например, при непрерывном длительном применении антибиотиков.

Наиболее часто в полости рта встречаются следующие виды грибов рода *Candida*: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. stellatoidea*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermordii*, *C. glabrata*. Основным видом, выделяемым при различных поражениях, является *C. albicans* (более 90% всех находок).

Кандидоз полости рта может протекать в острой и хронической формах. Острая форма - псевдомембранозный (молочница) и атрофический кандидоз. При острой молочнице инфекция может возникнуть у людей любого возраста, но особенно часто встречается у маленьких детей, тяжелобольных, ослабленных взрослых. Причиной возникновения атрофического кандидоза обычно является нарушение биологического равновесия микроорганизмов, составляющих нормальную микрофлору полости рта. Хронический атрофический кандидоз проявляется в виде твердого устойчивого налета на губах, языке и щеках. Кандидоз полости рта является локальным процессом, но он может распространяться на пищевод, пищеварительную систему и дыхательные пути, что

является осложнением орофарингеальной инфекции. Крайне тяжело протекает кандидосепсис.

4.2. ПРОСТЕЙШИЕ

Простейшие - микроскопические эукариоты. У них сложная организация клетки, что обеспечивает полифункциональность в определенных экологических нишах обитания. Это одноклеточные представители царства животных.

Клетка простейших - самая дифференцированная среди эукариот. В ней находятся многочисленные производные цитоплазматической мембраны, в том числе специализированные вакуоли (пищеварительные, сократительные, выделительные), клеточный рот, лизосомы, митохондрии, центриоли, эндоплазматическая сеть и т.п.

Простейшие не имеют клеточной стенки, покрыты очень эластичной и плотной цитоплазматической мембраной. В неблагоприятных условиях обитания или на определенных этапах жизненного цикла простейшие могут образовывать уплотненные структуры - цисты. Однако споры и цисты эукариотических клеток существенно отличаются от бактериальных по строению, и, что особенно важно, они гораздо чувствительнее к стерилизующим воздействиям, чем споры бактерий. Простейшие разных классов могут вызывать инфекционные заболевания - малярию (плазмодии), сонную болезнь (трипаномы), лейшманиозы (лейшмании), амёбную дизентерию. Вагинальная трихомонада (*T. vaginalis*) является наиболее распространенным патогеном среди микроорганизмов - возбудителей инфекций, передаваемых половым путем. Заболеваемость трихомониазом в России превышает заболеваемость сифилисом и гонореей, вместе взятыми. В последние десятилетия резко возросло значение простейших - латентных паразитов организма человека, которые активируются при развитии иммунодефицитов. К ним относятся возбудители таких серьезных заболеваний, как токсоплазмоз (токсоплазма), пневмоцистоз (пневмоциста) и др. Выявление данных паразитов нередко помогает предположить наличие ВИЧ-инфекции и поставить диагноз СПИДа.

Некоторые простейшие обитают в полости рта, выполняя функцию «санитаров», - *Trichomonas oralis* и *Entameba gingivalis*. Патогенность не выявлена. По-видимому, они занимают ключевые позиции в пищевых цепях микробиоценоза полости рта, являясь своего рода «хищниками микромира».

ГЛАВА 5. МИКРОЭКОЛОГИЯ ПОЛОСТИ РТА

5.1. ПОЛОСТЬ РТА - ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ НИША ДЛЯ СООБЩЕСТВА МИКРОБОВ

Полость рта представляет идеальную среду для роста и поддержания жизнедеятельности микроорганизмов. По выражению профессора И.И. Олейника, «полость рта - это одновременно и термостат, и питательная среда для микроорганизмов». Это действительно так, поскольку в полости рта поддерживаются необходимые температура, влажность и обеспечивается постоянный приток питательных веществ из слюны, десневой (содержащиеся в десневой борозде) жидкости и пищи, которая проходит через ротовую полость.

Слюна - источник питательных веществ для сообщества бактерий. Некоторые бактерии (микроаэрофильные стрептококки, актиномицеты) в эксперименте могут расти на «минимальных» питательных средах со слюной и разлагать различные белковые компоненты слюны. У бактерий, выращенных в слюне, повышаются также уровни гидролитической активности (гликозидазы, экзо- и эндопептидазы, эстеразы, нейраминидазы), что позволяет им получать питательные вещества из олигосахаридов и

белков в результате метаболизма гликопротеинов слюны. Утилизация белков слюны больше зависит от их физических свойств (гидрофобности), чем от размера: гидрофильные пептиды гораздо лучше стимулируют рост стрептококков, чем гидрофобные.

Важный компонент слюны, участвующий в питании бактерий, - амилаза. Она активно связывается со стрептококками, обильно представленными в зубной бляшке. В связанном состоянии она, по-видимому, сохраняет ферментативную активность и, расщепляя крахмал пищи в непосредственной близости к зубам, в обилии поставляет глюкозу бактериям зубной бляшки.

Как показывают исследования последних лет, в полости рта существует множество механизмов контроля над всем многообразием микроорганизмов, находящихся в ней. Эти механизмы ограничивают скорость их роста и различными путями удаляют избыточное количество микроорганизмов.

Скорость роста микроорганизмов ограничивается, прежде всего, притоком питательных веществ. У обитателей полости рта, по-видимому, постоянная нехватка питательных веществ. Как правило, концентрация питательных веществ в ней очень мала. Именно поэтому между разнообразными микроорганизмами ротовой полости происходит борьба за питательные вещества, что ограничивает их доступ.

Скорость роста микроорганизмов лимитируется также наличием в слюне антибактериальных факторов: ферментов, ингибиторов, гуморальных факторов неспецифической резистентности, секреторных иммуноглобулинов и бактериоцинов, продуцируемых другими бактериями. Кроме того, происходит постоянное физическое удаление микроорганизмов из ротовой полости при глотании и эксфолиации (отшелушивании) эпителиальных чешуек, к которым прикрепляется ряд микроорганизмов.

Таким образом, факторы, влияющие на увеличение или ограничение скорости роста микроорганизмов ротовой полости, можно суммировать следующим образом (табл. 5-1). Принципиально различными в полости рта являются два типа поверхностей - твердые (зубы) и мягкие, покрытые эпителием. Однако эпителиальные поверхности разных участков, ограничивающих полость рта, также существенно различаются.

Таблица 5-1. Факторы, лимитирующие скорость роста бактерий в полости рта

Факторы	Стимуляция	Торможение
Питательные вещества	Отложение в виде резервных полисахаридов - гликанов	Ограниченная доступность питательных веществ (конкуренция видов и др.)
Кислотность	pH 7,2 оптимален для резидентов	Защелчение - понижение pH до 6,0 и менее
Окислительно-восстановительный потенциал	Дефицит и низкое парциальное давление кислорода	Повышение парциального давления кислорода
Содержание CO ₂	Повышение парциального давления CO ₂	Понижение парциального давления CO ₂
Антибактериальные молекулы	-	+
Эксфолиация эпителия, проглатывание слюны	-	+

Например, в составе щечного эпителия нет кератинизированных клеток, а на нёбе они есть. Поверхность языка с сосочками более специализированная и отличная от других участков слизистой оболочки. Именно поэтому неудивительно, что для разных мест обитания характерно особенное распределение микрофлоры.

В ротовой жидкости (главным образом за счет секреции слюны) имеется ряд компонентов, способных стимулировать или подавлять бактериальную колонизацию. Стимулирующими факторами являются молекулы слюны, которые играют роль рецепторов для бактерий или источников углерода/азота для питания. Антибактериальными компонентами слюны являются агглютинины, лизоцим, гистатины, пероксидаза с тиоцианатом, лактоферрин (табл. 5-2.).

Таблица 5-2. Значение молекул слюны для образования зубных бляшек

Молекулы	Свойства			
	Склеивание бактериальных частиц	Стимуляция или подавление адгезии микроорганизмов	Антибактериальная активность	Питательный субстрат для бактерий
Амилаза	-	+	-	+
β -Микроглобулин	+	?	?	?
Фибронектин	-	+	-	?
Лизоцим	+	+	+	?
Муцин	+	+	+	
Агглютинин око-лоушной железы	+	+	-	?
Белки, богатые пролином	-	+	-	?
Секреторные IgA	+	+	+	?
Статерины	-	+	-	?

Примечание. ? - роль не установлена.

5.2. ОСНОВНЫЕ БИОТОПЫ ПОЛОСТИ РТА И МЕТОДЫ ИХ ИССЛЕДОВАНИЯ

Полость рта как экологическую нишу можно разделить на несколько более мелких, но достаточно отличных друг от друга по условиям обитания биотопов:

- слизистую оболочку полости рта;

- протоки слюнных желез с находящейся в них слюной;
- десневую жидкость и зону десневого желобка;
- ротовую жидкость;
- зубную бляшку.

Физико-химические особенности каждого биотопа: рН среды, вязкость, температура, наличие органических соединений и остатков пищи, парциальное давление газов - обеспечивают существенные различия в составе микробиоценоза каждого из перечисленных биотопов.

5.2.1. Биопленка слизистой оболочки полости рта

Слизистая оболочка полости рта - наиболее обширный по площади и разнообразный по условиям обитания биотоп. Биопленка слизистой оболочки полости рта строго структурирована. Именно поэтому микрофлора слизистой оболочки существенно варьирует на разных участках. На поверхности слизистой оболочки вегетируют преимущественно грамотрицательная анаэробная и факультативно-анаэробная микрофлора, а также микроаэрофильные стрептококки.

На эпителии, покрывающем ткани десен, щек и нёба, также обитают микроорганизмы. Однако из-за постоянного сдвигания эпителиоцитов (вместе с бактериальными клетками) (рис. 5-1), их количество меньше, чем на зубах. Для стабильной колонизации слизистой оболочки полости рта необходимо, чтобы после первичной адгезии произошло деление и образование дочерних клеток. Дочерние клетки, в свою очередь, отделяются и прилипают к следующим эпителиоцитам, что характерно, например, для их колонизации стрептококками полости рта и грибами рода *Candida* (рис. 5.2).

Недавно с использованием гибридизации *in situ* с флуоресцирующими зондами к консервативным и переменным последовательностям рибосомной субъединицы 16S установлен любопытный факт: в буккальном эпителии человека присутствуют бактерии *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* и др. Внутриклеточная локализация может обеспечить им защиту от антибактериального действия слюны и способствовать колонизации полости рта.

В подъязычной области, на внутренней поверхности щек, в складках и криптах слизистой оболочки полости рта обычно преобладают облигатно-анаэробные виды: вейллонеллы, пептострептококки, лактобактерии, а также стрептококки *S. mitis*. Другие микроаэрофильные стрептококки *S. salivarius* обычно колонизируют спинку языка.

На слизистой оболочке твердого и мягкого нёба, нёбных дужках, миндалинах в большом количестве встречаются разнообразные стрептококки, коринебактерии, нейссерии, гемофиллы и псевдомонады, а также дрожжеподобные грибы и нокардии.

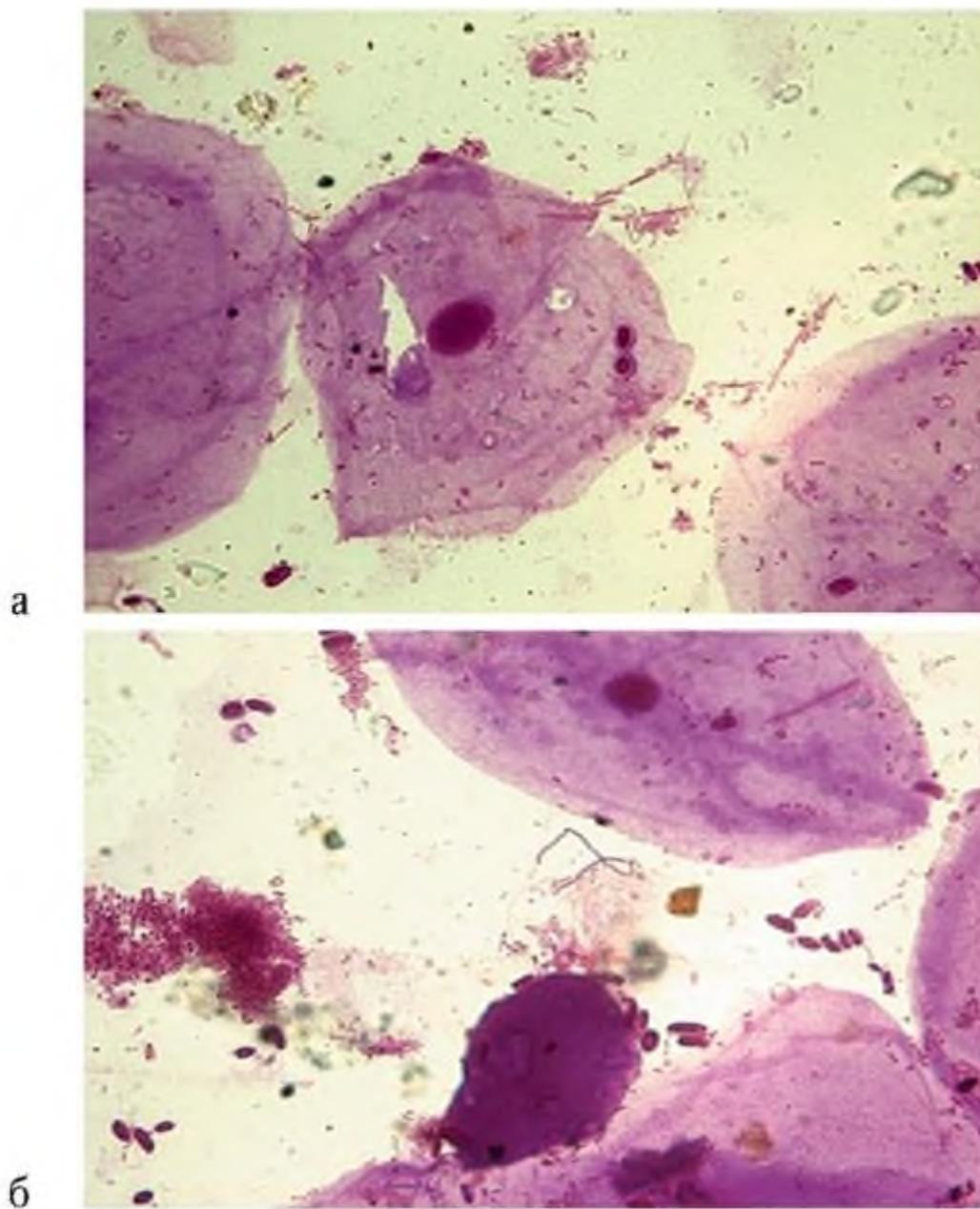


Рис. 5-1. Слученный эпителий с прилипшими бактериальными клетками (а), спирохетами и грибами (б)

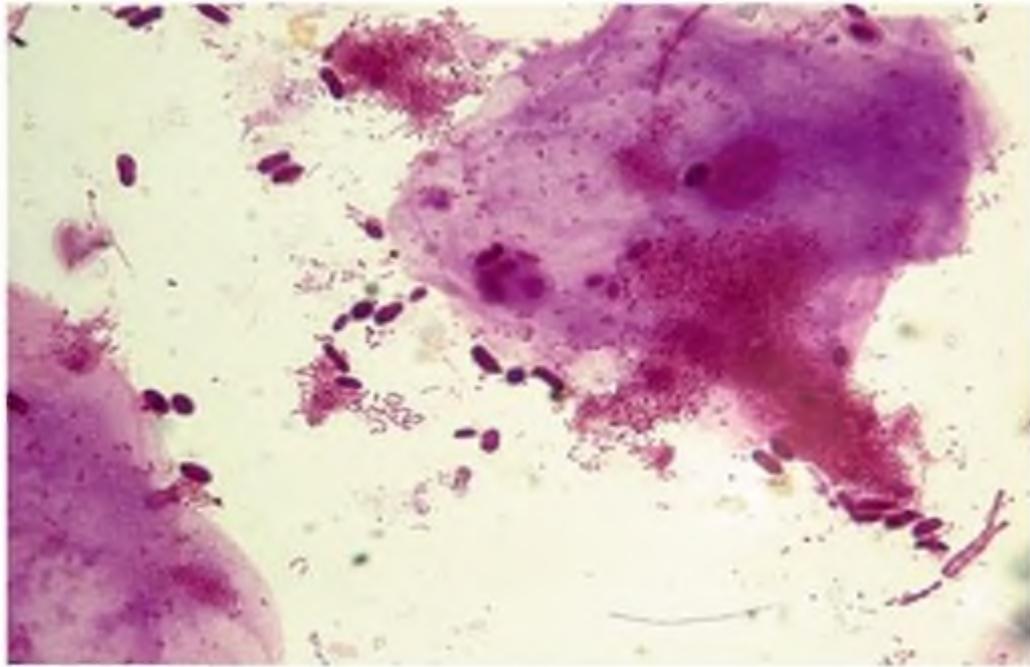


Рис. 5-2. Адгезия стрептококков и дрожжеподобных грибов рода *Candida* на поверхности эпителиоцитов

Количественное изучение микрофлоры слизистой оболочки проводят микроскопически - с помощью отпечатков на стекле или бактериологически - методом отпечатков на агаровые блоки с последующим подсчетом количества колоний, выросших на 1 см² пластины. В норме этот показатель составляет от 200 до 20 000.

5.2.2. Биопленка языка

Другое уникальное место обитания бактерий - язык. Его поверхность покрыта сосочками и имеет множество защищенных мест, обеспечивающих эффективную колонизацию бактериями. Если исключить зубы и десневую борозду, наибольшая биомасса микроорганизмов полости рта приходится именно на корень языка.

Вместе с тем подробных исследований его микрофлоры проводилось немного. Из них следует, что микрофлору языка составляют бактерии, колонизирующие зубы, и бактерии, больше характерные для языка. На корне языка вегетируют стрептококки (например, *Streptococcus mitis*, обычно также колонизирующие поверхность зубов) и другие микроорганизмы, для которых первичным местом обитания, по-видимому, является язык (например, *S. salivarius*). При некоторых состояниях (например, синдроме Шегрена - сухости во рту в результате уменьшения слюноотделения) может возрасти колонизация полости рта потенциально патогенными микроорганизмами - *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, энтеробактериями, энтерококками.

Количественное изучение микрофлоры слизистой оболочки языка проводят микроскопически или бактериологически. В норме число колоний, выросших на 1 см², составляет от 10 тыс. до 1 млн.

5.2.3. Протоки слюнных желез и слюна

Протоки слюнных желез и слюна - один из наименее изученных биотопов полости рта. По данным некоторых исследователей, из-за высокой бактерицидной активности ферментов, лизоцима, секреторных иммуноглобулинов и других факторов специфической и

неспецифической защиты слюна в протоках желез здорового человека должна быть практически стерильной. Другие допускают наличие незначительного количества бактерий, преимущественно относящихся к облигатно-анаэробным видам (вейллонеллы, пептострептококки). Окончательному ответу на этот вопрос препятствуют трудности получения стерильной слюны, когда исключена контаминация образцов микрофлорой слизистой и ротовой жидкости.

Для стерильного исследования слюны в настоящее время используют различные канюли, фиксируемые в области выводного протока слюнной железы, однако надежность этого метода ограничена. Далее выполняют посев на питательные среды для анаэробного культивирования.

5.2.4. Десневой желобок и десневая жидкость

Десневая жидкость представляет транссудат; ее можно собрать у края десны или из десневого кармана при развитии воспаления. При здоровых деснах ее чрезвычайно мало, но с выраженностью воспаления ее количество возрастает и меняется состав. Десневая жидкость в норме представляет смесь белков плазмы (альбуминов), а при развитии воспаления - также и продуктов воспаления и компонентов, выделяемых фагоцитами.

Для оценки связи качественного и количественного состава десневой жидкости с активностью или характером течения заболеваний пародонта проведены многочисленные исследования. Изучали роль медиаторов воспаления (простагландин Е₂), β-глюкуронидазы, эластазы, нейтрофилов, аспаратаминотрансферазы, матриксных металлопротеиназ (особенно коллагеназы-2 - матриксной металлопротеиназы 8), но выявить надежный маркер заболевания до сих пор не удалось.

Десневая жидкость секретируется в области десневого желобка и практически сразу контаминируется микрофлорой слизистой оболочки десны и ротовой жидкости. В микробиологическом аспекте компоненты жидкости десневой борозды важны для бактериальной колонизации полости рта. Так, в образцах жидкости от здоровых лиц и больных встречаются различные белки плазмы (например, интактный фибрин), а также продукты деградации фибрина и фибронектина. Известно, что такие белки взаимодействуют с бактериями полости рта и могут влиять на колонизацию ими тканей хозяина.

Соответственно в рассматриваемом биотопе преобладают нитевидные и извитые облигатно-анаэробные виды бактерий: фузобактерии, лептотрихии, актиномицеты, спираиллы, анаэробовибрио, кампилобактеры и спирохеты. Это основное место обитания представителей родов группы бактериоидов *Bacteroides*, *Porphyromonas* и *Prevotella*. Здесь также встречаются простейшие, дрожжеподобные грибы и микоплазмы.

Концентрация перечисленных микроорганизмов в десневой жидкости резко увеличивается при формировании патологического десневого кармана при пародонтите (пародонтального кармана). Задержка пищи, детрита в кармане, нарушение циркуляции жидкости ведут к резкому падению редокс-потенциала и создают оптимальные условия для размножения разнообразной облигатно-анаэробной микрофлоры, включая *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella melaninogenica* и других представителей группы бактериоидов, токсическим факторам которых отводят решающую роль в прогрессировании воспалительного процесса в пародонте.

Для исследования содержимого пародонтального кармана и десневой жидкости обычно используют метод количественного забора микропипетками, канюлями, капиллярами. Концентрация бактерий у здорового человека в десневой жидкости составляет не более 100 тыс. клеток в 1 мл, а при развитии гингивита или пародонтита составляет десятки и сотни миллионов.

5.2.5. Ротовая жидкость (смешанная слюна)

Ротовая жидкость представляет важнейший биотоп полости рта, так как через нее осуществляется взаимодействие между другими частями микробиоценоза полости рта и реализуются различные регуляторные воздействия со стороны макроорганизма. Основной ротовой жидкости является слюна, секретируемая из протоков слюнных желез, которая заселяется разнообразной микрофлорой.

В ротовую жидкость постоянно поступают микроорганизмы, размножающиеся на слизистой оболочке полости рта, в десневом желобке, карманах, складках и в зубной бляшке. В ротовой жидкости они длительно сохраняют жизнеспособность, а многие виды (в частности, не имеющие факторов адгезии к слизистой или эмали) активно размножаются. Это касается, по-видимому, и подвижных форм - вибрионов, селеномонад, спирохет и спирилл.

В ротовой жидкости в значительном количестве содержатся вейллонеллы, микроаэрофильные стрептококки *S. salivarius*, факультативно-анаэробные стрептококки, аэрококки и микоплазмы.

Слюна влияет на прикрепление бактерий к поверхности эмали, цементу или дентину зубов. В эксперименте *in vitro* воссоздавали пелликулы путем инкубирования слюны с шариками из порошков гидроксиапатита (ГА), эмали или дентина. Установлено, что адгезия бактерий к покрытым слюной шарикам ГА (сГА) неоднозначна: если для одних бактерий слюна не влияла на количество прилипших клеток, то для других - влияла. Так, *S. mutatis* в меньшем количестве прилипали к сГА, чем к ГА, а если бактериальные клетки предварительно суспензировали в слюне, то адгезия была еще слабее. Напротив, адгезия *S. gordonii* и *Actinomyces viscosus* более выражена к ГА, чем к сГА. Эти результаты следует интерпретировать с осторожностью, так как искусственные пелликулы на ГА отличаются от образованных в организме, в которых, например, значительно больше альбумина (по-видимому, за счет продуктов периодонтального воспаления). Кроме того, в пелликулах *in vivo* меньше пролина (вероятно, ввиду меньшего содержания кислых пролинсодержащих белков).

Следовательно, факторы полости рта, например ферменты, выделяемые из десневой борозды в слюну, могут воздействовать на поверхности, обуславливая различия бактериальной адгезии в условиях *in vitro* и *in vivo*. Несмотря на указанные ограничения, результаты некоторых исследований *in vivo* подтверждают влияние слюны на бактериальную колонизацию. Например, если в полость рта добровольцев вводили культуры *S. mutans*, предварительно обработанные слюной кариозных больных, колонизация была выше, чем в контроле, где применялись стрептококки, обработанные слюной здоровых лиц. Таким образом, компоненты слюны у некоторых лиц могут способствовать колонизации *S. mutans*.

Список известных слюнных компонентов пелликул постоянно пополняется - пролинсодержащие белки, лизоцим, альбумин, гистатины, статерин, муцины, sIgA, α -амилаза. Возможно, каждый из этих белков служит рецептором для одного или более видов бактерий, прилипающих к пелликуле на зубах. Следует отметить, что пелликулу на эмали отличает губковидная структура, состоящая из мельчайших шариков.

В образцах пелликулы из разных участков полости рта компоненты слюны распределены неравномерно. Например, пелликула на эмали верхнечелюстных премоляров (омываемых преимущественно слюной околоушной железы) отличается по составу от пелликулы передних зубов нижней челюсти (омываемых секретами подчелюстной и подъязычной желез). В пелликулах премоляров больше агглютинина околоушной железы, а в пелликулах передних зубов нижней челюсти - муцинов. Наблюдаемые различия в

локализации белков слюны, по-видимому, важны для распределения микрофлоры и характера заболеваний зубов в разных частях зубного ряда.

Для изучения микрофлоры ротовой жидкости используют количественное культуральное исследование. Концентрация бактерий в зависимости от методики забора и культивирования составляет в норме от нескольких десятков миллионов до миллиардов клеток в 1 мл.

5.2.6. Биопленка зубов (зубной налет, зубная бляшка)

Биопленка зубов представляет собой наиболее сложный и многокомпонентный биотоп, формируемый на поверхности зуба. В составе зубной бляшки определяются практически все представители микрофлоры полости рта. Однако их количество существенно варьирует у разных людей и в разные периоды их жизни.

Своеобразие этого биотопа заключается в том, что он в значительной степени является результатом жизнедеятельности различных микроорганизмов орального биоценоза. Однако в его формировании несомненно определяющая роль макроорганизма и экологических факторов, оказывающих на него влияние в течение жизни (диета, образ жизни, профессиональные вредности и другие факторы).

Согласно современным представлениям, зубная бляшка является типичным вариантом биопленки - симбионтного сообщества бактериальных видов, формируемого в условиях текущих жидких сред.

Рассмотрение бляшки как биопленки обещает помочь в попытках эффективно лечить такие распространенные патологические процессы, как кариес и пародонтит.

Для изучения состава биопленки зуба используют методику взятия материала зондом или металлическим шпателем 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 КОЕ на 1 г материала.

5.3. ФАКТОРЫ, СПОСОБСТВУЮЩИЕ КОЛОНИЗАЦИИ ПОЛОСТИ РТА МИКРООРГАНИЗМАМИ

В ротовой полости есть несколько мест обитания микроорганизмов, пригодных для их роста и размножения. Это губы, нёбо, щеки, язык, десна, зубы и слюна. Качественный состав микроорганизмов, колонизирующих эти места, зависит от 3 основных их свойств: адгезии (способности к прилипанию), колонизации (способности к росту и размножению), протективных свойств (способности к выживанию в этих условиях). Все эти факторы детерминированы генетически и имеют выражение (экспрессию) в фенотипе микроорганизмов в виде молекул адгезии, специфических структур (например, пили, капсулы) и ферментов.

Через ротовую полость проходит множество микроорганизмов, но только те, которые могут прикрепиться и удержаться в ней, имеют возможность стать постоянными обитателями. Причем они могут сохранить этот статус, только если смогут противостоять защите организма, т.е. иметь факторы протекции (клеточную стенку, капсулу, ферменты и токсины, такие как плазмокоагулаза, лейкоцидин, лейкотоксин).

При нормальных процессах жевания и проглатывания слюны большинство микроорганизмов просто проходят через ротовую полость. Акт проглатывания означает полное удаление этих микроорганизмов. Поток слюны в сочетании с процессом жевания и проглатывания представляет способ механического удаления микроорганизмов, при котором значительно ограничивается количество колоний бактерий, а нетронутыми

остаются лишь те из них, которые фиксируются в зонах десневой борозды, трещинах эмали и межзубных промежутках.

Создавать колонии на поверхности зубов - участке, который постоянно подвергается механической очистке, - могут лишь некоторые весьма немногочисленные виды. Дело в том, что в процессе эволюции у некоторых микроорганизмов появился особый механизм прилипания благодаря синтезу нерастворимых внеклеточных полисахаридов из сахарозы.

Адгезию микроорганизмов к тканям и поверхностям ротовой полости (реставрации, протезы, лечебные аппараты) можно подразделить на 3 основные фазы взаимодействия:

- первичную адгезию клетки к субстрату;
- гомотипическую адгезию клетки к клетке;
- гетеротипическую адгезию клетки к клетке.

Эти процессы могут быть как специфическими, так и неспецифическими, которые взаимно дополняют друг друга.

5.3.1. Фазы адгезии

Первая фаза адгезии (оседание, отложение или депозиция) представляет первичную реакцию между бактерией и субстратом (питательной средой), которыми в полости рта могут быть твердые ткани зуба, большие эпителиальные клетки. В этом процессе задействованы внешние части бактерии и поверхность субстрата при участии компонентов питательной взвеси. На отложение влияют также интерактивные полимеры, образованные бактериями из питательных субстратов. Полимерный состав слюны у каждого человека изменяется со временем и имеет свои особенности у каждого индивида.

Вторая фаза представляет прилипание одной бактериальной клетки к другой, уже прикрепившейся к субстрату, того же вида.

Третья фаза представляет прилипание бактерий другого вида к уже фиксированным на субстрате бактериям. Этот процесс получил название «коадгезия» или «коагрегация» (в жидкой фазе). Эти процессы лежат в основе формирования биопленки. Описание механизмов адгезии основано на изучении зубного налета, его качественного бактериального состава.

5.3.2. Факторы адгезии

Факторы адгезии - фенотипические признаки бактерии, ответственные за ее прикрепление к поверхности зуба, клеткам и тканям ротовой полости.

Описание точных механизмов, посредством которых различные микроорганизмы прикрепляются друг к другу, а также к твердым и мягким поверхностям в полости рта, оказалось весьма сложной проблемой, требующей рассмотрения ряда физико-химических закономерностей. В частности, оказалось, что в процессе адгезии имеют значение положительные и отрицательные электростатические силы, особенности поверхностей, шероховатость, химический состав и заряд поверхности микроорганизмов и субстратов.

Некоторые микроорганизмы могут достичь лишь слабого прикрепления, но затем усилить связь за счет полимерных мостов из вязких полисахаридов. У других есть многочисленные тонкие нити - пили (фимбрии, ворсинки).

К специфичным поверхностно-активным молекулам адгезии относят лектиновые детерминанты бактериальных клеток. Лектины - углевод-связывающие протеины, способные связываться с углеводами других микроорганизмов, поверхности эпителиальных клеток и зубов.

В настоящее время подробно изучены некоторые способы и механизмы адгезии за счет:

- специфических рецепторов - поверхностно-активных молекул;
- взаимодействия химических компонентов оболочек разных видов бактерий;
- ретенции, т.е. механического удержания бактерий в «ловушке» вследствие значительной шероховатости поверхности. Некоторые авторы считают этот механизм более важным и отделяют его от прочих видов адгезии.

5.3.3. Характеристика отдельных факторов адгезии

Полимеры макроорганизма

Слюна вовлекается в процесс адгезии микроорганизмов в ротовой полости, содержит липиды, витамины, различные ионы, полисахариды, белки, пептиды и гликопротеины, включая молекулы иммуноглобулинов. Все эти компоненты диспергированы или растворены в воде.

Эпителиальные поверхности вообще и зубы в частности имеют очень тонкое покрытие белковой природы (*following cleansing*). Эта пленка после чистки зубов в считанные секунды образуется из слюны и встраивается в тонкий слой приобретенной пелликулы.

Насколько известно, в состав этой пленки входят гликопротеины и антитела. И те и другие способны агрегировать микроорганизмы, что приводит к их включению в состав приобретенной пленки и формированию зубного налета. В начальной фазе этого процесса происходит скопление *S. sanguis*, *S. mutans*, *S. mitior*, различных актиномицетов, и только потом к ним прилипают представители других видов бактерий полости рта.

Наличие в слюне свободного декстрана и других высокомолекулярных полисахаридов является важнейшим фактором, обеспечивающим адгезию бактерий к гидроксипатиту эмали.

Полимеры микроорганизмов

Ряд бактерий полости рта способен вырабатывать внеклеточные полисахариды из углеводов пищи, в частности, из сахарозы. В первую очередь эта способность выражена у *S. sanguis* и *S. mutans*, благодаря чему они быстро приклеиваются к твердым поверхностям, например к эмали зуба.

Было обнаружено, что *S. sanguis*, *S. mutans* синтезируют высокомолекулярные декстраны и другие нерастворимые гликаны из сахарозы с помощью глюкозилтрансферазы и фруктозилтрансферазы. Известно, что сахароза состоит из димеров D-глюкозы и D-фруктозы.

Внеклеточные полимеры образуются путем присоединения к основе сахарозы цепочек из глюкозы - формируется гликан с отщеплением остатков фруктозы. Гликозилтрансфераза обеспечивает наращивание молекул гликана путем дополнительного присоединения глюкозы к каждой молекуле сахарозы. В зависимости от пространственной конфигурации формируются три основных типа гликанов: мутан (гликан, нерастворимый в воде), декстран (умеренно растворимый гликан), фруктан (быстрорастворимый гликан, отличающийся, однако, от фруктанов, образуемых актиномицетами, а также *S. salivarius*).

Образование таких фруктанов происходит благодаря фруктозил-трансферазе за счет присоединения к молекуле сахарозы еще одной молекулы фруктозы и отщепления глюкозы.

Еще один бактериальный полимер - липотейхоевая кислота, представляющая собой анионный полимер клеточной стенки грамположительных бактерий. Поскольку большинство клеток заряжено отрицательно, можно утверждать, что микроорганизмы могут быть связаны с субстратом посредством двухвалентных катионов. В этом процессе, очевидно, участвуют положительно заряженные ионы кальция, представленные в эмали зуба.

До последнего времени нет окончательной ясности по вопросу о связи адгезии отдельных видов бактерий с определенными видами полимеров. Он наиболее изучен на модели *S. sanguis*, *S. mutans*, которые продуцируют декстран и леван. С другой стороны, *S. salivarius*, формирующий растворимый фруктан, не обладает способностью к адгезии на поверхность зуба и может прикрепляться только к эпителию.

Сайтспецифические рецепторы

Исследования *S. salivarius* и *S. mitior* с помощью электронной микроскопии показали, что каждый из них имеет характерную фибриллярную (волокнистую) оболочку, чувствительную к трипсину, - гликокаликс. При обработке трипсином вместе с гликокаликсом уменьшаются и адгезивные свойства бактерий.

Гликокаликс содержит полисахариды и липотейхоевую кислоту. Кроме того, на поверхности бактериальных клеток имеются молекулы (рецепторы), способные «узнавать» лиганды на поверхности зубов. Такой способностью обладают белки-лектины, входящие в состав гликокаликса. Они имеют сродство с углеводными группами приобретенной оболочки зуба.

Пили и микрофибриллы

У ряда микроорганизмов есть сотни фимбрий, или пили, представляющих собой тончайшие нитевидные трубчатые образования. Они состоят из белков-пилинов.

Существуют пили двух типов: секс-пили (половые пили) и соматические пили, обеспечивающие адгезию к различным поверхностям и другим бактериям.

Пили обнаружены у всех бактерий, входящих в состав зубного налета. Более мелкие структуры, обнаруженные у стрептококков и некоторых анаэробных бактерий, назвали микрофибриллами.

Установлено, что некоторые бактерии не способны колонизировать различные поверхности полости рта и имеют слабые адгезивные свойства. Например, *Veillonella* обладают ограниченной адгезией, но все же присутствуют в ротовой полости в огромных количествах. *Fusobacterium* вообще не имеют факторов адгезии даже к слизистой оболочке. Единственным объяснением этому может служить предположение, что эти бактерии удерживаются в полости рта другим путем (за счет коагрегации).

Физическая ретенция

Лактобациллы образуют скопления в кариозных полостях и вокруг ортодонтальных поясков, а фузобактерии, бактериоиды и спирохеты - в десневой борозде.

Следовательно, в ротовой полости существуют ниши, которые обеспечивают механическую защиту бактерий от вымывания и их задержку даже при слабых адгезивных свойствах последних.

При некорректно выполненной стоматологической помощи пациентам количество таких участков существенно увеличивается, что отрицательно сказывается на гигиеническом состоянии полости рта.

5.4. ФАКТОРЫ, ПРЕПЯТСТВУЮЩИЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КОЛОНИЗАЦИИ ПОЛОСТИ РТА

5.4.1. Ротовая жидкость и ее воздействие на микрофлору

В ротовой полости слюна представляет собой смесь жидкостей разного происхождения. В основном это секреты трех пар больших слюнных желез: околоушной, подчелюстной и подъязычной. Заметная доля приходится и на малые слюнные железы, разбросанные по слизистой оболочке полости рта (губные, щечные, нёбно-язычные, нёбные, язычные). В слюне большинства людей, особенно с периодонтальным заболеванием, содержатся компоненты десневой жидкости. Она имеет сывороточное происхождение и попадает в слюну из десневой борозды в объемах, соответствующих выраженности воспаления десен. В слюне можно обнаружить продукты распада бактерий и тканей полости рта, а также компоненты из желудка и дыхательных путей (в результате рефлюкса).

Удельный вес разных компонентов в слюне зависит от их происхождения. Например, муциновые гликопротеины в основном продуцируют слизистые оболочки железы (подчелюстная, подъязычная, малые слюнные железы). В секрете околоушной железы муцины практически отсутствуют, но высока концентрация сывороточных белков - амилазы, агглютинина околоушной железы, пролинсодержащих белков.

После выхода из протока железы слюна распределяется в ротовой полости, по-видимому, неравномерно. Так, при отсутствии стимуляции слюна из околоушной железы преимущественно находится в преддверии, у верхнечелюстных моляров - 61% всей имеющейся здесь слюны, а в преддверии у резцов - лишь 7%. Неравномерность распространения компонентов слюны может тонко влиять на взаимодействия бактерий, обуславливая формирование зубных бляшек в определенных местах полости рта.

Слюна выполняет различные функции - растворяет компоненты пищи, улучшая ее вкусовое восприятие, готовит пищевой комок для глотания и обеспечивает ферментами инициального пищеварения. Кроме того, слюна участвует в образовании вязких пленок - пелликул - на поверхностях зубов (эмали, дентине, цементе), эпителия (слизистых оболочек языка, десен, нёба, щек и др.) и самой зубной бляшки. Такие пелликулы помогают поддерживать баланс между процессами минерализации и деминерализации зубов. Соответствующие молекулы слюны обладают высоким аффинитетом к отрицательно заряженным доменам поверхности зуба и, по-видимому, подавляют преципитацию на них солей фосфата кальция и тем самым поддерживают сверхнасыщенность слюны ионами кальция и фосфата.

Адсорбированные молекулы слюны - также смазка для тканей полости рта, которая препятствует их пересыханию, облегчает жевание, глотание и речь. Кроме того, молекулы слюны служат буфером для кислот и нейтрализуют токсические метаболиты микроорганизмов полости рта.

Функцию той или иной молекулы слюны определяет ее конформация - форма молекулы. Так, богатые пролином белки способствуют бактериальной адгезии, только когда они адсорбированы на поверхностях. Следует отметить, что в растворе эти белки с бактериями не взаимодействуют. Возможно, прикрепление к поверхности приводит к изменению формы белковой молекулы с высвобождением скрытых доменов, способных к связи с бактериями. Другая молекула человеческой слюны, способная к конформационным изменениям, - амилаза. Это довольно крупный белок из 496 аминокислот с 5 дисульфидными связями, расположенными между цепями по всей длине молекулы. Амилаза ферментирует крахмал, взаимодействует со стрептококками полости рта и связывается с гидроксипатитом на поверхности зубов. Расщепление дисульфидных связей этого фермента приводит к потере его структуры и всех указанных биологических свойств.

5.4.2. Защитные свойства слюны

Защитные, или протективные, свойства слюны выражены за счет частичного перекрытия функций ее молекул (многие из них многофункциональны). Например, муцин выполняет ряд функций - смазку, покров для тканей, участие в пищеварении и склеивании микроорганизмов, что объясняет, почему при выборочных исследованиях обнаруживается существенная вариабельность концентраций белков слюны и нередкое отсутствие их корреляции с распространением стоматологических заболеваний. Одна и та же молекула слюны может выполнять защитную и вредную функции (амфифункциональность). Например, статерин и кислые пролинсодержащие белки препятствуют осаждению на поверхности эмали первичных и вторичных солей фосфата кальция, но, будучи адсорбированными на эмали, они могут стимулировать адгезию к поверхности зуба кариесогенных микроорганизмов.

При сравнительном изучении взаимодействия изолированных молекул слюны с интактными секретами показано, что между разными молекулами слюны должна существовать функциональная связь, основанная на комплексировании между ними. Есть 2 типа комплексирования - между схожими (гомотипное) и разными (гетеротипное) молекулами. Связи в комплексах могут быть ковалентными или нековалентными. Следует отметить, что молекулы муцина образуют гомотипные комплексы из олигомеров, цепи которых соединены «конец в конец» дисульфидными связями. В таком виде муцин может быть достаточно вязким и служить смазкой. Но муцин, покрывающий поверхности различных тканей полости рта, может образовывать и гетеротипные комплексы с другими молекулами слюны, например антибактериальными - секреторным IgA, лизоцимом, цистатинами. Такие комплексы поддерживаются преимущественно нековалентными ионными силами и обеспечивают концентрирование антибактериальных молекул. Возможно, комплексы обладают дополнительными функциями, не характерными для отдельных молекул, входящих в их состав.

Ковалентные связи важны и в других механизмах комплексирования молекул слюны. Так, пролиновые белки под воздействием транс-глутаминазы буккального эпителия (на их остатки лизина) могут образовывать высокомолекулярные комплексы. Указанный фермент обеспечивает также перекрестное связывание пролинсодержащих белков со статерином. По-видимому, такие перекрестные реакции позволяют включать в состав пелликул полости рта и другие белки.

Известно, что многие компоненты слюны взаимодействуют с бактериями полости рта. Можно выделить 4 категории таких взаимодействий:

- ведущие к агрегации или агглютинации (склеиванию) бактерий;
- стимулирующие адгезию бактерий к поверхностям;
- убивающие или подавляющие рост бактерий;
- способствующие питанию бактерий.

Вероятно, совокупность этих взаимодействий существенно влияет на микроэкологию полости рта. Ниже показано, как отдельные молекулы слюны выполняют каждую из этих 4 функций.

5.4.3. Агглютинины и очищение полости рта от микроорганизмов

Механизмы освобождения полости рта от бактерий высокоэффективны. Если в нее вводить (в порядке эксперимента) чистые культуры бактерий, лишь небольшая часть их способна постоянно оставаться в ротовой полости. Очистке способствуют механические воздействия (связанные с глотанием, жеванием, речью) и эффект разбавления слюной. Кроме того, многие виды бактерий, взвешенные в слюне, быстро агглютинируются (склеиваются) с образованием бактериальных конгломератов, что должно способствовать

очистке полости рта. Связывание компонентов слюны с поверхностью бактерий может блокировать их адгезию к зубам, слизистой оболочке или зубной бляшке. К молекулам, способным агглютинировать бактерии, относят муцины, sIgA, агглютинин околоушной железы, лизоцим, β_2 -микроглобулин и ионы Ca^{2+} .

Муцины слюны - высокомолекулярные гликопротеины, образуемые ацинарными клетками и содержащие 30-80% углеводов. В слюне подчелюстной и подъязычной желез встречается несколько муцинов. Первоначально биохимически идентифицированы 2 муцина - муцин-гликопротеин 1 (MG1, или MUC5B), состоящий из мономеров массой более 106 кДа, и муцин-гликопротеин 2 (MG2, или MUC7), состоящий из мономеров массой 200 кДа. Дальнейшие молекулярно-генетические исследования позволили уточнить структуру этих белков. Теперь известно, что в слюнных железах человека образуются связанные с мембраной муцины MUC1 и MUC4, а также гелеобразующий муцин MUC5B. Показано, что MG1 состоит преимущественно из MUC5B - по-видимому, главной субъединицы, секретируемой подъязычной и подчелюстной железами, а также эпителием желчного протока, ободочной кишки, женских половых и дыхательных путей. При взаимодействии мономеры MUC5B, соединяясь цистеиновыми остатками в С-концевом узле, образуют димеры, которые затем подвергаются О-гликозилированию в цис-Гольджи и при переносе к секреторным гранулам образуют тримеры. MUC1 синтезируется как одиночная полипептидная цепь, расщепляемая в эндоплазматическом ретикулуме на 2 субъединицы - внеклеточный фрагмент и фрагмент, состоящий из домена крепления к мембране и С-концевого цитоплазматического домена. Внеклеточный фрагмент затем утрачивается (по-видимому, из него формируется растворимая форма MUC1). MUC4 - самый крупный из известных муциновых генопродуктов. Подобно MUC1, он вначале представлен полипептидной цепью, а затем она расщепляется и восстанавливается с формированием внеклеточного и мембранного доменов. MUC1 и MUC4 продуцируются малыми слюнными железами и, что необычно, в небольших количествах - околоушной железой и буккальными эпителиоцитами. Возможно, эти формы муцина участвуют в физической защите эпителиальных поверхностей в местах их секреции. Муцины и другие высокомолекулярные гликопротеины слюны могут агрегировать клетки бактерий полости рта. Удаление концевой сиаловой кислоты из боковых цепей муцинового олигосахарида приводит к потере способности взаимодействовать с некоторыми, но не всеми видами стрептококков полости рта. Это подтверждает участие в таком взаимодействии лектина - белка на бактериальной поверхности, связывающего сиаловую кислоту.

Если муцины способствуют очищению полости рта от бактерий, можно предположить, что у людей с высокими концентрациями этих белков в полости рта меньше микроорганизмов. В эксперименте по определению связи между количеством *S. mutans* в полости рта и концентрацией муцинов в слюне установлено, что при отсутствии стимуляции высокие концентрации стрептококков тесно коррелировали с низкими уровнями MG2. По-видимому, при низких концентрациях этого муцина *S. mutans* эффективно не удаляется из полости рта.

Другой важный агглютинин слюны - sIgA - доминирующий иммуноглобулин секретов всех слизистых оболочек, включая слюну. Он состоит из димера IgA (300 кДа), J-цепи (15 кДа) и секреторного компонента (70 кДа). Гликопротеиновая J-цепь объединяет 2 молекулы IgA в димер. Полимеризованный IgA (pIgA) секретируется местными плазматическими клетками. Расположенный на базолатеральной поверхности секреторных клеток желез полииммуноглобулиновый рецептор захватывает его и вместе с ним в составе мембранного пузырька пересекает эпителиальную клетку. Когда этот комплекс достигает противоположной мембраны эпителиоцита, рецептор расщепляется, а с IgA остается связанным секреторный компонент, который защищает молекулу от действия кислот или протеаз.

Одна из важнейших функций sIgA - предотвращение адгезии микроорганизмов к тканям хозяина и их колонизации. Обычно для этого нужны sIgA, специфичные для определенных антигенов бактерии. Подобно другим антителам, молекулы IgA синтезируются определенными клонами В-лимфоцитов и специфичны к конкретному антигену. В слюне содержатся sIgA множества специфичностей. На этом основана разработка многих «мукозальных» вакцин с иммуногенами из различных компонентов патогенных бактерий, например карисогенных стрептококков группы *Mutans* (см. гл. 10). Возможно, некоторые бактерии взаимодействуют с sIgA, связываясь лектином с олигосахаридными структурами антител. Защитная функция sIgA может сводиться к минимуму особыми протеазами бактерий. Известно, что некоторые бактерии (в том числе обеспечивающие первичную колонизацию зубов) вырабатывают протеазу IgA1, подобную той, что обнаружена у трех основных возбудителей бактериального менингита. Роль ферментов, расщепляющих sIgA, тем не менее, еще предстоит уточнить.

Другой высокомолекулярный гликопротеин слюны - агглютинин околоушной железы - идентичен легочному (лаважному) gp340, относимому к семейству богатых цистеином рецепторов-мусорщиков (скэвенджеров). Остатками своей сиаловой кислоты он связывается с белком на поверхности бактерий - высокоактивным кальцийзависимым лектином (1 моль белка связывает 1 моль кальция).

5.4.4. Антибактериальные компоненты слюны

Известно, что некоторые компоненты слюны уничтожают бактерии или подавляют их рост *in vitro*. Одним из первых таких компонентов является лизоцим - белок массой 14 кДа, разрушающий в пептидогликане клеточной стенки бактерий β -1,4-гликозидные связи между N-ацетилмурамовой кислотой и N-ацетилглюкозамином (см. гл. 1), что способствует лизису клетки. К такому (мурамидазному) действию лизоцима более чувствительны грамположительные бактерии, но многие виды бактерий полости рта к нему нечувствительны. Описаны и другие механизмы бактерицидного действия лизоцима в отношении бактерий - индуцированная лизоцимом активация эндогенного фермента (ферментов) и др. Кроме того, лизоцим может агрегировать бактерии, способствуя их удалению из полости рта. Наконец, у лизоцима имеются небольшие C-концевые амфипатические (амфифильные) последовательности, придающие ему антибактериальные свойства.

Гистатины (богатые гистидином белки) входят в семейство катионных низкомолекулярных белков; они в избытке представлены в секретах подчелюстной и подъязычной желез (10-150 мкг/мл в зависимости от источника и степени стимуляции). У человека описано не менее дюжины молекул со сходными свойствами, содержащих до 41% основной аминокислоты гистидина. Гистатины отличаются по первичным последовательностям, длине цепочки и фосфорилированию. Им приписывают различные функции, в том числе выделение гистамина из тучных клеток, подавление роста кристаллов гидроксиапатита, связывание танина, но наибольшее внимание исследователей привлекают антибактериальные свойства этих белков. Вначале у гистатинов выявили противогрибковую активность, затем менее выраженные антибактериальные свойства (показано, что они предупреждают агрегацию бактерий). Кроме того, они могут служить конкурентным ингибитором некоторых протеиназ, в том числе цистеиновых (у млекопитающих и бактерий). Это может влиять на течение таких заболеваний, как периодонтит, при котором выражена протеолитическая деструкция тканей периодонта.

При взаимодействии пероксидазы и тиоцианата слюны с перекисью водорода, выделяемой бактериями, образуются окисленные производные тиоцианата. Они подавляют рост бактерий и образование кислоты стрептококками. Недавно установлено, что антибактериальная система, включающая лактопероксидазу, перекись водорода и тиоцианат, нарушает «дыхание» у грамотрицательных бактерий (например, *Escherichia*

coli), блокируя активность их мембранных дегидрогеназ. Вместе с лизоцимом лактопероксидаза может также подавлять адгезию бактерий к зубам.

Одна молекула лактоферрина - гликопротеина массой 75 кДа, синтезируемого ацинарными, эпителиальными и воспалительными клетками, - связывает 2 атома железа и 2 молекулы гидрокарбоната. Это лишает бактерии жизненно важного элемента - железа. Свободный от железа лактоферрин обладает и прямым бактерицидным действием на некоторые бактерии полости рта, например *P. gingivalis* (по-видимому, за счет формирования комплексов с железосодержащими нутриентами, в частности, геминном). Кроме того, сам по себе 25-аминокислотный N-концевой фрагмент лактоферрина (лактоферрицин) обладает антибактериальной активностью. Установлено, что этот пептид вызывает деполяризацию бактериальных цитомембран и потерю градиента рН, ведущие к гибели клетки. Свободный от железа лактоферрин, наконец, может служить ингибитором адгезии бактерий к поверхностям в полости рта, например к гидроксиапатиту.

Слюна, по-видимому, содержит и мощные противовирусные факторы. Показано, что инфекционные свойства ВИЧ в присутствии человеческой слюны заметно подавляются. Из слюны выделены противовирусные компоненты. Существенную роль в защите от ВИЧ-1, по-видимому, играет секретируемый лейкоцитами белковый ингибитор протеаз, а также богатые пролином основные белки из околоушной железы. Последние могут связываться с внешним гликопротеином ВИЧ-1 (gp120) и нарушать взаимодействие вируса с чувствительной клеткой.

5.5. ФОРМИРОВАНИЕ МИКРОФЛОРЫ ПОЛОСТИ РТА В ПРОЦЕССЕ ЖИЗНИ

Плод млекопитающих в матке, а следовательно, и ротовая полость плода в норме не содержат микроорганизмов, за исключением тех случаев, когда был открыт их доступ через патологически измененные материнские ткани. В период родов при прохождении по родовым путям матери плод контактирует с нормальной микрофлорой материнских половых путей, которая включает коринебактерии, лактобациллы, кишечные бактерии, микрококки, факультативно-анаэробные стрептококки, анаэробные кокки, простейшие, дрожжи, а иногда и вирусы.

Полагают, что ротовая полость новорожденного стерильна, по крайней мере, до первого дыхания. Вслед за первым вдохом в течение последующих 6-8 ч наблюдается быстрое увеличение количества микроорганизмов. Микроорганизмы, появившиеся в первые несколько дней жизни в ротовой полости ребенка, называют *Pioneer species* (пионер).

Самым первым и самым важным пионером, осваивающим ротовую полость, является *Streptococcus salivarius*, который колонизирует главным образом язык и попадает в слюну. Другие микроорганизмы, которые могут быть идентифицированы в ротовой полости новорожденного: стафило- и стрептококки, лактобациллы, энтерококки, пневмококки, кишечные бактерии, сарцины, нейссерии, гемофильные бактерии и дрожжеподобные грибы рода *Candida*. В отличие от *S. salivarius*, их не так много, и они никак себя не проявляют.

Несмотря на то что огромное количество микроорганизмов попадает в ротовую полость ребенка в первые дни его жизни, не все микроорганизмы способны освоить эту экологическую нишу. Уже через несколько недель состав микрофлоры полости рта формируется окончательно и становится относительно постоянным. И с этих пор эти микроорганизмы можно рассматривать как *Established pioneer community* (ассоциацию первичной микрофлоры).

В возрасте ребенка 3-12 мес можно идентифицировать разные виды микроаэрофильных стрептококков, вейллонелл, нейссерий и стафилококков. В то же время

различные виды лактобацилл и актиномицетов, фузобактерий определяются лишь у половины детей. Коринебактерии, лептотрихии, бактериоиды и представители семейства кишечных бактерий - менее чем у 1/5.

Только приблизительно в 6 мес при прорезывании молочных зубов микрофлора полости рта ребенка существенно изменяется.

Это дает возможность для распространения и роста микроорганизмов на твердой поверхности эмали зубов и на границе между зубами и деснами. Известно, что особенно подходящее место для распространения *S. sanguis* и *S. mutans* - эмаль зубов. Количество бактерий увеличивается по мере прорезывания молочных, а затем и постоянных зубов.

Сложившуюся после прорезывания зубов микрофлору можно рассматривать как сформировавшееся сообщество, или постоянную микрофлору. Согласно последним подсчетам, в ротовой полости обитает около 800 видов бактерий, и этот список, вероятно, будет расширен. Постоянная микрофлора в численном отношении и в отношении входящих в нее видов микроорганизмов остается относительно неизменной, а прирост их количества вследствие деления уравнивается потерей (главным образом за счет смывания слюной и проглатывания).

Благодаря современному уровню развития медицины можно продлить долговечность зубов на всю жизнь человека. Однако при потере зубов вследствие кариеса, заболеваний пародонта или травмы микрофлора полости рта изменяется. С утратой зубов у пожилых людей исчезают и микроорганизмы, связанные с этим местом обитания. Интересно отметить, что замещение утраченных зубов зубным протезом приводит к повторному появлению микроорганизмов, таких как *S. mutans*, *S. sanguis*, а также актиномицет и дрожжей. С возрастом в составе микрофлоры происходят определенные изменения, которые связывают со снижением реактивности и функционирования иммунной системы, что приводит к увеличению бактериальной обсемененности слизистой оболочки полости рта и значительному увеличению популяции дрожжеподобных грибов (рisku развития кандидоза).

ГЛАВА 6. МИКРОБИОЦЕНОЗ И УЧЕНИЕ О БИОПЛЕНКАХ

6.1. ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННАЯ МОДЕЛЬ ФОРМИРОВАНИЯ МИКРОБИОЦЕНОЗА ПОЛОСТИ РТА

В ротовой полости обитает большое количество микроорганизмов, функционирующих как координированное сообщество. Это сообщество имеет относительно постоянный состав и свойства, т.е. поддерживает бактериальный гомеостаз.

Устойчивость состава микрофлоры ротовой полости обусловлена следующими факторами:

- наличием соответствующих рецепторов для первоначального прикрепления бактериальных клеток;
- набором питательных веществ и кофакторов;
- определенным уровнем pH;
- окислительно-восстановительным потенциалом;
- газовым составом.

Видовое соотношение микроорганизмов ротовой полости может изменяться при смене диеты, прорезывании зубов, уменьшении количества слюны (побочный эффект при

лучевой терапии или приеме некоторых медикаментов). Слюна оказывает наиболее выраженное воздействие на микробиоценоз полости рта, так как определяет pH и буферную емкость среды обитания, содержит питательные вещества, а гликопротеины и белки слюны (лизоцим, лактоферрин, сиалопероксидаза, антибактериальные пептиды) способствуют адгезии одних микроорганизмов и элиминации других. Зубодесневая борозда имеет свои особенности по сравнению с собственно ротовой полостью (ограниченный ток слюны, присутствие белков крови, антител, фагоцитирующих клеток) и эти особенности модифицируют состав микрофлоры пародонта.

Зубная бляшка - одно из наиболее хорошо изученных мультивидовых бактериальных сообществ. Она легко доступна исследованию и поэтому удобна для изучения в качестве комплексной модели экосистемы. В бляшке содержится большое количество микроорганизмов: от 100 тыс. до 1 млрд в 1 г зубного налета.

Некоторые авторы выявили закономерности формирования биопленки из микроорганизмов на поверхности зубов, которые можно охарактеризовать как пространственно-временную модель формирования микробиоценоза. Она предполагает разделение представителей бактериального сообщества в зависимости от времени, прошедшего с условного момента начала колонизации (рис. 6-1).

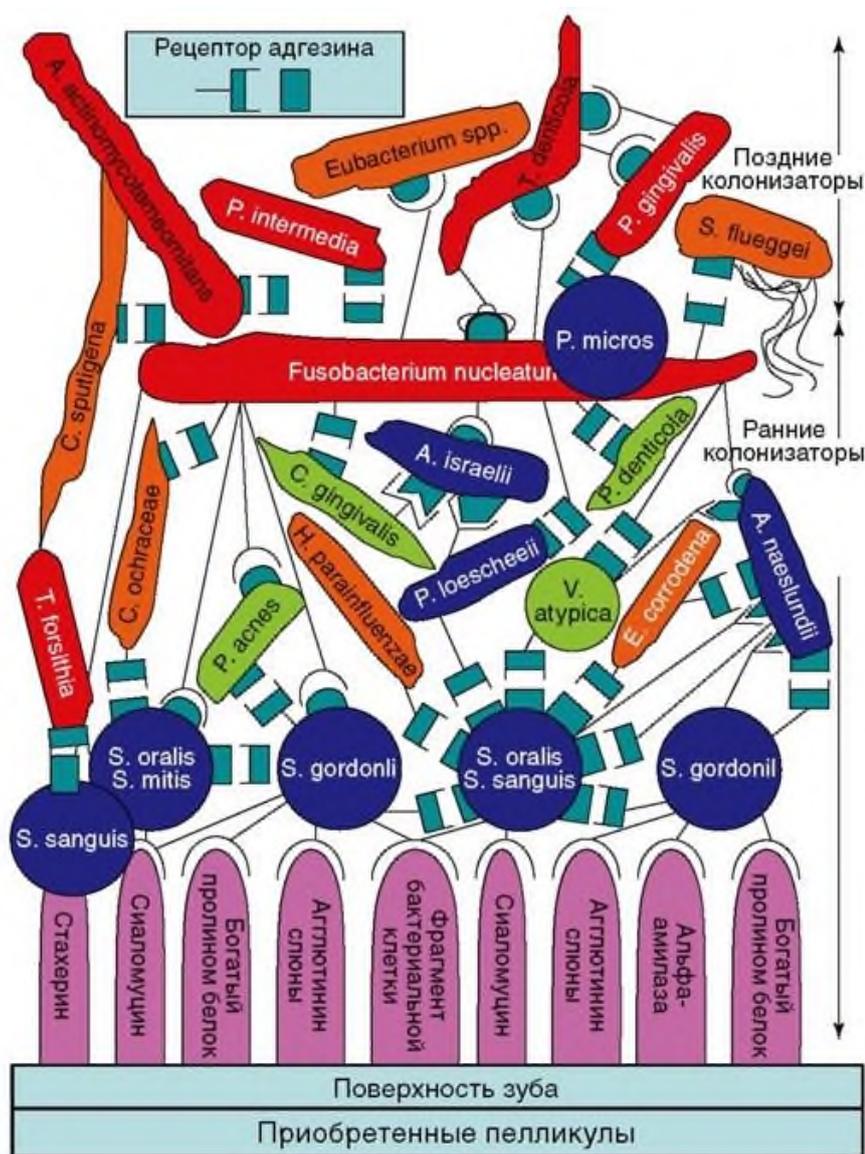


Рис. 6-1. Пространственно-временная модель формирования микробиоценоза по: Koknbrandner P.E., Andersen R.N., Blehert D.S. et al., 2002

Микроорганизмы - ранние колонизаторы. В первые 4 ч после профессиональной чистки зубов основными колонизаторами поверхности являются стрептококки (от 60 до 90% обнаруживаемых микроорганизмов), а также актиномицеты и отдельные клетки *Haemophilus spp.* Особое значение имеет *Streptococcus mutans*, так как эти бактерии формируют налет, а затем бляшку на любых поверхностях. Количество *S. oralis* и *S. sanguis* в течение первых 8 ч после профессиональной чистки зубов составляет 15-30% общего числа микроорганизмов, а ко 2-му дню - 70%, и только потом их количество снижается. Стрептококки и другие ранние колонизаторы (*Actinomyces*, *Capnocytophaga*, *Eikenella*, *Haemophilus*, *Veillonella*) распознают слюнные рецепторы пелликулы и специфически связываются с ними с помощью белков-адгезинов (рис. 6-2). В результате их закрепления появляются поверхности, к которым могут присоединиться клетки следующего партнера коадгезии.

Ранние колонизаторы могут взаимодействовать не только с рецепторами пелликулы, но и друг с другом. Примером может служить коагрегация (соединение клеток) между *Prevotella loesheii* и *S. oralis*, а также между *P. loesheii* и *Actinomyces israelii*.



Рис. 6-2. Лактобациллы в межбактериальном матриксе. Фрагмент ацидофильной биопленки. Сканирующая электронная микроскопия

Микроорганизмы - промежуточные и поздние колонизаторы. На границе между ранними и поздними колонизаторами расположен *F. nucleatum* - самый многочисленный грамотрицательный вид в интактных участках тканевых поверхностей полости рта. Предположительно, его присутствие предшествует появлению *Treponema denticola* и *P. gingivalis*.

F. nucleatum коагрегирует со всеми ранними и поздними колонизаторами. К последним относятся: *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *Pr. denticola*, *Treponema spp.*, *Eubacterium spp.*, *Veillonella atypica*. На рис. 6-3 представлен фрагмент десневой биопленки, на котором можно видеть коагрегацию палочковидных клеток *F. nucleatum* и овоидных *P. gingivalis*. Вместе с тем необходимо учитывать, что, хотя все поздние колонизаторы коагрегируют с *F. nucleatum*, они вообще не коагрегируют друг с другом. Сообщалось лишь о немногих исключениях типа коагрегации *T. denticola* и *P. gingivalis*. Таким образом, *F. nucleatum*, вероятно, действует как мост между ранними и поздними колонизаторами поверхности зуба, что может частично объяснить, почему фузобактерии являются достаточно многочисленными в образцах как со «здоровых», так и «больных» участков.

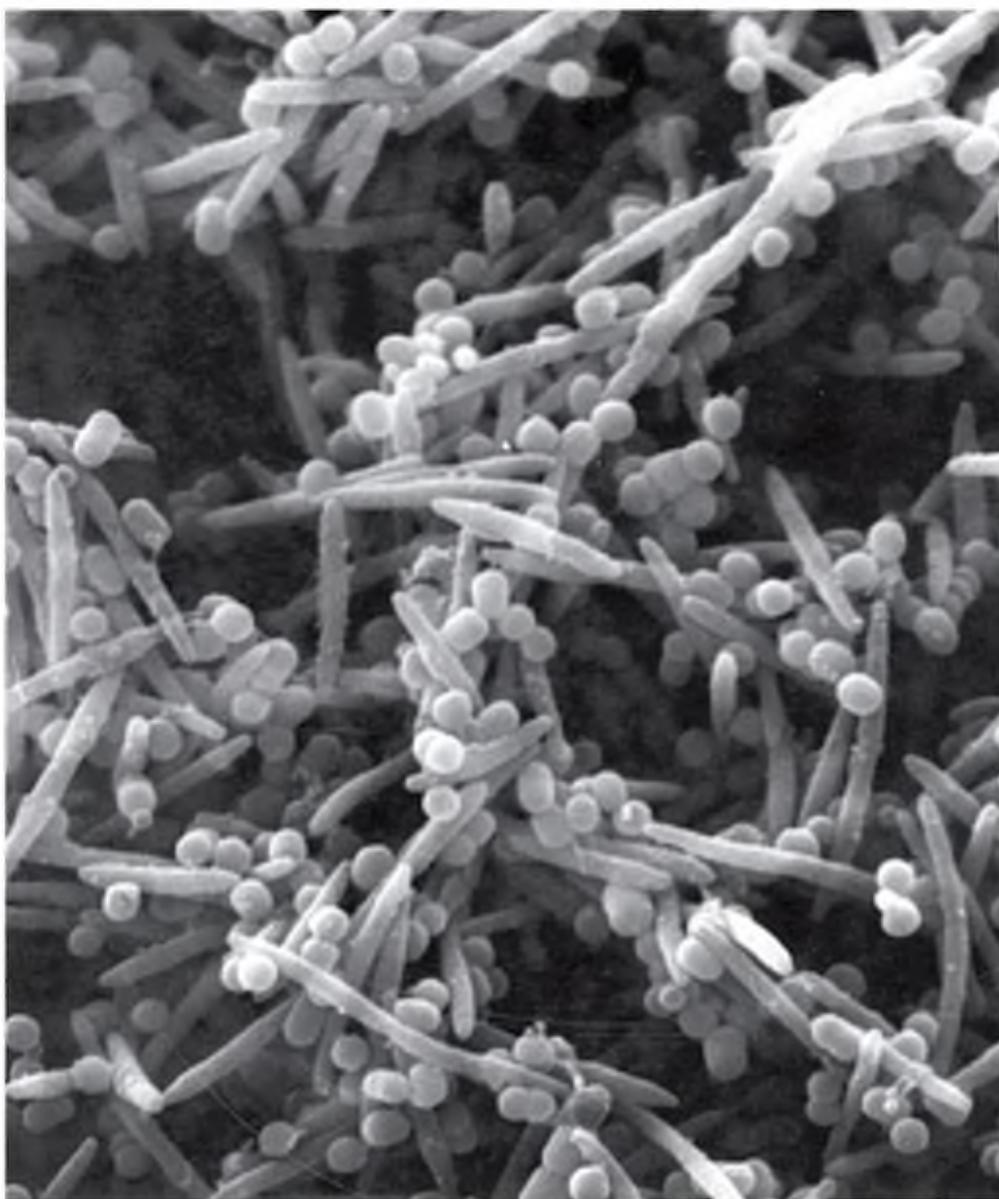


Рис. 6-3. Коагрегация *F. nucleatum* и *P. gingivalis*. Фрагмент десневой биопленки. Сканирующая электронная микроскопия

6.2. ФОРМИРОВАНИЕ ЗУБНОЙ БЛЯШКИ

Зубная бляшка - многослойная биопленка, плотно прилегающая к поверхности зуба. Бактерии прикрепляются к зубу, используя рецепторы в пелликуле - тонкой пленке слюны, покрывающей зубы. Материал пелликулы и зубной бляшки состоит из компонентов клеток хозяина и бактерий.

Плотно прилегающую бляшку следует отличать от белого налета (*materia alba*) - рыхлой белой массы, состоящей из пищевых остатков, бактерий, слущенного эпителия и лейкоцитов, которая накапливается в неочищенном рту и легко удаляется энергичным промыванием водой. Белый налет является фактором, способствующим образованию биопленки, так как служит источником питательных веществ для бактерий, колонизирующих пелликулу.

Минерализованные ткани зубов и слизистая оболочка полости рта постоянно омываются слюной. В полости рта происходят температурные колебания, изменение уровней pH, концентрации кислорода и питательных веществ.

Коронка зуба (наддесневая часть) покрыта эмалью - высокоминерализованной структурой, состоящей из гидроксипатита. Под ней расположен дентин - менее минерализованная ткань, окружающая пульпу. Поверхность закрепленных в десне корней зубов состоит из цемента.

Десна образует вокруг зуба воротничок с щелью (бороздой) между корнем и эпителием борозды. Соединительный эпителий прилегает к цементу корня зуба. Периодонтальная связка удерживает зуб в костной лунке. В десневой борозде скапливается сывороточный эксудат, называемый десневой жидкостью.

На первых этапах колонизации зуба бактерии должны связаться с рецепторами белков слюны, покрывающих зубную эмаль в виде пелликулы, что позволяет противостоять механическому удалению микроорганизмов в результате движения губ и языка, а также смывания слюной.

Вначале на зубах преимущественно колонизируются стрептококки и актиномицеты, затем количество актиномицетов растет, появляются другие виды микроорганизмов, и, наконец, возрастает число грамотрицательных анаэробов и спирохет. Состав формирующейся бляшки зависит от адгезии бактерий к тканям хозяина и другим бактериям, питательных субстратов, обеспечивающих размножение бактерий, а также от таких факторов, как местная концентрация кислорода.

Колонизация слизистых оболочек бактериями менее выражена ввиду постоянного отмирания и слущивания эпителиоцитов вместе с прилипшими бактериями.

В слюне имеется ряд компонентов, способных стимулировать или подавлять бактериальную колонизацию. Ей могут способствовать молекулы слюны, играющие для бактерий роль рецепторов или источников углерода/азота для питания. Антибактериальные компоненты слюны: агглютинины, лизоцим, гистатины, пероксидаза с тиоцианатом, лактоферрин.

Процесс колонизации зубов, как и других структур, начинается с процесса прилипания жизнеспособных бактерий - первичной адгезии. Процессы первичной адгезии могут быть неспецифическими и специфическими.

Неспецифическая адгезия определяется следующими механизмами:

- химическими связями, возникающими между поверхностями микро- и макроорганизма (ионными, гидрофобными, водородными, Ван-дер-Ваальса);
- наличием клейких, обычно мукополисахаридных субстанций (гликокаликса, капсулы).

Специфическая адгезия определяется стереохимическими взаимодействиями между адгезинами (специфическими белковыми или гликопротеиновыми молекулами) бактериальной поверхности и рецепторами пелликулы или эпителиальных клеток. В качестве рецептора выступает другой белок или углевод (часто в составе гликопротеина или гликолипида).

Совокупность специфических и неспецифических связей при условии последующего бурного размножения бактерий обеспечивает селективную колонизацию тканей хозяина.

Формирование бляшки после первичной адгезии бактерий обусловлено интенсивной сорбцией бактерий из слюны бактериями, фиксированными на поверхности зуба за счет процесса коагрегации. При изучении этого феномена *in vitro* показано, что смешивание бактерий разных видов может приводить к слипанию их в растворе (коагрегации) или прилипанию бактерии из раствора к уже адгезированной бактериальной клетке (коадгезии). Этот процесс также опосредован рецепторными взаимодействиями и является избирательным для бактерий разных видов.

Дальнейшее созревание зубной бляшки обусловлено ростом и размножением бактерий. Микроорганизмы, усваивая метаболиты хозяина или компоненты пищи, формируют на поверхности зуба микроколонии. Продукты их метаболизма могут повреждать ткани хозяина. Так, при ферментации сахаров они образуют молочную и другие органические кислоты, которые затем могут вызывать деминерализацию тканей зуба и способствовать развитию кариеса. Многие бактерии выделяют небольшие растворимые молекулы - сигналы для экспрессии другими бактериями ряда генов, координирующих метаболизм. Известно, что в биопленках микроорганизмы более устойчивы к антибиотикам и защитным факторам организма хозяина, что обуславливает низкую эффективность лечения. Устойчивость к антибиотикам может объясняться замедленным ростом бактерий и/или индукцией генетически детерминированного стрессового ответа. Бактериальные экзополисахариды или другие структурные компоненты биопленки также могут защищать (изолировать) живущих в ней микроорганизмов от антибиотиков.

После тщательной чистки зубов (когда удален весь зубной налет), что показано с применением современных средств профессиональной гигиены полости рта (аппарата «Пьезон-Мастер» с ультразвуковой или пескоструйной системой очистки), в качестве первой заметной структуры на зубной эмали незамедлительно появляется пелликула.

Затем к ней прикрепляются бактерии (вначале обычно кокки) и размножаются.

Со временем морфологическая неоднородность бляшки возрастает - ее заселяют нитевидные, жгутиковые (подвижные) формы микроорганизмов, спирохеты. Они постоянно окружены аморфным материалом из продуктов распада бактериального и человеческого происхождения.

Выше было указано, что потенциальными обитателями полости рта могут быть свыше 800 видов микроорганизмов. При этом с помощью молекулярно-биологического исследования выявлено присутствие в полости рта множества видов некультивируемых микроорганизмов.

В табл. 6-1 перечислены бактериальные таксоны, обнаруживаемые в полости рта, а в табл. 6-2 - бактериальные виды, обычные для здорового или нездорового состояния полости рта. Это позволяет предположить, что в патогенезе заболеваний полости рта могут участвовать неизвестные до сих пор возбудители. Так, в субгингивальной бляшке выявлено значительное количество представителей ТМ7 - недавно описанной группы бактерий, идентифицируемых только по *16S*-рибосомальной ДНК во внешней среде. Подобные факты ставят под сомнение точность описания микрофлоры при различных клинических состояниях, которое основано на проведенных ранее исследованиях с идентификацией

только культивируемых форм бактерий. Вначале бляшку колонизируют преимущественно бактерии-комменсалы - стрептококки (*S. sanguis*, *S. gordonii*, *S. oralis*) и актиномицеты. Затем ее колонизируют и другие бактерии - предвестники развития патологических процессов.

Таблица 6-1. Некоторые бактерии, обычно встречаемые в полости рта

Тип бактерий	Представители
Актинобактерии	<i>Actinomyces naeslundii</i> , <i>A. israelii</i> , <i>A. odontolyticus</i> , <i>Rothia dento-cariosa</i> , <i>Atopobium</i> , <i>Bifidobacterium dentium</i> , <i>Corynebacterium matruchotii</i> , <i>Propionibacterium propionicus</i>
Бактероиды	<i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>P. endodontalis</i> , <i>Bacteroides forsythus</i> , <i>Prevotella denticola</i> , <i>P. oris</i> , <i>P. tanneriae</i> , <i>Capnocytophaga ochracea</i> , <i>C. gingivalis</i>
Деферрибактеры	<i>Deferribacteres</i>
Фузобактерии	<i>Fusobacterium naviforme</i> , <i>F. animalis</i> , <i>F. nucleatum</i> , <i>Leptotrichia buccalis</i>
Фирмикуты	Класс <i>Bacilli</i> : <i>Streptococcus oralis</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. gordonii</i> , <i>S. mutans</i> , <i>S. sobrinus</i> , <i>S. sanguis</i> , <i>S. parasanguis</i> , <i>S. salivarius</i> , <i>S. intermedius</i> , <i>S. constellatus</i> , <i>S. anginosus</i> ; <i>Abiotrophia adiacens</i> , <i>A. defective</i> , <i>Gemella haemolysans</i>

Оконгание табл. 6-1

Тип бактерий	Представители
	Класс <i>Mollicutes</i> : <i>Mycoplasma</i> ; <i>Solobacterium moorei</i> . Класс <i>Clostridia</i> : <i>Catonella morbi</i> , <i>Dialister</i> , <i>Eubacterium brachy</i> , <i>E. saburreum</i> , <i>Megasphaera</i> , <i>Pepto Streptococcus anaerobius</i> , <i>P. micros</i> , <i>Selenomonas</i> , <i>Veillonella dispar</i> , <i>V. parvula</i> , <i>Eubacterium saphenum</i> , клон PUS9.170, <i>Filifactor alocis</i> , <i>Catonella morbi</i> , <i>Megasphaera elsdenii</i> , <i>Dialister pneumocintes</i> , <i>Selenomonas sputigena</i>
Протео бактерии	<i>Haemophilus parainfluenzae</i> , <i>Campylobacter rectus</i> , <i>C. gracilis</i> , <i>C. concisus</i> , <i>Neisseria mucosa</i> , <i>Desulfobulbus</i> , клон R.004, <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> , <i>Eikenella corrodens</i> , энтеро-бактерии (<i>Escherichia coli</i>), <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Спирохеты	<i>Treponema medium</i> , <i>T. denticola</i> , <i>T. maltophilium</i> , <i>T. socranskii</i>
OP11	Эта группа бактерий впервые обнаружена в термальных источниках района <i>Obsidian pool</i> Национального парка Йелоустон в США
TM7	Первоначально представителей этого фило типа некультивируемых бактерий обнаружили в иле очистных сооружений

Таблица 6-2. Состав микрофлоры полости рта человека в норме и при различных заболеваниях

Нормальная микрофлора	Кариез зубов	Гингивит	Пародонтит
Зубы:			
<i>Streptococcus sanguis</i> , <i>S. oralis</i> , <i>S. mitis</i> биовар 1, <i>S. gordonii</i> , <i>Veillonella spp.</i> , <i>Actinomyces spp.</i>	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>S. sobrinus</i> , <i>S. mitis</i> биовар 1, <i>S. gordonii</i> , <i>Veillonella spp.</i> , <i>Actinomyces spp.</i> , <i>Lactobacillus spp.</i>	<i>Streptococcus sanguis</i> , <i>Actinomyces viscosus</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Selenomonas sputigena</i> , <i>Haemophilus parainfluenzae</i> , <i>Actinomyces israelii</i> , <i>Streptococcus mitis</i> биовар 1, <i>Peptostreptococcus spp.</i>	<i>Wolinella recta</i> , <i>Porphyromonas endodontalis</i> , <i>Treponema denticola</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Atopobium rimae</i> , <i>Megasphaera spp.</i> , <i>Catonella morbid</i> , <i>Eubacterium saphenum</i> , <i>Streptococcus intermedius</i>
Язык:			
<i>Streptococcus mitis</i> биовар 2, <i>S. salivarius</i> , <i>S. oralis</i> , <i>Veillonella spp.</i>	<i>Streptococcus mitis</i> биовар 2, <i>S. salivarius</i> , <i>S. oralis</i> , <i>Veillonella spp.</i>	<i>Campylobacter sputorum</i> , <i>Prevotella intermedia</i> , <i>Peptococcus niger</i>	<i>Streptococcus anginosus</i> , <i>Gemella haemolysans</i> , <i>Campylobacter gracilis</i> , <i>Haemophilus parainfluenzae</i> , <i>Peptostreptococcus micros</i>

Оконгание табл. 6-2

Нормальная микрофлора	Кариез зубов	Гингивит	Пародонтит
Десны и пародонтальные карманы:			Острый локализованный пародонтит:
<i>Streptococcus sanguis</i> , <i>S. oralis</i> , <i>Actinomyces naeslundii</i> , <i>Veillonella spp.</i> , <i>Corynebacterium matruchotii</i> , <i>Propionibacterium propionicus</i> , <i>Lactobacillus spp.</i> , <i>Leptotrichia buccalis</i> , <i>Prevotella oralis</i> , <i>Fusobacterium spp.</i>	<i>Streptococcus sanguis</i> , <i>S. oralis</i> , <i>Actinomyces naeslundii</i> , <i>Veillonella spp.</i> , <i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Tannerella forsythia</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Atopobium parvulum</i> , <i>Eubacterium spp.</i> , <i>Abiotrophia adiacens</i> , <i>Dialister pneumosintes</i> , <i>Filifactor alocis</i> , <i>Selenomonas spp.</i> , <i>Fusobacterium animalis</i> , <i>Streptococcus constellatus</i> , <i>Campylobacter</i>	<i>Eikenella corrodens</i> , <i>Campocytophaga sputigena</i> ,
			Генерализованный пародонтит:
			<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> , <i>Prevotella intermedia</i> , <i>Campylobacter rectus</i>
			<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Tannerella forsythia</i> , <i>Treponema denticola</i> ,

		<i>rectus</i>	<i>Prevotella intermedia,</i> <i>Fusobacterium nucleatum,</i> <i>Streptococcus intermedius,</i> <i>Peptostreptococcus micros</i>
--	--	---------------	---

6.3. ОСОБЕННОСТИ ЗУБНОЙ БЛЯШКИ ПРИ ПАТОЛОГИИ

6.3.1. Зубная бляшка при гингивите

Гингивит - воспаление эпителия и соединительных тканей вокруг зуба, но без разрушения структур, поддерживающих зуб в костной лунке. По сравнению с бляшками в здоровых участках, зубная бляшка, способствующая развитию гингивита, выглядит более толстой, в ее глубоких слоях часто обнаруживаются «тени», по-видимому, лизированных бактерий, а отложение в ней солей обычно приводит к образованию зубного камня. В таких бляшках высоко содержание нитевидных и грамотрицательных бактерий (*Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Selenomonas sputigena*, *Campylobacter sputorum*, *Haemophilus parainfluenzae*).

6.3.2. Зубная бляшка при пародонтите

При хроническом пародонтите под влиянием патогенных бактерий и индуцированного бляшкой воспаления утрачивается соединительная ткань, удерживающая зуб в лунке. При этом бляшка, как правило, распространяется на цемент; она такая же или толще, чем при гингивите. В ней доминируют нитевидные грамположительные и подвижные грамотрицательные бактерии и спирохеты. В субгингивальной бляшке наблюдаются определенные формы взаимодействий между бактериями с образованием, например, «кукурузных початков» или «кухонных ершиков» - множество различных бактериальных клеток, прилипших к поверхности центральной нитевидной клетки (рис. 6-4).

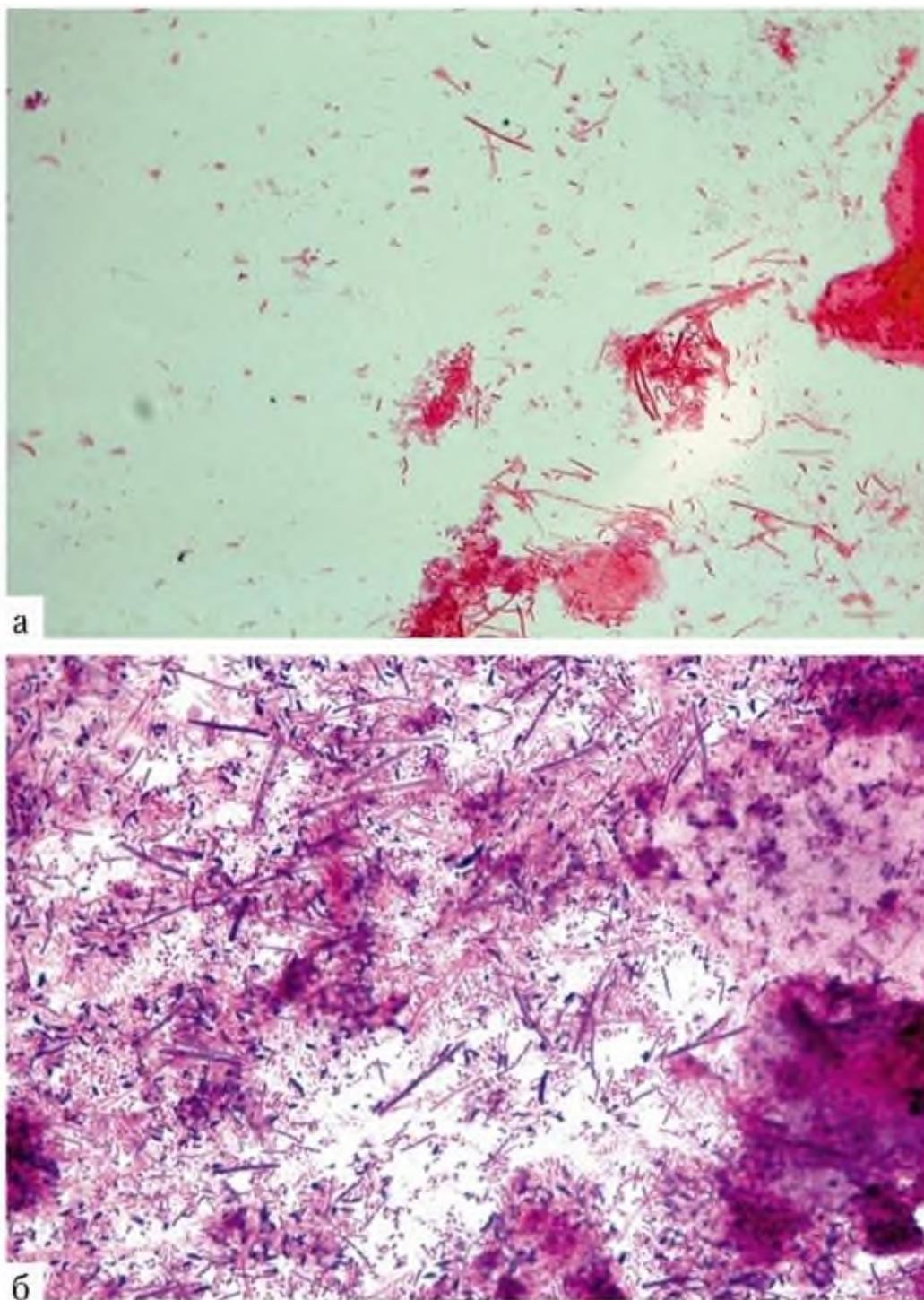


Рис. 6-4. Структура десневой биопленки при пародонтите. Преобладание грамотрицательных (а) и нитевидных (б) форм. Окрашивание по Граму. Объектив x90, иммерсия

Для субгингивальной бляшки при пародонтите характерно присутствие анаэробных видов - *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *Tannerella forsythia* и спирохет. Между supra- и субгингивальной частью бляшки находится переходная зона. В субгингивальной части преобладают нитевидные и жгутиковые формы бактерий. Такая бляшка имеет все признаки сложившегося стабильного бактериального сообщества.

Бляшки у больных острым и хроническим пародонтитом существенно различаются. При остром локальном пародонтите их мало и морфологически они более однородны, в них

доминируют небольшие грамотрицательные кокки. Основным возбудителем острого локального пародонтита является *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

6.3.3. Зубная бляшка при язвенно-некротическом гингивостоматите

Зубная бляшка при остром язвенно-некротическом гингивостоматите имеет особую морфологию. Его симптомы, по-видимому, обусловлены проникновением спирохет, фузобактерий и других микроорганизмов в неизмененную собственную пластинку десны с ее последующим некрозом. Такие изменения описаны при язвенно-некротическом гингивите у ВИЧ-инфицированных больных.

6.3.4. Зубная бляшка при кандидозном стоматите и других микозах

Зубная бляшка при *Candida*-ассоциированном пародонтите и стоматите также имеет особую морфологию, характеризуемую формированием псевдомицелия дрожжеподобных грибов (рис. 6.5). Образование филамент псевдомицелия является признаком патогенности кандиды и является патогномичным микроскопическим симптомом заболевания.

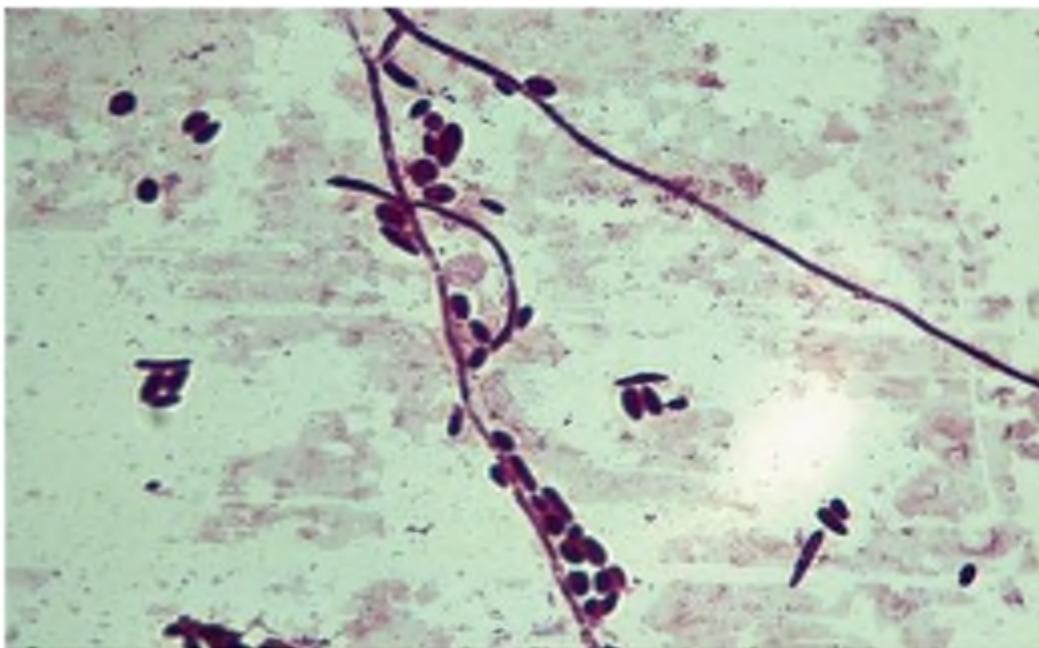


Рис. 6-5. Структура десневой биопленки при кандидозе. Дрожжевые бластоспоры и филаменты псевдомицелия. Окрашивание по Граму. Объектив x90, иммерсия

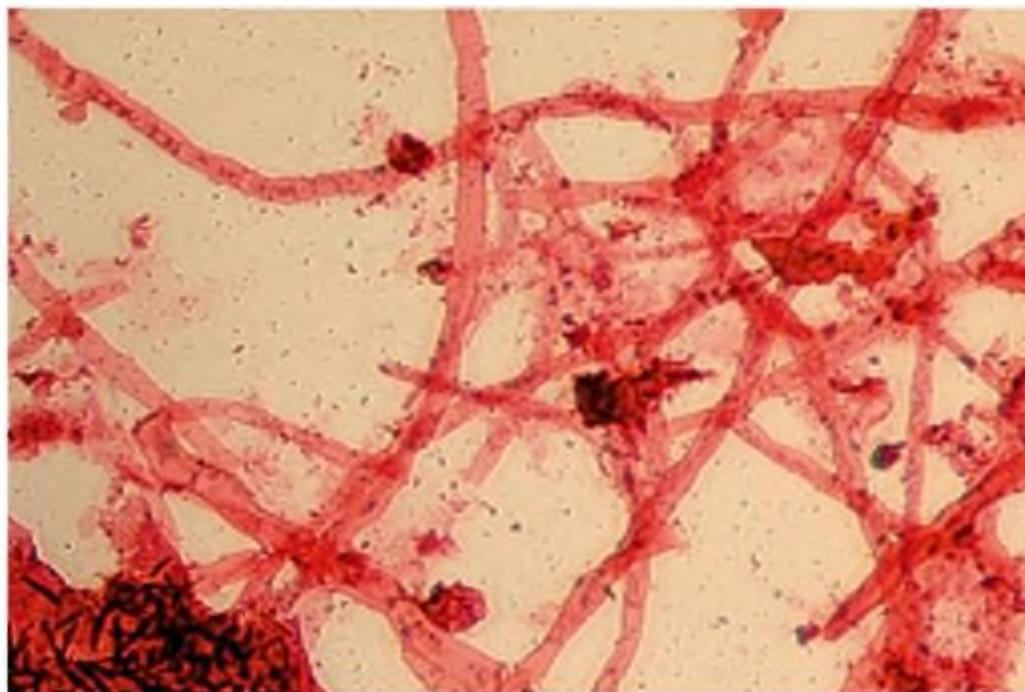


Рис. 6-6. Структура десневой биопленки при плесневом микозе. Филаменты истинного мицелия. Окрашивание фуксином. Объектив x90, иммерсия

При других микозах (например, аспергиллезе, мукормикозе и т.п.) также определяются специфичные для соответствующего вида грибов мицелиальные элементы (рис. 6-6).

6.4. ФОРМИРОВАНИЕ ЗУБНОГО КАМНЯ

Зубной камень - кальцифицированная зубная бляшка, преимущественно состоящая из фосфата кальция, осевшего внутри и снаружи погибших клеток и микроорганизмов. На поверхности зубного камня находится биопленка, образованная живыми бактериями и их внеклеточными полимерами. Наддесневой камень формируется на коронке над краем десны, поддесневой - под ее краем. Наддесневые камни часто и в большом количестве обнаруживают по всему зубному ряду у лиц, пренебрегающих гигиеной полости рта и лишенных профессионального ухода за зубами. Считают, что сам камень не вызывает заболевания пародонта, но так как показана колонизация поверхности камня пародонтопатогенными видами, то удаление зубного камня методами профессиональной гигиены является важным условием лечения пародонтита.

Образование камня можно предотвратить с помощью ингибиторов биоминерализации. Известно, что некоторые белки слюны подавляют минерализацию зубной бляшки. Минерализация нарушается также вследствие изменений pH бляшки или концентраций ионов и молекул в жидкой фазе бляшки.

6.5. МЕХАНИЗМЫ КВОРУМ-СЕНСИНГА МЕЖДУ МИКРООРГАНИЗМАМИ В БИОПЛЕНКЕ ПОЛОСТИ РТА

На современном этапе развития микробиологии можно говорить об отказе от традиционного взгляда на бактерии как строго индивидуальные одноклеточные организмы. Теперь их рассматривают с позиций представлений о бактериальных сообществах - целостных системах, в которых между бактериальными клетками существуют взаимоотношения, определяющие групповые реакции и коллективное поведение

участников сообщества в зависимости от условий их среды обитания (экологической ниши).

Практически все виды колониеобразующих бактерий способны к клеточной дифференцировке и многоклеточной организации. Так, клетки псевдомонад, свободно плавающие в жидкости, отличаются от таких же клеток в прикрепленном состоянии экспрессией 45 генов. Первоначальное прикрепление клетки бактерии к поверхности запускает транскрипцию генов ферментов, ответственных за формирование внеклеточного полисахаридного матрикса. Ген фосфоманномутаза, участвующей в синтезе альгината, активируется в течение всего одной минуты после прикрепления клетки *Ps. aeruginosa* к твердой поверхности. Аналогичные механизмы запускаются при формировании в ротовой полости человека многоклеточных биопленок и бактериальных (зубных) бляшек.

Как клетки бактериального консорциума «общаются» между собой? Способы координации внутри сообщества включают физические взаимодействия (узнавание поверхностей клеток, прикрепление к специфическим участкам), коммуникацию с помощью диффундирующих сигнальных молекул и генетический обмен. В результате всех этих взаимодействий микросообщество способно получать информацию о собственном состоянии и координированно отвечать на изменения, происходящие в окружающей среде.

Одним из главных условий успешного сосуществования является информация о плотности бактериального заселения среды. В 1994 г. было предложено понятие «ощущения кворума» (*Quorum Sensing*) - сигнальной системы, с помощью которой бактерии воспринимают изменения в численности популяции и реагируют на эти изменения. В простейшем варианте кворум-сенсинга каждая клетка синтезирует некие сигнальные молекулы, которые накапливаются в межклеточной среде и способны взаимодействовать с рецепторами на поверхности (или внутри) клетки. При увеличении количества клеток концентрация сигнальных молекул достигает некоторого порогового уровня, с которого запускаются изменения в экспрессии генов.

В настоящее время существуют три хорошо изученных класса молекул, служащих для химической сигнализации у бактерий: олиго-пептиды, N-ацилгомосеринлактоны и AI-2 (*LuxS/autoinducer-2*).

Олигопептиды (класс I) формируют систему сигнализации, доминирующую у грамположительных бактерий. Синтезируются в виде неактивных про-белков, которые затем подвергаются протеолитическому расщеплению и превращаются в активные сигнальные олигопептиды, экспортируемые из клетки наружу. Олигопептиды могут различаться по структуре, что позволяет им быть высокоспецифичными: зачастую сигнальные молекулы отличаются даже у штаммов одного и того же вида. Примером функции сигнального олигопептида служит система контроля за синтезом экзотоксинов в поздней фазе роста у *Staphylococcus aureus*. Здесь в качестве белка-предшественника выступает белок AgrD, состоящий из 46 аминокислот. В процессе экспорта белком-переносчиком AgrB он превращается в зрелый сигнальный пептид AIP (*Autoinducing Peptide*), состоящий из 8 аминокислот. В межклеточном пространстве при высокой плотности клеток AIP распознается сенсорным белком-киназой AgrC, который передает сигнал внутрь клетки-реципиента. В результате каскадного фосфорилирования в клетке образуется регулятор ответа - белок AgrAIP, который активирует транскрипцию оперона *agrB, D, C, A*, а также подавляет транскрипцию генов, кодирующих другие экзотоксины. Различия в AIP и его рецепторе служат основанием для выделения 4 групп штаммов *S. aureus* или более. Олигопептиды, синтезируемые в одной из групп, индуцируют патогенность в этой группе и специфически подавляют системы Agr-вирулентности в других группах.

Класс II сигнальных молекул - N-ацилгомосеринлактоны (AHLs) - образуется в результате реакции S-аденозилметионина с переносимым ацил белком, являющимся

промежуточным продуктом синтеза жирных кислот в бактериальной клетке. AHLs обнаружены более чем у 450 представителей грамотрицательных бактерий. Распознаются они каким-либо белком из LuxR-семейства регуляторов транскрипции.

Один такой белок может узнавать разные по структуре гомосеринлактоны, происходящие из разных клеток. Примером работы гомосеринлактонов является система кворум-сенсинга у патогенной бактерии *Ps. aeruginosa*. *Ps. aeruginosa* продуцирует широкий спектр патогенных веществ - эндо-и экзотоксинов (адгезины, ЛПС, протеазы, экзофермент S, экзотоксин A, рамнолипиды, антибиотик пиоцианин). Продукция и секреция экзотоксинов регулируется гомосеринлактонами, активирующими синтез патогенных факторов в зависимости от плотности клеток в популяции.

Класс III сигнальных молекул - AI-2 - задействован в коммуникации многих грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов. Эта молекула, подобно AHL, образуется как побочный продукт обмена веществ бактериальной клетки. S-аденозилгомоцистеин (SAH) возникает в результате обычной деятельности внутриклеточных метилтрансфераз. Поскольку SAH является потенциальным ингибитором этих ферментов, то он постоянно удаляется из клетки для поддержания ее нормальной жизнедеятельности. Во внеклеточном матриксе он сигнализирует соседним бактериям о присутствии живой работающей клетки. В некоторых бактериях SAH ферментативным путем превращается в S-рибозилгомоцистеин (SRH), который затем с помощью системы *LuxS* распадается на гомоцистеин и фураны (AI-2). Ген *LuxS* был обнаружен у нескольких родов бактерий ротовой полости.

Согласованная работа множества клеток, осуществляемая с помощью механизмов кворум-сенсинга, очевидно, выгодна при активной реакции бактериальной популяции на внешние факторы - поступающие макромолекулы пищи или появление источника агрессии. В этих случаях одновременное выделение большого количества внеклеточных ферментов и факторов вирулентности определяет успешность (или неуспешность) ответа бактериального сообщества в меняющейся обстановке.

Например, клетки *Enterococcus spp.*, не имеющие плазмид с геном устойчивости к ванкомицину, продуцируют олигопептидные сигнальные молекулы, которые распознаются энтерококками-донорами, несущими эту плазмиду. Последние синтезируют вещества, облегчающие присоединение клетки-донора к клетке-реципиенту и конъюгацию плазмиды с геном устойчивости к антибиотику. В результате через некоторое время вся популяция клеток становится устойчивой к ванкомицину.

Еще один фактор межклеточных взаимодействий - бактериальные цитокины - вещества, схожие с гормонами позвоночных (включая стероиды и полипептидные гормоны, такие как инсулин). Важность химически опосредованных (в том числе при участии цитокинов) межклеточных взаимодействий в бактериальных культурах для таких свойств, как адгезия, патогенность и т.д., по мере накопления данных становится все более очевидной. Результаты исследования структуры, функциональной дифференциации клеток, а также трофических градиентов в биопленках дали основание говорить об определенной системной интеграции участников этих бактериальных консорциумов. Установлено, что в одной биопленке можно наблюдать неоднородность генной экспрессии, функциональную специализацию бактерий, наличие у них специфических «обязанностей».

Иллюстрацией межвидового взаимодействия в сообществе полости рта может служить влияние *V. atypica* на *Streptococcus gordonii*. Оба вида относятся к первичным колонизаторам зубной эмали, причем *V. atypica* нуждается в присутствии *S. gordonii* на поверхности зуба, поскольку клетка стрептококка способна разрушать сахара с образованием молочной кислоты - лучшего источника углерода для *V. atypica*. Для улучшения своего микроклимата *V. atypica* продуцирует особые вещества, индуцирующие экспрессию амилазы в *S. gordonii*.

Бактерии полости рта также изучали по их способности прикрепляться к различным видам бактерий-резидентов биопленки. Выявлены определенные участки клеток, в которых происходит распознавание одних видов клеток клетками-партнерами других видов с образованием в результате этого клеточных скоплений. Указанный процесс называется коагрегацией.

Распознавание между суспендированными клетками и уже прикрепленными к субстрату называется коадгезией. Прикрепление клеток, по-видимому, обусловлено комплементарностью белка адгезина и компонентов полисахаридного рецептора на поверхности двух соответствующих типов клеток.

Во многих коагрегатах с помощью галактозидов (конкурентных ингибиторов коагрегации) удается выявить распознавание, осуществляемое посредством родственных лектин-углеводных молекул, расположенных на поверхностях двух клеток. Адгезия между бактериями ротовой полости и поверхностями ротовой полости является избирательной. Если бы адгезия была неспецифической, то любые виды бактерий могли бы присутствовать в микросообществе ротовой полости, а этого не происходит.

ГЛАВА 7. ПРИНЦИП ДЕКОНТАМИНАЦИИ В СТОМАТОЛОГИИ

7.1. ПРИНЦИП ДЕКОНТАМИНАЦИИ

Ни одна отрасль современной медицины, будь то терапия, хирургия или стоматология, немыслима без особого гигиенического режима, который обеспечивал бы относительную чистоту помещений и оборудования лечебно-профилактических учреждений от бактериального загрязнения. Комплекс мероприятий по предотвращению распространения инфекций, включающий стерилизацию и дезинфекцию, является общим для всех отраслей медицины. Его цели - обрыв путей передачи, опосредованных медицинским оборудованием или действиями врача, и снижение риска передачи инфекционных заболеваний.

Инструменты, которыми пользуется врач при приеме больных, должны быть стерильными, т.е. полностью свободными от каких-либо микроорганизмов.

Процесс уничтожения микроорганизмов на (в) каких-либо объектах получил название деконтаминации, т.е. удаления, или эрадикации. Для осуществления этого процесса разработаны и применяются разнообразные методы стерилизации и дезинфекции.

Стерилизация - уничтожение всех микроорганизмов в веществе и на поверхности стерилизуемого объекта. Стерилизации подвергают медицинские инструменты, соприкасаемые со слизистыми оболочками, раневой поверхностью, контактирующие с кровью, инъекционными препаратами. По определению академика РАМН проф. А.А. Воробьева, «стерилизация - полное обеспложивание объектов, при котором уничтожаются все формы микроорганизмов (вегетативные и споры)».

Составная часть противоэпидемических и противоинфекционных мероприятий - дезинфекция.

Дезинфекция - комплекс мер, направленных на уничтожение на (в) объектах конкретных патогенных микроорганизмов (т.е. возбудителей инфекционных заболеваний). Разумеется, дезинфекцию можно проводить в отношении различных объектов в окружающей человека среде, в том числе медицинских инструментов. В стоматологической практике дезинфекцию применяют в отношении инструментов, используемых при гнойных операциях, а также инструментов другого назначения, которые могут являться факторами передачи возбудителей инфекционных заболеваний.

В последние годы разработке современных методов стерилизации и дезинфекции в практическом здравоохранении посвящено большое количество работ, однако эта проблема остается крайне актуальной.

Врачи-хирурги, урологи, акушеры-гинекологи, офтальмологи, оториноларингологи, стоматологи постоянно сталкиваются с необходимостью выбора того или иного метода дезинфекции или стерилизации. В некоторых клинических ситуациях (например, когда неизвестны степень вирулентности микроорганизмов и их устойчивость к стерилизующим агентам) трудно выбрать уровень дезинфекции или провести грань последней со стерилизацией. Это возможно лишь при тщательном анализе категорий риска для пациента, а также при оценке характера бактериального агента. Необходимо учитывать, что в стоматологическом кабинете, а тем более в стационаре всегда имеются потенциальные источники внутрибольничной инфекции с высокой вирулентностью и возможна реализация путей ее передачи.

Примерами микроорганизмов, которые по своим инвазивным и токсигенным свойствам могут быть приравнены к патогенам, являются высоковирулентные штаммы *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus sanguis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosae*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* и другие резидентные виды бактерий, а также грибы рода *Candida*.

Вследствие того что факт инфицирования пациента (например, гепатитом или ВИЧ) не может быть установлен на основании истории болезни, всем пациентам нужно проводить осмотры и лабораторные анализы. Эти универсальные меры безопасности должны рассматриваться и в приложении к стоматологии, что определяет необходимость жесткого контроля за организацией и проведением дезинфекции и стерилизации в подразделениях стоматологического профиля.

При рассмотрении воздействия на микроорганизм с целью деконтаминации можно выделить два основных типа таких воздействий: это либо проникающие (сквозь оболочку микроорганизма) воздействия, приводящие к нарушениям внутренней структуры, либо разрушение оболочки микроорганизма, в результате чего его функционирование в питательной среде становится невозможным (осмотический шок приводит к гибели). Эти типы воздействия на микроорганизмы непосредственно связаны со спектром энергий частиц, осуществляющих это воздействие.

Воздействия первого типа осуществляются двумя различными путями. Это либо термодинамически равновесная передача энергии (нагревание), либо проникновение частиц сквозь обрабатываемый объект. В первом случае, независимо от реальных взаимодействий с частицами, передающими взаимодействие, имеет место достаточно равномерное возбуждение всех степеней свободы обрабатываемого объекта с тепловыми ($T \sim 300 \text{ K} \sim 0,03 \text{ эВ}$) энергиями. Во втором случае начальная энергия частиц столь велика, что отдельные взаимодействия малы по сравнению с их средней энергией, что и обеспечивает их глубокое проникновение.

Воздействия второго типа принципиально отличаются от первого. Обладая энергетическим запасом в 5-50 эВ, превышающим типичные энергии химических связей в органических веществах всего лишь в несколько раз, частицы, реализующие этот тип воздействия, расходуют свой энергетический запас на поверхности объекта. Разрушив несколько органических молекул, такая частица растрчивает свой запас и прекращает воздействие. Эта специфика воздействия имеет как положительное, так и отрицательное значение.

7.2. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ДЕКОНТАМИНАЦИИ

Для характеристики процессов деконтаминации с физико-химической точки зрения используют специальный термин - «степень необходимого воздействия», который подразумевает такое количество энергии, которое обеспечивает нарушение химических и физических связей в различных структурах инфекционного агента.

Для того чтобы выяснить степень минимального разрушения вещества, приводящую к гибели микроорганизма (прекращению действия инфекционного агента), следует разделить способы воздействия стерилизующего агента. Если стерилизующий агент воздействует непосредственно (сквозь оболочку) на основной жизненно важный элемент инфекционного агента (например, на генетическое вещество бактерии или вириона), то это воздействие является достаточным. Если стерилизующий агент воздействует на этот фактор только после разрушения оболочки (когда стерилизующий агент «доберется» до него), то необходимо учитывать и необходимость разрушения оболочки. Во втором случае именно разрушение специфического материала клеточной оболочки (полиаминогликозида) оказывается более тяжелым делом.

Рассматривая строение бактерий и других инфекционных агентов, необходимо уточнить, какие элементы клеток могут быть разрушены воздействиями, имеющимися в ассортименте стерилизующих устройств или дезинфицирующих средств. Разумеется, степень необходимого воздействия существенно различается для микроорганизмов разных таксономических групп и зависит от особенностей их строения.

Основные объекты процесса стерилизации - бактерии. Важность и сложность задачи обусловлены тем, что они вызывают огромное количество заболеваний человека и животных, а с другой стороны, их высокая приспособляемость позволяет выживать им в самых агрессивных средах. Для обсуждения процессов стерилизации наибольшую важность имеет рассмотрение строения клеточной стенки и генетического материала микроорганизмов.

7.2.1. Разрушение бактерий и спор

Клетки грамположительных бактерий, а также грибов и высших растений (в отличие от клеток животных) обладают очень мощными клеточными стенками. Это связано с необходимостью их противостояния многочисленным биологическим, химическим и физическим факторам среды их обитания. Существует определенное сходство строения основной оболочки грамположительных бактерий и грибов, так как она состоит из азотсодержащего полигликозида (муреина или хитина). Различие заключается в наличии у грамположительных бактерий тейхоевых кислот (рис. 7-1). При воздействии на клеточные стенки грамположительных бактерий и грибов необходимо разрушить оболочки из муреина (пептидогликана) или хитина (а в случае грамположительных бактерий следует учитывать наличие в клеточной стенке тейхоевых кислот). Молекулярные структуры муреина и хитина во многом сходны, поэтому для выделения элементов разрушения рассматриваемой оболочки достаточно обратиться к примерной структурной формуле типичного пептидогликана (рис. 7-2).

Существует несколько участков данной структуры, которые подвержены разрыву химических связей при воздействиях достаточно высокими энергиями. Во-первых, это пептидные связи C-N. Обычно эта группа является верхней оценкой пептидной связи, которая из-за плоскостного расположения групп ОС-NH достаточно напряжена. Во-вторых, это кислородные мостики -O между гликозидными кольцами. Для определения энергии разрыва такого мостика необходимы расчеты, которые кратко приведены в следующем разделе.

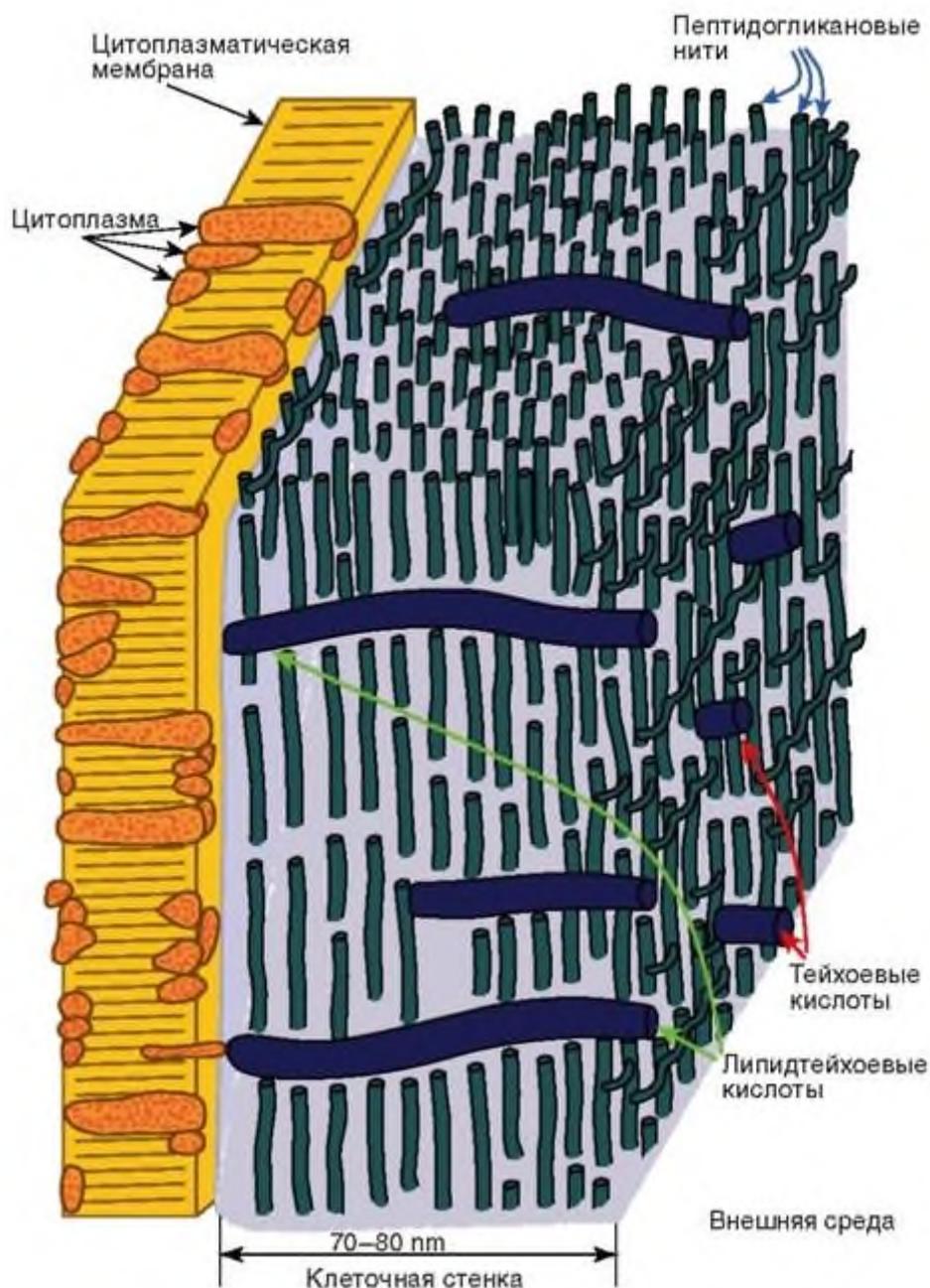


Рис. 7-1. Схема строения пептидогликанового каркаса (муреина) клеточной стенки грамположительных бактерий

Эти связи представляют собой наиболее уязвимые места в структуре пептидогликана. Именно их разрушение приводит к нарушению целостности всего каркаса, которое может привести к обнажению собственно клеточной мембраны (и ее разрушению). То, что целостность структуры пептидогликана нарушается в области этих связей, подтверждается тем, что именно на них действуют бактериолитические ферменты бактериального происхождения (N-ацетилмурамилгидролаза или лизоцим), вызывающие лизис бактерий и грибов.

При разрушении клеточных стенок грамотрицательных бактерий, вирионов, прионов, а также внешних стенок спор важно учитывать, каким образом происходит разрыв полипептидных цепей, возможно, стабилизированных водородными и дисульфидными связями (белков, нуклеиновых кислот и т.п.). Наличие этих разрывов можно рассматривать в качестве оценки интенсивности разрушающего воздействия на основной жизненно важный элемент инфекционного агента.

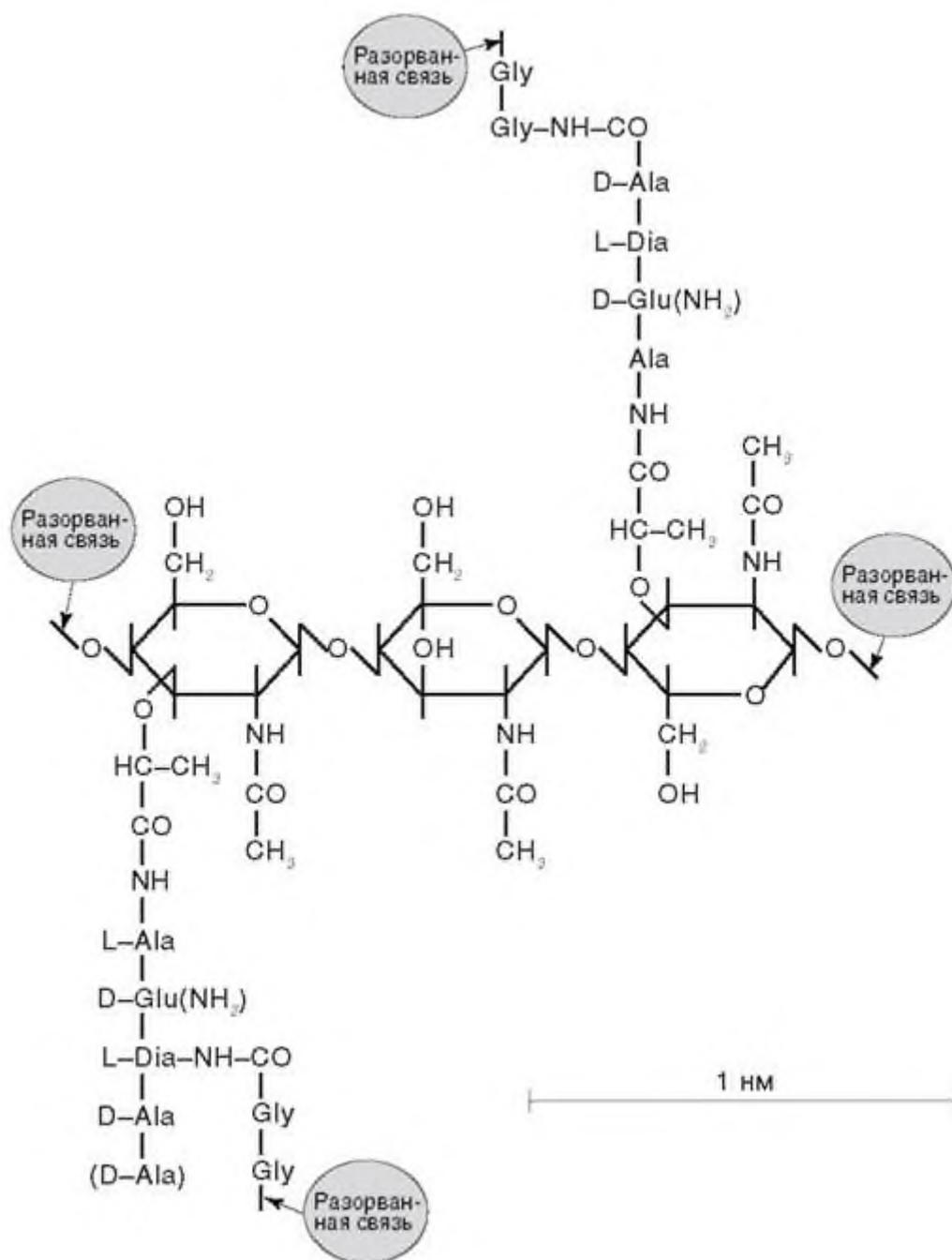


Рис. 7-2. Элементарный объем полиаминоглико-зида грамположительных бактерий, выделяемый при их разрушении

Споры

Если у бактерий клеточная стенка относительно тонкая, то у спор она имеет существенную толщину и прочность. При разрушении спор важно принимать во внимание следующие обстоятельства.

Во-первых, оболочка споры состоит из денатурированного белка - в данном случае неважна его вторичная или третичная структура. Как правило, в оболочке споры она отсутствует. Это, однако, заставляет, если необходимо подобраться к «внутренности» клетки, не просто нарушить структуру белка, а разрушить оболочку. Вторичную структуру белка можно разрушить, разорвав водородные связи, а полное разрушение молекулы может произойти лишь после нарушения структуры ковалентных связей. Наиболее просто это

можно сделать либо разрывая пептидные связи (C-N), либо приводя к окислению аминокислотных остатков.

Во-вторых, наличие оболочки из (частично) денатурированного белка приводит к тому, что инфицирующий фактор может образовывать конгломераты. Этому наиболее подвержены белковые оболочки. Причина этого в том, что в состоянии неполного высыхания белки не совсем утрачивают вторичную структуру водородных связей, и, в частности, подобная структура образуется между молекулами «соседних» организмов, а при высыхании эти молекулы перепутываются, зачастую образуя дополнительные ковалентные связи.

Необходимость разъединения бактерий (или спор) представляет дополнительную задачу, особенно для непроникающих воздействий.

Общие свойства спор, важные для рассмотрения процессов стерилизации:

- в покоящейся споре процессы жизнедеятельности отсутствуют;
- наблюдается крайняя устойчивость ко всем воздействиям из-за наличия толстой и прочной стенки, включающей значительный белковый элемент;
- содержание воды в стенке споры существенно снижено по сравнению с содержанием в обычных клетках.

Грамотрицательные бактерии имеют свои особенности строения. Для них характерно наличие над тонкой двух-трехслойной пептидо-гликановой оболочкой еще одной, так называемой внешней мембраны (рис. 7-3). В ее структуре выявлены характерные только для нее компоненты: ЛПС, липопротеины (рис. 7-4), белки-порины.

Для нарушения целостности и стабильности клеточных стенок необходимо определить минимальную плотность нарушений химических связей (на единицу объема микроорганизма). Эта величина может являться объективной удельной величиной, позволяющей определить универсальным образом (по типу воздействия, расположения разрушаемого вещества и т.д.) условия разрушения клеточной стенки (или объекта - в случае вирусов или прионов). Эта величина может быть связана с потоком воздействия на стенку микроорганизмов. Действительно, если имеется способ разрушить целостность однородного элемента, то по степени ослабления воздействия в зависимости от положения определенной точки обрабатываемого объекта ($d \ln U/d x$) можно определить (в зависимости от типа воздействия) минимальное необходимое воздействие для стерилизации.

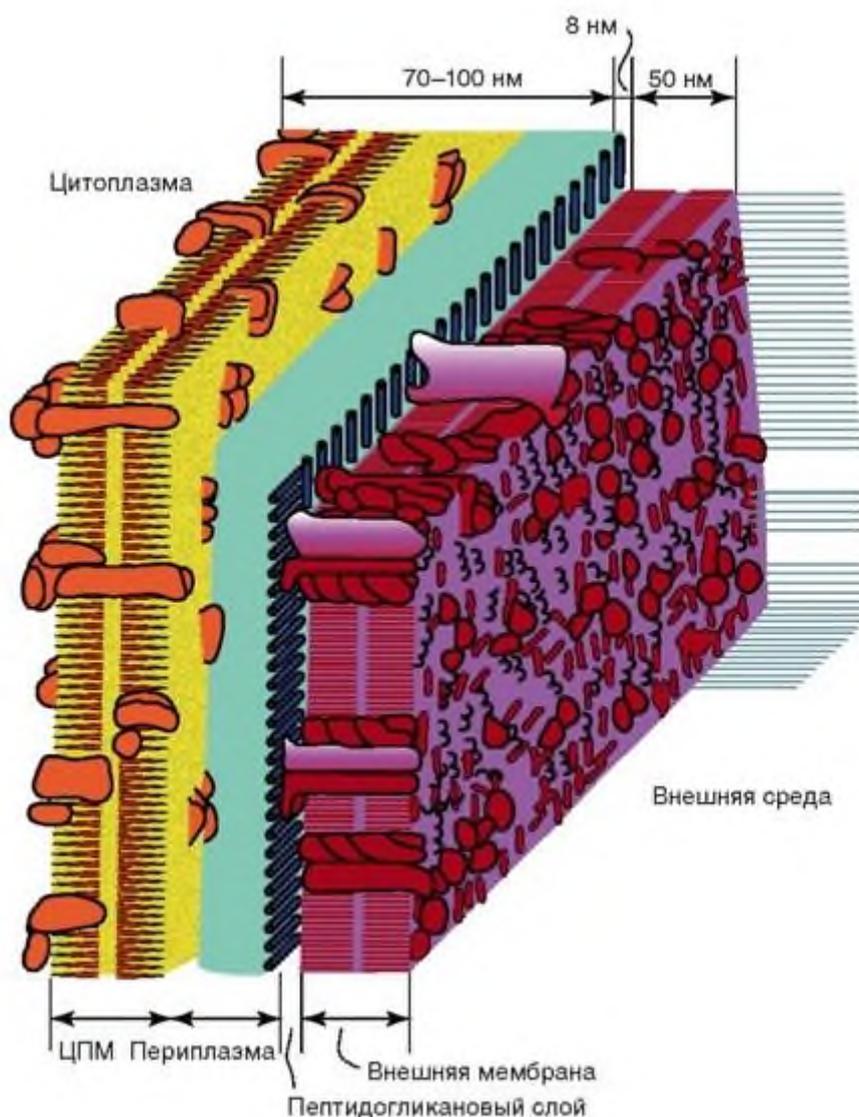


Рис. 7-3. Схема строения клеточной стенки грамотрицательных бактерий

7.2.2. Разрушение вирусов, вирионов и прионов

Вирусы и вирионы

Близкая задача стоит при разрушении вирусов и вирионов. Оболочка вируса представляет систему белковых молекул, причем их толщина (в случае наиболее массивных вирусов) сравнима с толщиной белковых оболочек грамотрицательных бактерий и спор. Вирионы часто образуют конгломераты (иногда фактически кристаллы). Так же как и для клеточных инфекционных агентов, при обработке вирусов весьма важно разделить такие конгломераты.

После разрушения белковой оболочки вируса необходимо устранить влияние наследственного материала. В одних случаях достаточно разрушить вторичную структуру нуклеиновых кислот (например, ВИЧ), в других - необходимо разрушение нуклеотидной последовательности (например, у вирусов гепатитов В, С). Как правило, решение этой задачи для большинства нуклеиновых кислот не сложнее, чем разрушение белковых молекул. Это также касается и вирионов, которые вообще лишены белковой оболочки.

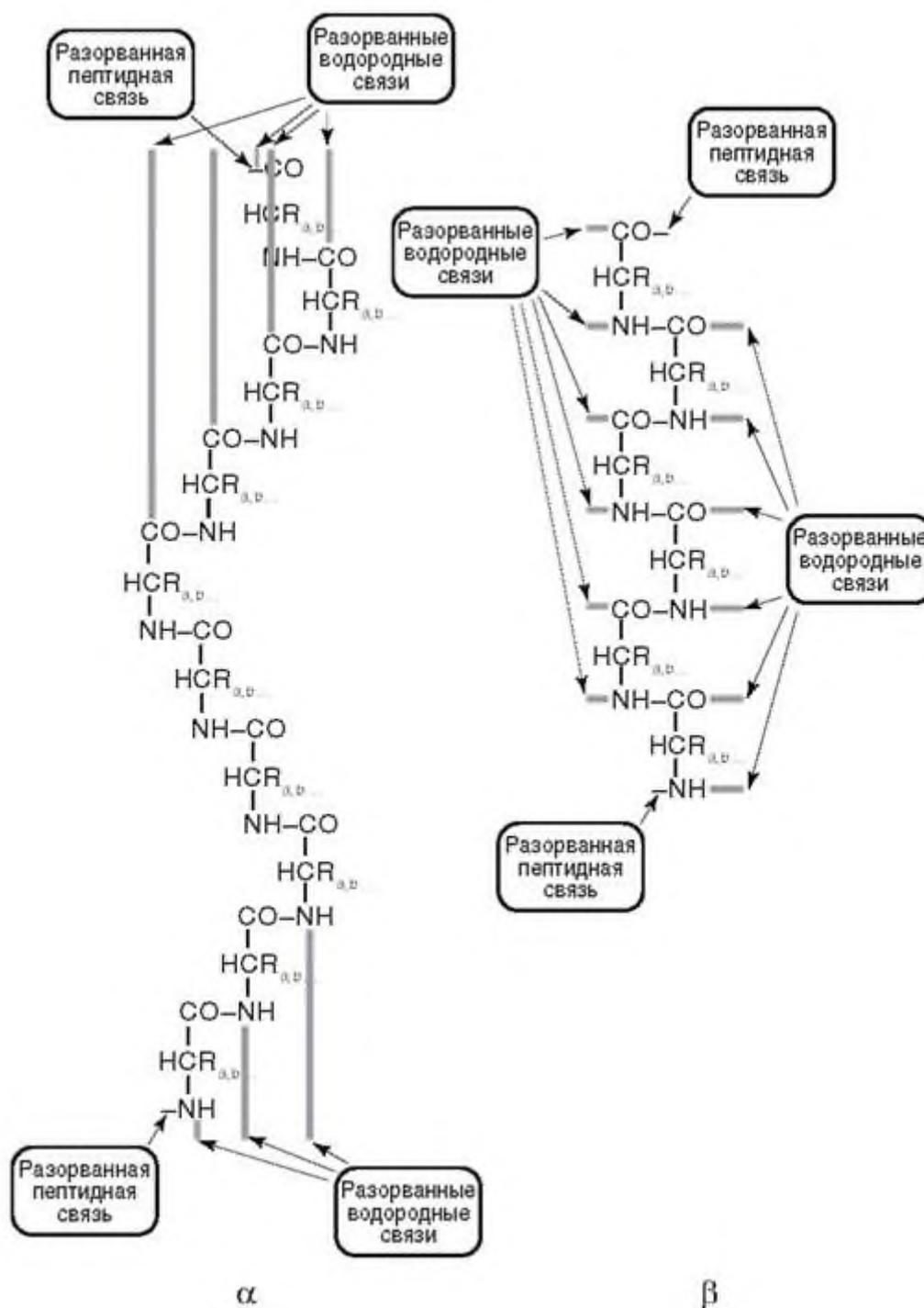


Рис. 7-4. Элементарный объем типичных разрушаемых полипептидных цепей в составе α - и β -структур

Прионы

Еще одним классом инфекционных агентов, разрушение которых сводится к разрушению белковых элементов, являются прионы. Ранее считали, что объектами стерилизации и дезинфекции могут быть лишь «живые» инфекционные агенты, обладающие наследственным материалом в форме нуклеиновых кислот.

Возникновение проблемы прионовых заболеваний поставило новые трудноразрешимые вопросы. Для полного устранения возможности инфицирующего воздействия приона, по-видимому, необходимо разрушить все молекулы, образующие

прион. Это может потребовать существенно большего воздействия по сравнению с рассмотренными ранее инфекционными агентами.

Борьба с распространением бешенства коров и проведение необходимых профилактических и санитарных мероприятий только европейским странам обошлись в сотни миллионов долларов.

Оказалось, что патологические (аномальные) прионовые белки крайне устойчивы к обычным методам стерилизации и дезинфекции. Актуальность уничтожения инфекционных агентов белковой природы стерилизационным воздействием связана с экономическим значением использования стерилизационного процесса против заболеваний, обусловленных прионами.

Таким образом, для понимания основных механизмов деконтаминации необходим анализ закономерностей энергетических воздействий для разных групп микроорганизмов - бактерий, включая их споры, эукариотических микроорганизмов (грибов и простейших), вирусов, вирионов и прионов, основываясь на особенностях их химического состава, строения, наличия определенных структур, препятствующих воздействию стерилизующих агентов.

7.3. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ И ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ

7.3.1. Элементарный объем полиаминогликозида (пептидогликана или муреина). Разрушение химических и физических связей клеточной стенки грамположительных бактерий

Структура и строение полиаминогликозидов, составляющих основную часть клеточных стенок грамположительных бактерий, позволяют выделить элементарный объем, состоящий из нескольких (2-3) моно-сахаридных колец, соединенных кислородными мостиками, и пептидную сшивку этих колец с кольцами соседнего слоя.

Рассмотрим, каким образом можно минимально нарушить целостность пептидогликанового мешка. Для этого, как можно заметить, достаточно убрать именно этот выделенный элементарный объем (2-3 моно-сахаридных кольца и пептидную сшивку с соседним слоем). Наиболее «удобными» для разрыва являются кислородные мостики и пептидные сшивки между различными слоями пептидогликанового (у грибов - аналогичного хитинового) мешка.

Анализ данных по связям атомов С, Н, О в органических веществах показывает, что минимальная энергия такой (единичной) связи в цепочке гликозидных колец равна 3,5 эВ (это связь С-С). Однако разрыв только одной такой связи не позволит выделить фрагмент пептидогликанового (хитинового) мешка. Разрыв кислородного мостика и пептидной сшивки такую возможность дает.

Для того чтобы уточнить значения энергий разрываемых химических связей, необходимо учитывать, что энергии разрываемых связей ϵ_{C-O} и ϵ_{C-N} определяются разностью значений энтальпии образования молекулярных систем с рассматриваемыми связями и без них. Данные по термодинамическим свойствам таких сложных молекулярных систем, как полиаминогликозиды, отсутствуют. Именно поэтому следует воспользоваться данными для более простых веществ. Например, для моделирования связи в кислородном мостике необходимо воспользоваться аналогичной связью в виде кислородного мостика в простых эфирах.

Энтальпия образования диметилового эфира определяется величиной: $\Delta_f H_{C_2H_6O} = -185$ кДж/моль; энтальпия образования частицы CH_3 соответственно: $\Delta_f H_{CH_3} = 142$ кДж/моль; учитывая также энтальпию образования атома кислорода, каждую из связей -С-

O- в молекуле диметилового эфира C_2H_6O можно оценить величиной примерно в 360 кДж/моль. Аналогично можно определить энергию пептидной связи (скажем, по аналогии с энергией связи -C-N- в молекуле CH_3NO_2); эта энергия оказывается несколько меньше - 250 кДж/моль.

Общая энергия минимально разрываемой части объема клеточной стенки (пептидогликана или хитина), таким образом, может быть оценена величиной 10 эВ. Величина этого объема может быть определена линейным размером углеводного кольца (расстояние между центрами атомов $\sim 3 \text{ \AA}$) и средней длиной полипептидной связи между разными слоями пептидогликана (хитина).

К первой величине для определения ширины элементарного объема следует добавить среднее расстояние между соседними углеводными цепочками $\sim (3-5) \text{ \AA}$.

Длина элемента из двух-трех колец определяется размером самих колец и длиной кислородного мостика; она составляет 9-13 А.

Длина полипептидных шивков составляет 30-50 А.

Объем такого элемента размером $(6-8) \times (9-13) \times (30-50) \text{ \AA}$ составляет $(2-5) \times 10^3 \text{ \AA}^3$. Вместе с минимальной суммарной энергией обсуждаемых выше химических связей это определяет нижнюю границу объемных затрат энергии для разрушения многослойной оболочки из мурина или хитина величиной $\sim (2-5) \times 10^{-3} \text{ эВ/\AA}^3$.

7.3.2. Элементарный объем вещества липопротеиновой цепи. Разрушение химических и физических связей клеточной стенки грамотрицательных бактерий

Клеточные стенки грамотрицательных бактерий, в том числе хламидий и риккетсий, состоят из полипептидных цепей (большой частью из белков и липопротеинов). Их вторичная структура весьма разнообразна, в том числе они могут входить в состав клеточной стенки и в денатурированном виде.

Во всех этих случаях связь -C-N- является наиболее легкоразрушаемой связью. Элементарным объемом может считаться часть полипептидной цепи, допускающая отсоединение после разрыва хотя бы двух таких связей. Отсоединение участка цепи после разрыва ковалентных связей, однако, происходит не всегда. Подобный объем, даже не связанный ковалентно с оставшейся цепью, будет связан водородными связями с другими витками цепи в случае α -структуры или с далекими участками в случае β -структуры.

В случае разрыва соседних ковалентных связей такой элемент оказывается привязан одной водородной связью (характерная энергия водородной связи $\epsilon_H \sim 0,1 \text{ эВ}$). С одной стороны, это минимальная привязка водородными связями, а с другой - максимальная энергия ковалентных связей (удельная - на единицу аминокислотных остатков), требуемая для отсоединения этого элемента. Если увеличивать длину элемента, энергия разрываемых ковалентных связей ($\sim 5 \text{ эВ}$) будет оставаться без изменений, а суммарная энергия водородных связей будет расти.

Механизм высвобождения элемента цепи с разорванными ковалентными связями должен обеспечивать разрыв водородных связей. Единственным механизмом для этого является тепловое движение, причем в силу того что при температуре $T = 300 \text{ }^\circ\text{K}$ справедливо ϵ_{HT} такое событие будет маловероятным. Его вероятность оценивается гиббсовским множителем: $\exp(-\epsilon_H/T)$, который оказывается тем более малым, поэтому разрыв водородных связей может происходить только в результате накопления многочисленных флуктуаций в системе с большим числом степеней свободы (пропорциональным количеству аминокислотных остатков N). Качественно величина такой флуктуации должна быть порядка $\sim N^{1/2}T$, что вместе с уменьшением средней энергии разорванных ковалентных связей на единицу аминокислотных остатков должны обеспечить (при ограничении энергии воздействия) оптимальную длину высвобождаемых элементов.

Таким образом, из качественных соображений ясно, что оптимальный размер существует, хотя численно оценить длину высвобождаемого элемента вряд ли возможно. Эта длина может быть определена из сравнения с результатами разложения полипептидных цепей ферментами; обычно она находится в пределах 8-11 аминокислотных остатков. Это соответствует 2-3 виткам α -спирали, если такая структура имеет место; в любом случае объем таких витков может служить оценочной мерой для определения элементарного объема. Если считать, что число больше объемных аминокислот (например, содержащих ароматическое кольцо - триптофан, тирозин, финилаланин) невелико, то ее диаметр можно оценить $\sim 15 \text{ \AA}$. Полагая шаг α -спирали равным $5,4 \text{ \AA}$, объем такого элемента можно оценить величиной $\sim (2-3) \times 10^3 \text{ \AA}^3$. Исходя из того, что энергия двух разрываемых ковалентных связей $\sim 5 \text{ эВ}$, получим оценку минимального объемного расхода энергии, необходимой на разрушение вещества из полипептидных цепей еппц, равную $\sim 10-3 \text{ эВ/\AA}^3$. Отметим, что это значение по порядку величины близко к оценке для полиаминогликозидов, но численно в несколько (2-5) раз меньше. Эта характеристика пригодна в качестве оценки разрушающего воздействия на белковый компонент оболочки (грамотрицательных бактерий и спор) - основной элемент инфекционного агента (практически всегда представлен полипептидной цепью).

Таким образом, получена оценка эффективности воздействия, при превышении которой (конечно, при условии, что это воздействие вообще способно разрушать именно те химические связи, о которых говорилось выше) оболочка разрушается.

7.4. ФИЗИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ДЕКОНТАМИНАЦИИ

К физическим факторам деконтаминации (дезинфекции и стерилизации) относят воздействие температурного фактора и высушивания, фильтрование, воздействие лучистой энергии, электромагнитных полей, плазмы. Физические факторы используют также и на этапе предстерилизационной обработки инструментов (например, в хирургии, стоматологии) наряду с механической обработкой.

7.4.1. Температура

Температура ниже $0 \text{ }^\circ\text{C}$ не оказывает губительного действия на микроорганизмы, однако резко тормозит метаболизм и, соответственно, прекращает их рост и размножение. Некоторые вирусы сохраняются даже при $-270 \text{ }^\circ\text{C}$. Лекарственное сырье, многие лекарственные и иммунобиологические препараты, а также пищевые продукты хранят при температуре от 0 до $10 \text{ }^\circ\text{C}$ (температура бытового холодильника). При этой температуре резко замедляются метаболическая активность и размножение большинства микроорганизмов (исключение составляют психофильные и психотропные микроорганизмы). Разрушение и гибель части бактериальных клеток вызывают повторное замораживание и оттаивание материалов.

Высокие температуры губительны для микроорганизмов, однако разные виды обладают неодинаковой чувствительностью. Так, менингококки гибнут уже при комнатной температуре, возбудитель сифилиса - при $40 \text{ }^\circ\text{C}$, возбудитель дизентерии - при $60 \text{ }^\circ\text{C}$, бруцеллы - при $100 \text{ }^\circ\text{C}$. Споры бактерий погибают лишь через 2-3 ч кипячения. При температурах выше $60 \text{ }^\circ\text{C}$ в обычных условиях происходит денатурация белка, ведущая к инаktivации ферментов и разрушению бактериальных структур у большинства микроорганизмов.

7.4.2. Высушивание

Высушивание губительно действует на микроорганизмы, однако разные виды обладают различной чувствительностью. Так, холерный вибрион погибает через 48 ч, а возбудитель туберкулеза - через 70 сут. Длительно сохраняются микроорганизмы в высохших пленках из гноя, крови или мокроты (месяцами). Высушивание практически не

действует на споры. В процессе высушивания клетка лишается воды, происходит инактивация ферментных систем, что в конечном итоге ведет к гибели бактерий. Высушивание применяют в медицине: в сухом виде хранят лекарственное сырье, многие лекарства. Широко применяется лиофильная сушка - быстрая заморозка и высушивание из замороженного состояния в вакууме. В этом случае вода переходит из кристаллического состояния в парообразное, минуя жидкую фазу, при этом жизнеспособность микроорганизмов сохраняется. Срок годности живых вакцин и других иммунобиологических препаратов увеличивается до 1 года и более.

7.4.3. Фильтрация

Фильтрация является механическим методом освобождения жидкостей и газов от микроорганизмов. С целью сохранения стерильности жидкостей флаконы и пробирки, а также пипетки, в которые вносят такие жидкости, закрывают ватными пробками. Для предотвращения заражения через воздух, например, в хирургических стационарах используют ватно-марлевые повязки и специальную одежду. Фильтрация применяют для стерилизации воздуха, например, с целью создания условий строгой стерильности при работе в ламинарном боксе или в помещениях, где находятся ослабленные (иммунодефицитные) больные. Для удаления микроорганизмов из жидкостей обычно применяют мембранные фильтры с диаметром пор менее 0,2 мкм, однако многие фильтры не задерживают вирусы, микоплазмы и другие мельчайшие микроорганизмы.

Для стерилизации жидкостей используют фильтры из коллодия, диаметр пор которых меньше размеров вирусов (коллоидные фильтры). Этот метод применяют в биотехнологическом производстве при изготовлении вакцин, иммунных сывороток, растворов антибиотиков, бактериофагов и других материалов, непригодных для тепловых или других методов стерилизации. Фильтрация через бактериальные фильтры (асбестовые, целлюлозные) не является в строгом смысле стерилизующим, поскольку у этих фильтров более крупные поры, через них могут проходить вирусы и фильтрующиеся формы бактерий.

7.4.4. Лучистая энергия

Лучистая энергия (ультрафиолет и ионизирующее излучение) непосредственно действует на нуклеиновые кислоты в клетке, вызывая смертельные (летальные) мутации, или приводит к образованию свободных радикалов, вызывающих инактивацию ферментных систем и разрушение клеточных структур. Солнечный свет, особенно его коротковолновая часть спектра, оказывает выраженное бактерицидное действие.

Ультрафиолетовое облучение используют в медицине для обработки (дезинфекции) воздуха и поверхностей в операционных, родильных домах и отделениях, асептических помещениях аптек, в бактериологических лабораториях. Для этих целей в помещениях устанавливают бактерицидные облучатели с длиной волны 260-300 нм. Волны длиной 260 нм максимально поглощаются ДНК, что приводит к образованию димеров тимина и, соответственно, к летальным мутациям. Вместе с тем ультрафиолет обладает низкой проникающей способностью и оказывает антибактериальное действие только на поверхностях или в прозрачных растворах.

Ионизирующее излучение (чаще γ -лучи изотопов ^{60}Co или ^{137}Cs) используют для стерилизации термочувствительных материалов, например, изделий из пластика. Обладая высокой проникающей способностью, этот вид электромагнитных волн приводит к потере электронов и образованию из атомов ионов, появлению свободных радикалов, которые могут приводить к полимеризации и другим химическим реакциям, сопровождающим разрушение химических структур микроорганизмов, а также появлению токсичных перекисных соединений. Чувствительность микроорганизмов к ионизирующему излучению сильно варьирует (например, облучение микобактерий туберкулеза дозой 0,14 мегарад

приводит к такому же эффекту, как облучение возбудителя полиомиелита дозой 3,8 мегарад).

Воздействие ионизирующим излучением - наиболее перспективный способ стерилизации, поскольку возможна полная автоматизация всех процессов. Стерилизацию проводят в товарной упаковке, что обеспечивает длительность сохранения материала стерильным. Установка представляет бетонную камеру с толстыми стенами для защиты персонала от излучения. После обработки материал контролируют на остаточную радиоактивность. Этим способом стерилизуют хирургический инструментарий, изделия из пластмасс (например, шприцы однократного использования), вакцины, лечебные сыворотки, многие лекарственные средства, термонеустойчивые стоматологические и другие инструменты.

7.4.5. Ультразвук

Ультразвук вызывает гибель микроорганизмов в суспензиях: в бактериальной клетке образуются кавитационные полости с резкими перепадами разрежения и избыточного давления, что приводит к разрушению клетки. Этот метод используют для очистки (деконтаминации) медицинских инструментов, обеззараживания некоторых жидких препаратов, питьевой воды, молока, соков, а также при получении компонентов бактериальной клетки для исследований или в ходе биотехнологического производства. При мягком режиме обработки, в пределах 40-60 кГц, полной стерилизации не происходит - сохраняются споры, некоторые бактерии и большинство вирусов.

7.4.6. Ионизированная плазма

Ионизированная плазма вызывает быстрое (в течение нескольких минут) разрушение и гибель микроорганизмов, включая споры и вирусы, устойчивые к другим физическим воздействиям. Механизм стерилизующего действия ионизированной плазмы обеспечивается стримерным разрядом в аргоне при атмосферном давлении. Данный тип разряда дает наивысшую концентрацию возбужденных атомов и, следовательно, скорость процесса стерилизации. Важным достоинством данного воздействия считают возможность достижения стерилизующего эффекта при относительно невысоких температурах (80-120 °С).

7.5. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ДЕКОНТАМИНАЦИИ

Различные химические вещества, обладающие антибактериальным действием, в зависимости от его спектра и активности могут обозначаться разными терминами. Вещества, убивающие микроорганизмы, называют микробицидами: бактериоциды, фунгициды, вирулициды, спороциды, альгициды (действуют соответственно на бактерии, грибы, вирусы, споры бактерий, водоросли). Если вещества подавляют рост и размножение микроорганизмов, их называют, например, бактериостатиками или фунгиостатиками (микостатиками).

В зависимости от целей применения антибактериальные вещества условно подразделяют:

- на антибиотики (вещества, которые в малых концентрациях вызывают задержку размножения или гибель определенных групп микроорганизмов и опухолевых клеток);
- антисептики (вещества, вызывающие гибель микроорганизмов или предотвращающие их размножение в тканях организма);
- дезинфектанты (вещества, уничтожающие микроорганизмы в/на объектах внешней среды);

- консерванты (вещества, препятствующие размножению микроорганизмов в пищевых продуктах, косметике и других объектах).

Для антибиотиков и других химиотерапевтических препаратов характерны специфичность и избирательность действия на микроорганизмы, т.е. воздействие на уровне определенных мишеней в клетке - мембранных структур, репродуктивного аппарата, ферментов и др.

Антисептики и дезинфектанты, как правило, обладают неспецифическим (общетоксическим) действием на широкий круг микроорганизмов. Эти различия в антибактериальном действии обусловлены химическим строением веществ и отражаются в величине их действующих доз: у химио-терапевтических препаратов тот же эффект наблюдается при концентрациях в 100-1000 раз меньших, чем у других антибактериальных средств.

Химические методы стерилизации (растворами химических средств) являются вспомогательными, так как изделия нельзя простерилизовать в упаковке, а по окончании процесса их надо промыть стерильной жидкостью (например, питьевой водой), что нарушает правила асептики и может привести к вторичному обсеменению изделий (Воробьев А.И. и соавт., 2002). Эти методы применяют для изделий, которые нельзя стерилизовать другими путями (из-за термолабильности, конструкции и т.п.). Используют различные режимы стерилизации, например: 6% раствор перекиси водорода, экспозиция - 6 ч (изделия из полимерных материалов, стекла, коррозионностойких металлов); 4,8% раствор пермура, экспозиция - 15 мин (лигатурный шовный материал).

Обязательные условия - полное погружение изделия в раствор (с заполнением каналов и полостей) и температура раствора не менее 18 °С. После стерилизации все манипуляции проводят, строго соблюдая правила асептики (достаают из раствора стерильным пинцетом или корнцангом, промывают стерильной жидкостью). Если изделия используют не сразу после стерилизации, то их помещают в стерильную коробку со стерильной простыней и хранят не более 3 сут.

Выделяют следующие группы антибактериальных средств, отличающихся по химическому строению и особенностям их действия на микро организмы.

Фенолы денатурируют белки, повреждают клеточные мембраны, и их используют в качестве дезинфектантов, а некоторые их нетоксичные для тканей производные (гексахлорофен и др.) - для антисептики.

Галогены (препараты хлора, йода) являются окислителями или галогенизируют белки (йод соединяется с остатками тирозина). Хлорирование широко применяют для дезинфекции воды и других объектов, а йодсодержащие препараты - в качестве антисептиков.

Спирты (70% водный раствор этанола и др.) растворяют липиды и денатурируют белки. Они обладают бактерицидным и фунгицидным действием, но малоэффективны в отношении спор и некоторых вирусов. Обычно их используют для дезинфекции и антисептики.

Поверхностно-активные вещества - мыла и детергенты, которые обеспечивают механическое удаление микроорганизмов с поверхностей кожи и объектов внешней среды. Катионные детергенты, включая четвертично-аммониевые соединения, обладают антибактериальной активностью - они взаимодействуют с фосфолипидами мембран, нарушая их функции. Применяют для дезинфекции и антисептики.

Соли тяжелых металлов (серебра, меди, ртути, цинка) используют для дезинфекции и антисептики. Так, ионы серебра и меди преципитируют белки, а ионы ртути взаимодействуют с сульфгидрильными (SH-) группами белков, блокируя их.

Красители (бриллиантовый зеленый и др.) взаимодействуют с нуклеиновыми кислотами, нарушая их функции. Их используют в качестве антисептиков.

Окислители (перекись водорода, озон, перманганат калия) повреждают ферментные системы. Их используют для деконтаминации, дезинфекции и антисептики. В некоторых случаях они уничтожают споры бактерий, обеспечивая полный стерилизующий эффект.

Кислоты и щелочи также обладают антибактериальной активностью. Органические кислоты (бензойная, салициловая, молочная, аскорбиновая, пропионовая) широко применяются в качестве консервантов в пищевой и фармацевтической промышленности. Иногда их используют для антисептики.

Альдегиды (глутаровый и др.) обладают выраженным противовирусным действием, их используют для деконтаминации и дезинфекции.

Активность многих антибактериальных средств (дезинфектантов, антисептиков) выражают через феноловый коэффициент.

7.6. АСЕПТИКА И АНТИСЕПТИКА

На практике важно различать между собой и отличать от дезинфекции асептику и антисептику.

7.6.1. Асептика

Асептика - система профилактических мероприятий, направленных на предотвращение попадания микроорганизмов в рану, лекарственные препараты, питательные среды и другие объекты. Она включает:

- стерилизацию инструментов, приборов, материалов;
- специальную (антисептическую) обработку рук перед асептической работой;
- соблюдение определенных правил и приемов работы (стерильный халат, маска, перчатки, исключение разговоров);
- осуществление специальных санитарно-противоэпидемических и гигиенических мероприятий (правильная вентиляция, влажная уборка с применением дезинфицирующих средств, использование бактерицидных облучателей, боксированных помещений).

7.6.2. Антисептика

Антисептика - комплекс мероприятий, направленных на уничтожение микроорганизмов, попавших в рану, лекарственный препарат или другой объект. Различают антисептику:

- механическую (например, при обработке раны - удаление из нее инфицированных и нежизнеспособных тканей);
- физическую (наложение гигроскопических повязок, применение гипертонических растворов, способствующих оттоку раневого отделяемого в повязку, сухого тепла, ультрафиолета, лазера);
- химическую (применяют химические вещества, обладающие бактерицидными или бактериостатическими действиями при минимальном органотропном действии, например мирамистин или хлоргексидин; в лекарственные препараты вносят борную кислоту, мертиолят);
- биологическую (применение антибиотиков, бактериофагов, иммуноглобулинов, средств, стимулирующих защитные силы организма).

7.7. ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ И РЕАГЕНТЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ДЛЯ ДЕЗИНФЕКЦИИ И СТЕРИЛИЗАЦИИ

Выбор метода дезинфекции определяется устойчивостью конкретных микроорганизмов, контаминировавших объект, а также свойствами самого объекта. По устойчивости к действию дезинфицирующих средств в настоящее время выделяют 5 групп возбудителей инфекций: вирусные, бактериальные, туберкулез, кандидозы, дерматомикозы. В зависимости от направления дезинфекции могут быть использованы различные вещества, разные концентрации одного и того же вещества или время экспозиции. Различные методы и режимы дезинфекции применяют для изделий из стекла, металлов, пластмасс, резин, эндоскопов и сложной техники, стоматологических инструментов. Например, если проводят дезинфекцию изделий из коррозионностойкого металла, контаминированных микобактериями туберкулеза, используют 5% раствор хлорамина с экспозицией 240 мин, а если другими бактериями - 1% раствор и время экспозиции сокращают до 30 мин.

Физический метод дезинфекции прост, надежен, экологически чист и безопасен для персонала, поэтому, если позволяют условия, этому методу следует отдавать предпочтение

7.7.1. Физические методы

Следует выделять следующие физические методы дезинфекции и стерилизации:

- механические (вытряхивание, проветривание, влажную уборку, стирку с моющим средством);

- действие высокой температуры (проглаживание утюгом, кипячение, пастеризацию), кипячение в дистиллированной воде (используют для дезинфекции изделий из стекла и металла, термостойких полимеров и резин). Экспозицию не менее 30 мин выдерживают, начиная с момента закипания воды, при полном погружении изделий, а при кипячении в воде с 2% раствором двууглекислого натрия (содой) время экспозиции - не менее 15 мин;

- пастеризацию - однократное кратковременное прогревание при температуре ниже 100 °С с последующим быстрым охлаждением. Прогревание проводят при 65-95 °С в течение 30 мин, что ведет к частичному обеспложиванию объектов. Как и кипячение, пастеризация не является методом стерилизации. После пастеризации сохраняются живыми споры и часть вегетативных форм, поэтому пастеризованный продукт (молоко, соки и т.д.) хранят в холодильнике;

- ультрафиолет (облучение бактерицидными лампами) - используют в медицине для обработки воздуха и поверхностей в операционных, родильных домах и других помещениях лечебно-профилактических учреждений. Расчет необходимого количества бактерицидных облучателей и времени экспозиции ведут исходя из кубатуры помещения и характера бактериальной контаминации.

7.7.2. Химические методы

Существует большой выбор веществ разных химических классов, которые можно использовать в качестве химических дезинфектантов:

- хлорсодержащие препараты (хлорная известь, хлорамин Б, гипохлорит кальция, гипохлорит натрия, получаемый электрохимическим путем);

- окислители (перекись водорода с моющим средством и без него, перманганат калия);

- фенолы (карболовая кислота, лизол);

- йод и йодофоры (йод и поверхностно-активные вещества);

- соли тяжелых металлов (сулема, диоцид, мертиолят);

- поверхностно-активные вещества (сульфанол);

- четвертичные аммониевые соединения (мирамистин, роккал, бензалкония хлорид);

- спирты (70% этанол);
- формальдегид (формалин);
- красители (бриллиантовый зеленый, метиленовый синий);
- кислоты (салициловая, борная и др.);
- альдегиды (глутаровый).

7.7.3. Контроль за эффективностью дезинфекции

Контроль за текущей и заключительной дезинфекцией в очагах кишечных инфекций основан на обнаружении в исследуемом материале кишечной палочки (эти бактерии постоянно находятся в выделениях больных и по устойчивости близки к возбудителям кишечных инфекций). После дезинфекции в исследуемом материале кишечная палочка должна отсутствовать.

Для контроля за работой дезинфекционных камер используют эталонные культуры, например, стафилококка - при обработке вещей из очагов инфекций, вызванных неспорообразующими микроорганизмами, споры антракоидной палочки - при дезинфекции вещей из очагов инфекций, вызванных спорообразующими бактериями.

О качестве дезинфекции изделий медицинского назначения судят по отсутствию после обработки золотистого стафилококка (*S. aureus*), синегнойной палочки (*P. aeruginosa*) и бактерий группы кишечной палочки (БГКП). Для этого методом смывов исследуют 1% (не менее 3-5 единиц) одновременно обработанных изделий одного наименования. По 0,1 мл смывов, взятых марлевыми салфетками (5x5 см), наносят на поверхность желточно-солевого, кровяного агаров и среды Эндо и инкубируют засеянные чашки при 37 °С. Дезинфекцию считают эффективной, если через 48 ч на чашках не вырастают колонии указанных микроорганизмов.

Дезинфекция, предстерилизационная очистка и стерилизация изделий медицинского назначения являются важнейшим комплексом мер, препятствующих возникновению и распространению внутрибольничных инфекций среди больных и персонала.

7.8. ПРЕДСТЕРИЛИЗАЦИОННАЯ ОБРАБОТКА

Предстерилизационную обработку изделий осуществляют ручным или механизированным (с применением ультразвука) методом после их дезинфекции и последующего отмывания остатков дезинфицирующих средств питьевой водой. Если средство одновременно обладает моющим и антибактериальным действием, допускается совмещение в одном процессе дезинфекции и предстерилизационной очистки. Для очистки используют различные химические вещества, кипячение, замачивание, ершевание, тампоны, салфетки, струйный метод. Разъемные изделия очищают в разобранном виде, тщательно очищают каналы и полости изделий. После очистки изделия ополаскивают и высушивают. Режимы очистки и высушивания определяются видом изделия и характером загрязнения.

Качество оценивают путем постановки амидопиридиновой (азопирамовой) пробы на остаточное количество крови и фенолфталеиновой пробы на остатки щелочных компонентов моющих средств. При положительном результате той или иной пробы всю группу изделий подвергают повторной очистке до получения отрицательного результата.

Контроль за качеством очистки проводят центры Государственного санитарно-эпидемиологического надзора и дезинфекционные станции (не реже 1 раза в квартал), а в качестве самоконтроля - централизованные стерилизационные (не реже 1 раза в неделю). При этом проверяют не менее 1% изделий (3 единиц), обработанных за смену.

7.9. СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ СТЕРИЛИЗАЦИИ

Стерилизация - полное обеспложивание объектов, при котором уничтожаются все формы микроорганизмов (вегетативные формы, споры и вирусы).

Для стерилизации применяют физические и химические методы. Выбор метода определяется видом стерилизуемого материала, который после стерилизации должен сохранять свои основные свойства (форму, эластичность, активность и др.).

Физические методы стерилизации включают действие высокой температуры, ионизирующего излучения, фильтрование. Помимо указанных, имеются и другие методы тепловой стерилизации. Например, в стоматологической практике получила распространение стерилизация в среде горячих стеклянных шариков в гласперленовом стерилизаторе при температуре до 250 °С (так стерилизуют зубные боры, рабочие части зондов, гладилок и другие стоматологические инструменты).

Если объект некоторое время должен сохранять состояние стерильности, перед стерилизацией его соответствующим образом обязательно упаковывают, а изделия медицинского назначения, кроме того, подвергают дезинфекции и предстерилизационной очистке (эти меры направлены на профилактику внутрибольничных инфекций у больных и персонала, контактирующих с такими изделиями).

Для упаковки стерилизуемых изделий медицинского назначения применяют специальные виды бумаги, стерилизационные коробки (биксы), двойную мягкую упаковку из бязи и др. Срок хранения стерильного изделия зависит от вида упаковки: в коробках без фильтра и в двойной мягкой упаковке - 3 сут, в пергаменте или коробке с фильтром - 20 сут.

В табл. 7-1 указаны методы тепловой стерилизации.

Таблица 7-1. Методы тепловой стерилизации

Методы	Аппарат	Режим (температура, время, давление)*	Материалы
Однократные:			
Прокаливание	Спиртовка, газовая горелка	До красного каления	Бактериологические петли, мелкие металлические инструменты
Сухой жар	Воздушный стерилизатор	180 °С, 60 мин (160 °С, 150 мин)	Стеклянная посуда, пипетки, вата, тальк, вазелиновое масло, металлические инструменты
Пар под давлением (1 атм = 0,11 МПа = 1,1 кгс/см)**	Паровой стерилизатор (автоклав)	120 °С, 45 мин, давление 1 атм (132 °С, 20 мин, 2 атм)	Простые питательные среды (МПБ, МПА), заразный материал, изделия из стекла и металла, резины и латекса, халаты, белье, перчатки, перевязочный и шовный материалы, зеркала, некоторые лекарственные средства
Дробная стерилизация (тиндализация)***			

Текущий пар	Паровой стерилизатор с открытым выпускным краном	100 °С, 3 сут по 1 ч/сут	Молоко, среды и лекарственные средства с углеводами, некоторые другие медикаменты
Щадящее прогревание	Водяная баня с терморегулятором	56-58 °С, 5 сут: 1 сут -2 ч, остальные дни - по 1 ч	Белковые жидкости (питательные среды, содержащие белок, сыворотка крови, асцитическая жидкость)

* Приведены некоторые из возможных режимов.

** Стерилизующим фактором является не давление, а температура пара.

*** Дробно стерилизуют объекты, которые могут быть питательным субстратом для микроорганизмов (в промежутках между воздействиями объект оставляют в термостате при 37 °С или комнатной температуре для прорастания спор). Образовавшиеся вегетативные формы микроорганизмов убивают при последующем прогревании.

7.9.1. Газовая стерилизация

Газовая стерилизация требует специального оборудования и применяется для обработки оптики, кардиостимуляторов, сложной техники (аппаратов искусственного кровообращения), изделий из полимеров, стекла, металлов, наконечников турбин стоматологических установок. Используют окись этилена или смесь ОБ (оксид этилена с бромистым метилом), озон, а также пары раствора формальдегида в этиловом спирте, которыми наполняют стационарные газовые стерилизаторы или портативные анаэроостаты.

Для поддержания температуры (35 или 55 °С) анаэроостаты помещают в термостат или водяную баню. Для упаковки используют полиэтиленовую пленку (два слоя), пергамент и специальный упаковочный материал. Выбор метода и режима газовой стерилизации зависит от вида стерилизуемого изделия (например, смесью ОБ разные изделия стерилизуют от 4 до 16 ч). Стерилизованные газом изделия применяют после их выдержки (в течение 1-21 сут) в вентилируемом помещении.

Срок сохранения стерильности для изделий в упаковке из полиэтиленовой пленки - 5 лет, пергамента или бумаги - 20 сут.

Контроль за процессом ведут по показаниям приборов.

7.9.2. Плазменная стерилизация

Плазменная стерилизация, являясь принципиально новым методом обработки стоматологического инструментария и слепков, имеет ряд преимуществ:

- высокую эффективность эрадикации микроорганизмов разных групп (от анаэробных бактерий до спорообразующих бацилл, грибов и вирусов гепатитов В, С, D);
- возможность эффективной комбинации с химической обработкой; кратковременность экспозиции от 10 до 15 мин в зависимости от степени загрязнения и наличия предварительной химической обработки;
- малые габариты аппарата, удобные для обработки стоматологических инструментов; компьютерное программирование режима стерилизации.

Для стерилизационной обработки инструментов и стоматологических оттисков (слепков), в частности, применяют стримерный разряд в аргоне при атмосферном давлении. Данный тип разряда обеспечивает наивысшую концентрацию возбужденных атомов, и, следовательно, скорость процесса стерилизации. Оборудование (плазменный

стерилизатор), предложенный для реализации этой цели, не требует вакуумной системы и является экологически безопасным (так как в качестве рабочего газа применяется аргон).

Проблема создания относительно однородного стримерного разряда наиболее просто решается для стерилизационных камер небольшого объема (~ 1 л), поэтому развитие метода в настоящее время происходит в сторону стерилизационных камер относительно небольших объемов, что весьма удобно для нужд стоматологического кабинета или лаборатории. Данные технологии используются в отечественных плазменных терминаторах типа «Плайн» и «Плазмадин».

7.9.3. Контроль за эффективностью стерилизации

Контроль за эффективностью стерилизации осуществляют несколькими методами:

- по показаниям приборов (мановакуумметров, термометров, таймеров). Максимальные термометры, физико-химические и биотесты помещают в определенные точки аппарата;

- с использованием физико-химических тестов (вместе со стерилизуемым материалом в аппарат закладывают ампулы с кристаллами веществ или специальные бумажные термохимические индикаторы: при нужной температуре вещества расплавляются, а индикаторы меняют цвет);

- с помощью биологических тестов [в аппарат помещают флакончики с салфетками или бумажными дисками, пропитанными взвесью термостойких спорообразующих бактерий (*Bacillus stearothermophilus* - для контроля паровых или *Bacillus licheniformis* - для контроля воздушных стерилизаторов), и после стерилизации их инкубируют в мясо-пептонном бульоне - прозрачный бульон, если споры погибли, не должен мутнеть];

- молекулярно-генетическими методами контроля - геноиндикацию можно использовать в случае оценки стерилизации в отношении труднокультивируемых бактерий (анаэробная группа) или вирусов. С этой целью применяют ПЦР или обратную гибридизацию ДНК с праймерами соответствующих видов микроорганизмов.

Показателями эффективной работы стерилизационной аппаратуры являются отсутствие роста тест-культуры в сочетании с удовлетворительными результатами физического и химического контроля либо отсутствие маркерных генов по данным ПЦР и гибридизации ДНК.

Контроль за стерильностью изделий медицинского назначения, простерилизованных в лечебно-профилактическом учреждении, проводят в специально оборудованных боксах с предбоксниками, соблюдая асептические условия, исключая возможность вторичной контаминации изделий бактериями. В боксах используют бактерицидные облучатели, поверхности обрабатывают моющими и дезинфицирующими средствами, воздух подают в бокс через бактериальные фильтры. Перед входом в бокс сотрудники лаборатории тщательно моют руки, надевают в предбокснике стерильную спецодежду (халаты, бахилы, шапочки, перчатки, четырех-слойные маски). В процессе работы в боксе проверяют обсемененность воздуха: на рабочем столе на 15 мин открывают 2 чашки с питательным агаром, которые затем инкубируют 48 ч в термостате при 32 °С (допускается рост не более 3 колоний неспорообразующих сапрофитов).

Пробы для исследования (не менее 1% из числа одновременно простерилизованных изделий в той же упаковке) отбирает лаборант Центральной станции государственного санитарно-эпидемиологического надзора, дезстанции или медицинская сестра под наблюдением сотрудника баклаборатории.

Контроль за стерильностью бактериологическим методом проводят путем прямого посева (погружения) изделий в питательные среды (мелкие разъемные изделия или их

детали, стоматологические инструменты - целиком, от шовного или перевязочного материала - отрезанные фрагменты) или (для крупных изделий) методом смывов.

Материалом обязательно засевают две среды - тиогликолевую (для роста бактерий) и среду Сабуро (для роста грибов). Посевы на тиогликолевой среде выдерживают при 32 °С, на среде Сабуро - при 22 °С в течение 7 сут (для изделий после тепловой стерилизации). При отсутствии роста во всех пробирках (флаконах) делают заключение о стерильности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Микрофлора полости рта - одно из наиболее разнообразных бактериальных сообществ, которое насчитывает более 700 бактериальных видов (более половины из них - некультивируемые). Морфология микроорганизмов полости рта человека очень многообразна. В их составе есть представители всех морфологических групп - кокков, палочек и извитых форм, преимущественно облигатно-анаэробных и микроаэрофильных.

Микроскопическое исследование с применением дифференциально-диагностических и специальных методов окрашивания позволяет провести ориентировочную идентификацию этих бактерий. При первичном исследовании материала от больного и ориентировочной идентификации морфологической и биохимической принципы считают основными. Однако только комплексное использование всех принципов и соответствующих методов дифференцировки бактерий позволяет провести точную идентификацию, т.е. определить их вид.

Таким образом, бактерии полости рта можно идентифицировать культуральными и молекулярными методами, но некультивируемые бактерии - только молекулярными методами. Идентификация бактерий молекулярными методами чаще основана на анализе нуклеотидных последовательностей их рибосомных *16S-генов*. *Такой анализ позволяет также выявлять филогенетические связи, что важно для классификации бактерий.*

Для определения бактерий часто используют следующие молекулярные методы:

- ПЦР со специфическими праймерами;
- количественную ПЦР;
- ДНК-гибридизацию (микрочипы);
- клонирование и секвенирование гена *16S* рибосомной РНК;
- флуоресцентную гибридную *in situ* (FISH) и другие методы микроскопии.

Нормальная микрофлора полости рта - важная составляющая гомеостаза тканей ротовой полости. Эти обычно безвредные бактериальные популяции почти сразу после рождения и на протяжении всей жизни человека колонизируют поверхности полости рта, являясь в большинстве случаев атрибутом ее здорового состояния.

При отсутствии таких стрессовых факторов, как пища с высоким содержанием углеводов или уменьшение слюноотделения (когда существенно закисляется зубная бляшка), явные повреждения колонизированных тканей не отмечаются.

Следовательно, микроорганизмы полости рта необязательно наносят вред хозяину, и заранее нельзя сказать, примут ли они участие в развитии заболевания. Напротив, имеется немало аргументов в поддержку мнения, что нормальная микрофлора тела вносит наибольший вклад в здоровье хозяина. В связи с этим понятно, почему идея стабилизирующей микрофлоры как компонента здоровья все чаще воспринимается как путь к здоровому состоянию полости рта.

Исследователям приходится решать в этом направлении две сложные задачи: как сформировать здоровую микрофлору и как предотвратить микробиологические сдвиги,

наблюдаемые при развитии стоматологических заболеваний. Решение этих задач и разработка новых подходов к лечению и профилактике стоматологических заболеваний, несомненно, принесут огромную пользу.

В результате применения новых эффективных методов изучения бактериальных экосистем за последние годы расширились наши представления о формировании зубной бляшки. Коренные изменения связаны с разработкой лазерной сканирующей конфокальной микроскопии и других прогрессивных методов микроскопии, а также молекулярных методов идентификации и количественной оценки некультивируемых бактерий. Конфокальная микроскопия предполагает компьютерный анализ лазерных изображений с представлением трехмерного изображения бактериальных систем в динамике.

Морфологические, биохимические и молекулярные исследования показывают, что зубная бляшка - это биопленка, т.е. накапливающееся на поверхности и заключенное в полимер бактериальное сообщество. Бактериальные биопленки имеют сложную структуру и динамику развития (созревания). Есть мнение, что большинство бактерий обитают в природе не как одноклеточные существа, а именно в виде биопленок.

Между отдельными группами бактерий в биопленке организовано распределение метаболической активности. Многие бактерии выделяют небольшие растворимые молекулы - сигналы для экспрессии соседними клетками ряда генов, координирующих метаболизм.

Межвидовые коммуникации у бактерий, по-видимому, являются базовым механизмом распределения и синхронизации специализированных функций между видами микроорганизмов в консорциумах. Видовое и индивидуальное разнообразие способствует повышению выживаемости таких сообществ. Более того, продуктивные взаимодействия на основе кворум-сенсинга, несомненно, определяют развитие многовидовых бактериальных организаций, таких как биопленки, а также установление специфических симбиотических ассоциаций с хозяевами-эукариотами.

Известно, что в биопленках микроорганизмы более устойчивы к антибиотикам и защитным факторам организма хозяина, что обуславливает низкую эффективность лечения. Устойчивость к антибиотикам может объясняться замедленным ростом бактерий и/или индукцией генетически детерминированного стрессового ответа. Бактериальные экзополисахариды или другие структурные компоненты биопленки также могут защищать (изолировать) живущих в ней микроорганизмов от дезинфицирующих воздействий, антисептиков и антибиотиков.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Укажите один или несколько правильных ответов.

1. Количественное соотношение резидентов в экологической нише определяется:
 - а) наличием у резидентов факторов инвазивности;
 - б) наличием у резидентов факторов инфективности;
 - в) состоянием защитных сил организма;
 - г) токсигенностью резидентов.
2. Под термином «токсигенность» понимают способность бактерий:
 - а) интродуцировать вещества, специфически нарушающие процессы метаболизма в организме;
 - б) к инвазивным процессам;
 - в) специфически индуцировать синтез антитоксических антител;

- г) проявлять свою вирулентность при попадании в чувствительный организм.
3. После прорезывания зубов в полости рта появляется значительное количество:
- а) нейссерий и гемофиллов;
 - б) бацилл и клостридий;
 - в) лактобактерий и коринебактерий;
 - г) бактериоидов и извитых форм.
4. Для десневого желобка и лакун слизистой оболочки характерны следующие представители нормальной микрофлоры:
- а) микроаэрофильные стрептококки, нейссерии, стафилококки;
 - б) бактериоиды, превотеллы, актиномицеты, фузобактерии;
 - в) ротии, гемофиллы, ацинетобактерии и грибы;
 - г) кишечная палочка, синегнойная палочка, бордетеллы.
5. К аэробным бактериям относятся:
- а) имеющие ферменты гиалуронидазу и пероксидазу;
 - б) не имеющие ферментов супероксиддисмутазу и оксидоредуктазу;
 - в) имеющие ферменты супероксиддисмутазу и оксидоредуктазу;
 - г) не имеющие ферментов гиалуронидазу и пероксидазу.
6. Представителями облигатно-анаэробных бактерий полости рта являются:
- а) стрептококки группы *sanguis*, коринебактерии и ротии;
 - б) стрептококки группы *mutans*, энтерококки и актиномицеты;
 - в) превотеллы, порфиромонады, спирохеты и фузобактерии;
 - г) стафилококк, синегнойная и кишечная палочки.
7. Фактором токсичности у *S. sanguis* является наличие:
- а) пилей и фимбрий;
 - б) адгезинов и факторов коагрегации с другими бактериями;
 - в) капсулы;
 - г) α - или β -гемолизинов.
8. Актиномицеты представляют собой:
- а) грамположительные палочки, расположенные цепочками;
 - б) грамотрицательные нитевидные и ветвящиеся палочки;
 - в) грамотрицательные извитые формы;
 - г) грамположительные кокки, расположенные цепочками.
9. Качественный состав ассоциации резидентов в различных участках организма определяется:
- а) наличием ферментов агрессии;
 - б) продукцией экзотоксинов;
 - в) особенностями условий обитания в данной нише;
 - г) наличием эндотоксинов.

10. Для ассоциаций слизистой оболочки в области спинки языка характерно доминирование:

- а) лептотрихий и грибов рода *Candida*;
- б) стрептококков, в частности, *Str. salivarius*;
- в) нитевидных форм, в частности, ротий *R. dentocariosa*;
- г) бактериоидов и фузобактерий.

11. Заболевания, которые непосредственно вызываются резидентными микроорганизмами, называются:

- а) токсикозами;
- б) инфекционными;
- в) микст-инфекциями;
- г) оппортунистическими.

12. Основные особенности симбиоза микроорганизмов и человека - это:

- а) взаимосвязанность метаболизма двух разнородных систем;
- б) жизнедеятельность одной живой системы в другой;
- в) многоступенчатость разных компонентов симбиоза;
- г) многосистемность ассоциаций, составляющих симбиоз.

13. Под термином «инфективность» понимают способность микроорганизмов:

- а) определенного вида вызывать заболевание;
- б) заселять экологическую нишу в каком-либо макроорганизме;
- в) определенного вида действовать токсически на организм человека;
- г) к синтезу ферментов агрессии в какой-либо нише.

14. Под термином «вирулентность» понимают:

- а) степень болезнетворности бактерий, обусловленную совокупным наличием у них факторов инвазивности и токсичности;
- б) только количественную характеристику инвазивности бактерий;
- в) способность бактерий заселять определенную экологическую нишу в организме человека;
- г) степень токсичности патогена, выраженную в единицах минимальной токсической дозы.

15. Примерная структура микробиоценоза полости рта:

- а) стафилококки - 1/2, стрептококки - 1/4, дифтероиды - 1/4;
- б) стрептококки - 1/2, вейллонеллы - 1/4, дифтероиды - 1/4;
- в) бактериоиды - 1/3, вейллонеллы - 1/3, стрептококки - 1/3;
- г) стафилококки - 1/4, кишечная палочка - 1/8, дифтероиды - 1/4, стрептококки - 1/4, вейллонеллы - 1/8.

16. В составе микрофлоры детей доминируют:

- а) бактериоиды, фузобактерии и актиномицеты;
- б) лактобактерии, нейссерии и коринебактерии;
- в) бифидобактерии, спирохеты и стафилококки;

г) бациллы, клостридии и спириллы.

17. Под термином «инвазивность» понимают:

а) выход бактерий из-под контроля организма, распространение их за пределы ниши или нарушение соотношения микроорганизмов в нише;

б) выделение бактериями токсинов;

в) нарушение процессов метаболизма в тканях организма;

г) процесс разрушения тканевых элементов ферментами агрессии.

18. Облигатно-анаэробными называются следующие бактерии:

а) не имеющие ферментов гидролазы и пероксидазы;

б) не имеющие ферментов супероксиддисмутазы и каталазы;

в) имеющие ферменты супероксиддисмутазу, каталазу, пероксидазу;

г) имеющие ферменты гиалуронидазу и лецитиназу.

19. Представителями аэробных бактерий полости рта являются:

а) нейссерии, ротии и псевдомонады;

б) вейллонеллы и стрептококки;

в) стафилококки и коринебактерии;

г) бактероиды и актиномицеты.

20. В отношении вируса гепатита В наиболее эффективна стерилизация инструментов:

а) фильтрованием;

б) в сухожаре 60 мин при 120 °С;

в) ультразвуком;

г) автоклавированием.

21. Для стерилизации перевязочных материалов применяют:

а) глас-перленовый стерилизатор;

б) сухожаровой шкаф;

в) водно-паровой стерилизатор;

г) автоклав.

22. В пептидогликане бактериальной клетки наиболее уязвимы следующие виды химических связей:

а) пептидные;

б) гликозидные;

в) связи между аминокислотами в тетрапептиде.

23. Для разрушения прионов необходимо:

а) нарушить структуру белка приона;

б) разрушить структуру нуклеиновой кислоты;

в) разрушить все молекулы, образующие прион.

24. Взаимодействуют с нуклеиновой кислотой, нарушая ее функцию:

а) фенолы;

- б) галогены;
- в) спирты;
- г) красители;
- д) соли тяжелых металлов.

25. Комплекс мероприятий, направленных на уничтожение на/в объектах конкретных микроорганизмов, называется:

- а) асептикой;
- б) антисептикой;
- в) дезинфекцией;
- г) стерилизацией;
- д) тиндализацией.

26. Для дезинфекции изделий из металлов, контаминированных бактериями туберкулеза, используют:

- а) 5% раствор хлорамина, время экспозиции - 240 мин;
- б) 3% раствор хлорамина, время экспозиции - 60 мин;
- в) 1% раствор хлорамина, время экспозиции - 30 мин.

27. Расположите в правильной последовательности:

- а) дезинфекция;
- б) стерилизация;
- в) предстерилизационная очистка.

28. Если средство обладает моющим и антибактериальными свойствами, то:

- а) допускается совмещение дезинфекции и предстерилизационной очистки;
- б) дезинфекцию и предстерилизационную очистку следует проводить отдельно.

29. Азопириновой пробой оценивают качество:

- а) адезинфекции;
- б) предстерилизационной очистки;
- в) стерилизации;
- г) тиндализации.

Ответы к тестовым заданиям

1 - б; 2 - а; 3 - г; 4 - б; 5 - а; 6 - в; 7 - г; 8 - а; 9 - в; 10 - б; 11 - г; 12 - а; 13 - б; 14 - а; 15 - б; 16 - б; 17 - а; 18 - б; 19 - а; 20 - г; 21 - б; 22 - а; 23 - в; 24 - д; 25 - в; 26 - а; 27 - а-в-б; 28 - а; 29 - б.

ЧАСТЬ 2. ИММУНОЛОГИЯ И ИММУННЫЕ ЯВЛЕНИЯ В ПОЛОСТИ РТА.

ГЛАВА 8. ОСНОВЫ ИНФЕКЦИОННОЙ ИММУНОЛОГИИ

Понятие «иммунитет» происходит от латинского слова *immunitas*, что означает освобождение от чего-либо; другое значение этого слова, которое обычно подразумевают в медицине, - защита.

Однако известно, что иммунные механизмы могут вызывать повреждение самого организма хозяина, например, при аутоиммунных реакциях или атопии; трансплантационный иммунитет может привести к отторжению трансплантата и, как следствие, к гибели человека; при резус-конфликтных браках у матери могут образовываться антитела против плода, что может быть причиной возникновения различных патологий у новорожденных или даже приводить к гибели плода.

Иммунитет - невосприимчивость организма к инфекционным и неинфекционным агентам и веществам, обладающим антигенными свойствами, позволяющая ему поддерживать постоянство макромолекулярного состава и защиту от опухолей. За реализацию иммунитета ответственна специализированная система органов и тканей - иммунная.

Основная биологическая задача иммунитета по Ф.М. Бернету - отличить «свое» от «чужого». Это справедливо даже в отношении «измененного своего», т.е. иммунная система обнаруживает и уничтожает как возбудителей инфекционных заболеваний, так и измененные собственные клетки (например, опухолевые).

Рассмотрение явлений и процессов, происходящих при формировании иммунитета в организме человека, позволяют дать содержательное определение иммунитета как состояния организма, характеризуемого наличием:

- примированных лимфоцитов;
- специфических антител;
- иммунной памяти.

Иммунология - наука, изучающая сложный комплекс явлений и процессов, направленных на поддержание генетически детерминированной структурной и функциональной целостности организма, постоянство химического и клеточного состава внутренней среды - гомеостаза.

Для удобства рассмотрения защитных механизмов, действующих в организме человека в целом и в полости рта в частности, можно выделить 3 основные линии защиты.

• Неспецифическую резистентность - примитивную, но эффективную систему. Она действует неспецифически и не нуждается в предшествующем контакте с возбудителем. Основным компонент этой защиты - целостность эпителиальных покровов, обеспечивающих изоляцию внутренней среды от действия патогенов. К этому типу резистентности относятся также противомикробные пептиды, ферменты, например, лизоцим и другие факторы.

• Врожденный иммунитет - тоже не нуждается в предшествующем контакте с возбудителем. Механизмы врожденной иммунной системы запускаются, если патогену удастся преодолеть первую линию защиты (например, при повреждении кожного покрова). Основным эффекторным механизмом врожденного иммунитета - развитие воспаления. Основные клетки воспаления: фагоциты (нейтрофилы, макрофаги) и клетки, выделяющие медиаторы воспаления (тучные клетки, базофилы, эозинофилы, дендритные клетки и др.), которые тоже являются факторами неспецифической резистентности организма. К компонентам врожденного иммунитета относят также систему комплемента. Реакции

врожденного иммунитета запускаются сразу же после контакта с патогеном и способны в кратчайшие сроки обеспечить защиту организма (табл. 8-1).

• Адаптивный (приобретенный) иммунитет - характеризуется высокой специфичностью. Отличительная черта адаптивного иммунитета - вовлечение иммунокомпетентных лимфоидных клеток. При этом реализуются реакции клеточной (цитотоксические Т-лимфоциты) и гуморальной (образование антител, в том числе секреторных) иммунной защиты. В большинстве случаев в результате адаптивного иммунного ответа формируются клетки памяти (см. табл. 8-1).

Таблица 8-1. Основные характеристики врожденного и приобретенного иммунитета

Характеристика	Врожденный иммунитет	Приобретенный иммунитет
Условия формирования	Формируется в онтогенезе независимо от внешнего стимула	Формируется в ответ на внешний стимул (поступление чужеродных агентов)
Объект распознавания	Группы чужеродных молекул, связанных с патогенностью	Индивидуальные молекулы (антигены)

Оконгание табл. 8-1

Характеристика	Врожденный иммунитет	Приобретенный иммунитет
Эффекторные клетки	Моноциты/макрофаги, дендритные клетки, гранулоциты, НК-клетки, НКТ-лимфоциты, тучные клетки	Т- и В-лимфоциты, их многочисленные субпопуляции (Т-хелперы, Т-регуляторы, Т-киллеры и др.)
Гуморальные факторы	Комплемент, катионные противомикробные пептиды, провоспалительные цитокины, интерфероны типа I, белки острой фазы, белки теплового шока, лектины и др.	Антитела различных изотипов и подтипов: IgM, IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgA (IgA1, IgA2), IgE, IgD; цитокины (IL-2, IL-4, IFN- γ и др.)
Тип реагирования популяции клеток	Популяция клеток реагирует как целое (не клонально)	Реакция на антиген клональная
Распознаваемые молекулы	Структуры, общие для многих типов микроорганизмов: патоген-ассоциированные паттерны (РАМР), стрессорные молекулы	Антигены (эпитопы)
Распознающие рецепторы	Патогенраспознающие рецепторы (PRR)	Антигенраспознающие рецепторы
Угроза аутоагрессии	Минимальная	Реальная
Наличие памяти	Отсутствует	Формируется иммунологическая память
Основные функции	Распознавание патогенов, прямое противомикробное действие,	Двойное распознавание антигена в комплексе с молекулами МНС (для

	поддержание микробиоценоза, развитие воспаления, индукция приобретенного иммунитета и др.	Т-лимфоцитов), развитие иммунного ответа клеточного и гуморального типов, иммунная память и др.
--	---	---

8.1. РОЛЬ ВОСПАЛЕНИЯ В РАЗВИТИИ ИММУННОГО ОТВЕТА

Важнейший компонент защиты организма от патогенов - воспаление. В воспалительной реакции участвует множество различных распознающих молекул и рецепторов, действующих как в свободной форме, так и на поверхности клеток. Эти рецепторы могут различать молекулярные структуры микроорганизмов-возбудителей и собственных клеток (см. ниже). В процессе развития воспаления реализуются все варианты защиты, и можно наблюдать их взаимодействие.

Особенности развития воспаления и последующая способность тканей к регенерации зависят от трех основных факторов:

- типа ткани;
- вида инфекции (возбудителя);
- иммунного статуса индивида.

Однако существуют принципиальные различия в поведении лейкоцитов при развитии острого и хронического воспалительных процессов.

- При остром воспалении повышается проницаемость капилляров и венул, вследствие чего усиливается экссудация высокомолекулярных белков плазмы и повышается миграция лейкоцитов в ткани. В очаге воспаления доминируют нейтрофилы и Т-хелперы. Совокупность защитных реакций и иммунный ответ приводят к полному устранению (элиминации) патогена с последующим устранением поражения, удалением лейкоцитов из тканей и полным восстановлением функции тканей.

- При хроническом воспалении не происходит полной элиминации патогена, однако макроорганизм стремится предупредить распространение инфекции и уменьшить поражение. В очаге хронического воспаления постепенно накапливаются макрофаги, цитотоксические Т-лимфоциты и в некоторых случаях даже В-лимфоциты. Длительный антигенный стимул и цитотоксические эффекты определяют длительное течение воспалительного процесса и дефекты регенерации тканей.

8.2. ФАГОЦИТОЗ

Фагоцитоз - разновидность эндоцитоза, процесс активного захватывания и поглощения микроорганизмов, разрушенных клеток и инородных частиц.

Фагоцитирующие клетки: дендритные, макрофаги, нейтрофилы и другие - выполняют защитную функцию. С одной стороны, они являются клетками неспецифической защиты, фагоцитируя и разрушая чужеродные агенты, а с другой стороны, эти клетки создают «платформу» для развития реакций адаптивного иммунного ответа, выступая в роли антигенпрезентирующих клеток (АПК).

Таким образом, основными функциями фагоцитирующих клеток следует считать:

- фагоцитоз;
- презентацию антигенов;
- выделение медиаторов иммунной системы.

8.2.1. Стадии фагоцитоза

Различают следующие стадии фагоцитоза:

- активация и хемотаксис - приближение фагоцита и последующее взаимодействие клетки и бактерии на рецепторном уровне;
- адгезия - адгезия микроорганизмов на поверхности фагоцитов, обусловленная рецепторами врожденного иммунитета;
- поглощение объекта и образование фагосомы;
- слияние фагосомы и лизосомы - образование фаголизосомы и разрушение бактерии ферментами лизосом;
- переваривание фагоцитированных частиц и удаление остатков. Миграция лейкоцитов в очаг воспаления зависит от молекулярных факторов: хемокинов и поверхностных молекул адгезии. Первоначальное взаимодействие можно представить в виде трехфазной модели (рис. 8-1):
- движение лейкоцитов в венуле замедляется, клетки как бы скользят по стенке (роллинг) и постепенно останавливаются за счет взаимодействия адгезивных молекул эндотелия - селектинов с углеводными лигандами гликопротеинов, например, CD15 на нейтрофилах (фаза краевого стояния лейкоцитов);
- затем клетка получает хемокиновый сигнал (например, CXCL8), что приводит к повышению сродства лейкоцитарных интегринов (например, LFA-1, CR3) к молекулам, экспрессированным на поверхности эндотелия (фаза активации);
- такие «активированные» интегрины прочно связываются с молекулами адгезии эндотелия (например, ICAM-1 и ICAM-2) (фаза собственно адгезии).

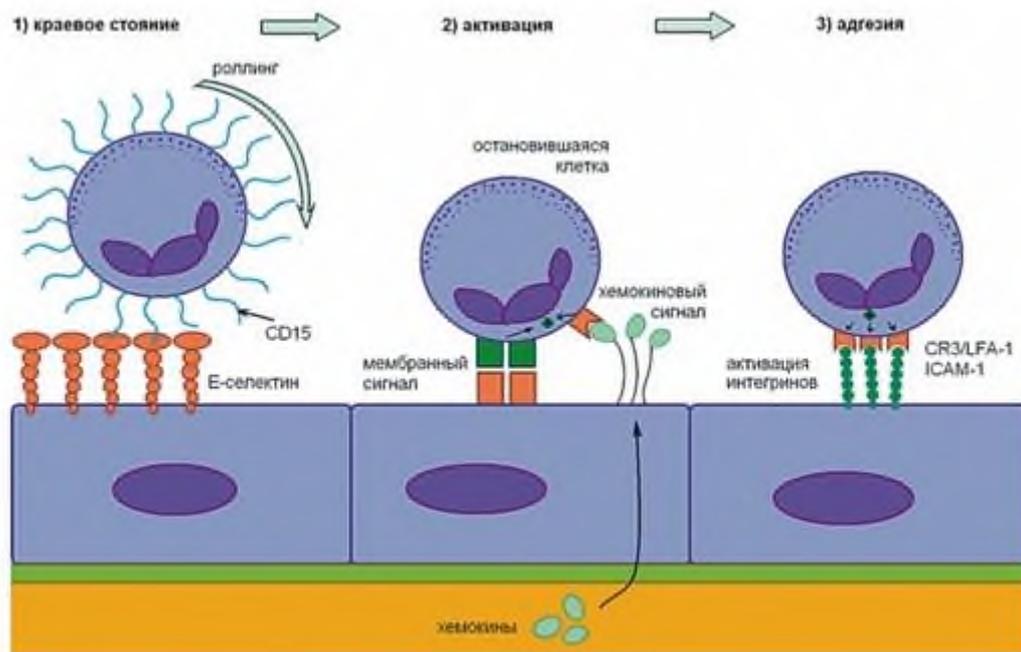


Рис. 8-1. Трехфазная модель адгезии лейкоцитов

Селектины - трансмембранные молекулы, имеющие внеклеточный дистальный лектиноподобный домен, распознающий специфичные углеводородные группы (например, sLe^x на поверхностных гликопротеинах лейкоцитов). На эндотелии и тромбоцитах обнаружены селектины E и P.

Хемокины - группа низкомолекулярных цитокинов (около 40 видов), участвующих в миграции, активации и хемотаксисе клеток. Они образуются в самом эндотелии или в

тканях и способствуют выходу клеток из кровеносного сосуда и определяют пути их последующей миграции в ткани. Хемокины подразделяют на основании расположения консервативных остатков цистеина на две группы - СС (остатки цистеина расположены рядом) и СХС (остатки цистеина разделены другой аминокислотой). Большинство хемокинов взаимодействуют более чем с одним рецептором, с другой стороны, рецепторы могут распознавать несколько хемокинов.

Интегрины - молекулы, образованные парой нековалентно связанных полипептидных цепей (α и β), пронизывающих клеточную мембрану. Способность связываться со своими лигандами определяется наличием двухвалентных катионов, например, Mg^{2+} у интегрин LFA-1, связывающегося с важнейшими молекулами адгезии - ICAM-1 и ICAM-2, экспрессированными на эндотелии. Эти молекулы входят в суперсемейство иммуноглобулинов.

8.2.2. Причины гибели микроорганизмов в фагоцитах

Различают следующие факторы уничтожения микроорганизмов в фагоцитах:

- действие активных форм и соединений кислорода и азота (в том числе радикалов, перекисей и др.);
- снижение рН до 4,0-4,5;
- действие антибактериальных белков (например, лактоферрина);
- действие ферментов лизосом.

По эффективности процесса выделяют:

- завершённый фагоцитоз - гибель микроорганизмов внутри фагоцитов;
- незавершённый фагоцитоз - микроорганизмы остаются внутри клетки и иногда даже способны размножиться (например, незавершённый фагоцитоз гонококков, менингококков, возбудителя туберкулеза, ряда простейших - лейшманий, токсоплазм).

Причины незавершённого фагоцитоза:

- недостаточная функциональная активность фагоцитов;
- антифагоцитарные механизмы защиты микроорганизмов (факторы протекции).

8.2.3. Основные рецепторы и маркеры фагоцитирующих клеток

Фагоцитирующие клетки имеют специфические рецепторы, позволяющие им воспринимать молекулярные сигналы и взаимодействовать с другими клетками. В настоящее время достаточно хорошо изучены следующие рецепторы (рис. 8-2):

- рецепторы для Fc-фрагментов антител (например, для IgG - высокоаффинный Fc- γ -RI и менее аффинные Fc- γ -RII и Fc- γ -RIII);
- рецепторы для компонентов комплемента (CR1, CR2, CR3, CR4; два последних способны также распознавать некоторые компоненты бактерий);
- адгезивные белки;
- функциональный антиген лимфоцитов (LFA-1);

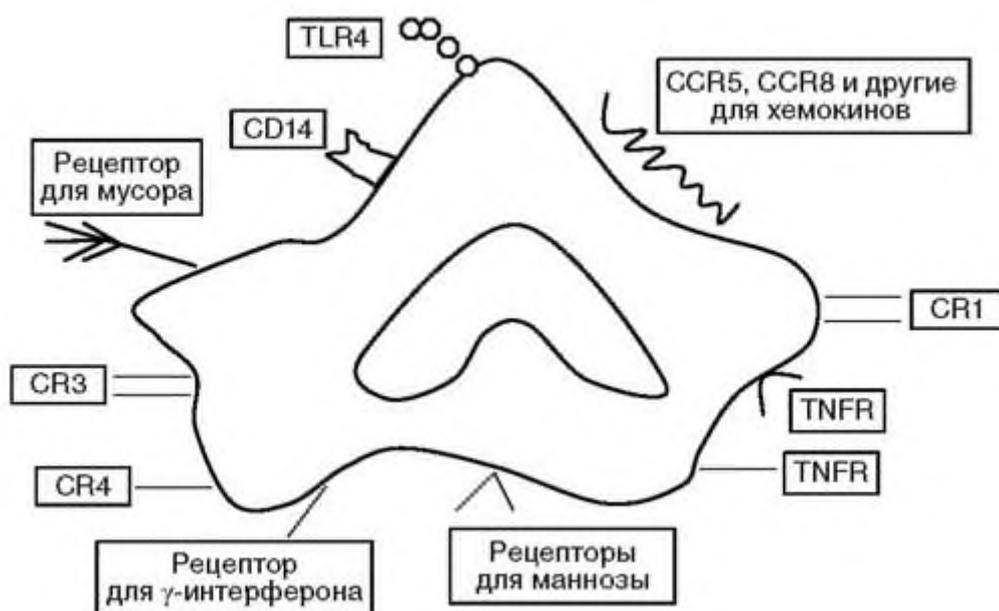


Рис. 8-2. Рецепторный аппарат макрофагов

- CD14 для комплекса ЛПС грамотрицательных бактерий и ЛПС-связывающего белка;
- «scavenger-рецепторы (рецепторы-«мусорщики»), связывающие мембранные компоненты стареющих и поврежденных клеток;
- лектины (например, маннозосвязывающий лектин);
- рецепторы для цитокинов, гормонов и медиаторов;
- паттернраспознающие рецепторы - PRR (roll-подобные рецепторы - TLR, NOD-подобные рецепторы - NLR и др.).

8.3. ФАКТОРЫ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА

8.3.1. Универсальные рецепторы

Воспаление как целостный процесс в настоящее время активно изучается. В поле зрения исследователей находятся как минимум два типа рецепторов, информирующих организм о проникновении возбудителя.

Первый тип - растворимые рецепторы для патогенов: C1q-компонент комплемента, ЛПС-связывающий протеин (*LPS-Binding Protein* - LBP), маннозосвязывающий лектин (*Mannose-Binding Lectin* - MBL), С-реактивный белок (СРБ). Эти факторы распознают и связываются с бактериальными продуктами. Для этих молекул есть специальные рецепторы на мембранах клеток иммунной системы, благодаря чему они получают информацию о распознавании патогена.

Второй тип рецепторов для возбудителей - молекулы, встроенные в мембраны клеток иммунной системы (цитоплазматическую или внутренние). Примеры таких рецепторов перечислены выше (см. 8.1.3). В частности, к ним относятся TLR.

Термины «*Toll*» и «Гой-подобные рецепторы» появились в словаре иммунологов с 1998 г. Пионерские же исследования этих рецепторов были выполнены на плодовых мухах дрозофилах в 1985-1988 гг. и поначалу не имели отношения к иммунитету. *Toll* назвали некие вновь открытые молекулы клеточной мембраны мух *Drosophila melanogaster*, необходимые для правильного дорсовентрального морфогенеза в процессе эмбрионального развития.

В дальнейшем, почти через 10 лет, было установлено, что те же рецепторы у взрослых мух отвечают за защиту организма от грибов и бактерий, так как сигнал от них обеспечивает биосинтез антигрибковых и антибактериальных пептидов (дрозомицина). В эти же годы (1991-1995) в независимых работах обнаружили, что в цитоплазматическом участке рецептора для IL-1 у млекопитающих существует явная гомология с цитоплазматическими последовательностями *Toll*-рецепторов плодовых мух.

Постепенно исследователи пришли к выводу, что эти структуры являются универсальными молекулами входных ворот инфекционного воспаления (*toll* в переводе с английского - «звон колокольчика у входных дверей»), обеспечивающими защиту от бактериальных инфекций у столь филогенетически далеких организмов, как плодовые мушки и млекопитающие. Гомологичные сигнальные последовательности в цитоплазматических участках интересующих рецепторов получили отдельное наименование - TIR (*Toll/Interleukin-1 Receptor*).

В настоящее время TLR понимают как древний сигнальный путь защитного назначения, имеющийся у всех многоклеточных организмов, включая растения, беспозвоночных и позвоночных животных. У человека обнаружено более 10 различных TLR (табл. 8-2).

Таблица 8-2. Toll-подобные рецепторы и объекты их распознавания

Рецептор	Лиганд (образ патогенности)	Патогенный микроорганизм
TLR1	Липопептиды	Грамотрицательные бактерии Микобактерии
TLR2	Липотейхоевая кислота	Грамположительные бактерии
	Липоарабиноманнан	Микобактерии
	Зимозан	Грибы
TLR3	Двунитевая РНК	РНК-содержащие вирусы
TLR4	Липополисахарид	Грамотрицательные бактерии
TLR5	Флагеллин	Жгутиковые бактерии
TLR6	Диациллипопептиды	Микобактерии
TLR7, TLR8, TLR9	Дезоксиолигонуклеотиды	Бактерии
	ДНК	ДНК-содержащие вирусы

Таким образом, TLR распознают характерные молекулы, свойственные основным группам патогенов. Некоторые из TLR сами взаимодействуют с продуктами патогенов (рецепторы для маннозы макрофагов, TLR2, TLR9 и другие TLR дендритных клеток). Другие TLR работают в мембране кооперативно с другими рецепторами и обеспечивают только проведение сигналов о патогенах в клетку. Например, рецептор CD14 макрофагов связывает комплексы бактериального ЛПС с ЛПС-связывающим белком сыворотки, а TLR4 вступает в кооперативное взаимодействие с провзаимодействовавшим CD14 и обеспечивает проведение сигнала о ЛПС внутрь клетки (рис. 8-3).

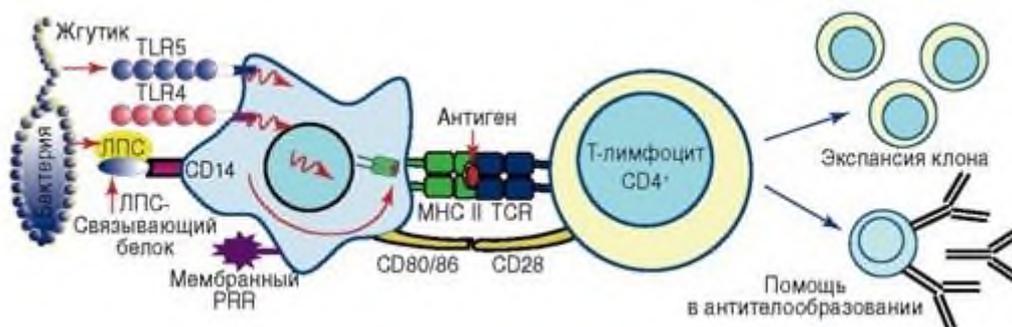


Рис. 8-3. Начальный этап взаимодействия макрофага с бактериальным агентом и «включение» специфического распознавания на уровне Т-клетки

По-видимому, именно TLR, непосредственно связывающиеся с молекулярными «образами патогенности» (паттернами) микроорганизмов, являются носителями эволюционной памяти многоклеточных о различии «своего» и «чужого» на доиммунном уровне. Чарльз Джанвей ввел понятие PRR (*Pattern Recognition Receptors*) - рецепторы, распознающие «паттерны» («образы») на поверхности патогена. На поверхности всех микроорганизмов присутствуют повторяющиеся молекулярные углеводные и липидные структуры. В преобладающем большинстве случаев таких структур нет на клетках организма хозяина. Следовательно, по ним и можно распознать бактериальные клетки.

На макрофагах выявлено минимум 6 вариантов так называемых рецепторов-«мусорщиков» («scavenger»-рецепторов). Они распознают некоторые анионные полимеры, ацелированные липопротеины низкой плотности, участки мембран клеток своего организма, утратившие экран из сиаловых кислот (по такому механизму макрофаги фагоцитируют старые эритроциты).

8.3.2. Комплемент

Комплемент - система сывороточных белков крови (>20 компонентов), находящихся в неактивном состоянии, но при попадании в организм чужеродного антигена способны каскадно активироваться. При активации компоненты комплемента расщепляются на 2 субъединицы, условно названные «а» (малая) и «б» (большая - исключение составляет C2, для которого C2a названа большая субъединица). Активация комплемента запускается по 3 путям: классическому, альтернативному и лектиновому.

Система комплемента выполняет следующие функции:

- лизис клеток (эритроцитов - гемолиз; бактерий - бактериолиз; опухолевых клеток или клеток, поврежденных, инфицированных внутриклеточными формами бактерий, микоплазмами, хламидиями, вирусами или простейшими - цитолиз);
- усиление или подготовку фагоцитоза (участие в процессе опсонизации);
- усиление хемотаксиса;
- участие в нейтрализации вирусов;
- участие в иммуноадгезии;
- участие в аллергических реакциях немедленного типа благодаря активации тучных клеток и базофилов компонентами C3a и C5a (анафилатоксины).

Выделяют несколько путей активации комплемента (рис. 8-4).

- Классический путь начинается с присоединения C1qrs к комплексу «антиген-антитело» и формирования C3-конвертазы классического пути - C4b2a. Затем C4b2a расщепляет C3 и присоединяет фрагмент C3b с образованием C5-конвертазы классического пути - C4b2a3b. C5-конвертаза расщепляет C5, и большой фрагмент C5b инициирует сбор

мембраноатакующего комплекса (C5b6789₁₀₋₁₆) в мембране клетки-мишени, что приводит к ее лизису.

- Альтернативный путь запускается без участия антител. Он начинается со спонтанного гидролиза C3 с образованием активной формы C3(H₂O), связывающей фактор В. Затем протеаза, называемая фактором D, расщепляет фактор В с образованием растворимой C3-конвертазы - C3(H₂O)Bb. Этот комплекс расщепляет C3, и образуемые C3b прикрепляются к поверхности патогена (в растворе C3b очень быстро инактивируются) и присоединяют фактор В. Затем при участии фактора D образуется связанная с поверхностью патогена C3-конвертаза альтернативного пути - C3bBb. C5-конвертаза альтернативного пути образуется при присоединении еще одного фрагмента C3b - (C3b)₂Bb. Дальнейшие этапы каскада развиваются так же, как и по классическому пути.

- Лектиновый путь активации комплемента отличается от классического самыми первыми компонентами каскада - C1q-компонент в лектиновом пути заменен маннозсвязывающим лектином (MBL), C1r и C1s - сходными сериновыми протеазами MASP-1 и MASP-2. Образующийся комплекс MBL с MASP-1 и MASP-2 индуцирует образование C3-конвертазы классического пути - C4b2a.

Дальнейшие этапы каскада развиваются так же, как и по классическому пути.

Иммунную защиту и патологические эффекты опосредуют фрагменты и комплексы компонентов комплемента, образующиеся в процессе активации:

- небольшие хемотаксические и провоспалительные фрагменты C3a и C5a;
- крупные опсонизирующие фрагменты C3b и C4b;
- литический мембраноатакующий комплекс C5b-9.

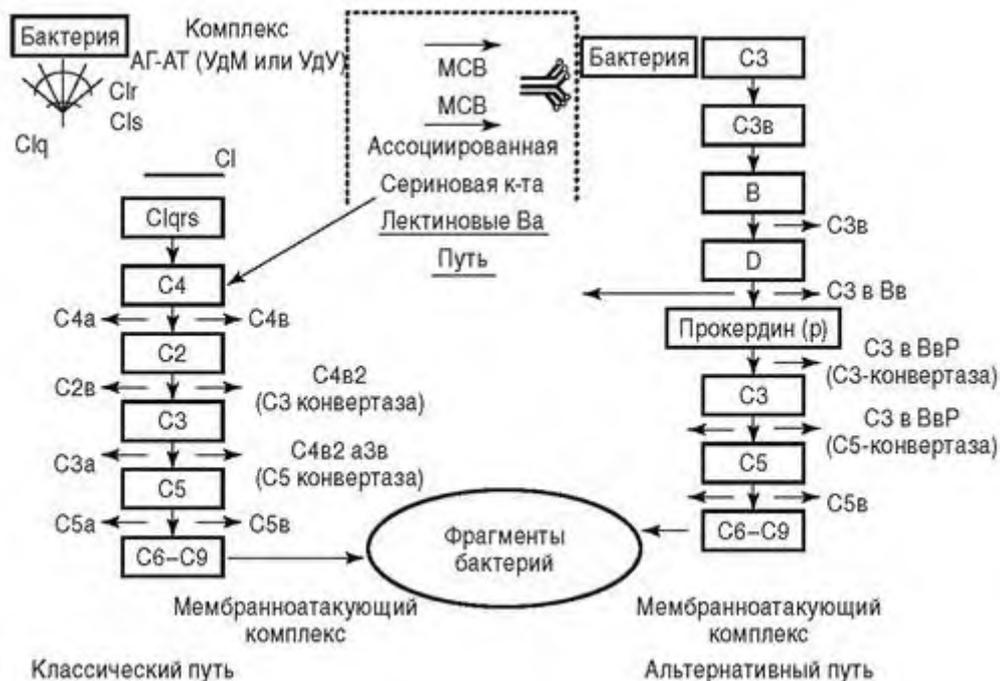


Рис. 8-4. Основные пути активации комплемента

8.4. АНТИГЕНЫ

Антиген - генетически чужеродная молекула, против которой в организме формируется реакция специфического противодействия (в организме будут вырабатываться антитела и/или иммунные Т-лимфоциты).

Антигены могут иметь различную природу: белковую, полисахаридную, нуклеиновую. Антигенными свойствами обладают также и более сложные комплексные соединения: гликопротеины, липопротеины или нуклеопротеины. Наиболее значимый иммунный ответ развивается на белковые антигены. В ответ на антигены в организме вырабатываются специфические иммуноглобулиновые молекулы - антитела.

Однако отдельно взятая аминокислота не несет на себе признаков чужеродности, поэтому на нее антитела не вырабатываются. Антитела не вырабатываются также и на другие низкомолекулярные органические и неорганические вещества. Однако последние могут входить в состав комплексных соединений в качестве гаптенных (см. ниже).

8.4.1. Факторы, определяющие антигенность

- Наличие эпитопа. Эпитоп (антигенная детерминанта) - поверхностная часть молекулы антигена, придающая ему индивидуальность и отвечающая за специфическое взаимодействие с антителом. В качестве эпитопа могут выступать 5-7 аминокислот на поверхности белка, несколько углеводов в цепочке, липидные структуры, находящиеся в составе какой-то более крупной молекулы.

- Высокая молекулярная масса, более 100 000 Да (исключение - инсулин, 6000 Да; синтетические полипептиды).

- Жесткая структура молекулы или определенное пространственное расположение (например, желатин).

8.4.2. Свойства антигенов

- Антигенность - способность антигенов вызывать образование антител, определяемая его чужеродностью для данного организма.

- Специфичность - способность антигена вступать в реакцию со строго определенным антителом. Она определяется структурой эпитопа (антигенной детерминантой). Эпитоп комплементарен активному центру антитела или антигенраспознающему рецептору В-лимфоцитов. Бактериальные антигены имеют несколько специфических эпитопов, поэтому иммунные сыворотки, содержащие антитела, являются полирецепторными.

- Иммуногенность - способность антигена вызывать в макроорганизме иммунный ответ. Иммуногенность усиливается при введении антигена с адьювантом (от лат. *adjuvare* - помогать). В качестве адьювантов при производстве вакцин и анатоксинов используют гидроксид алюминия, фосфат алюминия или кальция.

8.4.3. Условия реализации антигенности

- Чужеродность, т.е. отличие эпитопов данного антигена от таковых антигенов конкретного организма. Тем не менее такие различия не должны быть абсолютными, т.е. антиген должен быть способен участвовать в метаболических процессах, а организм должен распознать данный антиген и обработать его. В нашем организме все органические молекулы, как правило, представлены L-изомерами (левовращающими). В связи с этим, например, искусственные суставы готовят из D-полимеров (правовращающих) абсолютно инертными, поэтому организм их не отторгает.

- Взаимодействие с рецепторами клеток организма необходимо, чтобы организм распознал антиген.

- Изменение метаболизма клеток вызывает ответную реакцию организма. Именно поэтому в реализации антигенности имеют значение доза, способ введения и кратность (схема) введения антигена.

- Сохранение целостной структуры антигена при введении в организм, т.е. вещество должно поступать в организм преимущественно парентерально (в кровь, минуя пищеварительную систему, где действуют пищеварительные ферменты).

8.4.4. Классификация антигенов

По функциональным свойствам:

- полноценные антигены;
- неполноценные антигены, или гаптены.

Полноценный - антиген, обладающий всеми свойствами: антигенностью, специфичностью и иммуногенностью. Обычно это белки, комплексы белков с липидами, углеводами и т.д. Микроорганизм - комплекс антигенов.

Неполноценные антигены, или гаптены, имеют признаки антигенности, специфичности, но у них недостаточная молекулярная масса, поэтому они не обладают иммуногенностью. Они сами не могут вызывать образование антител, но могут вступать в соединение с белковыми антигенами.

Например, если кролику ввести крахмал, антитела вырабатываться не будут, так как крахмал является гаптенем. Однако если ввести комплекс крахмала с белком, вырабатываются антитела и к белку, и к крахмалу.

По химической природе гаптены могут быть полисахаридами, нуклеиновыми кислотами, липидами. При соединении с белками они приобретают свойства полноценных антигенов. Такие белки, усиливающие свойства антигенов, называют шлепперами (или проводниками) (рис. 8-5).

По происхождению:

- естественные антигены - микроорганизмы, их токсины, ферменты;
- синтетические антигены;
- аутоантигены - собственные клетки с измененной специфичностью (опухолевые, травмированные клетки, зараженные вирусами).

По химической природе: белки, комплексы белков с углеводами, нуклеиновыми кислотами, липоидами. По генетическим отношениям:

- аутоантигены;
- изоантигены - от генетически идентичного донора;
- аллоантигены - от донора одного вида, но генетически неродственного;
- толерогены - вызывающие иммунологическую толерантность (неотвечаемость).

Синтетический АГ – гаптен + белок-носитель (шлеппер)

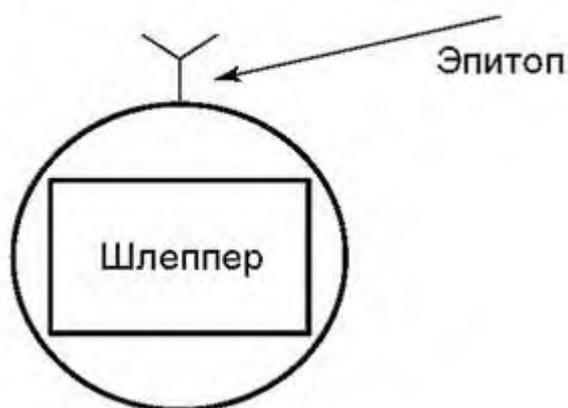


Рис. 8-5. Комплекс гаптена и шлеппера (схема)

8.4.5. Антигены микроорганизмов

Антигены микроорганизмов - многоструктурные компоненты или вещества, выделяемые различными микроорганизмами в процессе их жизнедеятельности.

Наиболее хорошо изучены бактериальные антигены. Они обладают большим разнообразием и локализованы в капсульном слое, жгутиках, клеточной стенке, мембране и нуклеоиде.

Капсульные, или К-антигены. К-антиген - поверхностный антиген полисахаридной природы (например, капсульный полисахарид *Streptococcus pneumoniae*). Нередко К-антиген входит в состав ЛПС-комплексов грамотрицательных бактерий. Например, Vi-антиген, определяющий вирулентность некоторых видов бактерий (например, возбудителя брюшного тифа *Salmonella typhi*).

У сибиреязвенной палочки *Bacillus anthracis* капсула состоит из специального белка. К-антиген может содержать термолабильные и термостабильные компоненты.

Жгутиковые, или H-антигены. Представляют собой специальные белки-флагеллины, из которых построены жгутики подвижных бактерий и сократительные фибриллы спирохет. H-антиген является термолабильным.

Соматические, или O-антигены. Представляют собой липополисахаридный комплекс, типичный для грамотрицательных бактерий. Термостабильны и выдерживают кипячение в течение 1 ч. Имеют большое значение для идентификации бактерий по антигенной структуре и проявлении их токсического действия на организм человека, так как являются эндотоксинами.

O-антиген состоит из трех структурных компонентов, имеющих разное биологическое и медицинское значение.

- Липид А - высокотоксичный липид, имеющий общий тип строения у всех видов грамотрицательных бактерий. Обладает адьювантными свойствами.

- Олигосахарид R - формирует ядро или коровую часть (от лат. *core* - ядро) молекулы ЛПС в составе наружной мембраны клеточной стенки грамотрицательных бактерий.

- Полисахарид S - высоковариабельный комплекс олигосахаридных цепочек разной длины и состава. Определяет специфичность бактериального антигена и используется для сероидентификации грамотрицательных бактерий.

Прочие структурные антигены бактерий представлены белками специфических структур бактериальной клетки - пилинами (содержатся в поверхностных пиллях), поринами (в порах цитоплазматической мембраны), липопротеинами (в клеточной стенке грамотрицательных бактерий), пептидогликаном и тейхоевыми кислотами (в клеточной стенке грамположительных бактерий). Последние обладают адьювантной активностью.

Экзотоксины - секретируемые белки с высокоспецифической токсической активностью в отношении определенных клеток, тканей или органов, реализуемой за счет блокирования жизненно важных процессов (функций). Состоят из двух компонентов (субъединиц) - собственно токсичной и рецепторной (обеспечивает проникновение токсичной субъединицы внутрь клетки). На эти белки вырабатываются антитоксические антитела. Для создания искусственного антитоксического иммунитета экзотоксины обрабатывают 0,4% раствором формалина при температуре 38 °С в течение 3-4 нед и получают анатоксин (токсоид), который вводят в качестве антигена для активной антитоксической иммунизации человека (от дифтерии, столбняка, сибирской язвы).

Вирусные антигены могут быть представлены нуклеиновой кислотой и разнообразными белками, в том числе гликопротеинами, формирующими поверхностные

шипы капсомеров, липопротеинами, сердцевинными (внутренними) М-протеинами, нуклеопротеинами генома.

Суперантигены. В организме человека суперантигены микроорганизмов связываются с рецепторами главного комплекса гистосовместимости II класса (МНС-II) АПК (дендритных, макрофагов и др.) и антигенраспознающими рецепторами Т-лимфоцитов (независимо от их специфичности) за пределами активного центра связывания, как бы сбоку от рецептора. При этом не требуется процессинга антигена презентующими клетками.

Суперантигены блокируют возможный специфичный иммунный ответ и стимулируют ложную реакцию распознавания антигена. Суперантигены вызывают поликлональную активацию и антигенспецифическую пролиферацию лимфоцитов, гиперпродукцию цитокинов, способствующих развитию воспаления, альтерации тканей и гибели Т-лимфоцитов, что приводит к развитию иммунодефицита. Классическими примерами суперантигенов являются энтеротоксин стафилококка, токсин синдрома токсического шока (TSST), антигены стрептококков, вируса Эпштейна-Барр и другие.

8.5. ИММУННЫЙ ОТВЕТ И ИММУННАЯ РЕАКТИВНОСТЬ

Иммунная реактивность - генетически детерминированная способность организма реагировать (отвечать) на внедрение веществ и организмов, несущих признаки чужеродной генетической информации.

Если сузить понятие этого термина рамками инфекционной иммунологии, иммунная реактивность - способность к формированию иммунитета по отношению к конкретному возбудителю.

Иммунный ответ можно определить как процесс формирования иммунитета. Для запуска иммунной реакции (первичного иммунного ответа), как правило, необходимо наличие очага воспаления, в который направляются подвижные макрофаги.

Первичный контакт с возбудителем или чужой молекулой запускает иммунный ответ, приводящий к наработке защитного пула специфичных антител (в среднем через 7-10 сут), появлению эффекторных Т-лимфоцитов. В большинстве случаев первичный контакт приводит к формированию Т- и В-клеток памяти, которые при последующих контактах с возбудителем обеспечивают более быстрый, более специфичный и масштабный ответ - вторичный иммунный ответ.

Все компоненты иммунной системы действуют скоординированно, образуя единую защитную систему.

8.6. ИММУННАЯ СИСТЕМА ЧЕЛОВЕКА

Иммунная система - совокупность органов, тканей и отдельных клеток, проводящая специфический контроль за генетическим постоянством внутренней среды, гомеостазом и постоянно взаимодействующая с другими органами и системами.

Функции иммунной системы включают защиту от инфекционных заболеваний, противораковый, трансплантационный иммунитет, иммунные взаимоотношения «мать-плод», ликвидацию пострадиационных последствий, неблагоприятных воздействий экологических факторов, иммунопрофилактику инфекционных и неинфекционных заболеваний и многие другие процессы.

Иммунная система высокоспециализирована и обладает рядом уникальных свойств, многие из которых нехарактерны для других систем организма.

- Высокой специфичностью - заключается в избирательном связывании антител с конкретным антигеном, индуцировавшим их образование. Лимфоциты с помощью антигенспецифических рецепторов распознают антигенные молекулы, различающиеся 1-2 аминокислотными остатками, и удаляют их из организма. Упрощенная формула иммунной специфичности: «один антиген-одно антитело-один клон лимфоцитов».

- Высокой чувствительностью - иммунокомпетентные клетки распознают антиген на уровне отдельных молекул. Взаимодействие комплекса «антиген-антитело» - одна из наиболее высокочувствительных биологических реакций.

- Иммунной индивидуальностью - для каждого организма характерен свой, генетически контролируемый тип иммунного ответа.

- Клональным принципом организации - иммунокомпетентные клетки в пределах отдельного клона способны отвечать только на одну антигенную детерминанту. В иммунной системе формируются клоны лимфоцитов, способные распознать 10^9 - 10^{11} вариантов антигенных молекул.

- Иммунной памятью - способностью иммунной системы (клеток памяти, образуемых в результате иммунного ответа) ускоренно и усиленно формировать пул защитных клеток при повторной встрече с тем же антигеном (например, при реинфекции или ревакцинации).

- Иммунной толерантностью - специфической неотвечаемостью (невосприимчивостью) на антигены, в том числе на антигены собственного организма (аутоантигены). Нарушение этого свойства приводит к срыву ауто толерантности и формированию аутоиммунной патологии.

- Способностью к регенерации - поддержанием гомеостаза лимфоцитов за счет пополнения пула нативных клеток и контроля за популяцией клеток памяти. Нарушение гомеостаза лимфоцитов (лимфопения) лежит в основе многих заболеваний, в первую очередь иммунодефицитных.

- Способностью к рециркуляции - практически все клеточные элементы иммунной системы, в том числе гемопоэтические стволовые клетки, рециркулируют в кровеносной и лимфатической системах, мигрируют в центральные и периферические органы и ткани иммунной системы, а также в другие ткани организма, обеспечивая единство и целостность иммунной системы.

- Двойным распознаванием антигена Т-лимфоцитами - уникальной способностью Т-лимфоцитов распознавать чужеродные антигенные пептиды только в ассоциации с собственными молекулами МНС (у человека - с HLA).

- Иммуноагрессивным действием в собственном организме, в ряде случаев вызывающим тяжелую патологию: аллергические, аутоиммунные, иммунокомплексные заболевания и др.

- Регуляторным действием на другие системы организма через прямые межклеточные контакты и опосредованно через огромное количество медиаторных молекул (цитокины, хемокины, гормоны тимуса, пептиды и др.). Нарушение регуляторных механизмов лежит в основе многих заболеваний человека, часто сопровождаемых поражением органов и тканей, формально не включаемых в иммунную систему (например, поражение суставов, печени, кожи, ЦНС и др.). От того, насколько полноценно функционирует иммунная система, зависят многие процессы нормальной жизнедеятельности организма. Эта функция может быть непосредственно не связана с иммунитетом, но в процессе иммунного ответа выработка иммуно-цитокинов значительно усиливается и их действие распространяется на реализацию регуляторных воздействий как внутри, так и за пределами иммунной системы. Современная иммунология уделяет большое внимание изучению роли цитокинов в межсистемных регуляторных процессах.

Таким образом, наряду с нервной и эндокринной иммунная система служит одной из интегрирующих систем регуляции, действующих на уровне целого организма.

8.6.1. Органы и ткани иммунной системы

Иммунная система включает совокупность органов и отдельно расположенных клеток. Органы иммунной системы подразделяют:

- на центральные (первичные) лимфоидные органы - тимус, костный мозг [у птиц аналог костного мозга - фабрициева сумка (*bursa fabricius*)], в которых происходят дифференцировка и созревание лимфоцитов;

- периферические (вторичные) лимфоидные органы и ткани - селезенка, лимфатические узлы, пейеровы бляшки, аппендикс, миндалины, единичные лимфоидные фолликулы, неинкапсулированная лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистой оболочкой, диффузно распределенные лимфоидные и миелоидные клетки и другие, служащие основным местом развития иммунного ответа.

Костный мозг - основной орган лимфо- и гемопоэза. Он также служит местом сосредоточения эффекторных клеток адаптивного иммунитета (например, плазмочитов). Таким образом, чисто центральным лимфоидным органом является только тимус, основная функция которого - обеспечение развития Т-лимфоцитов.

К периферическим инкапсулированным лимфоидным органам относят лимфатические узлы, селезенку и пейеровы бляшки. В лимфатических узлах выделяют зоны сосредоточения Т-лимфоцитов (паракортикальные зоны), В-лимфоцитов (фолликулы), а также сегменты, в которых В- и Т-клетки соседствуют друг с другом.

В селезенке аналогично структурирована белая пульпа, которая и является вторичным лимфоидным органом, тогда как красная пульпа имеет иную структуру и ее функции только частично относятся к реализации иммунной защиты.

Аналог лимфатических узлов - пейеровы бляшки кишечника. Они содержат структуры, связанные с транспортом антигенов через эпителиальный барьер; важным их компонентом являются эпителиальные М-клетки, захватывающие антигены из просвета кишечника.

Лимфоидные образования слизистых оболочек (миндалины, одиночные фолликулы, аппендикс) соответствуют отдельным структурным элементам лимфоидных органов, чаще всего лимфоидным фолликулам.

Комплекс этих образований вместе с диффузно распределенными лимфоцитами, пейеровыми бляшками и регионарными лимфатическими узлами формирует лимфоидную ткань, связанную со слизистыми оболочками (*Mucosa-Associated Lymphoid Tissue* - MALT). Стромальные клетки лимфоидных органов и MALT способны привлекать клетки соответствующих типов и поддерживать их жизнеспособность, т.е. формируют для них нишу.

Лимфоидные органы взаимосвязаны путями рециркуляции лимфоцитов (лимфатическая и кровеносная системы).

8.6.2. Клетки иммунной системы

Клетки иммунной системы различаются по поверхностным рецепторам, маркерам и функциям.

Клеточные маркеры - как правило, поверхностные молекулы белковой природы, характерные для клеток данной группы и играющие важную роль в их функционировании. По поверхностным маркерам можно охарактеризовать стадию дифференцировки клетки и ее принадлежность к определенной популяции или субпопуляции.

Рецепторы - поверхностные или растворимые молекулы белковой природы, связывающие специфичные молекулы по модели «ключ-замок». При связывании специфичной молекулы (например, растворимой сигнальной молекулы) пространственная конфигурация рецепторов изменяется, что в случае мембранных рецепторов приводит к передаче сигнала внутрь клетки или органеллы.

Совокупность всех поверхностных маркеров и рецепторов является фенотипом клетки. В настоящее время создана единая номенклатура поверхностных антигенов (маркеров) клеток иммунной системы, выявляемых с помощью моноклональных антител. Достаточно подробно охарактеризованные общепринятые маркеры стали обозначать символом CD (сокращение от англ. *Cluster of Differentiation*). К 2009 г. описано 350 молекул CD, и количество их продолжает увеличиваться.

Иммунные процессы осуществляются клетками костномозгового происхождения, относящимися к двум кроветворным линиям - миелоидной и лимфоидной. Миелоидные клетки «отвечают» за реакции врожденного, лимфоидные - преимущественно за реакции адаптивного и только частично - врожденного иммунитета.

Реакции врожденного иммунитета осуществляются клетками (в основном фагоцитами), практически не нуждающимися в сложных межклеточных контактах и коммуникациях. Именно поэтому они не локализованы в специализированных органах иммунной системы и широко распределены по организму. Особенно богаты ими барьерные ткани.

Адаптивный иммунный ответ связан с постоянными сложными межклеточными контактами и кооперацией между клетками. Кроме этого клональная природа адаптивного иммунитета требует особых механизмов концентрации (рекрутирования) клеток конкретных клонов в определенном месте. Обеспечение диалога между клетками и их вовлечение в иммунный ответ возможно лишь в условиях организованной органной структуры.

Подавляющему большинству клеточных элементов иммунной системы дает начало полипотентная гемопоэтическая стволовая клетка. Под действием растворимых медиаторов (цитокинов) и контактных сигналов, подаваемых стромальными клетками, недифференцированные клетки-предшественники превращаются в различные клетки крови. Плюрипотентные кроветворные стволовые клетки способны к самовоспроизведению, т.е. могут делиться, не подвергаясь дифференцировке, представляя бесконечный источник клеток-предшественников. Миелоидные клетки-предшественники превращаются в следующие типы клеток: мегакариоциты (очень крупные многоядерные клетки, при фрагментации которых образуются тромбоциты), эритробласты (эти клетки делятся и превращаются в циркулирующие эритроциты), миелобласты (могут превращаться в гранулоциты - нейтрофилы, эозинофилы и базофилы), монобласты (предшественники моноцитов), тучные клетки и часть дендритных клеток. Общий лимфоидный предшественник дает начало лимфоидной кроветворной линии (Т-лимфоцитам, В-лимфоцитам, НК-клеткам (естественным киллерам) и части дендритных клеток).

Миелоидные клетки из костного мозга поступают в кровь и короткое время циркулируют в кровотоке, затем мигрируют в ткани, в которых живут от нескольких суток до месяцев или лет. Они также могут экстренно мигрировать из кровотока в места контакта с патогеном и очаг воспаления. Некоторые разновидности миелоидных клеток (тучные клетки, макрофаги и дендритные клетки, образующиеся из моноцитов) практически не выявляются в кровотоке (хотя они тоже проходят стадию циркуляции), однако присутствуют в тканях. Макрофаги и дендритные клетки моноцитарного происхождения являются посредниками между врожденным и адаптивным иммунитетом. Миелоидные клетки экспрессируют комплекс рецепторов, распознающих PAMP.

Лимфоциты - основные клеточные элементы иммунной системы, обеспечивающие развитие реакций иммунитета. Это неоднородная популяция клеток, участвующих в реакциях адаптивного (Т- и В-лимфоциты и их многочисленные субпопуляции) и врожденного (NK-, NKT-клетки и др.) иммунитета.

В организме взрослого человека содержится около 10^{12} лимфоцитов, при этом их общая масса составляет около 1,5 кг. Лимфоциты рециркулируют в крови и лимфе, накапливаются в различных лимфоидных органах, в межтканевых пространствах, способны проникать через высокий эндотелий венул. В крови находится около 2,2% лимфоцитов от общего их числа, а основная масса распределена в тканях и лимфе.

В 1969 г. Ройт предложил для названия разных типов лимфоидных клеток символы: Т - тимусзависимые и В - бурсазависимые (от названия аналога костного мозга у птиц - фабрициевой сумки, или бурсы Фабриция). Название третьего типа лимфоидных клеток - NK-клеток - происходит от выполняемой ими функции (естественные киллеры - *Natural Killers*).

В- и Т-лимфоциты распознают антигены по-разному. Иммуноглобулиновый рецептор В-клеток (BCR) дает им возможность распознавать нативный антиген как в свободной, так и в связанной с мембранами форме. Рецептор Т-клеток (TCR) распознает только фрагменты антигена, связанные с молекулами МНС. В процессе дифференцировки в Т- и В-лимфоцитах происходит перестройка генов, кодирующих рецепторы для антигенов. В результате каждая клетка экспрессирует уникальный по специфичности рецептор. Рецепторы такой же специфичности имеют все потомки этой клетки (клон). В процессе селекции погибает большинство опасных аутоспецифических клонов как Т-, так и В-клеток. Популяции Т- и В-лимфоцитов участвуют в иммунных реакциях клонального типа, при которых в ответ вовлекаются только клетки клонов, экспрессирующих рецепторы нужной специфичности (в отличие от естественных киллеров, не отличающихся друг от друга по специфичности).

Только Т- и В-лимфоциты являются истинными иммунокомпетентными клетками и способны:

- распознавать антиген с помощью клонально экспрессированных антигенспецифичных Т-клеточных (TCR) и В-клеточных (BCR) рецепторов;
- развивать антигенспецифичные иммунные реакции, направленные на элиминацию антигена;
- создавать клоны себе подобных клеток после стимуляции антигеном;
- формировать иммунную память;
- развивать иммунную толерантность.

Другие клетки иммунной системы не обладают всем спектром свойств иммунокомпетентных клеток.

Т-лимфоциты занимают особое место в иммунной системе и служат главной популяцией в развитии клеточно-опосредованного иммунного ответа. Развитие Т-лимфоцитов зависит от тимуса, хотя известны также зоны внетимического развития этих клеток.

Т-лимфоциты морфологически не отличаются от В-лимфоцитов. Общий маркер Т-клеток - молекулярный комплекс TCR-CD3, включающий антигенраспознающий димер и вспомогательный молекулярный комплекс CD3. Субпопуляции Т-лимфоцитов различаются по мембранным маркерам, способу распознавания антигена и функциям. Нативные (формирующиеся в процессе нормальной дифференцировки и не контактировавшие с антигеном) Т-клетки бывают двух вариантов: $\gamma\delta$ -Т-лимфоциты (TCR содержит γ - и δ -цепи) и $\alpha\beta$ -Т-лимфоциты (TCR содержит α - и β -цепи).

Среди классических $\alpha\beta$ -Т-клеток выделяют субпопуляции $CD4^+$ -и $CD8^+$ -Т-лимфоцитов. После стимуляции антигеном $CD4^+$ Т-клетки выступают в качестве хелперов, а $CD8^+$ -Т-клетки - в качестве цитотоксических Т-лимфоцитов.

Цитотоксические $CD8^+$ -Т-лимфоциты (ЦТЛ) - клетки-киллеры, способные поражать инфицированные вирусом клетки-мишени, опухолевые клетки, клетки трансплантата. ЦТЛ распознают антигенные пептиды в комплексе с молекулами МНС класса I (МНС-I).

$CD4^+$ -Т-хелперы - функциональная субпопуляция Т-клеток. Они участвуют в распознавании антигенного пептида в комплексе с МНС-II на АПК. Т-хелперы участвуют в межклеточной кооперации с В-клетками, направляя их дифференцировку в плазматические клетки, синтезирующие антитела, оказывают стимулирующее влияние в некоторых вариантах цитотоксичности и др. Нативные (функционально неопределенные) Т-клетки условно называют Th0. В зависимости от стимулирующих сигналов эти клетки способны дифференцироваться по различным функциональным путям. Th1-лимфоциты формируются в присутствии IFN- γ и IL-12, и их основная функция - стимуляция реакций клеточного иммунитета (стимуляция цитотоксических свойств Т-киллеров, активация внутриклеточного киллинга патогенов макрофагами и др.). Таким образом, Th1-клетки активируются в основном в ответ на инфекцию внутриклеточными патогенами - вирусами и некоторыми бактериями, способными выживать во внутриклеточных везикулах макрофагов. Th2-клетки образуются в присутствии IL-4 и IL-6 и стимулируют преимущественно ответ гуморального типа. Th2-клетки участвуют в иммунной защите от гельминтов, поставляют хелперный сигнал В-клеткам, участвуют в развитии IgE-опосредованных аллергических реакций. В последнее время выделяют субпопуляцию Th17-лимфоцитов, дифференцирующуюся из Th0 в процессе иммунного ответа при отсутствии IL-12 и IL-4, т.е. при отсутствии стимулов к дифференцировке по Th1- или Th2-пути. Основной их функцией считается участие в иммунном ответе на инфекцию внеклеточными бактериями и грибами. Кроме того, выделяют также Thf-лимфоциты - фолликулярные Т-хелперы.

Однако существует одна естественная субпопуляция $CD4^+$ -Т-клеток, экспрессирующая внутриклеточный фактор FoxP3, существенно отличающаяся от остальных Т-хелперов - регуляторные Т-клетки. Такие $CD4^+$ -, $CD25^+$ -, FoxP3 $^+$ -Т-лимфоциты (Treg) подразделяют на природные (естественные), развивающиеся в тимусе, и индуцированные, развивающиеся на периферии из $CD4^+$ -Th0-клеток. Их функция состоит в контроле за активностью $CD4^+$ - и $CD8^+$ -Т-лимфоцитов, в том числе аутоспецифичных, не удаленных в процессе отрицательной селекции, а также других клеток.

Т-клетки памяти (от англ. *memory cells*) - долгоживущие лимфоциты, примированные антигеном, но не достигшие стадии терминальной дифференцировки в клетки-эффекторы. При повторном контакте с тем же антигеном они отвечают намного быстрее и активнее, чем нативные лимфоциты. Клетки памяти отличаются от нативных большим сроком жизни, выраженной рециркуляцией и способностью к самоподдержанию.

Среди $\alpha\beta$ -Т-клеток выделяют НКТ-лимфоциты, формирующиеся в процессе Т-лимфопоэза, но на поздних этапах получивших признаки НК-клеток. У НКТ-лимфоцитов меньше специфичностей TCR, и они преимущественно участвуют в распознавании липидных (а не пептидных) антигенов.

НК-клетки относят к клеткам врожденного иммунитета. Естественные киллеры распознают молекулы (стрессорные молекулы), отличные от PAMP, распознаваемых миелоидными клетками.

В-лимфоциты отвечают за гуморальный адаптивный иммунный ответ, направленный преимущественно на удаление внеклеточных инфекционных агентов. После связывания со специфическим антигеном В-лимфоциты при кооперативном взаимодействии с Т-

лимфоцитами-хелперами пролиферируют, дифференцируются в плазматические клетки, секретирующие антитела, и клетки памяти. Антиген вызывает селекцию клонов В-лимфоцитов, экспрессирующих специфичные к нему BCR.

Различают В1- и В2-субпопуляции, отличающиеся по потребности в Т-клеточной помощи в процессе ответа на антиген.

В1-лимфоциты возникают еще в процессе эмбриогенеза в фетальной печени, локализуются преимущественно в серозных полостях и барьерных тканях, распознают тимуснезависимые антигены (для индукции ответа на такие антигены не требуется помощь Т-хелперов), несут рецептор с низкой специфичностью к антигену, спонтанно вырабатывают низкоаффинные антитела преимущественно IgM-изотипа, в том числе к аутоантигенам, практически не формируют клеток памяти. В отличие от обычных В-лимфоцитов, В1-клетки способны к самоподдержанию и играют важную роль в защите от патогенных микроорганизмов. Известны 2 субпопуляции В1-лимфоцитов: В-1а (CD5+) и В-1б (CD5⁻).

В-клетки маргинальной зоны (МЗВ-клетки), сходные с В1-лимфоцитами, локализуются в маргинальной зоне селезенки и лимфатических узлов и участвуют в ответе преимущественно на бактериальные антигены, попавшие в кровь.

В2-лимфоциты (CD5⁻) - собственно те лимфоциты, которые обычно называют В-клетками (классические). В эмбриональном периоде они дифференцируются в печени, а после рождения - в костном мозге. Антигензависимый этап дифференцировки этих клеток происходит в фолликулах периферических лимфоидных органов. В2-лимфоциты характеризуются широким разнообразием BCR, распознают Т-зависимые антигены (почти исключительно белковые), продуцируют иммуноглобулины разных классов, формируют иммунологическую память.

Лимфоциты, особенно Т-клетки, постоянно рециркулируют - выходят из лимфоидных органов в лимфу, мигрируют с ней в кровотоки и возвращаются через посткапиллярные вены обратно в органы. При этом благодаря экспрессии молекул адгезии и рецепторов для хемокинов (хемотаксических факторов, определяющих направление миграции клеток) рециркулирующие клетки при каждом витке рециркуляции с высокой избирательностью попадают в участки лимфоидных органов, специализированные для этого типа клеток. Некоторые лимфоидные клетки (в особенности ранее контактировавшие с антигеном) наряду с миелоидными диффузно распределяются в барьерных и в меньшей степени - в других нелимфоидных тканях.

Клетки иммунной системы существенно различаются по сроку жизни. В соответствии с этим варьирует скорость их обновления. Численность клеток каждого типа строго контролируется гомеостатическими механизмами.

Для количественного определения в крови Т- и В-лимфоцитов в 70-е гг. XX в. была предложена реакция розеткообразования с эритроцитами барана, так как у всех Т-лимфоцитов есть специфический рецептор для эритроцитов барана. Розетка - это комплекс, состоящий из одной центральной клетки - Т-лимфоцита и связанных с ней эритроцитов, которые окружают ее в виде лепестков ромашки. На поверхности В-лимфоцитов нет рецепторов к эритроцитам барана, но есть рецепторы к С5а, что использовалось для определения количества данных клеток с помощью эритроцитов, нагруженных комплекментом.

В настоящее время популяции и субпопуляции лимфоцитов определяют с помощью специфических моноклональных антител к различным поверхностным маркерам посредством проточной цитофлуориметрии или с помощью иммунолюминесцентной микроскопии.

Для оценки функциональной активности лимфоцитов предложена реакция трансформации лимфоцитов в бласты - реакция бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ). Бласты - крупные клетки, в которых происходит интенсивный синтез ДНК. При культивировании *in vitro* Т-лимфоциты превращаются в бласты под влиянием фитогемагглютинаина - митогена из бобовых растений. В-лимфоциты превращаются в бласты под влиянием ЛПС-бактерий. При добавлении бактериальных или иных антигенов в культуру лимфоцитов *in vitro* они отвечают формированием клонов бластов с соответствующим видом рецепторов, что может использоваться для оценки индивидуальной чувствительности организма человека к данному антигену или аллергену при диагностике аллергии.

8.6.3. Специфические белки иммунной системы - иммуноглобулины

Существуют 3 разновидности молекул, распознающих антигены: мембранные рецепторы лимфоцитов (TCR $\alpha\beta$ - и $\gamma\delta$ -типа) и иммуноглобулины/антитела. Иммуноглобулины/антитела имеют две формы: мембранную (в составе BCR) и растворимую (собственно антитела). Термин «иммуноглобулин» отражает биохимические особенности молекулы без учета ее специфичности к конкретному антигену, термин «антитело» - функциональные свойства молекулы с учетом специфичности определенного иммуноглобулина.

Эффекторные молекулы адаптивного гуморального иммунного ответа - молекулы иммуноглобулинов.

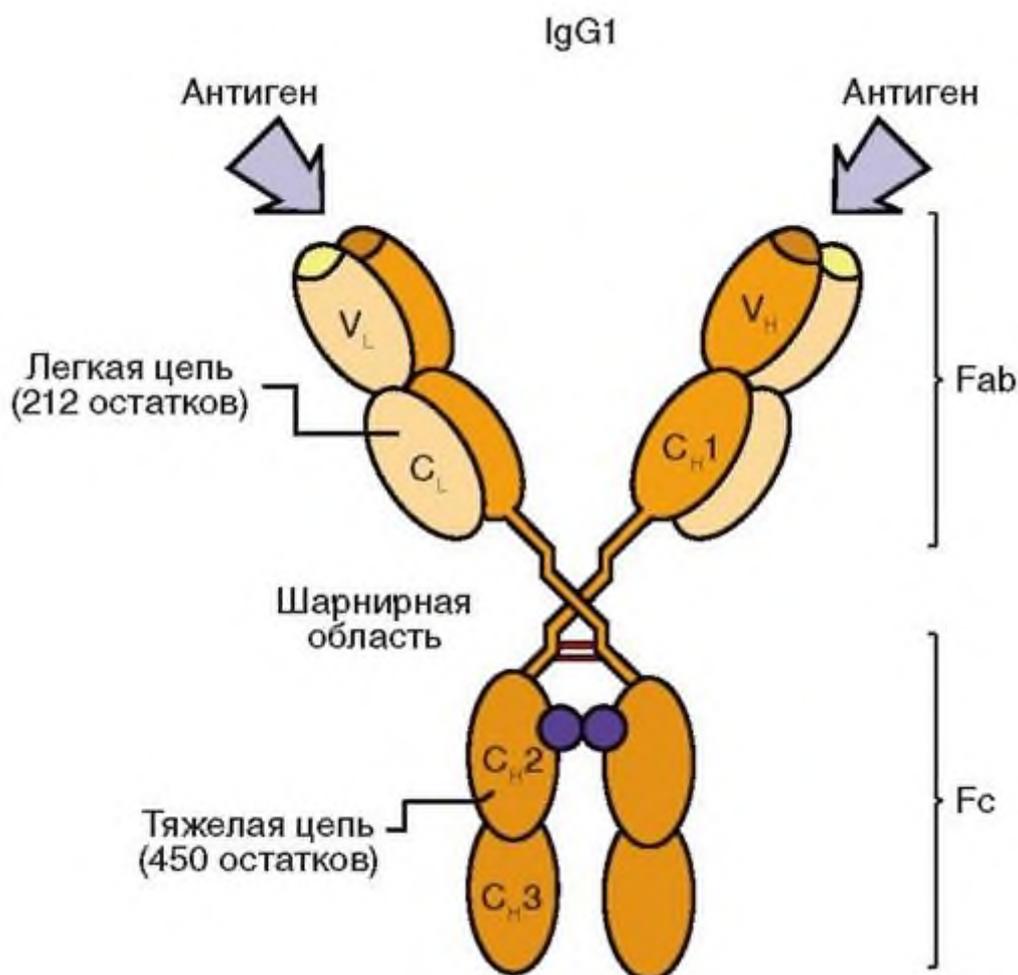


Рис. 8-6. Схема строения молекулы иммуноглобулина

Основная структурная единица иммуноглобулина любого класса состоит из двух одинаковых легких (L; от англ. - *Light*) и двух одинаковых тяжелых (H; от англ. -

Heavy) полипептидных цепей, расположенных симметрично и удерживаемых вместе ковалентными межцепочечными дисульфидными связями (-S-S-). Молекулярная масса L-цепей составляет 50-60 кДа, H-цепей - 100-120 кДа, мономера иммуноглобулина - 150-170 кДа (рис. 8-6).

Одна тяжелая и одна легкая цепи формируют элементарное звено молекулы иммуноглобулина.

Легкие цепи содержат два, а тяжелые - четыре или пять (в зависимости от класса) гомологичных сегмента - домена. Домены состоят примерно из 110 аминокислотных остатков, имеют одинаковую пространственную организацию (глобулярную замкнутую сферу), стабилизированную одной дисульфидной связью внутри цепи, но разные функции.

Специфичность иммуноглобулинов определяется первичной структурой антигенраспознающих доменов, называемых переменными (V; от англ. - *Variable*) доменами. Структура остальных - константных (C; от англ. - *Constant*) доменов постоянна. L-цепь включает один V-домен (V_L) и один C-домен (C_L), H-цепь - один V-домен (V_H) и три или четыре C-домена (C_H).

V-домены тяжелых и легких цепей участвуют в формировании анти-генсвязывающего участка или активного центра антител.

C-домены иммуноглобулинов взаимодействуют с рецепторами клеток, компонентами комплемента и осуществляют другие эффекторные функции антител, но не вовлечены в распознавание антигена.

Между доменами C_{H1} и C_{H2} расположен шарнирный участок, различный по протяженности в H-цепях разных изоформ, не входящий в состав доменов и обладающий высокой гибкостью из-за высокого содержания остатков пролина.

Фермент папаин расщепляет молекулу иммуноглобулина на 3 фрагмента, два из которых имеют одинаковую молекулярную массу и связывают антиген. Они называются фрагментами связывания антигена, или Fab (от англ. - *Fragment antigen-binding*). Третий фрагмент (55 кДа) - Fc-фрагмент (от англ. - *Fragment crystallizable*) обладает постоянной структурой и способен легко кристаллизоваться. Fc-фрагмент взаимодействует с клетками иммунной системы: нейтрофилами, макрофагами и другими фагоцитами, несущими на своей поверхности рецепторы для этого фрагмента.

Концевые домены Fab-фрагментов формируют активный центр антител (паратоп), который состоит из гиперпеременных участков L- и H-цепей, строго специфичных к определенным эпитопам антигена, т.е. активный центр антитела определяет специфичность взаимодействия антитела с антигеном.

При действии пепсина молекула иммуноглобулина расщепляется в другом месте с образованием двух фрагментов: укороченного Fc-фрагмента и фрагмента (Fab)₂, способного связывать две молекулы антигена.

Иммуноглобулины связывают различные антигены: пептиды, полисахариды, стероидные молекулы. Основная особенность такого взаимодействия состоит в том, что иммуноглобулины распознают антигены, находящиеся в нативной конформации и не прошедшие предварительной обработки. У молекулы мономерного иммуноглобулина есть два активных центра, связывающих антигены. Соответственно у димера имеется четыре активных центра, у пентамера - десять.

Иммунохимические характеристики антител

Аффинность - точность совпадения конфигурации активного центра антитела (паратоп) и антигенной детерминанты (эпитопа).

Авидность - суммарная сила прочности и интенсивности связи цельной молекулы антитела со всеми антигенными эпитопами.

Валентность - число активных центров антител, способных связаться с антигеном.

Индивидуальность строения активного центра, отличающая его от других активных центров аналогичных антител, называется идиотиом.

Выделяют два типа L-цепей - κ и λ , различающихся строением C_L -домена, и пять изоформ H-цепей (μ , γ , α , δ и ϵ), различающихся строением C_H -домена. Каждая цепь иммуноглобулина может содержать H-цепи только одного изоформа. В зависимости от структуры H-цепей выделяют пять классов молекул иммуноглобулинов - IgM, IgG, IgA, IgD и IgE соответственно.

Имуноглобулины классов IgG и IgA разделяют на подклассы (субтипы) также в зависимости от особенностей строения H-цепей. У человека выделяют четыре подкласса IgG - IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 в соответствии с входящими в их состав H-цепями (γ_1 , γ_2 , γ_3 , γ_4) и два подкласса IgA - IgA1 (α_1) и IgA (α_2).

Имуноглобулины всех классов могут принадлежать к K- и L-типам в зависимости от присутствия в их составе L-цепей κ или λ . У человека соотношение K- и L-типов составляет 3:2. Основные характеристики иммуноглобулинов разных классов представлены в табл. 8-3.

Имуноглобулины сами могут выполнять функцию антигенов. Выделяют следующие антигенные детерминанты иммуноглобулинов:

- изоформы - детерминанты, определяющие структурные особенности константных областей тяжелых цепей (изоформ определяется типом тяжелых цепей). Изоформы одинаковы у всех особей данного вида;

- аллотипы - индивидуальные аллельные варианты иммуноглобулинов в пределах одного изоформа, обусловленные вариативностью константных доменов или каркасных участков V-доменов;

- идиотипы - антигенные детерминанты, локализованные в вариативных доменах Fab-фрагмента, определяющие специфичность молекулы антитела.

Имуноглобулины существуют в организме:

- в растворимой форме в крови и других биологических жидкостях;
- в составе иммунных комплексов (антиген-антитело);

Таблица 8-3. Характеристика иммуноглобулинов

Свойство	IgM	IgG	IgA	IgD	IgE
Молекулярная масса, кДа	970	150; IgG3 - 165	150; димер - 300	185	190
Число мономеров	5	1	1 или 2	1	1
Валентность	5	2	2 или 4	2	2
Изоформ H-цепи	μ	γ	α	δ	ϵ
Число C-доменов в H-цепи	5	4	4	4	5
Число -S-S- связей между H-цепями	4	IgG1 - 3; IgG2 - 5; IgG3 - 12; IgG4 - 3	4 или 5	1	3

Содержание углеводов, %	12	3	8	13	12
Содержание в сыворотке, мг/мл	1,5	13-14 (IgG1 - 9; IgG2 - 3; IgG3 - 1; IgG4 - 0,5)	3,5 (IgA1 - 3; IgA2 - 0,5)	0,03	0,00002-0,0005
Срок полужизни, сут	5-10	23; IgG3 - 7	6	3	2
Скорость синтеза, мг/кг в сутки	7,9	34	66	0,4	0,0016

Оконгание табл. 8-3

Свойство	IgM	IgG	IgA	IgD	IgE
Активация комплемента	Классический путь	Классический путь (кроме IgG4)	-	-	-
Клетки, связывающие иммуноглобулин через Fc-рецепторы		Макрофаги / моноциты, нейтрофилы	Макрофаги / моноциты, нейтрофилы (слабо)	-	Тучные клетки, базофилы
Функции	Мембранный рецептор. Первичный иммунный ответ	Вторичный иммунный ответ. Защита от бактерий и вирусов	Преобладающий класс в секретах слизистых оболочек	Мембранный рецептор	Реагины. Защита от паразитов

В процессе иммунного ответа первыми вырабатываются антитела класса IgM. После связывания с антигеном молекула IgM изменяет конформацию и приобретает наибольшую способность связывать и активировать белки системы комплемента по классическому пути. Основная физиологическая функция IgM - нейтрализация патогенов (преимущественно вирусов) в кровеносном русле.

IgG. Иммуноглобулины IgG-изотипа являются основными антителами при вторичном иммунном ответе, преобладают в сыворотке крови, свободно проникают в ткани и являются единственным классом иммуноглобулинов, проходящим через плацентарный барьер в кровь плода, обеспечивая защиту новорожденного до созревания его собственной иммунной системы. Транспорт через плаценту происходит с участием неонатального Fc-рецептора (FcRn) для IgG. При передаче IgG от матери к плоду FcRn защищает IgG от катаболизма после его интернализации, что обеспечивает транспорт IgG через эпителиальный и эндотелиальный барьеры. IgG1 и IgG3 активируют комплемент, фагоциты и клетки-киллеры. IgG2 и IgG4 участвуют в прямой нейтрализации патогенов.

IgA. IgA1 циркулирует в крови и способствует нейтрализации патогенов, попавших в кровотоки. Однако он чувствителен к действию бактериальных протеаз, поэтому играет незначительную роль в нейтрализации возбудителей. IgA2 локализуется в секретах слизистых оболочек и участвует в нейтрализации патогенов, проникающих в организм через слизистые оболочки. sIgA содержатся в различных секретах организма: слюне, слезах, секретах пищеварительной системы и т.д. IgA образуются плазматическими

клетками, расположенными в подслизистом слое. Проходя через клетки покровного эпителия, мономеры соединяются в димеры и приобретают секреторный компонент. По химической природе это гликопротеин. Он защищает молекулу антитела от действия протеаз и желудочного сока. sIgA участвуют в формировании местного иммунитета слизистых оболочек.

IgA участвует в формировании первой линии защиты. Он не активирует комплемент, не обладает бактерицидной активностью, но играет важную роль в нейтрализации бактериальных токсинов. IgA содержится в молозиве и обеспечивает иммунную защиту новорожденных на уровне слизистых оболочек.

IgD - трансмембранный рецептор В-лимфоцитов. IgD активирует базофилы, связывает микроорганизмы, вызывающие заболевания дыхательных путей.

IgE связываются с базофилами, тучными клетками через FcεR1 и вызывают сенсibilизацию клеток слизистых оболочек, что приводит к развитию аллергических реакций.

IgG плода и новорожденных поступает к ним от матери и исчезает из сыворотки крови ребенка к 6-8 мес. В это время иммунная система ребенка начинает синтезировать IgM и IgA. В возрасте 1 года уровень собственных IgM в крови ребенка практически достигает уровня взрослого человека, IgG - 75% уровня взрослого, IgA - 25%.

8.7. КООПЕРАЦИЯ КЛЕТОК В ПРОЦЕССЕ ИММУННОГО ОТВЕТА

В настоящее время принята теория, что образование иммуноглобулинов запускается в результате взаимодействия или кооперации нескольких видов клеток. Полноценный иммунный ответ формируется при участии трех типов клеток и двух основных сигналов (контактного и цитокинового).

К этим клеткам относят:

- АПК;
- Т-лимфоциты;
- В-лимфоциты.

Связующим звеном между врожденным и приобретенным иммунитетом является воспаление: первоначально оно развивается как неспецифическая реакция, но его активность регулируется влиянием специфических сигналов В- и Т-лимфоцитов и при активации системы комплемента по классическому пути (рис. 8-7).

8.7.1. Основные пути клеточной кооперации

Развитие адаптивного иммунного ответа проходит две фазы - индуктивную и продуктивную (эффektorную). Индуктивная фаза заключается в формировании эффektorных (исполнительных) механизмов иммунитета. Этот процесс занимает приблизительно 7 сут после появления патогена в организме. В этот период основную роль в иммунной защите играет врожденный иммунитет, а также лимфоциты первой линии защиты - В1- и γδ-Т-клетки.

Одновременно с активацией факторов врожденного иммунитета дендритные клетки, как и макрофаги, присутствующие в барьерных тканях, поглощают патогены или их фрагменты, а затем транспортируют их в регионарный лимфатический узел. В процессе перемещения в вакуолях (фагосомах) этих клеток происходят расщепление поглощенных антигенов на фрагменты (процессинг), взаимодействие пептидного фрагмента антигена с молекулами МНС-II и транспорт образовавшихся комплексов на клеточную поверхность. Это необходимо для запуска адаптивного иммунитета, поскольку Т-лимфоциты способны распознавать антиген только в комплексе с молекулой МНС. Таким образом, дендритная

клетка вовлекает в реакцию Т-лимфоциты, ответственные за активацию других клеток адаптивного иммунитета.

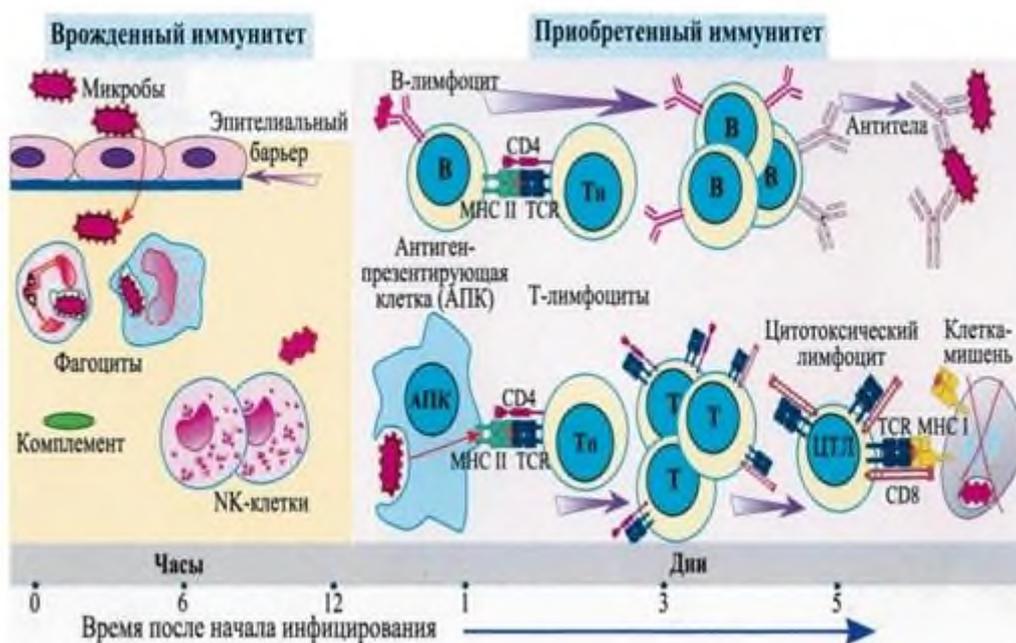


Рис. 8-7. Взаимодействие основных факторов врожденного и приобретенного иммунитета в процессе иммунного ответа (по А.А. Воробьеву и А.С. Быкову)

Под влиянием одних и тех же хемотаксических сигналов дендритные клетки проникают в Т-зоны лимфатического узла лимфогенным, а рециркулирующие Т-лимфоциты - гематогенным путем. В лимфатических узлах происходит взаимодействие дендритных клеток с Т-лимфоцитами, распознающими антигенные пептиды в составе молекул МНС на мембране дендритной клетки.

Корецепторы CD4 имеют сродство к молекулам МНС-II, CD8 - к МНС-I. TCR распознает антигенный пептид в составе молекул МНС-II с участием корецепторов CD4 (Т-хелперы) или МНС-I и CD8 (цитотоксические Т-клетки, или Т-киллеры). Процесс представления антигенного пептида Т-клеткам в составе молекул МНС называют презентацией антигена. Таким образом, Т-хелперы распознают комплекс «МНС-II-антигенный пептид». Это является необходимым, но недостаточным условием для активации Т-клеток.

Дополнительные активационные стимулы Т-клетки получают от взаимодействия костимулирующих молекул: со стороны дендритных клеток - B7 (CD80 и CD86), а со стороны Т-клеток - CD28. Активация Т-лимфоцитов происходит при поступлении сигнала от TCR и дополнительного - через молекулы CD28, которые исходно присутствуют на большинстве Т-лимфоцитов. CD80 на дендритных клетках барьерных тканей почти отсутствует, а количество CD86 недостаточно для ко-стимуляции. Усиление экспрессии молекул B7 на дендритных клетках (а также на макрофагах и других АПК) происходит при распознавании патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (РАМР) и тесно связано с другими проявлениями врожденного иммунитета. Таким образом, для запуска адаптивного иммунитета необходима предварительная активация клеток врожденного иммунитета.

При активации Т-клетки начинают экспрессировать гены своего ростового фактора - IL-2 и его рецептора. В результате аутокринно-го действия IL-2 Т-клетки активированных клонов пролиферируют. Пролиферации, индуцированной антигеном, подвергаются также и В-лимфоциты. Поскольку исходное количество клеток каждого клона невелико,

пролиферация имеет большое значение для обеспечения эффективной иммунной защиты (7-8 делений обеспечивают увеличение числа клеток в 250-500 раз).

На следующем этапе CD4⁺-Т-клетки дифференцируются на основные разновидности Т-хелперов. Наиболее изучены Th1- и Th2-клетки, различающиеся главным образом составом продуцируемых цитокинов, отвечающих за развитие клеточного иммунного ответа, направленного на элиминацию внутриклеточных патогенов, и гуморального, играющего основную роль в борьбе с внеклеточными патогенами и макропаразитами (например, одноклеточными гельминтами) (см. 8.6.2).

Окончательная дифференцировка Т-хелперов происходит в Т-зонах вторичных лимфоидных органов. Th1-клетки мигрируют из Т-зон в очаги воспаления, в том числе в места проникновения патогенов, вызывающих иммунный ответ. Распределение активированных и эффекторных Т-лимфоцитов отличается от такового нативных Т-клеток, что обусловлено изменением набора экспрессируемых молекул адгезии (рецепторов хоминга) и хемокиновых рецепторов. Эффекторные Т-лимфоциты мигрируют преимущественно в отделы иммунной системы, из которых дендритные клетки доставили антиген в лимфатический узел. Th1-клетки реализуют свою активность, кооперируя преимущественно с макрофагами, а Th2-клетки - с В-лимфоцитами.

Запуск Th1-зависимого иммунного ответа происходит, если клетка фагоцитировала микроорганизм, но не смогла его убить и расщепить. В этом случае фагоцит (макрофаг) получает стимулирующие сигналы со стороны Th1-лимфоцитов. Взаимодействие между клетками осуществляется в форме повторной презентации антигенного пептида Т-клетке - на этот раз макрофагом. В виде ответной реакции Th1-клетки активируют макрофаг, передавая костимулирующий сигнал через мембранную молекулу CD40 и секретируемый цитокин - интерферон- γ (IFN- γ).

В-лимфоцит распознает антиген в его нативном состоянии без участия дендритной клетки. Более того, он сам выступает в роли АПК: поглотив комплекс антигена с рецептором, В-лимфоцит обрабатывает его, встраивая антигенный пептид в состав молекулы МНС-II. В-лимфоцит презентует пептид Т-хелперу типа Th2, получая при этом от него активационные сигналы через костимулирующую молекулу CD40 (как и макрофаги) и цитокин IL-4 (фактор роста В-клеток). Эти сигналы индуцируют пролиферацию клонов активированных В-лимфоцитов (в реакцию вовлекаются клоны, распознавшие антиген), а затем их дифференцировку в антителообразующие клетки - плазмочиты. Наиболее эффективно эти процессы проходят в зародышевых центрах, формирующихся при иммунном ответе в лимфоидных фолликулах (при этом происходит превращение первичных фолликулов во вторичные).

В зародышевых центрах В-клетки интенсивно пролиферируют, при этом происходит резкое (в 40-60 раз) повышение частоты соматических мутаций в гипервариабельных зонах вариабельных генов иммуноглобулинов. В клетках ослабляется экспрессия факторов, предотвращающих развитие апоптоза (программированной гибели клеток), что приводит к быстрой гибели В-лимфоцитов при отсутствии дополнительных сигналов к выживанию. Таким сигналом служит распознавание BCR антигенов в составе иммунных комплексов, которые локализуются на поверхности фолликулярных дендритных клеток. Ограниченное содержание антигена в зародышевых центрах вызывает конкуренцию за его связывание между антигенспецифичными В-клетками, в которой побеждают В-клетки, несущие BCR, обладающие наибольшим сродством к антигену. Этот процесс называют созреванием аффинности антигенраспознающих рецепторов (или антител, поскольку мембранные рецепторы на следующих этапах дифференцировки В-клеток будут секретироваться в растворимой форме в виде антител). Параллельно происходит переключение изотипа секретируемых иммуноглобулинов с IgM на IgG, IgA и IgE. Процесс завершается в апикальной части зародышевых центров превращением активированных В-клеток (В-

лимфобластов) в плазматические клетки, непосредственно секретирующие антитела. Одновременно с образованием плазматических клеток В-лимфоциты дифференцируются в В-клетки памяти. Плазматические клетки мигрируют в другие отделы иммунной системы (маргинальную зону селезенки, мозговые шнуры лимфатических узлов и т.д.). Большинство их попадает в костный мозг. Микроокружение этого органа обеспечивает длительное существование плазматических клеток.

Особую роль играет третий вариант реакции адаптивного иммунитета - ответ цитотоксических Т-лимфоцитов. Презентацию антигенного пептида этим Т-клеткам тоже осуществляют дендритные клетки, но с участием молекул МНС-I. Цитотоксические клетки, предназначенные для защиты от вирусов и других внутриклеточных патогенов (присутствуют в цитозоле), в меньшей степени зависят от Т-хелперов. Контактные взаимодействия цитотоксических Т-клеток с Т-хелперами не играют такой важной роли, как для эффекторных клеток при развитии двух других рассмотренных выше форм ответа. Аксессуарная функция Th1-клеток в реакциях цитотоксичности состоит главным образом в снабжении Т-киллеров необходимым для экспансии их клонов ростовым цитокином ИЛ-2. Цитотоксические Т-лимфоциты развиваются в Т-зонах лимфоидных органов, а затем расселяются по организму, в основном мигрируя в очаги воспаления и барьерные ткани.

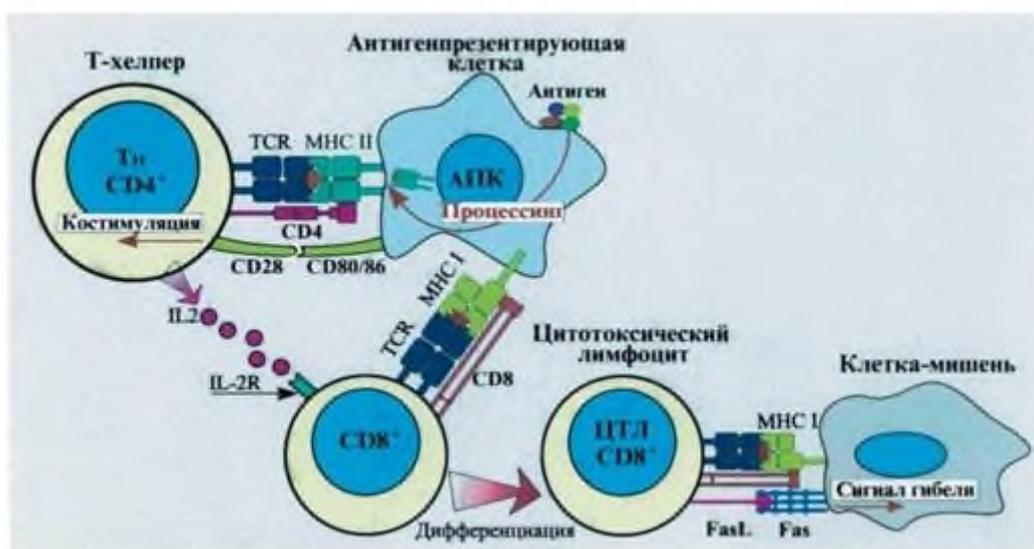


Рис. 8-8. Кооперация клеток при формировании цитотоксического ответа на чужеродную клетку-мишень

В результате описанных выше процессов происходит активация клеток сначала врожденного, а затем адаптивного иммунитета. Связующим звеном между ними служат дендритные клетки. В очаге проникновения патогена и развития воспаления происходит активация всех клеток врожденного иммунитета, тогда как в системе адаптивного иммунитета в активацию вовлекаются только специфичные к распознаваемым антигенам клоны лимфоцитов. Существует избирательность вовлечения различных факторов врожденного и адаптивного иммунитета в зависимости от природы возбудителя (бактерии или вирусы, внеклеточные или внутриклеточные патогены и т.д.).

Таким образом, запуск адаптивного иммунного ответа невозможен без участия факторов врожденного иммунитета, прежде всего, активированных дендритных клеток, презентующих антиген Т-клеткам и экспрессирующих костимулирующие молекулы. Антиген только отбирает клоны лимфоцитов, которые будут активированы. Для активации клеток, распознавших антиген, они должны получить дополнительные сигналы через костимулирующие молекулы. Дендритные клетки активируют CD4⁺-Т хелперы, которые расширяют состав клеток, вовлекаемых в иммунный ответ, оказывая костимулирующее действие на В-лимфоциты, макрофаги и снабжая ростовым фактором цитотоксические Т-

лимфоциты. Подобная схема развития иммунного ответа происходит тогда, когда антиген действует одновременно с патоген-ассоциированными молекулярными паттернами (РАМР) при инфицировании - попадании в организм потенциально патогенных микроорганизмов.

Однако часто антиген действует на лимфоциты, в том числе Т-клетки, изолированно от РАМР. Это бывает при приеме пищи, росте иммуногенной опухоли, при пересадке чужеродных органов, действии аллергенов. В отношении пищевых антигенов развивается анергия, т.е. активная норма неответственности, распространяющаяся только на данный антиген. Вероятно, развитие анергии происходит и при росте опухоли, однако при этом действует другой сигнал опасности - экспрессия стрессорных молекул, активирующих НК-клетки. Природа дополнительного сигнала, участвующего в развитии аллергического ответа при отсутствии РАМР, неясна. Вероятно, именно особенности этого сигнала определяют выбор Th2-типа иммунного ответа на аллергены.

В норме иммунная система не реагирует на собственные антигены организма (аутоантигены). Однако при локальном воспалении, сопровождаемом экспрессией костимулирующих молекул на соматических клетках (не дендритных), а также в некоторых других ситуациях может развиваться аутоиммунная патология.

8.7.2. Динамика образования антител и их протективное действие

При изучении образования антител во времени выделяют периоды (или фазы) иммунного ответа:

- латентный - узнавание антигена АПК;
- индуктивный - передача информации про антигены Т-лимфоцитам, а затем В-лимфоцитам;
- продуктивный - образование антител и поступление их в кровь.

В начальной фазе продуктивного периода наблюдается медленное нарастание концентрации IgM, а затем IgG (4-5 сут после иммунизации антигеном). Затем наблюдается быстрый логарифмический рост количества антител, и их уровень достигает максимума к 10-12-м суткам после иммунизации/контакта с антигеном.

Данные периоды характеризуют первичный иммунный ответ. При повторном контакте с антигеном развивается вторичный иммунный ответ, который отличается от первичного следующим:

- синтез антител вызывается меньшими дозами антигена;
- индуктивный период более короткий (5 ч);
- пик (max) синтеза иммуноглобулинов достигается раньше (через 5-6 сут);
- аффинность антител выше;
- синтезируется главным образом IgG;
- антитела дольше сохраняются в циркуляции;
- количество антител значительно больше.

Перечисленные особенности вторичного иммунного ответа связаны с иммунной памятью. Закономерности вторичного иммунного ответа лежат в основе специфической профилактики инфекционных заболеваний в целях формирования искусственного иммунитета.

Протективное (или защитное) действие антител в организме может проявляться разными путями, к которым относятся следующие.

- Нейтрализация токсической субъединицы экзотоксина (антитоксическое действие, в первую очередь IgM).

- Фиксация на поверхности бактериальной клетки с последующей активацией комплемента, который обеспечивает формирование мембраноатакующего комплекса и лизис бактериальной клетки.

- IgM, IgG3, IgG1 в комплексе с антигеном взаимодействуют с компонентами комплементов C3b и C4b, связанными с эритроцитами. Таким образом, эритроциты приносят иммунные комплексы в печень и селезенку, где они фагоцитируются и разрушаются макрофагами.

- Фиксация на поверхности патогена и предотвращение его адгезии к слизистой оболочке (димеры IgA).

- Фиксация на поверхности патогена или различных клеток-мишеней и специфическое взаимодействие с рецепторами макрофагов (опсонизация), делая целевые клетки более доступными для фагоцитоза или антителозависимой клеточной цитотоксичности.

- Антителозависимая клеточная цитотоксичность (АЗКЦ). NK-клетки, эозинофилы, нейтрофилы и другие клетки экспрессируют рецепторы Fc-γ-R III типа (CD16), которые участвуют в связывании эффекторных клеток через молекулы IgG с инфицированными клетками-мишенями. NK-клетки запускают перфорин-гранзимовый механизм цитотоксичности и убивают клетку-мишень, индуцируя в ней апоптоз.

- Активация клеток при взаимодействии антител с Fc-рецепторами мембраны.

- IgE-опосредованная реакция гиперчувствительности. Связывание комплекса антигена (аллергена) с IgE-антителом через высокоаффинные рецепторы Fc-ε-RI тучными клетками и базофилами инициирует дегрануляцию этих клеток и высвобождение вазоактивных медиаторов (гистаминов, лейкотриенов D4, простагландинов). Это приводит к развитию сосудистых реакций: расширению сосудов, повышению их проницаемости, способствует возникновению отека и задержке антигена в очаге, препятствует его проникновению в кровь. Кроме этого происходят интенсивное сокращение гладкой мускулатуры, спазм бронхов и пищеварительной системы.

- Связывание IgE эозинофилами через низкоаффинный Fc-ε-RII индуцирует образование в эозинофилах белковых токсинов, убивающих гельминтов, развивая IgE-опосредованную антителозависимую клеточную цитотоксичность.

- Некоторые антитела связывают жизненно необходимые ионы, вызывая их дефицит в организме.

8.7.3. Медиаторы иммунных реакций (цитокины)

Цитокины - белковые или полипептидные факторы, лишенные специфичности в отношении антигенов, продуцируемые преимущественно активированными клетками кроветворной и иммунной систем и опосредующие межклеточные взаимодействия при кроветворении, воспалении, иммунных процессах и межсистемных коммуникациях.

Большая группа цитокинов относится к гуморальным факторам иммунной системы, играющим универсальную роль в реализации врожденного и адаптивного иммунитета.

Цитокины определяют выживаемость клеток, стимуляцию или угнетение их роста, дифференцировку, функциональную активацию и апоптоз клеток. Способность регулировать перечисленные функции обусловлена тем, что после взаимодействия цитокинов со своими рецепторами на поверхности клеток, сигнал через элементы внутриклеточной трансдукции передается в ядро, где активируются соответствующие гены.

Белки, продукты активированных цитокинами генов, продуцируются клетками и регулируют перечисленные выше процессы.

Цитокины - гормоноподобные молекулы, действие которых на клетку-мишень опосредуется высокоспецифичными высокоаффинными мембранными рецепторами. Все рецепторы цитокинов представляют трансмембранные гликопротеины, у которых внеклеточная часть отвечает за связывание цитокина.

В составе клеточных мембран одни цепи реагируют только с определенным цитокином, в то время как другие способны формировать общие рецепторы для разных цитокинов. Наличие общих структур в рецепторах обуславливает сходство функциональных проявлений действия ряда цитокинов.

В отличие от классических гормонов, большинство цитокинов являются молекулами локального (паракринного) действия. Они продуцируются и утилизируются клетками, находящимися в тесной близости. Цитокины могут действовать аутокринно (на ту же клетку, которая секретировала этот цитокин), паракринно - на соседние клетки и эндокринно - на клетки, расположенные на расстоянии от клеток-продуцентов. Секреция цитокинов - краткосрочный процесс.

Цитокины иммунной системы имеют общие свойства.

- Это, как правило, гликозилированные полипептиды со средней молекулярной массой (<30 кДа).

- Цитокины синтезируются клетками иммунной системы и некоторыми другими клетками в ответ на активирующий стимул (патогены, антигены, цитокины и др.) при реализации механизмов врожденного или адаптивного иммунитета, регулируя их направление, силу и продолжительность.

- Секреция цитокинов - непродолжительный процесс.

- Они действуют кратковременно и преимущественно на клетки-мишени, находящиеся в непосредственной близости от продуцента (исключение - системное действие цитокинов, например TNF- α).

- Цитокины проявляют активность при очень низких концентрациях (порядка 10-11 моль/л).
- Служат медиаторами иммунной и воспалительной реакций.

- Действуют как факторы роста и факторы дифференцировки клеток (при этом вызывают преимущественно медленные клеточные реакции, требующие синтеза новых белков).

- Образуют регуляторную сеть, в которой отдельные элементы оказывают синергическое или антагонистическое действие.

- Каждый тип клеток способен продуцировать несколько цитокинов и каждый цитокин может секретироваться различными клетками (избыточность системы).

- Обладают плейотропной (полифункциональной) активностью.

- Дублирование функций обеспечивает надежность работы системы цитокинов.

- Взаимодействуют с высокоспецифичными высокоаффинными мембранными рецепторами, представляющими собой трансмембранные гликопротеины. Существуют рецепторы, устраняющие избыток цитокинов в патологическом очаге. Это так называемые рецепторы-ловушки. Синтез рецепторов протекает более интенсивно и длительно, чем синтез соответствующих цитокинов. Это обуславливает их более полную и быструю элиминацию из сосудистого русла и реализацию биологического эффекта в очаге поражения. Растворимые рецепторы цитокинов являются ферментативно отщепленным внеклеточным доменом мембранного рецептора. Растворимые рецепторы способны

нейтрализовать цитокины, а также участвовать в их транспорте в очаг воспаления и выведении их из организма (рис. 8-9).

В настоящее время открывают все новые молекулы цитокинов. Представленный рисунок показывает лишь наиболее доказанные взаимодействия. Пунктирными линиями обозначены образование цитокинов и их активность, сплошными - развитие клеточных линий. Для ответа на цитокины клетка должна обладать специализированными поверхностными рецепторами, многие из которых уже идентифицированы и получены *in vitro*. Возможно, они найдут применение в качестве конкурентных ингибиторов активности цитокинов.

Основными продуцентами и клетками-мишенями являются разные виды лейкоцитов (гранулоциты, моноциты, популяции и субпопуляции лимфоцитов и др.), поэтому значительную часть цитокинов называют интерлейкинами.

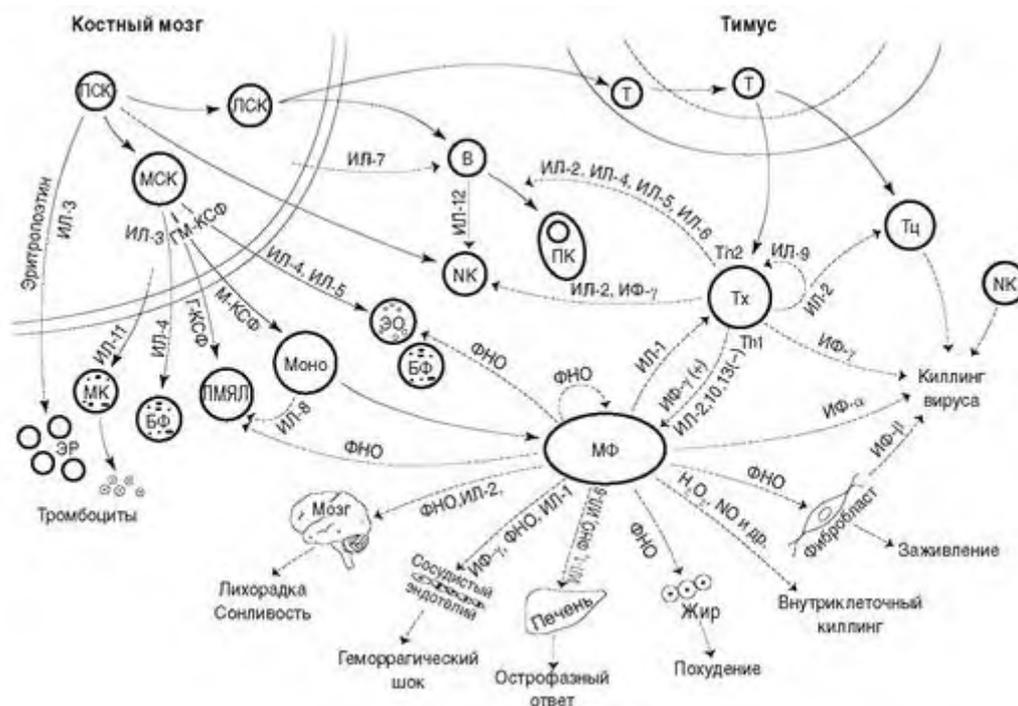


Рис. 8-9. Основные направления регуляторного действия цитокинов в организме человека (цитокиновая сеть)

8.7.4. Характеристика основных цитокинов

К системе цитокинов в настоящее время относят около 200 индивидуальных полипептидных молекул. Существует несколько классификаций цитокинов, основанных на их строении, функциональной активности, происхождении, типе цитокиновых рецепторов. В настоящее время широко используют классификацию, основанную на принадлежности цитокинов к структурно-функциональным семействам. В таблице 8-4 представлены факторы, участвующие в развитии и функционировании клеток иммунной и кроветворной систем.

Таблица 8-4. Основные семейства цитокинов и их функции (по Ярилину А.А., 2010)

Семейство	Цитокины	Биологические функции
Факторы гемопоэтических клеток	SCF, Fl-t-3-L, IL-3, эритропоэтин, тромбопоэтин, GM-CSF, G-CSF, M-CSF	Поддержание жизнеспособности и пролиферации лимфо-/гемопоэтических клеток
Интерфероны I и III	IFN-α, IFN-β, IFN-δ, IFN-κ, IFN-	Противовирусная,

типа	τ , IFN- ω , IFN- λ (IL-28, IL-29)	антипролиферативная, иммунорегуляторная активность
IL-1	IL-1 (F1-F11): IL1 α , IL1 β , raIL-1, IL-18, IL-33	Противовоспалительная активность, участие в развитии иммунного ответа
Фактор некроза опухоли	TNF- α , лимфотоксины- α и - β , а также мембранные молекулы	Противовоспалительное действие, регуляция апоптоза и межклеточного взаимодействия иммунокомпетентных клеток, участие в морфогенезе
IL-6	Лиганды gp130: IL-6, IL-11, IL-31, онкостатин-М (OSM), кардиотропин-1 (CT-1), фактор, ингибирующий лейкемию (LIF), цилиарный нейротрофический фактор (CNTF)	Противовоспалительное и иммунное регуляторное действие
Хемокины	Группы: CC, CXC, CX3C, C	Хемотаксис и активация клеток иммунной системы
TGF (трансформирующие ростовые факторы)	TGF- α , TGF- β , морфогенетические факторы	Регуляция воспаления, ангиогенеза, морфогенетических процессов
IL-10	IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26	Иммуносупрессивное действие
IL-12	IL-12, IL-23, IL-27	Определение направления иммунного ответа путем выбора пути дифференцировки Т-хелперов

Оконгание табл. 8-4

Семейство	Цитокины	Биологические функции
Th1-цитокныны	IFN- γ , IL-2, IL-21	Индукция Т-клеточного ответа воспалительного типа
Th2-цитокныны	IL-4, IL-5, IL-9, IL-13	Индукция гуморального и антипаразитарного иммунного ответа, иммуномодулирующее действие
IL-17	IL-17A-F	Медиаторы хронического воспаления. Привлекают нейтрофилы

В настоящее время известно 37 интерлейкинов (название отражает способность молекул опосредовать взаимодействия между лейкоцитами и название места Интерлакене, Швейцария, где был введен этот термин), которые получили цифровые обозначения (IL-1-IL-37), остальные имеют буквенные обозначения. Цитокины иммунной системы можно условно подразделить на несколько групп.

- Интерлейкины (IL-1-IL-37) - секреторные регуляторные белки иммунной системы, обеспечивающие внутрисистемные медиаторные взаимодействия и связь иммунной

системы с другими системами организма. Среди интерлейкинов на основе функциональной активности выделяют провоспалительные цитокины, ростовые факторы лимфоцитов, регуляторные цитокины.

- Интерфероны - противовирусные агенты с выраженным иммунорегуляторным действием: интерфероны I типа - IFN- α , IFN- β , IFN- δ , IFN- κ , IFN- τ , IFN- ω ; интерфероны II типа - IFN- γ ; группа интерфероподобных цитокинов - интерфероны III типа - IL-28A (IFN- λ -2), IL-28B (IFN- λ -3) и IL-29 (IFN- λ -3).

- Фактор некроза опухоли - цитокины с цитотоксическим и регуляторным действием: TNF- α , лимфотоксины- α и - β .

- Фактор роста лимфо-/гемопоэтических клеток - фактор роста стволовых клеток (с-Kit-лиганда, IL-3, IL-7, IL-11, эритропоэтина, тромбопоэтина, G-CSF, M-CSF, GM-CSF).

- Хемокины (около 50 молекул, относящихся к различным группам; см. табл. 8-4) - низкомолекулярные цитокины, регуляторы хемотаксиса лейкоцитарных клеток в очаг воспаления. Могут вызывать дегрануляцию клеток и повышать экспрессию молекул адгезии.

- Факторы роста - регуляторы роста, дифференцировки и функциональной активности клеток различной тканевой принадлежности (фактор роста фибробластов, фактор роста эндотелиальных клеток, фактор роста эпидермиса) и трансформирующий фактор роста (TGF).

Спектры биологических активностей цитокинов иммунной системы в значительной степени перекрываются: один и тот же процесс может стимулироваться в клетке более чем одним цитокином. Во многих случаях в действиях цитокинов наблюдается синергизм. Антигенная стимуляция приводит к секреции цитокинов первой волны - IL-1 и IL-6, TNF- α , индуцирующих биосинтез центрального регуляторного цитокина IL-2, а также IL-3, IL-4, IL-5, IFN- γ и др. В свою очередь, цитокины второй волны влияют на биосинтез ранних цитокинов. Такой принцип действия позволяет не только регулировать иммунный ответ, но и усиливать его, вовлекая в реакцию все возрастающее количество клеток.

Основными клетками-продуцентами цитокинов иммунной системы являются Т-хелперы, макрофаги и дендритные клетки, выполняющие главные функции в поддержке приобретенного и врожденного иммунитета. Th1-клетки продуцируют IL-2 и IFN- γ , тогда как Th2-лимфоциты - IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 и IL-13. Считается, что оба типа Т-хелперов образуются из нативных Th0, синтезирующих цитокины как Th1, так и Th2. Как уже упоминалось, переход Th0 в Th1 опосредуется IFN- γ и IL-12. Th2 образуются под воздействием IL-4 и IL-6. Th1 и Th2 участвуют в различных ответных реакциях на патогенное воздействие инфекционных агентов. Это зависит от типа патогена и его локализации в клетке. Нарушение Th1/Th2-баланса цитокинов играет значительную роль в развитии аутоиммунных состояний, хронизации, прогрессировании заболеваний. Если при инфекциях, вызванных внутриклеточными вирусами и микроорганизмами, произойдет переключение защитного клеточного иммунитета на гуморальный, наступает осложнение течения заболевания.

Интерлейкины

Интерлейкин-1 (IL-1 α , IL-1 β). IL-1 представляет собой систему из трех молекул: IL-1 α , IL-1 β , IL-1Ra (антагонист рецептора IL-1) и двух рецепторов: IL-1R1 и IL-1RII. Биологические свойства IL-1 α и IL-1 β очень сходны либо идентичны. IL-1 α активирует преимущественно Т-лимфоциты, обладает аутокринным и паракринным действием, в то время как IL-1 β - многофункциональный цитокин с широким спектром действия, играет ключевую роль в развитии и регуляции врожденного и приобретенного иммунитета, один из первых включается в ответную защитную реакцию организма при действии патогенных факторов. Основными продуцентами IL-1 β являются макрофаги и моноциты. В синтезе IL-1

также могут участвовать лимфоциты, фибробласты. Клетки-мишени - иммунокомпетентные, эндотелиальные, эпителиальные клетки, фибробласты и др. IL-1 β инициирует и регулирует воспалительные, иммунные процессы, активирует нейтрофилы, Т- и В-лимфоциты, стимулирует синтез белков острой фазы, цитокинов (IL-2, IL-3, IL-6, TNF- α), молекул адгезии (Е-селектинов), прокоагулянтов, простагландинов. IL-1 β усиливает хемотаксис, фагоцитоз, гемопоэз, проницаемость сосудистой стенки, цитотоксическую и бактерицидную активность, оказывает пирогенный эффект и др. IL-1 участвует в регуляции температуры тела, а его повышенная продукция приводит к развитию лихорадки.

Повышение уровня IL-1 наблюдается при различных воспалительных и аутоиммунных заболеваниях, включая септический шок, воспалительное поражение кишечника, ревматоидный артрит, сахарный диабет 1-го типа. Сильное повышение уровня IL-1 приводит к гипотензии, анорексии, разрушению хрящей в суставах. Эндотелиальные клетки сосудов человека под влиянием IL-1 α и IL-1 β секретируют полипептиды, подобные тромбоцитарному фактору роста. Эти полипептиды могут стимулировать клеточную миграцию и пролиферацию и вызывать высвобождение сосудистых медиаторов воспаления, что при значительном увеличении уровня указанных цитокинов может привести к развитию диссеминированного внутрисосудистого свертывания. IL-1 стимулирует миелопоэз и ранние этапы эритропоэза (поздние этапы подавляет, так как является антагонистом эритропоэтина). IL-1 β подавляет развитие В-лимфоцитов, участвует в выборе направления дифференцировки между миело- и В-лимфопоэзом в пользу миелопоэза.

Антагонист рецептора IL-1 (IL-1Ra). IL-1Ra является мономерным гликозилированным белком, который продуцируется моноцитами и другими клетками. IL-1Ra является ингибитором и важным физиологическим регулятором экспрессии IL-1. Баланс между IL-1 и IL-1Ra играет важную роль в защите организма от инфекции и ограничении дальнейшего повреждения пораженных тканей. Для инфекционных заболеваний максимальное повышение уровня IL-1Ra наблюдается при сепсисе. При этом повышенные концентрации IL-1Ra коррелируют с благоприятным прогнозом. Недостаточная продукция IL-1Ra значительно повышает тяжесть поражения тканей при болезни Лайма, туберкулезе, саркоидозе. IL-1Ra является эндогенным противовоспалительным агентом при ишемических поражениях головного мозга, воспалительных заболеваниях кишечника, респираторном дистресс-синдроме, бронхиальной астме, пиелонефрите.

Интерлейкин-2 (IL-2) играет исключительно важную роль в реализации механизмов иммунного ответа. Продукентами IL-2 являются Th1-клетки. Помимо участия IL-2 в дифференцировке и пролиферации Т-лимфоцитов, этот лимфокин оказывает непосредственное влияние на реализацию механизмов противоопухолевой защиты. Так, IL-2 повышает литическую активность NK-клеток, а также индуцирует лимфокин-активированные киллеры. Кроме того, IL-2 усиливает секрецию IFN- γ Т-лимфоцитами. IL-2 и IFN- γ формируют эффекторные иммунологические механизмы, направленные на предотвращение пролиферации нео-трансформированных клеток. У больных острым вирусным гепатитом в репликативный период регистрируют высокую спонтанную продукцию IL-2. Препараты IL-2 оказывают хороший защитный эффект при ряде опухолевых заболеваний.

Интерлейкин-3 (IL-3). Является фактором роста стволовых клеток и ранних предшественников лимфо-/гемопоэтических клеток. Его продуцируют Th1 и Th2, а также другие клетки (В-лимфоциты, миелоидные клетки, стромальные клетки костного мозга, кератиноциты). IL-3 вместе с эритропоэтином поддерживает рост и дифференцировку клеток эритроидного ростка. В то же время IL-3 способен регулировать раннюю стадию дифференцировки В-лимфоцитов, поддерживает рост пре-В-клеток, а также усиливает

секрецию IgG. Наряду с IL-4 и GM-CSF IL-3 служит ростовым фактором для тучных клеток. IL-3 усиливает выработку гистамина клетками гемопоэтической системы. IL-3 и GM-CSF вызывают формирование гранул эозинофилов.

Интерлейкин-4 (IL-4) продуцируется Т-хелперами (Th2), является фактором дифференцировки для Т- и В-лимфоцитов. Наиболее сильный эффект IL-4 оказывает на регуляцию образования других цитокинов, участвуя в многочисленных биологических процессах, таких как иммунный ответ и воспалительные реакции. IL-4 является противовоспалительным цитокином, ограничивает синтез макрофагами провоспалительных IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α , образование этими клетками высокоактивных метаболитов кислорода, азота. Кроме этого IL-4 служит кофактором пролиферации покоящихся В-лимфоцитов, а также индуцирует в этих клетках синтез IgE и IgG4. IL-4 способен генерировать активность лимфокинактивированных клеток и усиливать противоопухолевую активность макрофагов. Нарушение выработки IL-4 является ключевым процессом в развитии аллергопатологии.

Интерлейкин-5 (IL-5) - димерный белок, продуцируется Т-хелперами (Th2). IL-5 усиливает пролиферацию активированных В-лимфоцитов, а также экспрессию на них рецептора для IL-2 и синтез этими клетками IgA. В нестимулированных В-клетках IL-5 индуцирует секрецию IgM и IgG. IL-5 является хемоаттрактантом для эозинофилов, вызывает их дегрануляцию при паразитарных инвазиях, играет роль в патогенезе аллергического воспаления, атопии. Противоопухолевая активность IL-5 связана со способностью участвовать в апоптозе.

Интерлейкин-6 (IL-6) - мономер, является фактором дифференцировки В-клеток, способствуя созреванию В-лимфоцитов в антитело-продуцирующие клетки. IL-6 индуцирует синтез белков острой фазы, в связи с чем (так же как и IL-1 и TNF) может быть отнесен к провоспалительным цитокинам. Повышение уровня IL-6 наблюдается при многих патологических состояниях, в том числе при аутоиммунных заболеваниях, сердечной микседеме, ревматоидном артрите, болезни Кастлемана, псориазе, мезангиопролиферативном гломерулонефрите, саркоме Капоши, алкогольном циррозе, лимфоме, миеломе и карциноме почек. У ВИЧ-инфицированных людей В-лимфоциты продуцируют увеличенное количество TNF- α и IL-6. Повышение концентрации IL-6 отмечено при обострениях язвенной болезни, панкреатита, глютеновой энтеропатии, болезни Крона, неспецифического язвенного колита, вирусного гепатита, первичного билиарного цирроза.

Интерлейкин-7 (IL-7) - полипептид, стимулирующий гемопоэз. Продуцируется фибробластами и стромальными костномозговыми клетками. IL-7 стимулирует пролиферацию, но не дифференцировку пре- и про-В-клеток, и не влияет на функционирование дифференцированных В-клеток. Также он стимулирует пролиферацию незрелых и дифференцированных активированных Т-лимфоцитов. IL-7 используют в иммунотерапии - он способствует разрушению опухолевых клеток CD4⁺-Т-лимфоцитами. IL-7 может индуцировать апоптоз опухолевых клеток.

Интерлейкин-8 (IL-8) - низкомолекулярный провоспалительный цитокин. Принадлежит к семейству хемокинов. Продуцируется под воздействием бактериальных эндотоксинов и цитокинов, главным образом TNF и IL-1. Известен как NAP-1 (активирующий нейтрофилы пептид-1), NAF (фактор активации нейтрофилов), GCF (хемотактильный фактор гранулоцитов) и NCF (хемотактильный фактор нейтрофилов). Активирует нейтрофилы, моноциты, в меньшей мере другие гранулярные лейкоциты, вызывает их хемотаксис в очаг воспаления. Уровень IL-8 повышается при хронических и острых воспалительных процессах, ревматоидном артрите, язвенном колите. IL-8, появляясь после IL-1 и TNF в местах воспаления, играет важную роль в развитии псориаза.

Интерлейкин-9 (IL-9) продуцируется Т-хелперами (Th2). Стимулирует пролиферацию Т-лимфоцитов и базофилов, усиливает эффекты эритропоэтина.

Интерлейкин-10 (IL-10) - антагонист ряда цитокинов. Продуцируется Th0, Th2 и CD8⁺-Т-лимфоцитами, В1-клетками. Подавляет выработку IFN- γ Th1-клетками. Тормозит пролиферативный ответ Т-клеток на антигены и митогены, а также подавляет секрецию активированными моноцитами IL-1 β , TNF и IL-6. В то же время IL-10 стимулирует секрецию иммуноглобулинов В-клетками, может стимулировать синтез IgE.

В ингибирующем действии на клеточный иммунитет IL-10 синергичен с IL-4. Повышение уровня выработки IL-10 является плохим прогностическим признаком и сочетается с выраженной прогрессией опухолевого роста.

Интерлейкин-11 (IL-11) синтезируется стромальными клетками костного мозга. Клетки-мишени - гемопоэтические предшественники остеокластов. Функциональные свойства: образование остеокластов, снижение образования провоспалительных цитокинов. IL-11 усиливает антителообразование как *in vitro*, так и *in vivo*, причем его действие опосредуется Т-хелперами. IL-11 стимулирует мегакариоцитоз, влияет на развитие и других клеток крови, в частности макрофагов. Источником IL-11, помимо клеток стромы костного мозга, служат фибробласты, стимулированные IL-1. Подобно IL-1 и IL-6, IL-11 участвует в индукции синтеза белков острой фазы.

Интерлейкин-12 (IL-12) - провоспалительный цитокин. IL-12 секретируется, прежде всего, активированными макрофагами и влияет на иммунные клеточные реакции. IL-12 повышает литическую активность лимфокиноактивированных киллеров. IL-12 действует как ростовой фактор при активации Т- и НК-клеток. При этом он действует в качестве индуктора секреции IFN- γ и ингибитора синтеза IgE, индуцированного IL-4. IL-12 активирует цитотоксичность макрофагов, а дефицит его образования макрофагами может значительно снижать противоопухолевую активность. IL-12 оказывает противоопухолевый эффект при раке легкого. Усиление роста опухоли, в частности рака прямой кишки, ассоциируется со снижением продукции IL-12 и усилением продукции IL-10. Важным свойством IL-12 является усиление экспрессии Fas-L и индукция апоптоза. IL-12 ингибирует ангиогенез. IL-12 является ключевым цитокином в развитии лимфоцитов Th1. IL-12 играет основную роль при аутоиммунных заболеваниях, формировании резистентности к бактериальной или паразитической инфекции, антивирусном ответе, включая ВИЧ.

Интерлейкин-13 (IL-13) продуцируется Т-хелперами (Th2) и тучными клетками. Функции IL-13 подобны биологической активности IL-4. Он является мощным модулятором активности моноцитов и В-клеток, но, в отличие от IL-4 и IL-13, не имеет прямого биологического влияния на Т-клетки. IL-13 ингибирует выработку других цитокинов, стимулирующих начало воспалительного процесса при сепсисе или ревматоидном артрите, причем в отличие от IL-4 его концентрация не снижается. IL-13 совместно с IL-4 и IL-10 участвует в иммунных реакциях Th2-типа. Он стимулирует секрецию IgG4 и IgE.

Интерлейкин-15 (IL-15) продуцируется макрофагами, моноцитами, эпителиальными, гладкомышечными клетками. По проявляемой активности он близок к IL-2: активирует макрофаги, повышает синтез ими TNF- α , усиливая его действие. IL-15 участвует в активации Т-лимфоцитов АПК, стимулирует пролиферацию и дифференцировку Т- и В-лимфоцитов в клетки-эффекторы, синтез цитокинов, иммуноглобулинов, защищает гепатоциты от апоптоза. Антагонистами IL-15 могут служить его мутантные формы, связывающиеся с соответствующими рецепторами. Содержание IL-15 увеличивается при воспалительных заболеваниях желудка, тонкой и толстой кишки.

Интерлейкин-16 (IL-16) - гомотетрамер. IL-16 продуцируется Т-лимфоцитами, главным образом CD8⁺-Т-клетками. CD4⁺-Т-клетки являются его основными мишенями. IL-16 служит для них хемоаттрактантом, повышает их адгезивность, обычно подавляет (в некоторых ситуациях - индуцирует) их пролиферацию. В то же время IL-16 усиливает экспрессию CD25 и синтез цитокинов.

Интерлейкин-17 (IL-17) синтезируется в основном Т-хелперами. Мишенями IL-17 служат эпителиальные, эндотелиальные клетки, фибробласты. По своим функциональным свойствам близок к противовоспалительным IL-4, IL-10, регулирует выделение клетками-продуцентами IL-6, IL-8, G-CSF, стимулирует фибробласты. IL-17 может приводить к усилению антителозависимой гибели опухолевых клеток. Гистамин и серотонин усиливают выработку IL-17.

Интерлейкин-18 (IL-18) синтезируется в виде неактивного пропептида. IL-18, также известный как IFN- γ -индуцирующий фактор (IGIF), первично был охарактеризован как потенциальный индуктор синтеза IFN- γ Т- и НК-клетками. Независимо от IL-12 он влияет на секрецию IFN- γ , быстро активирует клетки моноцитарно/макрофагальной системы, что приводит к активации множества антибактериальных, противоопухолевых и противовирусных ответных реакций. Выработка IL-18 индуцируется стрессовыми сигналами (нейрогенными или бактериального происхождения). При стрессе высвобождение IL-18 может приводить к усилению цикла образования IFN γ /IL-18 - IFN- γ , продуцируемый лимфоцитами под действием IL-18, в свою очередь, стимулирует моноциты/макрофаги, что приводит к увеличению их ICE-активности. IL-18 не только стимулирует синтез IFN- γ , но и модулирует его функциональную активность. IL-18 самостоятельно (Fas-L) или с помощью IFN- γ (Fas) стимулирует запуск апоптоза.

Интерлейкин-19 (IL-19) - гомолог IL-10, секретируется, главным образом моноцитами. Регулирует функции макрофагов и снижает активность Th1- и Th2-клеток. Влияет на процессы апоптоза клеток.

Интерлейкин-20 (IL-20) - гомолог IL-10, секретируется преимущественно кератиноцитами. Активно участвует в развитии воспаления в коже. Его синтез повышен при псориазе.

Интерлейкин-21 (IL-21) - продуцируется Т-лимфоцитами и тучными клетками. Играет важную роль в регуляции гемопоэза и в иммунном ответе. Способствует пролиферации Т-, В-лимфоцитов и НК-клеток. Усиливает образование иммуноглобулинов.

Интерлейкин-22 (IL-22) - гомолог IL-10, секретируется активированными Т-лимфоцитами при остром воспалении.

Интерлейкин-23 (IL-23) - продуцируется активированными дендритными клетками. Индуцирует пролиферацию CD4⁺-Т-лимфоцитов памяти и выработку этими клетками IFN- γ .

IL-28A, IL-28B и IL-29 описаны как интерфероны (IFN- λ -1 IFN- λ -2, IFN- λ -3).

Колонистимулирующие факторы (CSF)

Цитокины, стимулирующие гемопоэз: G-CSF (гранулоцитарный), GM-CSF (гранулоцитарно-макрофагальный), M-CSF (моноцитарно-макрофагальный). GM-CSF продуцируется макрофагами и Т-лимфоцитами; M-CSF - Т-клетками, костномозговыми стромальными клетками, остеобластами; G-CSF - фибробластами и моноцитами. GM-CSF индуцирует рост и дифференцировку незрелых костномозговых клеток в разные типы клеток миелоидного ряда, при этом ускоряет процесс созревания предшественников гранулоцитов и моноцитов/макрофагов. Высокий уровень GM-CSF, секретируемого опухолевыми клетками, обуславливает развитие нейтрофилии у больных со злокачественным процессом. M-CSF вызывает дифференцировку гемопоэтических клеток-

предшественников в мононуклеарные фагоциты, а G-CSF - в нейтрофилы. Уровень CSF в плазме крови увеличивается при воспалении различной этиологии.

Фактор некроза опухоли (TNF)

В группу факторов некроза опухоли включают TNF- α и TNF- β (лимфотоксин). Это полипептиды, продуцируемые моноцитами/макрофагами, эндотелиальными, тучными и другими миелоидными клетками, лимфокинактированными клетками, клетками нейроглии, активированными Т-лимфоцитами. Активированные Т-клетки служат основными продуцентами TNF- β . TNF- β образуется при действии на Т-клетки антигенов и митогенов значительно позже, чем TNF- α (2-3 сут после активации). Противоопухолевое действие этого фактора, связанное с геморрагическим некрозом и давшее ему название, не ограничивает спектр действия данного фактора. TNF оказывают цитотоксическое действие, направленное на клетки опухоли либо клетки, пораженные вирусами; иммуномодулирующее и противовоспалительное, вызываемое активацией макрофагов, нейтрофилов, эозинофилов и эндотелиальных клеток; они влияют на метаболизм, приводя к развитию гипергликемии, резорбции кости и увеличению мышечного гликогенолиза, т.е. кахексии, наблюдаемой при некоторых паразитарных инфекциях. В результате высвобождения TNF повышается проницаемость капилляров, поражается эндотелий сосудов, возникает внутрисосудистый тромбоз. Концентрация циркулирующего TNF- α обычно очень низка (<5 пг/мл), однако она резко возрастает (максимум за 90 мин) после введения ЛПС и возвращается к норме в течение 4 ч. Высокие уровни TNF- α (>300 пг/мл) выявляют при развитии септического шока. Сохранение высоких уровней указывает на возможность возникновения нежелательных последствий. У ВИЧ-инфицированных лиц в начальный период заболевания значительно возрастают концентрации TNF- α и IFN- γ . Повышенный уровень TNF- α при ВИЧ-инфекции индуцирует репликацию вируса в инфицированных клетках по аутокринному или паракринному пути. Кроме того, TNF, осуществляя киллинг клеток, пораженных вирусом, вызывает вирусемию и заражение новых лимфоцитов. Оппортунистические инфекции у ВИЧ-инфицированных лиц приводят к дополнительной выработке TNF- α и IL-1, и это тоже приводит к увеличению количества клеток, содержащих вирус иммунодефицита.

Интерфероны (IFN)

Интерфероны - автономная группа цитокинов, обладающих противовирусной активностью и участвующих в регуляции иммунных процессов.

Интерфероны являются важными факторами врожденного (а в случае IFN- γ - еще и адаптивного) иммунитета. Интерфероны - первые цитокины, которые стали применять в качестве лечебных препаратов.

В настоящее время у человека выделяют 9 видов интерферонов, обозначаемых греческими буквами. По способности взаимодействовать с 3 типами рецепторов их объединяют в 3 семейства.

- Интерфероны I типа - IFN- α , IFN- β , IFN- δ , IFN- κ , IFN- τ , IFN- ω .
- Интерферон II типа - IFN- γ (ранее называвшийся иммунным).
- Интерфероны III типа - IFN- λ -1 (IL-29), IFN- λ -2 (IL28A), IFN- λ -3 (IL28B).

IFN- α имеет 13 разновидностей (1, 2, 4-8, 10, 13, 16, 17, 21). Каждый вид и разновидность кодируются отдельными генами. Некоторые гены имеют несколько аллельных вариантов, которым соответствуют изоформы IFN- α (например, α -2a, α -2b, α -2c). Всего в настоящее время выделяют 49 вариантов молекул интерферонов. Интерфероны I и III типа различаются по локализации генов; наличию интронов в генах интерферонов III типа, но не I типа; по способности связываться с разными рецепторами. Интерферон II типа - IFN- γ отличается по всем показателям и особенно по биологическим функциям.

Основные продуценты интерферонов I типа - плазмацитоидные дендритные клетки - естественные интерферонпродуцирующие клетки (IPC), циркулирующие в кровотоке и составляющие 0,2-0,8% мононуклеаров крови. IFN- α также продуцируют моноциты/макрофаги, эпителиальные клетки, фибробласты и при вирусной инфекции - ядродержащие инфицированные клетки. IFN- β в основном продуцируют фибробласты и эпителиальные клетки, а также моноциты и макрофаги. Интерфероны III типа, по-видимому, выделяют все перечисленные клетки. Активированные эпителиальные клетки слизистых оболочек способны секретировать большое количество IFN- λ .

Интерфероны способны оказывать прямое противовирусное действие, приводящее к деградации вирусной РНК, подавлению репликации вируса, индукции белка Mx, индуцирующего резистентность к инфицированию вирусом. Наиболее высокая противовирусная активность у интерферонов I типа (IFN- α , IFN- β , IFN- ω). У интерферонов III типа она также высокая, но развивается медленнее. У IFN- γ противовирусная активность проявляется значительно слабее.

Интерфероны I и III типа способны повышать защиту от внутриклеточных патогенов (микобактерий, грибов, одноклеточных паразитов), усиливая активность клеток врожденного иммунитета. Интерфероны I типа способствуют развитию воспаления, повышая экспрессию молекул адгезии, фагоцитарную и бактерицидную активность макрофагов. Они стимулируют активность дендритных клеток, НК-клеток и цитотоксических Т-лимфоцитов.

Иммунорегуляторная активность интерферонов проявляется в усилении клеточного иммунитета, опосредованного Th1-лимфоцитами.

Интерфероны I типа как часть цитокиновой сети влияют на экспрессию других цитокинов и их рецепторов (например, IL-12, IFN- γ , IL-15), а также молекул МНС-I.

Противоопухолевое действие интерферонов связано с активацией естественных киллеров, усилением экспрессии молекул МНС-I и презентацией опухолевого антигена Т-клеткам. IFN I типа обладают выраженной антипролиферативной активностью.

IFN- γ - полифункциональный цитокин, действующий на стыке врожденного и адаптивного иммунитета. IFN- γ продуцируют преимущественно лимфоидные клетки. Вне иммунного ответа его синтезируют НК- и НКТ-клетки, при иммунном ответе - Т-хелперы типа 1 и цитотоксические CD8⁺-Т-лимфоциты. Этот цитокин могут секретировать также макрофаги и дендритные клетки. Рецепторы к IFN- γ есть практически на всех популяциях лейкоцитов, эндотелиальных, эпителиальных и других клетках. Функции этого цитокина проявляются в большей степени при адаптивном иммунном ответе. Снижение продукции IFN- γ установлено при лимфолейкозе, неходжкинских лимфомах. У больных ВИЧ-инфекцией в начальный период заболевания значительно увеличивается концентрация IFN- γ . Уровень этого цитокина в плазме крови повышается при тяжелой цитомегаловирусной инфекции. Содержание IFN- γ и IFN- β повышается в плазме при заболеваниях центральной нервной системы, рассеянном склерозе.

ГЛАВА 9. МЕСТНЫЙ ИММУНИТЕТ ПОЛОСТИ РТА И МИКРОФЛОРА БИОПЛЕНОК

9.1. ПОНЯТИЕ О МЕСТНОМ ИММУНИТЕТЕ ПОЛОСТИ РТА

Местный иммунитет полости рта - совокупность врожденных и приобретенных механизмов защиты и регуляции клеточно-молекулярных взаимодействий, действующих в секретах и тканях челюстно-лицевой области, а также в биопленке полости рта.

С точки зрения иммунной защиты у полости рта много общего с другими слизистыми оболочками организма. Однако уникальность ротовой полости - в одновременном

присутствии и постоянных поверхностей (коронки зубов), и сменяемых слизистых оболочек. Выступающая из слизистой оболочки коронка зуба прерывает ее целостность формированием манжеты из сдвигающегося кератинизированного эпителия, плотно прилегающего к поверхности эмали.

Эпителий свободной десны переходит в соединительный эпителий, который связывает ее с поверхностью зуба с образованием десневой борозды. В норме жидкость десневой борозды (тканевый трансудат) промывает этот уязвимый для бактерий и их продуктов участок. Если под десной формируется зубная бляшка (поддесневая или субгингивальная), содержащая патогенные микроорганизмы, то в соединительном эпителии и подлежащей ткани развивается воспалительный процесс. При этом возрастающий ток жидкости активно приносит к бляшке иммунные компоненты - клетки и секреторные молекулы.

9.2. ФАКТОРЫ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА

9.2.1. Барьерная функция слизистой оболочки

В полости рта кератинизированные участки слизистой оболочки ограничены деснами, твердым нёбом и частью спинки языка. И хотя кератинизация препятствует проникновению микроорганизмов и их продуктов, это не означает, что некератинизированные участки лишены защиты. Эпителиальные клетки экспрессируют молекулы МНС-I.

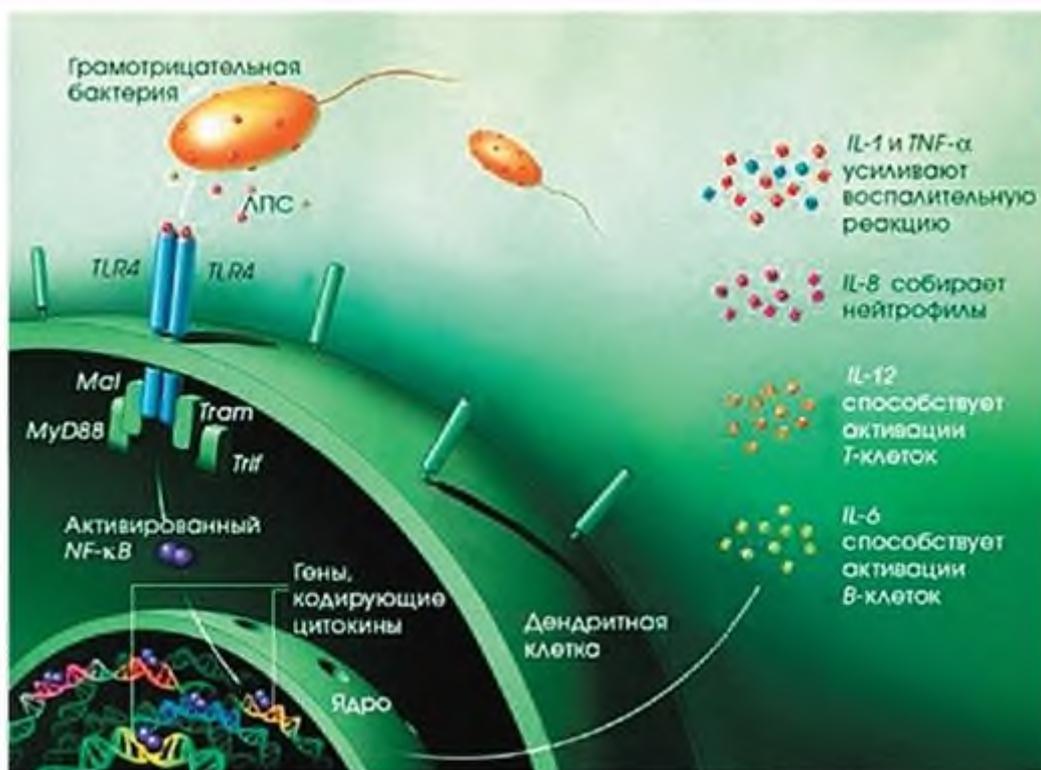


Рис. 9-1. Распознавание бактериальных липополисахаридов и индукция провоспалительных цитокинов (по J.C. Gussoley et al.)

В последние годы было показано, что эпителий ротовой полости экспрессирует TLR-молекулы, распознающие консервативные патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (PAMP -Pathogen-Associated Molecular Pattern), характерные для поверхностных молекул патогенных микроорганизмов и отсутствующие у клеток хозяина (рис. 9-1). К ним относят, например, ЛПС грамотрицательных бактерий, пептидогликан, флагеллин, пилин, бактериальную ДНК, маннаны грибов, двуспиральную РНК вирусов. В настоящее время идентифицировано более 10 TLR, способных распознавать различные PAMP. Контакт

таких рецепторов с РАМР служит сигналом для эпителиоцитов к образованию цитокинов, хемокинов и противомикробных пептидов - β -дефензинов. Кроме того, эпителиальные клетки могут выделять такие бактерицидные субстанции, как оксид азота и эйкозаноиды.

9.2.2. Дефензины

Дефензины - относительно небольшие (3-6 кДа) катионные пептиды, имеющие 3-4 дисульфидные связи. В зависимости от расположения этих связей и локализации серина подразделяются на α - и β -дефензины.

Основные β -дефензины продуцируются клетками протоков слюнных желез. В микромолярных количествах дефензины проявляют активность в отношении бактерий, грибов и оболочечных вирусов.

Действие дефензинов сходно с таковым пептидного антибиотика грамицидина С: в бактериальных мембранах, богатых отрицательно заряженными фосфолипидами, дефензины образуют многомерные кольцевидные комплексы, что приводит к образованию пор, повышению проницаемости мембраны и в конечном счете к ее осмотическому разрушению. Меньшее содержание фосфолипидов в клетках высших эукариот (человека) обеспечивает им защиту от нежелательного действия этих пептидов.

Кроме того, β -дефензины вызывают активацию и дегрануляцию тучных клеток, способствуя выбросу гистамина и простагландина D₂ - хемоаттрактанта для нейтрофилов, а также для незрелых дендритных клеток и Т-клеток памяти. Эта функция сближает дефензины с хемокинами - позволяет активировать воспалительную защиту.

9.2.3. Кальпротектин

Кальпротектин - антибактериальный белок, образуемый клетками некератинизированного эпителия и способный хелатировать ионы кальция и цинка. Его антибактериальная и антифунгальная активность обусловлена способностью связывать цинк, лишая микроорганизмы этого важного иона. Высокие концентрации кальпротектина встречаются также в цитоплазме нейтрофилов, моноцитов и макрофагов, поэтому такие воспалительные экссудаты, как десневая жидкость, могут содержать высокие концентрации кальпротектина. Из десневой борозды он может попадать в слюну.

9.2.4. Вязкий муциновый слой

Муцины - гликопротеины с различными формами гликозилирования. Для полости рта характерны 2 основных муцина: высокомолекулярный полимер MG1 и низкомолекулярный гликопептид MG2. Ввиду наличия значительной углеводной части и нитевидной структуры MG1 имеет свойства вязкого эластичного геля, что наилучшим образом подходит для покрова слизистой оболочки. Вся внутренняя поверхность ротовой полости покрыта слизистой пленкой толщиной менее 0,1 мм, которая увлажняет и смазывает слизистую оболочку. Такая пленка - липкий, скользкий полупроницаемый гель, содержащий липиды, белки и ионы. Липиды расположены на поверхности по всему слизистому покрову. Муцин, липиды и сахараиды служат также ловушками для свободных радикалов. Муцин постоянно расходуется или частично переваривается нормальной микрофлорой, поэтому его стабильно секретируют подчелюстная, подъязычная и малые слюнные железы. Слизистый слой эффективно улавливает частицы и небольшие молекулы и блокирует их проникновение через слизистую оболочку. За счет образования множества временных низкоаффинных связей с антибактериальными субстанциями хозяина, в том числе антителами (например, sIgA), он обеспечивает их более длительное воздействие. Состав, скорость секреции и утрачивания слизи могут быстро и существенно изменяться в зависимости от диеты и воздействия на мукозальную поверхность различных патогенных или комменсальных микроорганизмов и токсинов.

9.2.5. Десквамация

Десквамация - важный компонент врожденной защиты хозяина. Эпителий кожи и слизистых оболочек постоянно слущивается. Показано, что скорость слущивания зависит от бактериальной нагрузки эпителия. Важность этого механизма в предотвращении бактериальной колонизации можно понять, сравнив в окрашенных по Граму мазках количество бактерий на буккальном эпителии и в биопленке на зубах (зубной бляшке) - необновляемой ткани ротовой полости.

9.2.6. Эпителиальные рецепторы для антител

На клетках буккального эпителия имеются рецепторы для секреторного компонента sIgA - гликопротеина, ковалентно связанного с этими антителами. Соответственно, связанные такими антителами микроорганизмы будут удаляться при слущивании эпителия.

9.2.7. Приобретенная пелликула эмали

Поверхности зубов покрываются бесклеточной органической пленкой - приобретенной пелликулой эмали. Белки слюны, жидкости десневой борозды и бактерий полости рта в течение 1 мин селективно адсорбируются на чистой эмали и других доступных поверхностях зубов (например, корнях) и протезов. Пелликула формируется в течение 2 ч, но процесс ее созревания и стабилизации может занять несколько дней. К тому же компоненты пелликулы со временем могут подвергаться реорганизации. Следует отметить, что пелликула, по-видимому, не просто адсорбирована на эмали, а пенетрирует ее. На самоочищающихся поверхностях эмали пелликула имеет толщину 30-100 нм. Ее основные компоненты: богатые пролином белки, цистатины, лизоцим, sIgA, муцин MG1, лактоферрин, статерин и амилаза слюны; IgG, IgM и компонент C3-комплемента из десневой жидкости, а также фермент стрептококков глюкозилтрансфераза.

Основные функции пелликулы - защита эмалевых поверхностей от трения зубов о зубы или слизистую оболочку и противодействие деминерализации под влиянием бактериальных кислот и кислых пищевых продуктов. Защите способствует наличие в пелликуле молекул, способствующих смазыванию поверхностей зубов (например, муцина MG1) и их реминерализации (пролинсодержащие белки, статерин, цистатины). С другой стороны, приобретенная пелликула служит субстратом для инициальной адгезии первых бактерий, формирующих зубную бляшку. Бактерии начинают прикрепляться к пелликуле уже через несколько часов после ее образования, несмотря на действие нескольких врожденных антибактериальных факторов, а также sIgA-, IgG- и, возможно, IgM-антител.

В действительности эти иммунные молекулы, по-видимому, могут служить лигандами для прикрепления бактерий. Однако следует учитывать, что пелликула способствует селективному прикреплению безвредных бактерий и подавляет адгезию микроорганизмов, потенциально опасных для эмали.

Однако некоторые из них, например *Streptococcus mutans*, образующие внеклеточные гликозилтрансферазы с высокой аффинностью к поверхности эмали, внедряются в пелликулу. Указанные ферменты обеспечивают *in situ* синтез из сахарозы адгезивных полимеров гликана, которые при участии гликансвязывающих белков обеспечивают прикрепление *S. mutans*. Обычно у этой бактерии невысокая аффинность к пелликуле, и она не может эффективно конкурировать с первичными стрептококками за места связывания на поверхности зуба. В этой связи «сахарозный» механизм адгезии *S. mutans* к зубу можно рассматривать как следствие нарушения экологических процессов, приводящее к развитию заболевания.

9.2.8. Взаимодействие с микрофлорой полости рта

В норме эндогенная микрофлора - важный многофункциональный компонент системы естественной антиинфекционной защиты слизистых оболочек организма.

Комменсалы конкурируют с экзогенными бактериями за питательные вещества и рецепторы. Они также вырабатывают антибактериальные вещества, например бактериоцины. Кроме того, некоторые компоненты эндогенных микроорганизмов, например ЛПС, являются иммуностимуляторами -способствуют выработке перекрестно реагирующих (нормальных) антител и поддержанию экспрессии молекул МНС-II макрофагами и другими вспомогательными клетками. Значение нормальной микрофлоры можно оценить, изучив состояние больных после лечения пероральными антибиотиками широкого спектра действия. В результате подавления нормофлоры у них происходит колонизация слизистых оболочек устойчивыми бактериями и грибами (чаще *Candida albicans*), которые раньше вытеснялись или во многом подавлялись представителями комменсальной микрофлоры.

9.2.9. Секреция слюны и защитные факторы ротовой жидкости

Парные большие слюнные железы (околоушная, подчелюстная, подъязычная), наряду с множеством мелких желез по всей слизистой оболочке полости рта, за сутки образуют от 0,5 до 1,5 л слюны. При этом доля подчелюстной железы в среднем составляет 65%, околоушной -23%, подъязычной - 4%, малых желез - 8%, хотя пропорции могут изменяться в зависимости от условий стимулирования. Для целостности твердых и мягких тканей полости рта важна адекватность слюноотделения. Негативное влияние сниженного слюноотделения можно наблюдать у лиц после радиоактивного облучения области головы и шеи, нарушающего функции слюнных желез, или у больных после приема лекарственных средств, уменьшающих скорость слюноотделения. Слюна - гипотонический водный раствор, по осмотическому давлению близкий к плазме. Ее среднее значение рН - 6,7 (± 1). Наряду с неорганическими в ней содержатся органические вещества. Основные неорганические вещества слюны - электролиты (бикарбонат, хлорид, калий, натрий). Общая концентрация белка невелика - 2-3 г/л. В слюне содержатся: пищеварительный фермент амилаза, гликопротеины - смазочные вещества слизистой оболочки, кислые пролин- и тирозинсодержащие (статерин) белки - стабилизаторы ионов кальция и фосфата, а также множество специфических и неспецифических защитных факторов организма хозяина.

Муцины

Ввиду низкой вязкости в слюне функционирует преимущественно MG2, главное назначение которого состоит в агрегации микроорганизмов и их удалении из полости рта. Этому способствуют лектиноподобные взаимодействия между углеводными остатками молекулы MG2 и белковых рецепторов на поверхности бактерий. Например, слюна подчелюстной и подъязычной желез склеивает клетки некоторых стрептококков полости рта за счет сиаловой кислоты в боковых цепях муцинового гликана. В агрегации бактерий различных родов и видов, по-видимому, участвуют различные углеводы. Склеивание слюной бактерий полости рта - высокоэффективный способ ее очищения; вместе с тем, если муцины покрывают слизистую оболочку, такие взаимодействия могут способствовать прикреплению и удержанию бактерий на тканях.

Агглютинин

Близкий к муцину MG2-агглютинин слюны - высокогликозилированный белок, способный агглютинировать широкий круг бактерий полости рта. Оба эти соединения очень липкие и имеют тенденцию к образованию комплексов с другими белками слюны, например с sIgA и лактоферрином. Слюнной агглютинин идентичен гликопротеину gp340 из суперсемейства богатых цистеином рецепторов-«мусорщиков».

Белок эбнеровских желез. Этот ингибитор цистеиновых протеаз попадает в слюну из эбнеровских желез, расположенных у основания желобо- и листовидных сосочков спинки языка. Являясь многофункциональным, он может устранять продукты перекисления, обладает нуклеазной и, соответственно, потенциальной противовирусной активностью.

Гистатины

Это небольшие (7-38 аминокислотных остатков), многофункциональные, богатые гистидином нейтральные или основные пептиды. Среди их функций - регуляция роста кристаллов фосфата кальция, нейтрализация токсичных молекул, хелатирование, подавление цитокиновой и протеазной активности. Они проявляют также выраженную бактерицидную и фунгицидную активность, могут подавлять склеивание разнородных бактериальных клеток и опосредованную бактериями гемагглютинацию. В слюне обнаружено не менее 12 различных гистатиновых полипептидов. Гистатин 1 (длиной 38 аминокислотных остатков) и гистатин 3 (32 остатка) - продукты двух разных генов, а остальные представители этого семейства белков являются их производными (в результате усечения и/или протеолиза). Гистатин 5 - 24 N-концевые кислоты гистатина 3. На указанные три гистатина (1, 3 и 5), попадающие в слюну преимущественно с секретом околоушной железы, приходится около 80% всех гистатиновых белков слюны. Предполагают, что антибактериальный эффект гистатинов обусловлен повышением проницаемости мембраны в результате образования ионных каналов, что характерно для катионных белков. Противогрибковую активность гистатина 5 объясняют его способностью связываться с мембранными белками дрожжей и высвобождать клеточную АТФ, которая активирует грибковые АТФ-рецепторы. Не исключены и другие механизмы микробицидного действия.

Цистатины

Это суперсемейство белков - ингибиторов цистеиновых протеиназ. Поскольку многие инвазивные микроорганизмы применяют в ходе инфекции эти ферменты, цистатины можно считать важными факторами защиты макроорганизма. К тому же они, по всей видимости, участвуют в регуляции воспаления, подавляя протеолитическую активность клеток хозяина и способствуя активации цитокинов, что поддерживает целостность эпителиального барьера. По структуре и функциям можно выделить 3 семейства цистатинов: представителей 1-го выявляют внутри клеток; цистатины 2-го семейства (S, SA, SN, C и D) секретируются в слюну; 3-е семейство цистатинов представлено высокомолекулярными кининогенами. Среди последних лишь цистатин С обнаружен во всех секретах организма, остальные, по-видимому, встречаются только в слюне. Цистатины слюны состоят не менее чем из 9 изоформ, представляющих кислые, нейтральные и щелочные молекулы. По сравнению с гистатинами, цистатины крупнее (~14 кДа) и секретируются главным образом подчелюстной и подъязычной слюнными железами.

Ингибитор секретируемой протеазы лейкоцитов (ИСПЛ). Этот небольшой (12 кДа) катионный кислототолерантный негликозилированный белок, вырабатываемый серозными ацинарными и эпителиальными клетками, - обычный компонент слюны и других секретов. Его предполагаемая функция включает защиту мукозального эпителия от действия эластазы и катепсина В, выбрасываемых нейтрофилами при дегрануляции. Он проявляет также бактерицидные, фунгицидные свойства и противовирусную активность в отношении ВИЧ типа 1 (подавляет в соответствующих концентрациях инфекционность ВИЧ-1). ИСПЛ состоит из двух высокомолекулярных доменов, причем С-концевой домен имеет сайт подавления протеазы, N-концевой отвечает в целом за антибактериальную активность, а для реализации противовирусной активности требуется вся молекула. Противовирусная активность, по-видимому, проявляется на уровне клетки-мишени: ИСПЛ не влияет на связывание ВИЧ-1 с ней, но, вероятно, препятствует поступлению вируса в клетку и/или его «раздеванию». Механизм антибактериального действия ИСПЛ остается нерасшифрованным.

Тромбоспондин

Тромбоспондин 1 (TSP1) - высокомолекулярный трехмерный гликопротеин матрикса, который секретируется подчелюстной и подъязычной слюнными железами. Показано, что

он в соответствующих концентрациях *in vitro* подавляет инфицирование вирусом ВИЧ-1 мононуклеаров периферической крови, трансформированных промоноцитов и Т-клеток. Предполагаемый механизм - связывание сайтов С2 и С3 вирусного гликопротеина gp120, необходимого для взаимодействия с CD4⁺-клетками.

Хромогранин А. Этот белок слюны (76-аминокислотный N-концевой пептид), называемый еще вазостатином-1, проявляет антибактериальную и противогрибковую активность.

Лизоцим - основной белок массой 14,6 кДа, содержащийся во всех основных биологических жидкостях. В высоких концентрациях он присутствует в слюне, слезной жидкости, носовом и бронхиальном секретах. В слюну лизоцим поступает из слюнных желез и десневой борозды. У него несколько механизмов бактерицидного действия. Функционируя как мурамидаза, лизоцим разрывает связь между N-ацетилмурамовой кислотой и N-ацетилглюкозамином пептидогликана бактериальной клеточной стенки, способствуя развитию осмотического шока и гибели клетки. Он может также вызывать лизис, активируя аутолизины клеточной стенки. Показано также, что лизоцим проявляет бактерицидную активность без лизиса. Вместе с тем *in vitro* к лизоциму чувствительны немногие комменсальные бактерии полости рта, за исключением условий, когда pH более 10,5 или при добавлении солей, детергентов. Следовательно, *in vivo* бактериолиз может происходить только при колебаниях pH и ионной силы раствора, как, например, в зубной бляшке. Помимо бактерицидного действия и бактериолиза, лизоцим может эффективно агрегировать микроорганизмы и подавлять их адгезию к поверхности зубов и слизистой оболочки. В условиях *in vitro* показан синергизм действия лизоцима и других неспецифических факторов защиты (лактоферрина, пероксидазной системы слюны), а также sIgA.

vbПероксидазы. Во многих, если не во всех, секретах макроорганизма присутствуют пероксидазы. Пероксидазная активность слюны складывается из активности пероксидаз, образованных в слюнных железах, миелопероксидаз нейтрофилов и пероксидаз эозинофилов, поступающих из десневой борозды. Пероксидазы слюны катализируют переокисление тиоцианата (SCN⁻) и галоидов (Br⁻ и I⁻) H₂O₂ с образованием, помимо прочих продуктов, гипотиоцианита (OSCNT). Ион SCN⁻ - нормальный компонент проточной или цельной слюны, жидкости десневой борозды или зубной бляшки, а H₂O₂ образуется при аэробном метаболизме глюкозы у некоторых комменсальных бактерий ротовой полости. Окисляя ферменты гликолитического пути, содержащие чувствительные тиоловые группы, OSCNT может подавлять рост и выработку кислоты различными бактериями ротовой полости, включая стрептококки, лактобактерии и грибы. В кислой среде ион SCN⁻ переходит в незаряженную форму - HOSCN, которая быстро проходит через клеточную стенку, цитомембрану и поступает в цитозоль. В клетке нарушается важный для гликолиза баланс НАДН-НАДФН посредством пентозного шунта или с участием НАД-зависимой глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы. Могут повреждаться также белки клеточной мембраны или цитозоля. H₂O₂ очень токсична для эукариотических клеток, поэтому ее восстановление содержащейся в слюне пероксидазой до H₂O важно для защиты слизистой оболочки. Этот фермент сохраняет активность после адсорбции на гидроксиапатите и может функционировать в связке «эмаль-бляшка». Вместе с тем в его контакте с бактериями нет необходимости, поскольку OSCNT легко диффундирует. Имеются доказательства синергического взаимодействия пероксидазы слюны с лизоцимом, лактоферрином и sIgA. *Лактоферрин*

Этот многофункциональный железосодержащий белок (массой 78 кДа) синтезируют эпителиоциты желез и нейтрофилы. Его обнаруживают в слюне и большинстве секретов, омывающих слизистые оболочки организма. Лактоферрин существует в трех формах: железистого лактоферрина (занят 1 из 2 сайтов связывания железа), насыщенного лактоферрина (заняты оба сайта) и в форме, свободной от ионов железа (аполактоферрин).

Для правильного связывания железа требуется участие бикарбоната. Ввиду того что лактоферрин замедляет рост бактерий и грибов *in vitro*, возможно, он играет роль в защите слизистой оболочки хозяина. Антибактериальные свойства двух гликопротеинов - лактоферрина секретов и трансферрина плазмы - обусловлены их способностью связывать железо, лишая проникшие микроорганизмы этих важных для метаболизма ионов. За счет этого лактоферрин проявляет бактериостатическую активность в отношении широкого круга бактерий и грибов.

Вместе с тем лактоферрин обладает прямым бактерицидным действием на многие микроорганизмы и, хотя этот эффект зависит от связывания железа, он необратим даже после добавления ионов железа. Лактоферрин тесно связывается с оболочками грамположительных и грамотрицательных бактерий (возможно, нарушая структуру цитомембраны за счет переокисления липидов). Аполактоферрин гидролизуется пепсином с образованием 25-аминокислотного негликозилированного катионного пептида - лактоферрицина, который обладает выраженной антибактериальной активностью в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, но не связывает железо. Механизм этого действия неясен, но лактоферрицин может активировать аутолизины клеточной стенки и/или вызывать деполаризацию бактериальных цитомембран. Лактоферрин образует комплекс с sIgA, стабилизированных дисульфидными связями, и, вероятно, с sIgA и комплементом, что может способствовать антибактериальному эффекту в отношении некоторых бактерий.

Значение sIgA для врожденного иммунитета

Антигенсвязывающие домены некоторых sIgA слюны кодируются генами зародышевой линии VH или мутантными VH с нейтральной мутацией (как это бывает при индуцированной антигеном селекции). Такие sIgA полиреактивны, т.е. взаимодействуют с широким кругом антигенов бактерий и макроорганизмов (аутоантител). Предполагается, что эти полиспецифические антитела защищают слизистую оболочку до разворачивания выработки специфических sIgA, т.е. выдвигается гипотеза о функционировании на поверхности слизистой оболочки компонентов двух различных систем иммунитета. Одна из них примитивная, состоящая из Т-независимых самообновляющихся В-лимфоцитов (названных В1-клетками), образующая полиреактивные sIgA-антитела к антигенам комменсалов, пищевых продуктов и тканей хозяина. Другая - Т-зависимая система вторичных лимфоидных тканей слизистых оболочек, где IgA-продуценты проходят этап соматического гипермутирования и созревания аффинности. В результате такие клетки продуцируют моноспецифические антитела.

Значение субпопуляции $\gamma\delta$ -Т-клеток для врожденного иммунитета

В эпителии находится популяция внутриэпителиальных лимфоцитов (ВЭЛ), многие из них несут $\gamma\delta$ -Т-клеточный рецептор (TCR). $\gamma\delta$ -Т-лимфоциты экспрессируют очень ограниченные по разнообразию TCR и способны реагировать на антигены без клональной экспансии. По-видимому, такие лимфоциты распознают антиген не как пептид, представляемый молекулами МНС, а непосредственно, подобно активным центрам антител. Функции ВЭЛ до конца не выяснены. Вероятно, они включают распознавание антигенов, экспрессируемых инфицированными или стрессированными эпителиоцитами. $\gamma\delta$ -Т-лимфоциты могут играть роль в поддержании целостности эпителия путем секреции факторов роста и удаления поврежденных или инфицированных эпителиоцитов.

9.2.10. Секреция жидкости десневой борозды и защитные факторы десневой жидкости

Функция жидкости десневой борозды - промывание ранимой десневой борозды для удаления микроорганизмов, их продуктов и других вредных веществ. Край десны хорошо васкуляризован - он снабжается кровью и со стороны периодонтальной связки, и со стороны слизистой оболочки. Повторяющиеся капиллярные участки состоят из

прекапиллярной артериолы, артериальных и венозных капилляров и посткапиллярной вены. В норме жидкость десневой борозды - тканевый транссудат, поступающий в десневую борозду через межклеточное пространство в зоне соединительного и желобкового эпителия. Воспаление десен ведет к повышению проницаемости этой широкой капиллярной сети, расположенной непосредственно под указанными эпителиальными клетками. Это способствует усилению тока жидкости и изменению ее характера на плазмоподобный воспалительный экссудат с высоким содержанием иммуноглобулинов и клеток воспаления. Показано, что при тяжелом гингивите с верхних передних зубов можно за 15 мин собрать до 40 мкл десневой жидкости, т.е. за 1 сут в рот поступает 2-3 мл десневой жидкости. Учитывая, что концентрации IgG, IgA и IgM в плазме составляют соответственно 10, 3 и 3 мг/мл, это означает поступление в полость рта за 24 ч 20-30 мг IgG и по 6-9 мг IgA и IgM. Однако немногие иммуноглобулины сохраняют при этом функциональную целостность (см. ниже). Помимо источника указанных антител, десневая борозда - главный источник поступления в полость рта лейкоцитов (90% их представлено нейтрофилами, 3% - моноцитами и 2% - лимфоцитами). В смывах со здоровой десневой борозды В-лимфоцитов в 3 раза больше, чем Т-лимфоцитов, а количество нейтрофилов - 10^5 клеток/мл, что в 3 раза меньше, чем при гингивите. Нейтрофилы сохраняют способность к фагоцитозу и в десневой борозде, и в зубных бляшках.

9.2.11. Жидкость зубной бляшки и защитные факторы циркулирующие в биопленке

В недавнем исследовании с помощью конфокальной сканирующей лазерной микроскопии было установлено, что в норме биопленки бляшек на гладкой поверхности зубов имеют открытую разветвленную структуру с дискретным расположением биомассы. В целом архитектура бляшки - неравномерно распределенные клетки, внеклеточный матрикс и заполненные жидкостью каналы, часть из которых простирается от эмали до слюнной стороны бляшки. Циркулирующая в этих каналах жидкость (так называемая бляшечная жидкость) составляет до 1/3 объема бляшки. Посредством бляшечной жидкости сообщаются слюна, эмаль, цемент, жидкость десневой борозды и соединительный эпителий; в ней проявляются эффекты врожденной и специфической защиты от кариеса и периодонтального заболевания.

Сравнение неорганических и органических компонентов бляшечной жидкости со слюной и десневой жидкостью показывает, что первая не является простой смесью слюны и десневой жидкости. В бляшечной жидкости значительно больше, чем в слюне, общего IgA, IgG, IgM, компонента комплемента C3, лактоферрина, лизоцима и пероксидазы. Эти компоненты не только присутствуют в жидкости, но также связаны с биомассой (их можно элюировать кислыми буферами). Однако в исследовании защитных факторов бляшечной жидкости показано, что в течение нескольких дней формирования бляшки они массово разрушаются протеазами бактерий и хозяина.

9.3. КЛЕТОЧНЫЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ФАКТОРЫ АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА ПОЛОСТИ РТА

9.3.1. Иммуноглобулины и иммунитет слизистой оболочки

Поверхности слизистых оболочек, включая ротовую полость, у человека и других млекопитающих защищает так называемая система мукозального иммунитета. Слизистые оболочки ротовой и носовой полостей - основные ворота инфекции, через них поступает в организм большинство патогенных микроорганизмов. Эти слизистые оболочки нестерильны, колонизированы стабильными сообществами микроорганизмов - комменсальной или резидентной нормальной микрофлорой. Эти сообщества находятся с макроорганизмом в гомеостатической взаимосвязи (динамическом равновесии). Ввиду

полезности нормальной микрофлоры для хозяина его система мукозального иммунитета должна каким-то образом различать эндогенную микробиоту и вредные экзогенные микроорганизмы. Механизмы этого феномена не совсем понятны, но, вероятно, комменсалы индуцируют ограниченный мукозальный иммунный ответ.

Основной фактор мукозального иммунитета - sIgA. Кроме того, десневая борозда и, возможно, десневая треть коронок зубов защищены жидкостью десневой борозды. В ней содержатся IgG, IgM и IgA (поступившие из крови и выработанные местными плазмочитами десны). В отличие от преимущественно мономерных IgA плазмы, продуцируемых плазмочитами костного мозга, sIgA - полимерный иммуноглобулин (димер и нередко тетрамер). В составе этих ковалентно связанных полимеров имеются две дополнительные цепи - секреторный компонент (SC) и соединительная (J) цепь. J-цепь является продуктом плазматических клеток. Она необходима для связывания полимеров IgA с SC (в каждом полимере одна J-цепь). SC - гликопротеин, представляющий собой протеолитический фрагмент полимерного иммуноглобулинового рецептора (pIgR). Этот мембранный рецептор неизменно обнаруживают на базолатеральной поверхности эпителиоцитов, выстилающих слизистые оболочки экзокринных желез (например, ацинусов слюнной железы), он служит для транспорта в секрет полимеров с J-цепью. Секреторный IgA синтезируется местными плазмочитами вблизи мукозального эпителия и ацинусов желез. Следует отметить, что количество синтезированного за день IgA (плазматического и секреторного) превышает сумму 4 других изоформ иммуноглобулинов.

У IgA различают 2 подкласса - IgA1 и IgA2, а у IgA2 - 2 аллотипа: A2m(1) и A2m(2). В молекуле IgA2, по сравнению с IgA1, не хватает 13 аминокислот и 5 O-олигосахаридов в шарнирном участке. Указанная делеция придает молекуле устойчивость к IgA1-протеазам, образуемым некоторыми патогенными и комменсальными бактериями полости рта. В плазме почти все иммуноглобулины этого класса представлены IgA1, а в секретах на слизистых оболочках (например, слюне) - примерно в равных долях IgA1 и IgA2. Функционально IgA1, по-видимому, нацелены на белковые антигены, а IgA2 - на полисахариды. IgA в плазме и на слизистых оболочках отличаются также по срокам созревания: обычный для взрослых уровень IgA в плазме достигается в подростковом возрасте, а sIgA - в детском. Эти различия отражают не столько разное происхождение IgA, сколько важность мукозального иммунитета, который с первых дней жизни находится в контакте с мириадами поступающих извне чужеродных молекул.

Для эффективного функционирования на поверхности слизистой оболочки sIgA должны проявлять устойчивость к деградирующим ферментам бактерий и организма хозяина, что достигается несколькими путями. Чувствительная область шарнира защищена SC и гликозилированием этого участка тяжелой цепи, а у IgA2 - усечением тяжелой цепи, как описано выше. IgA1-протеазы расщепляют постпролиновые связи в сдвоенном октапептидном участке шарнира, который отсутствует у IgA2. Относительно высокое содержание IgA2 в секретах, по сравнению с плазмой, можно объяснить их устойчивостью к протеолизу.

Хотя защита слизистых оболочек в ходе эволюции всегда была важной функцией приобретенного иммунитета, значение sIgA в защите у человека остается загадкой. IgA - иммуноглобулиновый изоформ поздней эволюции, имеющийся только у млекопитающих и птиц. Более того, количество синтезируемого IgA соответствует сумме других 4 изоформ антител. Казалось бы, IgA должен играть существенную роль в защите слизистых оболочек, а люди с избирательным дефицитом IgA должны проявлять повышенную чувствительность к инфекционным заболеваниям слизистых оболочек. Однако дефицит IgA протекает чаще бессимптомно и обнаруживается случайно. Объясняется это избыточностью защиты слизистых оболочек хозяина: у многих лиц селективный дефицит IgA компенсируется транспортом в секреты не sIgA, а IgM. Последние также являются полимерами и имеют J-цепь, что позволяет им связываться с рецептором pIgR и транспортироваться в секреты.

Полезно различать влияние sIgA на преимущественно полезную комменсальную микрофлору и безвредные частицы от действия на проникающие извне патогенные микроорганизмы. В целом для роли sIgA на поверхности слизистых оболочек лучше всего подходит термин «иммунное исключение». С точки зрения поддержания целостности эпителиального барьера первостепенное значение имеет неспособность sIgA активировать комплемент (при его активации могли бы образоваться такие медиаторы воспаления, как C5a, C3a, C4a, способствующие разрушению указанного барьера). В этой связи sIgA считают противовоспалительным иммуноглобулином. К основным функциям sIgA относят предупреждение адгезии микроорганизмов к слизистой оболочке и проникновения антигенов через нее, а также нейтрализацию вирусов, токсинов и ферментов. Как указано выше, этому способствуют расположенные на поверхности эпителиоцитов рецепторы для SC, которые могут удерживать sIgA на эпителии. sIgA могут придавать бактериям мукофильность, снижать их отрицательный заряд и гидрофобность.

Кроме того, sIgA связываются с муцинами. Все эти свойства способствуют очищению поверхности слизистых оболочек от микроорганизмов и другого антигенного материала.

В слюне можно определить sIgA, реагирующие с множеством бактерий полости рта, и бактерии, покрытые sIgA. В числе первых гликопротеинов эти антитела адсорбируются на чистой эмали зубов и входят в состав ее пелликулы, сохраняя свою специфическую активность. Высокие концентрации IgA обнаруживают также в жидкой фазе зубной бляшки (см. ниже). sIgA могут подавлять прикрепление бактерий и грибов к буккальному эпителию, но, с другой стороны, могут подавлять или парадоксальным образом способствовать сорбции бактерий на гидроксиапатите (основном минерале зубной эмали). Конечно, являясь полимерным иммуноглобулином, sIgA эффективно склеивает бактериальные клетки, имеющие множество антигенных эпитопов, но очевидно и то, что боковые олигосахаридные цепи в области шарнира sIgA могут участвовать в лектин-рецепторных взаимодействиях с микроорганизмами. Приведет ли связывание микроорганизмов с sIgA к подавлению или стимуляции прикрепления к указанным поверхностям полости рта, зависит от места встречи с sIgA. Взаимодействие с бактериями в слюне, по-видимому, способствует клиренсу, а если иммуноглобулин входит в состав пелликулы, это может обуславливать прикрепление микроорганизмов к поверхности зуба. Аналогичным образом sIgA может подавлять активность некоторых бактериальных ферментов, а с другой стороны - повышать активность гликозилтрансфераз кариесогенных стрептококков.

У sIgA, по-видимому, несколько механизмов нейтрализации вирусов. Связывание sIgA с вирусной частицей блокирует ее прикрепление к клеточным рецепторам. Даже в очень низких для подавления адгезии концентрациях sIgA могут подавлять прикрепление и/или репликацию вирусов. Кроме того, во время транцитоза J-содержащих полимеров IgA, связавшихся с pIgR, sIgA может нейтрализовать внутриклеточные вирионы. Вместе с тем pIgR и Fc-рецепторы нейтрофилов, моноцитов, макрофагов и эозинофилов могут способствовать проникновению в указанные клетки некоторых вирусов, покрытых sIgA.

Считается, что sIgA уменьшает абсорбцию антигенов мукозальным эпителием. Возможно, проникшие антигены могут улавливаться полимерным IgA в подслизистом слое и возвращаться на поверхность слизистой оболочки (за счет связывания с pIgR и последующего транцитоза в составе иммунного комплекса, как описано выше).

9.3.2. Лимфоциты и местный иммунитет полости рта

Поступившие в ротовую полость иммуногены взаимодействуют с лимфоцитами GALT (*Gut-Associated Lymphoid Tissue*) (орофарингеальной частью кольца Вальдейера-Пирогова, а если антиген минует кислую среду желудка - пейеровыми бляшками кишечника). Данные о популяциях Т-лимфоцитов слизистых оболочек получены в основном при исследовании тонкой и толстой кишки. Они ясно показывают, что

соотношение различных фенотипов Т-клеток зависит не только от изучаемого отдела пищеварительной системы, но и от типа слизистой оболочки. В собственной пластинке (*lamina propria*), по-видимому, присутствуют Т-клетки иммунной памяти; около 2/3 - CD4⁺-Т-лимфоциты и почти все клетки экспрессируют рецептор αβ-TCR. У присутствующих здесь клеток выражена не столько пролиферативная активность, сколько способность продуцировать цитокины. Возможно, ввиду необходимости тщательного контроля за активацией в области слизистой оболочки с ее избытком антигенной нагрузки для активации CD4⁺-Т-лимфоцитов собственной пластинки требуется дополнительный CD2-сигнал. Баланс Т-лимфоцитов в собственной пластинке, где они обеспечивают защиту от внутриклеточных паразитов, поддерживают CD8⁺-Т-лимфоциты, экспрессирующие αβ-TCR.

К ВЭЛ относят Т-клетки, расположенные между эпителиоцитами над базальной мембраной. Они удерживаются здесь благодаря экспрессии особого интегрина, который связывается с E-кадгерином базолатеральной поверхности эпителиоцитов. Число ВЭЛ может достигать 1 на 46 эпителиоцитов. Фенотипически ВЭЛ намного разнообразнее Т-клеток собственной пластинки.

По-видимому, среди мишеней внутриэпителиальных γδ-Т-лимфоцитов находятся и атипичные молекулы МНС, экспрессируемые поврежденными эпителиоцитами. Функции ВЭЛ до конца не выяснены, но они, вероятно, включают надзор за поступлением патогенных микроорганизмов, поддержание целостности эпителиального покрова (за счет секреции ростовых факторов и удаления поврежденных или инфицированных эпителиоцитов) и регуляцию IgA-иммунного ответа.

В-лимфоциты в ротовой полости расположены в собственной пластинке и особенно вблизи ацинусов больших и малых слюнных желез, где почти все они синтезируют IgA. Например, почти 90% образующихся плазмочитов околоушной и подчелюстной желез продуцируют IgA, а остальные - IgM или IgG. На гистологических срезах этих желез в 1 мм² можно насчитать 50-100 IgA-образующих клеток.

9.4. ИММУННОЕ РЕГУЛИРОВАНИЕ РЕЗИДЕНТНОЙ МИКРОФЛОРЫ ПОЛОСТИ РТА

Отсутствие определенных типов бактерий в ротовой полости может быть следствием иммунного подавления, хотя известно, что для индигенной микрофлоры характерно исключение вновь вводимых в нее бактерий.

Хотя в слюне содержится набор секретируемых иммунных компонентов, известно, что многие бактерии способны колонизировать поверхности зубов и слизистой оболочки полости рта, неизменно присутствуя в сформированных здесь бактериальных сообществах. По-видимому, послеродовая колонизация слизистых оболочек комменсальными бактериями управляет развитием системы приобретенного иммунитета.

Возможно, иммунная система младенца в ряде случаев не может противодействовать колонизирующим бактериям и выживание штаммов обусловлено их физиологическими особенностями либо имеет место селективная элиминация бактерий, не свойственных ротовой полости, но пытающихся ее колонизировать.

Резидентные бактерии, вероятно, не являются мишенями, не повреждаются или могут уклоняться от действия гуморального иммунитета. Высказано мнение, что состав резидентной микрофлоры кишечника контролирует комбинация иммунных механизмов и бактериального антагонизма. Подобная ситуация, вероятно, имеет место и в ротовой полости.

Вопрос о регуляции антителами (sIgA) комменсальных бактерий в полости рта актуален ввиду того, что два основных патологических процесса - кариес и периодонтальное заболевание - вызывают представители эндогенной микрофлоры.

9.4.1. Колонизационная резистентность к кариесогенным стрептококкам и развитие кариеса

Выявление в качестве основной причины кариеса зеленеющих стрептококков вида *S. mutans* стимулировало изучение вопроса о существовании естественной иммунной защиты против них и возможности ее усиления активной иммунизацией. Иммунитет к бактериям полости рта могут опосредовать секреторные (sIgA) или циркулирующие в крови антитела, а затем проникшие в десневую жидкость IgG и IgM. В данном случае значение мукозального или системного иммунитета зависит во многом от того, насколько можно считать кариес мукозальной инфекцией.

В поперечных исследованиях предпринимались многочисленные попытки установить корреляцию уровней IgA слюны или IgG и IgM сыворотки, специфичных для антигенов *S. mutans*, с устойчивостью или чувствительностью к кариесу. Сложность задачи состоит в том, что отсутствует корреляция между имеющимся уровнем антител и количеством кариозных поражений. Ко времени кариозных проявлений (когда берут пробы) иммунный процесс мог протекать в течение месяцев или лет и быть уже неактивным. Более того, для бактерий полости рта, подобно бактериям кишечника, характерно перекрестное реагирование, что ставит под сомнение получаемые результаты, если только в исследовании не использовали видоспецифические антигены. Соответственно, в разных исследованиях показаны и прямые, и обратные связи между чувствительностью к кариесу и sIgA (в секретах желез или в слюне). Это не позволяет пока прояснить ситуацию.

9.4.2. Избирательный секреторный иммунодефицит по IgA

Признавая роль sIgA в регуляции микрофлоры полости рта, следует ожидать, что при селективном IgA-иммунодефиците чувствительность к кариесу и частота распространения *S. mutans* по сравнению с нормой будут более высокими. Однако если в одних исследованиях это подтверждается, то в других не обнаружена связь между иммунодефицитом и кариесом или периодонтальным заболеванием. В некоторых исследованиях установлено даже, что больные с иммунной дисфункцией реже болеют кариесом по сравнению с иммунокомпетентными лицами.

9.4.3. Возможности иммунизации от кариеса

Наиболее четкое подтверждение роли местных sIgA и/или циркулирующих IgG/IgM в регуляции микробиоты полости рта получено в исследованиях на экспериментальных животных, в основном грызунах и приматах. Их иммунизировали антигенами или целостными клетками *S. mutans* тем или иным путем (для преимущественного синтеза антител определенного класса), а затем заражали штаммом, использованным для иммунизации.

В целом у животных, иммунизированных парентерально или мукозальным путем, обнаружено меньше *S. mutans*, меньше бляшек и кариозного поражения по сравнению с контролем (иммунизированных плацебо). Вместе с тем у исследований на грызунах есть некоторые ограничения, прежде всего, экологического порядка: *S. mutans* не является нормальным обитателем ротовой полости грызунов, хотя от диких крыс выделен близкородственный стрептококк (*S. rattus*).

Как упоминалось выше, организм хозяина по-разному реагирует на эндогенные и экзогенные бактерии. К тому же многие исследования проведены на безбактериальных грызунах, что не позволяло оценить роль интактной микробиоты ротовой полости. Во-вторых, с 24-26-го дня жизни крысы становятся все более устойчивыми к кариесу. Обычно иммунизацию животных начинают сразу после окончания периода грудного

вскармливания, т.е. через 19-21 сут, а заражают их кариесогенными бактериями только через несколько недель, когда животные уже высокоустойчивы к кариесу. В действительности, по сравнению с 30-м днем жизни, к этому времени чувствительность крыс к кариесу гладких поверхностей падает на 90%. В-третьих, в дизайне экспериментов постоянно отсутствовала группа животных, получающих известный кариесостатический препарат типа фтора для положительного контроля, с которым можно сравнивать эффект иммунизации. Наконец, в экспериментах часто задействовали слишком малые для статистического анализа группы животных и не всегда понятны способы подсчета кариеса. Указанные ограничения не позволяют объективно оценить полученные на грызунах данные и экстраполировать их на организм человека.

Возможность защиты от кариеса у обезьян, а затем и человека, путем внутривенной иммунизации с введением *S. mutans* впервые показал *W.H. Bowen*. Затем эти данные подтвердили другие исследователи. Понятно, что защита после парентеральной иммунизации вряд ли опосредована sIgA, поскольку системная иммунизация обычно не индуцирует мукозальный иммунитет. В данном случае, по-видимому, защита обусловлена IgG, проникшими из плазмы в полость рта через десневую борозду.

Хотя парентеральная иммунизация стрептококками вида *S. mutans* позволяет защитить от кариеса грызунов и, что важно, обезьян, есть опасения, что после подобной иммунизации у людей инфицирование другим стрептококком - *S. pyogenes* - может способствовать развитию ревматизма и острого гломерулонефрита. Предполагают, что эти заболевания - следствие способности определенных М-типов *S. pyogenes* индуцировать у человека синтез аутоантител и появление аутореактивных Т-лимфоцитов (в отношении суставов, миокарда, клапанов сердца, сарколеммы миокардиоцитов, интимы кровеносных сосудов, кожи, почек, мозга).

Помимо молекулярной (антигенной) мимикрии некоторые антигены *S. pyogenes* могут функционировать в качестве суперантигенов. Последние неспецифически связываются с молекулами МНС-II макрофагов и доменами TCR CD4⁺-Т-лимфоцитов. Это приводит к активации указанных клеток, среди которых могут быть аутореактивные.

Известно, что кролики, иммунизированные *S. mutans*, продуцируют антитела, реагирующие с сарколеммой и скелетной мышечной тканью человека. Более того, *S. mutans* может сорбировать аутоантитела к ткани сердца, присутствующие в сыворотках больных ревматизмом людей.

Естественно, эти факты не позволяют использовать для парентеральной иммунизации целостные клетки или даже субклеточные вакцины, если иммуноген имеет общие эпитопы с тканями человека. До тех пор пока не станет возможным исключить наличие таких эпитопов в составе иммуногена, применение у людей парентеральных вакцин против кариеса будет маловероятным.

Интерес к разработке мукозальной иммунизации обусловлен не столько пониманием важности защитной роли sIgA слюны при кариесе - мукозальной инфекции, сколько представлением о том, что мукозальный иммунитет можно индуцировать при полном отсутствии в кровотоке перекрестно реагирующих с тканями человека антител. Хотя ранние эксперименты указывали на независимость мукозального и системного иммунитета, это не факт, так как мукозальная иммунизация все же индуцирует синтез циркулирующих антител.

Следовательно, любой предполагаемый иммуноген для мукозальной вакцины должен соответствовать тем же критериям, что и для парентеральной, - не иметь одинаковых с тканями человека эпитопов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В организме человека и в полости рта функционируют сложные взаимодополняющие системы защиты хозяина. Поверхности зубов и слизистой оболочки постоянно омываются слюной из больших и малых слюнных желез. В области десневой манжеты, охватывающей коронку зуба, вытекает жидкость десневой борозды, промывающая эту ранимую область. Между индигенной микрофлорой и защитными реакциями хозяина в норме устанавливается динамическое равновесие.

Основная патология полости рта - кариес, и заболевания пародонта - результат экологического дисбаланса между резидентными бактериями и иммунитетом хозяина. В полости рта можно выделить три уровня защиты. Неспецифическую защиту обеспечивают барьеры поверхностей слизистой оболочки и зубов, антибактериальные факторы слюны и десневой жидкости, а также клетки воспаления. Факторы первого уровня защищают от микроорганизмов в слюне до и после их адгезии к поверхностям, способствуя инактивации возбудителей и очищению полости рта.

Второй уровень защиты - воспаление, которое локализует возбудителя в участке проникновения, если первый уровень защиты преодолен. В ходе воспаления используются различные распознающие возбудитель рецепторы, действующие в растворе или на поверхности фагоцитов - нейтрофилов, макрофагов, эозинофилов. Врожденный иммунитет неспецифичен, для него не требуется предварительного контакта с возбудителем - он в постоянной готовности и быстро защищает от инфекции.

Воспаление служит связующим звеном между врожденным и приобретенным иммунитетом, так как фагоциты могут действовать не только неспецифически - их активность повышают секретируемые продукты В- и Т-лимфоцитов.

Третий уровень защиты - приобретенный специфический иммунитет, опосредованный sIgA слюны, а также IgG, IgM и эффекторными Т-лимфоцитами тканей полости рта. sIgA блокируют адгезию микроорганизмов и вирусов на поверхности слизистой оболочки полости рта и, таким образом, обеспечивают иммунное исключение бактерий на поверхности слизистой оболочки. Если микроорганизмы, преодолевшие барьер слизистой оболочки, не сдерживаются фагоцитами, в очаг затем привлекаются IgM и IgG.

Следует подчеркнуть, что, в отличие от сосудистой или лимфатической системы (замкнутых трубчатых систем), слизистая оболочка - открытая система. Все слизистые оболочки постоянно омываются секретами тесно связанных с ними экзокринных желез, например слюнных.

Персистирующие микроорганизмы в этой связи должны обладать способностью прикрепляться к поверхности слизистой оболочки и зубам или хотя бы обеспечить достаточно высокую скорость размножения в слюне (превышающую скорость разведения ротовой жидкостью).

В норме в организме человека существует динамическое равновесие между эндогенной микрофлорой полости рта и антибактериальными факторами. В связи с этим необходимо подчеркнуть, что основные заболевания полости рта - кариес зубов и заболевания пародонта - следует рассматривать как результат экологического дисбаланса между компонентами резидентной микрофлоры и иммунной защитой хозяина.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Укажите один правильный ответ.

1. Антигены - это:

а) гены организма, отвечающие за формирование резистентности;

- б) гены микроорганизмов, отвечающие за формирование патогенности;
- в) гены микроорганизмов, отвечающие за образование токсинов;
- г) вещества, против которых в организме формируется реакция специфического противодействия;

д) чужеродная генетическая информация.

2. Антитоксины - это:

а) токсические вещества, против которых в организме формируется реакция специфического противодействия;

б) иммуноглобулины класса Е;

в) иммуноглобулины к бактериальным экзотоксинам;

г) иммуноглобулины класса D;

д) антитела к бактериальным нуклеотидам.

3. Анатоксины - это:

а) антитела к экзотоксинам;

б) экзотоксин, лишенный токсичности;

в) эндотоксин, лишенный токсичности;

г) антитела к эндотоксинам;

д) антитоксические антитела.

4. Домен - это:

а) часть генома бактерии;

б) специфическая часть антигена;

в) часть цепи иммуноглобулина;

г) часть генома организма;

д) активный центр антитела.

5. МНС-белки I класса синтезируются:

а) всеми бактериями;

б) только патогенами;

в) всеми ядерными клетками организма;

г) только лимфоцитами;

д) только макрофагами.

6. МНС-белки II класса синтезируются:

а) всеми бактериями;

б) только патогенами;

в) только макрофагами и В-лимфоцитами;

г) только хламидиями;

д) вирусами.

7. Деление антител на классы основано:

а) на строении L-цепей;

б) строении H-цепей;

- в) строении C_H-фрагмента;
- г) строении C_L-фрагмента;
- д) строении активного центра.

8. Комплемент - это:

- а) система белков сыворотки крови теплокровных;
- б) система поверхностных белков наружной мембраны бактерии;
- в) добавочный обязательный компонент в реакции преципитации;
- г) добавочный полисахаридный компонент молекулы иммуноглобулина;
- д) система поверхностных белков внутренней мембраны бактерий.

9. Антитела синтезируются:

- а) незрелыми В-лимфоцитами;
- б) гистиоцитами;
- в) плазмоцитами;
- г) нейтрофилами;
- д) Т-лимфоцитами.

10. Созревание Т-лимфоцитов происходит:

- а) в костном мозге;
- б) тимусе;
- в) щитовидной железе;
- г) надпочечниках;
- д) печени.

11. Созревание В-лимфоцитов происходит:

- а) в костном мозге;
- б) тимусе;
- в) щитовидной железе;
- г) надпочечниках;
- д) печени.

12. Плазмоциты осуществляют следующую функцию:

- а) фагоцитоз;
- б) синтез антител;
- в) синтез гормонов;
- г) синтез монокинов;
- д) синтез комплемента.

13. Лимфоциты играют основополагающую роль в процессе:

- а) свертывания крови;
- б) гемолиза;
- в) фагоцитоза;
- г) иммунитета;
- д) лизиса.

14. Фиксированный суперантиген представлен на мембране:

- а) макрофага;
- б) Т_H-лимфоцита;
- в) Т_K-лимфоцита;
- г) NK-лимфоцита;
- д) эозинофила.

15. Т_H-лимфоцит воспринимает фиксированный суперантиген в комплексе:

- а) с МНС-белком I класса;
- б) МНС-белком II класса;
- в) интерлейкином-2;
- г) свободным суперантигеном;
- д) комплементом.

16. Рецептор Т_H-лимфоцита, воспринимающий сигнал от макрофага, активируется:

- а) интерлейкином-1;
- б) интерлейкином-2;
- в) С₁-эстеразой;
- г) С₃конвертазой;
- д) лизоцимом.

17. Гиперчувствительность немедленного типа обеспечивается:

- а) IgG;
- б) IgA;
- в) IgE;
- г) Т-киллерами;
- д) IgM.

18. Гиперчувствительность замедленного типа обеспечивается:

- а) IgG;
- б) IgA;
- в) IgE;
- г) Т-киллерами;
- д) IgM.

19. Поверхностные структуры макромолекулы, обеспечивающие специфичность антигена, называются:

- а) эпитопом;
- б) паратопом;
- в) анатопом;
- г) доменом;
- д) детергентом.

20. Свойство антигена индуцировать иммунный ответ называется:

- а) антигенностью;

- б) специфичностью;
- в) гетерогенностью;
- г) макромолекулярностью;
- д) иммуногенностью.

Укажите правильные ответы.

21. Факторами неспецифической резистентности организма являются:

- а) система комплемента;
- б) интерферон;
- в) лизоцим;
- г) В-лимфоциты;
- д) нормальная микрофлора;
- е) кожные покровы.

22. Факторами специфической резистентности являются:

- а) Т-лимфоциты;
- б) иммуноглобулины;
- в) фагоциты;
- г) интерлейкины;
- д) ферменты полости рта и пищеварительной системы;
- е) плазматические клетки.

23. Барьерная функция кожи и слизистых оболочек обусловлена:

- а) кислым рН благодаря молочным и жирным кислотам;
- б) лизоцимом;
- в) антагонистической микрофлорой;
- г) Т-киллерами;
- д) слизью, мешающей прикреплению бактерий, и мерцательным эпителием;
- е) активностью циркулирующих иммуноглобулинов.

24. Гуморальными факторами неспецифической резистентности являются:

- а) агглютинины;
- б) интерфероны;
- в) белки острой фазы;
- г) антитоксины;
- д) свертывающая система крови;
- е) лизоцим.

25. Факторами неспецифической резистентности ротовой жидкости являются:

- а) циркулирующие иммуноглобулины;
- б) секреторные иммуноглобулины;
- в) миелопероксидаза слюны;
- г) Т-лимфоциты.

26. Численность грамположительных микроорганизмов полости рта контролируется преимущественно:

- а) системой комплемента;
- б) лизоцимом (N-ацетилмурамилгидролазой);
- в) циркулирующими иммуноглобулинами;
- г) макрофагами.

27. Специфическими факторами защиты жидкости, действующими в ротовой полости, являются:

- а) лизоцим и миелопероксидаза;
- б) компоненты комплемента и пропердин;
- в) гранулоциты и фибробласты;
- г) sIgA.

Ответы к тестовым заданиям

1 - г; 2 - в; 3 - б; 4 - в; 5 - в; 6 - в; 7 - в; 8 - а; 9 - в; 10 - б; 11 - а; 12 - б; 13 - г; 14 - а; 15 - б; 16 - б; 17 - в; 18 - г; 19 - а; 20 - д; 21 - а, б, в, д, е; 22 - а, б, е; 23 - а, б, в, д; 24 - б, в, д, е; 25 - в; 26 - б; 27 - г.

Часть 3. МЕТОДЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ В СТОМАТОЛОГИИ.

ГЛАВА 10. ОБЩИЕ ПРАВИЛА И НОРМАТИВЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ БИОТОПОВ ПОЛОСТИ РТА

10.1. ПРАВИЛА И НОРМАТИВЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

При пародонтите выявляется значительный сдвиг (качественного или видового состава микрофлоры) в сторону грамотрицательных анаэробных палочковидных форм и спирохет, количество которых возрастает до 40%. Также изменяется соотношение подвижных форм к неподвижным до 1:1 (при отсутствии патологии - 1:49). При анализе основных видов стабилизирующей микрофлоры отмечается резкое увеличение количества представителей таких видов, как *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus milleri*, *Peptostreptococcus spp.*, *Propionibacterium spp.* и некоторых других.

Выделение и идентификацию бактерий осуществляют с помощью классического бактериологического метода в условиях аэробного и анаэробного культивирования. Однако не все представители микрофлоры при пародонтите, особенно вирулентные штаммы пародонтопатогенных видов, удается выделить с помощью бактериологического метода. Так, отнести *Bacteroides forsythus*, *Treponema denticola* к пародонтопатогенным позволили постоянное их выявление с помощью ПЦР при пародонтите и полученные доказательства их внутриклеточного паразитизма.

Возникновение и развитие заболеваний слизистой оболочки полости рта и пародонта связаны с появлением в области десневой борозды преимущественно грамотрицательных анаэробных бактерий, которые являются представителями трех основных видов: *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (новое название - *Aggregatibacter actinomycetem-comitans*), *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus* (новое название - *Tannerella forsythia*). По выражению А. Момбелли, они являются ключевым фактором и маркером начинающейся деструкции тканей пародонта.

Наиболее выраженная корреляция между деструкцией тканей пародонта и наличием определенного вида микроорганизмов отмечена также для грамотрицательных облигатно-анаэробных бактерий группы бактероидов (*Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*) и извитых форм - *Campylobacter rectus*, *Treponema denticola*. Экзо- и эндотоксины, продуцируемые этими микроорганизмами, вызывают длительное воспаление и разрушение тканей.

Анаэробная микрофлора ротовой полости включает две группы видов.

• Группа I - пародонтопатогенные виды. Представителей данных видов на деснах в норме (за исключением случаев «здорового носительства» в 6-12% случаев) вообще быть не должно:

- *Bacteroides (Tannerella) forsythia* - от 10^2 КОЕ/мл;
- *Porphyromonas gingivalis* - от 10^2 КОЕ/мл;
- *Prevotella intermedia* - от 10^3 КОЕ/мл;
- *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* - от 10^2 КОЕ/мл;
- *Treponema denticola* - от 10^3 КОЕ/мл;
- *Fusobacterium spp.* - от 10^4 КОЕ/мл;
- *Actinomyces spp.* - от 10^4 КОЕ/мл;
- *Streptococcus intermedius* - от 10^5 КОЕ/мл;

- *Candida spp.* - от 10^2 КОЕ/мл.

• Группа II - стабилизирующие виды. Представители этих видов присутствуют всегда (если нет дисбиоза) и, как правило, в значительном количестве. Некоторые виды, напротив, присутствуют не всегда и в малом количестве (при повышении содержания такие микроорганизмы могут вызывать патологию):

- *Veillonella spp.* - 10^2 - 10^7 КОЕ/мл;
- *Streptococcus sanguis* - до 10^6 КОЕ/мл;
- *Streptococcus salivarius* - 10^2 - 10^7 КОЕ/мл;
- *Streptococcus mutans* - до 10^6 КОЕ/мл;
- *Streptococcus milleri* - до 10^4 КОЕ/мл;
- *Peptostreptococcus spp.* - до 10^5 КОЕ/мл;
- *Corynebacterium spp.* - до 10^6 КОЕ/мл;
- *Propionibacterium spp.* - до 10^4 КОЕ/мл;
- *Lactobacillus spp.* - 10^2 - 10^7 КОЕ/мл;
- *Haemophilus spp.* - до 10^4 КОЕ/мл;
- *Enterococcus spp.* - до 10^5 КОЕ/мл;
- *Enterobacterium spp.* - до 10^3 КОЕ/мл.

Микроорганизмы, выделенные из пародонтального кармана, со слизистой оболочки полости рта и языка, из одонтогенных очагов с помощью бактериологического и молекулярно-генетического (ПЦР) методов, по морфологическим, культуральным, биохимическим, антигенным, вирулентным свойствам можно подразделить на следующие основные группы (рабочая лабораторная классификация).

1. Пигментообразующие бактериоиды: грамотрицательные, строго анаэробные палочки - *Bacteriodes forsythus* (*Tannerella forsythia*), *Prevotella intermedia*, *P. nigrescens*, *Porphyromonas gingivalis*.

2. Различные грамотрицательные анаэробные бактерии - *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium spp.*, *Eikenella corrodens*, *Treponema denticola*, *Campylobacter rectus*.

3. Грамположительные анаэробные бактерии - *Actinomyces naes-lundii*, *A. israeli*, *A. viscosus*, *Peptostreptococcus micros*, *Streptococcus intermedius*.

4. Стабилизирующая резидентная флора (представители видов, поддерживающих нормальный количественный и качественный состав микрофлоры десневого желобка) - *Veillonella spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Streptococcus salivarius*, в частности виды, количественно возрастающие при развитии патологического десневого кармана - *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus milleri*, *Peptostreptococcus anaerobius*.

5. Срансбионты - бактерии, свойственные преимущественно другим биотопам: *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas aeruginosae*, *Haemophilus spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus spp.*

6. Дрожжеподобные грибы рода *Candida* - *C. albicans*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *Candida spp.*

7. Вирусы - представители семейства *Herpesviridae*: вирусы простых типов 1, 2 (*H. simplex*), вирус Эпштейна-Барр, цитомегаловирус и др.

Первые три группы микроорганизмов, безусловно, относят к пародонтопатогенным видам. И хотя они играют ведущую роль в развитии гингивита и пародонтита, они же, как правило, становятся доминирующими в ассоциациях микроорганизмов - возбудителей других видов инфекционных процессов в полости рта: пульпитов, периодонтитов, абсцессов, флегмон, остеомиелитов, осложнений внутрикостной имплантации, протезирования и т.п. По-видимому, это происходит из-за свойственных им выраженных патогенных свойств и высокой вирулентности.

Грибы и вирусы (группы 6 и 7), по-видимому, играют роль при генетической предрасположенности и развитии определенных дефектов иммунной системы.

Прочие группы (4-5) играют роль как осложняющий фактор, обычно при тяжелой сопутствующей патологии (например, сахарном диабете, заболеваниях крови).

Обнаружение этих микроорганизмов, регистрация увеличения их количества и степени вирулентности позволяют не только правильно поставить этиологический диагноз заболевания, но и провести рациональную антибиотикотерапию, определив чувствительность основных видов возбудителей к антибактериальным препаратам.

Характер ассоциаций микроорганизмов при пародонтите указан в табл. 10-1.

Таблица 10-1. Характер ассоциаций микроорганизмов при пародонтите

Основные компоненты	Число выделенных ассоциаций	
	абс.	%
Пигментообразующие бактероиды, грамположительные и грамотрицательные анаэробы	23	27,7
+ трансбионтная микрофлора	9	10,8
Грамположительные и грамотрицательные анаэробы	24	28,9
+ трансбионтная флора	11	13,3
+ грибы рода <i>Candida</i>	7	8,4
Грамположительные анаэробы	24	28,9
+ трансбионтная микрофлора	13	15,7
+ грибы рода <i>Candida</i>	7	8,4

В настоящее время для обследования стоматологических пациентов рекомендуют следующие *методы диагностики*, которые будут подробно рассмотрены в последующих главах.

- Микроскопическое исследование - носит ориентировочный характер и позволяет уточнить гигиеническое состояние десен и полости рта.

- Классический бактериологический метод с выделением и идентификацией аэробных, факультативно-анаэробных и облигатных анаэробов, а также дрожжеподобных грибов рода *Candida*.

- Определение чувствительности к бактериальным препаратам методом дисков или микрокасетным методом.

- Молекулярно-генетический метод - ПЦР для выявления пародонтопатогенов и вирусных антигенов семейства *Herpesviridae* (вирус герпеса 1 и цитомегаловирус), а также определение генов резистентности с помощью ПЦР.

- ИФА и иммуноблоттинг (определение антител к грибам *Candida*, хламидиям, вирусам герпеса и др.).

10.2. ПОЛУЧЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА ИЗ ПОЛОСТИ РТА

10.2.1. Основные методики получения (взятия) материала

Для бактериоскопического и бактериологического исследований разработаны следующие методики.

Соскабливание стерильным металлическим инструментом (гладилкой, экскаватором, зондом, кюретажной ложкой). При таком способе получения материала количественный учет проводят в пересчете на 1 г исследуемого материала. Однако подобные измерения весьма неточны из-за технических трудностей.

Взятие с помощью эндодонтических штифтов или микрощеток (микробрашей). Эндодонтические абсорбирующие штифты состоят из конусообразных рулончиков очень тонкой фильтровальной бумаги со стандартным сорбируемым объемом жидкости. Ими можно собирать густые бактериальные суспензии даже из очень глубоких пародонтальных карманов, но при этом в пробу попадают и свободно плавающие («планктонные») бактерии. Пересчет проводят на 1 мл жидкости.

Взятие отпечатков с помощью полимерной адгезивной пленки из диплена без антибиотиков («Диплен-Дента», фирма «Норд-Ост», РФ). Квадратик, вырезанный из диплена, накладывают на участок слизистой оболочки на стандартное время (60 с), после чего снимают пинцетом вместе с прилипшей биопленкой. Пересчет проводят на 1 см² поверхности зуба, протеза или слизистой оболочки. Однако метод трудновыполним технически при исследовании пародонтального кармана.

Взятие материала из полостей или воспалительных очагов традиционными методами - с помощью тампона, который помещают в транспортную среду, или шприца. Возможно также и получение материала с помощью металлических кюретажных инструментов (рис. 10-1). Для молекулярно-генетического исследования предпочтительно взятие материала с помощью эндодонтических штифтов или микрощеток, помещаемых сразу в стерильные закрывающиеся пробирки типа «Эппендорфф» (рис. 10-2). Для иммунологического исследования берут кровь из вены в пробирки с гепарином или цитратом натрия, для получения сыворотки крови - в сухие пробирки без антикоагулянтов. Существуют также микрометодики забора крови десны, которые, однако, плохо поддаются стандартизации.



Рис. 10-1. Взятие материала тампоном и гладилкой

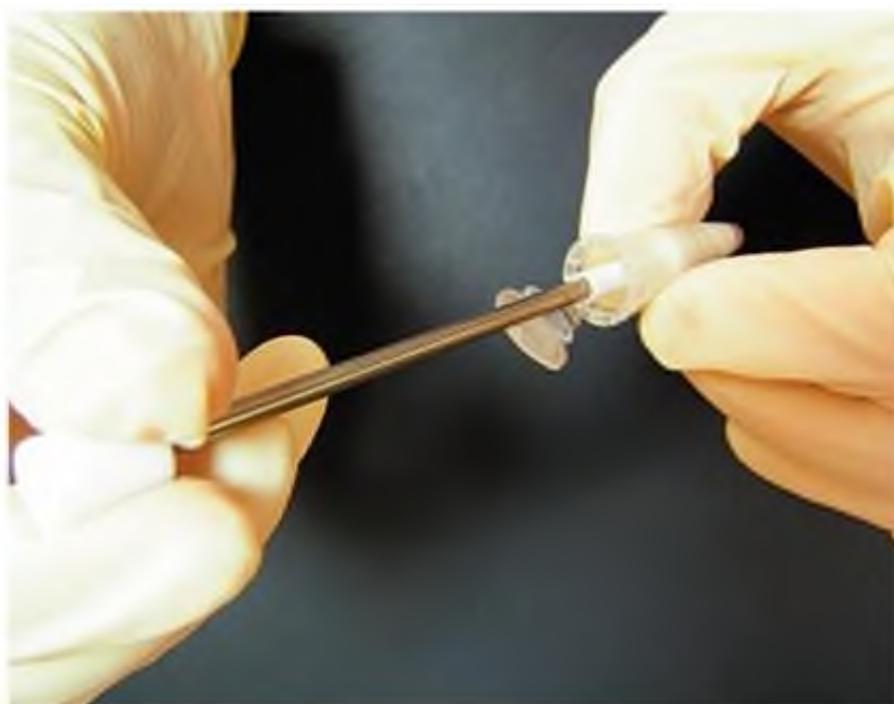


Рис. 10-2. Материал для последующего выделения ДНК помещают в пробирку «Эпандорфф»

10.2.2. Особенности получения материала из различных биотопов

Различные биотопы полости рта имеют разный состав микрофлоры и существенные отличия формируемых ассоциаций. Их объединяет лишь то, что они представлены биопленками с фиксированными в них бактериями. Незакрепленные («планктонные») бактерии быстро удаляются из полости рта биологическими жидкостями.

Исследования показывают наличие характерных бактериальных пейзажей слизистой оболочки полости рта, щек, языка, зубов, десневой борозды, пародонтального кармана. Такие подходы часто используют в скрининговых исследованиях, но для получения более репрезентативного результата необходимо получить биопленку из соответствующего участка полости рта (например, зубную бляшку).

Количественное изучение микрофлоры слизистой оболочки проводят микроскопически - с помощью отпечатков на стекле или бактериологически - методом отпечатков на агаровые блоки с последующим подсчетом числа колоний, выросших на 1 см² пластины (КОЕ/см²). В норме этот показатель составляет от 200 до 20 000.

Количественное изучение микрофлоры слизистой оболочки языка проводят микроскопически - с помощью отпечатков на стекле или бактериологически - методом отпечатков на агаровые блоки с последующим подсчетом числа колоний, выросших на 1 см² пластины. В норме этот показатель составляет от 10 тыс. до 1 млн КОЕ/см². Для получения пробы со спинки языка можно использовать специальное стерильное лезвие для соскоба.

Для стерильного исследования слюны в настоящее время используют различные канюли, фиксируемые в области выводного протока слюнной железы, однако надежность этого метода ограничена. Затем выполняют посев на питательные среды для анаэробного культивирования.

Для исследования содержимого пародонтального кармана и десневой жидкости обычно используют метод количественного забора микропипетками, канюлями, капиллярами. Концентрация бактерий в десневой жидкости у здорового человека составляет не более 100 тыс. клеток в 1 мл (КОЕ/мл), а при развитии гингивита или пародонтита составляет десятки и сотни миллионов.

Для изучения микрофлоры ротовой жидкости используют количественное культуральное исследование. Получить пробу ротовой жидкости для исследования несложно, но в ней содержится смесь бактерий из различных экосистем. Для обогащения слюны бактериями зубов участникам обследования (перед сбором слюны) дают пожевать парафин или жевательную резину. Концентрация бактерий в зависимости от методики забора и культивирования составляет в норме от нескольких десятков миллионов до миллиардов клеток в 1 мл.

Для изучения состава биопленки зуба используют методику взятия материала зондом или металлическим шпателем 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 КОЕ на 1 г материала (КОЕ/г).

ГЛАВА 11. МИКРОСКОПИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ

До последнего времени микроскопический метод исследования материалов из полости рта носил ориентировочный характер. Бактерии полости рта можно наблюдать при разных видах микроскопии, но, как правило, возможности оптической техники практических лабораторий не позволяют идентифицировать возбудителя по морфологическим признакам.

Можно проводить ориентированное микроскопическое исследование материала из патологического десневого кармана в «темном поле» зрения (так называемый нативный, неокрашенный препарат) и в окрашенном состоянии (по Граму или Романовскому-Гимзе).

11.1. ФАЗОВО-КОНТРАСТНАЯ, ИЛИ ТЕМНОПОЛЬНАЯ, МИКРОСКОПИЯ

Фазово-контрастная, или темнопольная, микроскопия позволяет различать морфотипы подвижных и неподвижных бактерий. Это помогает дифференцировать жгутиковые и извитые (спиралевидные) формы микроорганизмов от неподвижных.

При увеличении не более $\times 40$ можно определять типы филаментации культур дрожжеподобных грибов рода *Candida*.

Исследование нативного материала в неокрашенном состоянии в «темном поле» зрения в раздавленной или висячей капле сравнительно просто и позволяет сразу в присутствии пациента оценить состояние воспалительного процесса. Значительное увеличение палочковидных и извитых форм и степени их подвижности предшествует клиническим симптомам воспаления и, соответственно, позволяет врачу назначить адекватное лечение до активации процесса.

Современные инвертированные микроскопы с увеличением в десятки тысяч раз дают возможность изучать структурные особенности и архитектуру биопленок, взятых с разных поверхностей полости рта.

11.2. СВЕТОВАЯ ИММЕРСИОННАЯ МИКРОСКОПИЯ

Световую иммерсионную микроскопию проводят с фиксированными препаратами нативного материала или в мазках из чистых культур, которые окрашивают по Граму (для выявления грамположительных и грамотрицательных бактерий), Цилю-Нильсену (для выявления кислотоустойчивых бактерий), Ожешко (для выявления спор), Нейссеру (для выявления включений), в препаратах с тушью, окрашенных по Бурри-Гинсу (для выявления капсулы).

Таким образом, при окрашивании по Граму все бактерии по строению клеточной стенки можно разделить на 2 группы - грамположительные (относительно спиртоустойчивые) и грамотрицательные, а при использовании специальных красителей - также различить некоторые виды или группы бактерий по уникальным особенностям их морфологии и окрашивания.

Однако таких возбудителей крайне мало (менинго- и гонококк, туберкулезная палочка, палочки лепры, сапа, грибы и простейшие; из анаэробов - фузобактерии, клостридии, причем идентификацию можно провести только до рода).

При окрашивании по Граму бактериоды, превотеллы, порфиромонады и актинобациллы представляют собой грамотрицательные палочки; вейллонеллы - грамотрицательные кокки; лактобактерии, бифидобактерии, зубактерии, актиномицеты и пропионибактерии - грамположительные плеоморфные палочки, а пептококки и пептострептококки - грамположительные кокки, не отличающиеся по морфологии от

стафилококков и стрептококков. Следовательно, микроскопическим методом невозможно дифференцировать даже крупные таксономические группы микроорганизмов полости рта.

При пародонтите в мазке будет видно преобладание лейкоцитов, грамотрицательной микрофлоры: бактериоидов (мелкие палочки), фузобактерий (веретенообразные палочки), извитых форм (спириллы, спирохеты), а также наличие грамположительных нитевидных бактерий и актиномицетов.

Главным недостатком микроскопического исследования является невозможность идентификации бактерий и, соответственно, определения наличия основных пародонтопатогенов.

11.3. ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ МИКРОСКОПИЯ

Иммунофлуоресцентная микроскопия предполагает использование антител, соединенных с флуорохромом (антитела получают путем иммунизации животных соответствующими бактериальными клетками). В этом случае бактерии можно сосчитать, поэтому такой метод можно считать количественным (рис. 11-1). Ввиду разработки олигонуклеотидных зондов и относительно низкой воспроизводимости иммунофлуоресцентную микроскопию теперь применяют редко. Ей на смену пришел метод, позволяющий визуализировать бактерии с помощью флуоресцирующих олигонуклеотидных зондов - флуоресцентная гибридизация *in situ* или сокращенно - FISH (от англ. *Fluorescent In Situ Hybridization*). Для гибридизации чаще используют зонды, комплементарные 16S рибосомной РНК (16S рРНК). Эта метка хороша тем, что в клетке много рибосом, а в последовательности 16S есть вариабельные участки, по которым можно сконструировать уникальные зонды для отдельных видов бактерий или их групп. Флуоресцентную гибридизацию проводят на предметных стеклах или в микроскопических лунках с просмотром монослоя клеток под люминесцентным микроскопом.

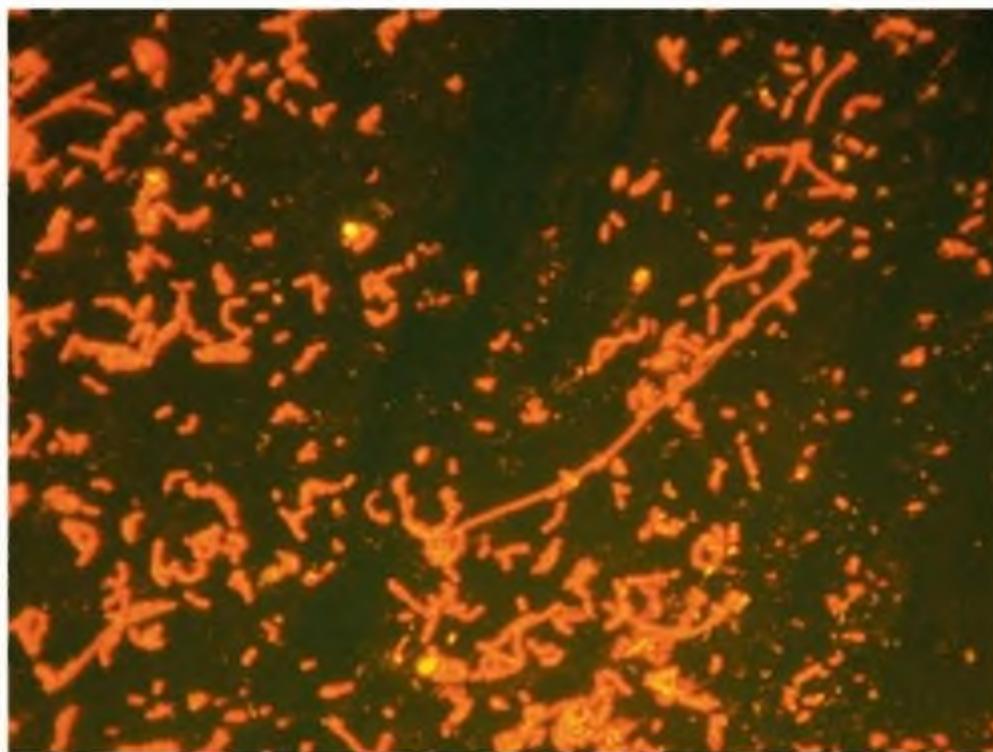


Рис. 11-1. Иммунофлуоресцентная микроскопия пародонтопатогенного вида бактериоидов *T. forsythia*

11.4. СКАНИРУЮЩАЯ МИКРОСКОПИЯ

Более толстые структуры, в том числе биопленки, изучают с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии. При этом после анализа оптических срезов на компьютере можно воссоздать трехмерное изображение материала. Можно одновременно использовать ряд видоспецифичных зондов, каждый из которых помечен флуорохромами разного по цвету свечения. Это дает представление о связях между многочисленными группами микроорганизмов в биопленке. Точность этого метода напрямую зависит от специфичности зондов, поэтому иногда бывает трудно различить близкородственные микроорганизмы.

ГЛАВА 12. БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ (КУЛЬТУРАЛЬНОЕ) ИССЛЕДОВАНИЕ С ПРИМЕНЕНИЕМ ТЕХНИКИ АНАЭРОБНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

12.1. ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

При классическом бактериологическом исследовании содержимого гнойных очагов, пародонтального кармана (поддесневой зубной бляшки, гнойного экссудата) или нормальных материалов из полости рта используют следующий алгоритм действий, включающий три основных этапа исследования.

На первом этапе материал для бактериологического исследования забирают из воспалительных очагов или пародонтальных карманов до применения химиотерапевтических препаратов и после окончания курса лечения у пациентов, страдающих хроническим генерализованным пародонтитом в стадии обострения или различными формами одонтогенной инфекции.

Взятие материала для диагностики стоматита, гингивита и пародонтита проводят утром натощак, до процедуры чистки зубов. Отделяемое из пародонтального кармана забирают в транспортную среду Эймса или Стюарта. Доставляют в лабораторию и хранят до посева в охлажденном виде (в холодильнике от +4 до +6 °С).

Перед посевом зубной бляшки целесообразно провести гомогенизацию материала ультразвуком при частоте 60 Гц в течение 10 мин.

На первом этапе проводят первичный посев материала на неселективные (анаэробный кровяной агар, обогащенную сахарно-кровяной средой) и селективные (содержащие желчь, канамицин, налидиксовую кислоту) питательные среды. Для селективного выделения *B. fragilis* при смешанных инфекциях используют анаэробный кровяной агар с желчью и канамицином. Инкубацию посевов осуществляют при 37 °С в течение 48-72 ч. Сроки культивирования некоторых медленно растущих анаэробов могут составлять 4-7 сут.

Первичный посев для выделения анаэробов осуществляют на среду для культивирования анаэробов, например, на 5% кровяной агар с гемином и менадионом (фирмы «Биомерье», «Himedia» и др.). Маркерные пародонтопатогенные виды (по классификации Всемирной организации здравоохранения) выявляют с помощью классического бактериологического исследования в анаэробных условиях (микроанаэротатах «Биомерье», *AnaeroHiGasPack* «Биомерье», анаэробных инкубаторах).

Посевы должны быть количественными, например, по *Gould*, Фельдману, Мельникову-Цареву.

Сущность способа Мельникова-Царева (количественного секторального посева) заключается в следующем: бактериологической петлей диаметром 3 мм или эквивалентным по объему тампоном (адсорбером, микробрашем) проводят посев исследуемого материала

на 1-й сектор чашки Петри с питательной средой (30-40 штрихов). После этого петлю прожигают и проводят 4 штриховых посева из 1-го сектора во 2-й, аналогичным образом из 2-го сектора в 3-й, прожигая петлю после пересева с каждого сектора. Посевы во 2-м и 3-м секторе всегда делают петлей независимо от характера посева в 1-м секторе.

Чашки с посевами инкубируют при 37 °С в условиях анаэробнозиса до 10 сут (при необходимости - также и в аэробных условиях), после чего подсчитывают число колоний, выросших в разных секторах. Количество бактерий в 1 мл (г, см²) определяют с помощью таблицы. Полученные результаты умножают на 10 (кратность разведения) (табл. 12-1).

По истечении времени инкубации проводят также макроскопическое изучение выросших изолированных колоний.

Колонии бактерий, относящихся к роду *Prevotella* и *Porphyromonas*, мелкие, диаметром 1-3 мм, бурые, блестящие, иногда с коричневым или черным оттенком (после 3-5 дней инкубации). Для *P. melaninogenica* и *P. asacharolytica* характерно образование коричневого или черного пигмента. Колонии *P. asacharolytica* и *P. gingivalis* дают красное свечение в ультрафиолетовом свете.

Бактерии рода *Bacteroides* группы *B. fragilis* образуют блестящие, иногда слизистые, круглые колонии диаметром 3-5 мм, бежевого цвета, но могут быть и коричневыми. *B. fragilis* вырастают в виде круглых выпуклых серовато-белых колоний с ровными краями.

Колонии *F. nucleatum* напоминают хлебные крошки или толченое стекло в виде конусов с радужным ореолом, для *F. necroforum* более характерны уплощенные округлые колонии серого цвета, иногда слегка опалесцирующие.

Таблица 12-1. Расчетная таблица для определения количества бактерий в 1 мл жидкости (или 1 г, см²)

Число колоний по секторам			Количество, КОЕ/мл
Сектор 1	Сектор 2	Сектор 3	
1-6	Нет роста	Нет роста	<1000
8-20	Нет роста	Нет роста	1000
21-30	Нет роста	Нет роста	5000
31-60	Нет роста	Нет роста	10 000
70-80	Нет роста	Нет роста	50 000
100-150	5-10	Нет роста	100 000
Очень большое число	20-30	Нет роста	500 000
Очень большое число	40-60	Нет роста	1 000 000
Очень большое число	100-140	10-20	5 000 000
Очень большое число	Очень большое число	30-40	50 000 000
Очень большое число	Очень большое число	60-80	100 000 000
Очень большое число	Очень большое число	80-140	1 000 000 000

Анаэробные кокки образуют мелкие выпуклые непрозрачные колонии серовато-белого цвета. Микроаэрофильные стрептококки дают зоны α -гемолиза вокруг колоний на кровяном агаре бурого или зеленоватого оттенка.

На втором этапе получают чистые культуры анаэробных бактерий. Делают посев на 5% кровяной геминагар, полужидкую среду АС, столбик СКС или тиогликолевую среду.

После посева всех разновидностей выросших колоний в глубину АС или СКС для защиты от токсического действия кислорода воздуха из них готовят мазки для последующего окрашивания по Граму и ставят пробу на аэротолерантность. Obligatные анаэробы дают рост в глубине АС или СКС, но не вырастают на секторах кровяного агара, инкубируемого в аэробных условиях. В ряде случаев для получения чистой культуры анаэробов используют посев изолированных колоний на чашки с анаэробным кровяным агаром с последующим культивированием в анаэроостате.

На третьем этапе чистые культуры подлежат дальнейшей идентификации. С этой целью проводят изучение их биохимических свойств (определение каталазы, липазы, редукции нитритов в нитраты, гидролиза эскулина, протеолитической и сахаролитической активности и др.) и чувствительности к желчи и некоторым антибактериальным препаратам.

Для ускоренной биохимической идентификации анаэробных и микроаэрофильных бактерий используют метод микрокультур в полистироловых планшетах с жидкими дифференциально-диагностическими средами. Идентификацию проводят с использованием различных наборов реактивов для определения биохимической активности как отечественного производства, так и импортных (API An20, API Strep - ручной стрип для идентификации анаэробов «Биомерье», API - аналитическая таблица 20Ап идентификации для анаэробов «Биомерье»).

Принцип метода заключается в посеве больших концентраций чистой культуры анаэробов в лунки планшета, содержащие изучаемые субстраты в объеме 0,1 мл. При этом сроки учета результатов в биохимической реакции значительно сокращаются с 18-24 до 5-6 ч.

12.2. ПРИНЦИПЫ ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРОФЛОРЫ ПОЛОСТИ РТА

12.2.1. Удовлетворение потребности микроорганизмов в питательных веществах. Питательные среды

Многие виды бактерий полости рта вырастают на широком спектре неселективных сред типа кровяного агара, но по морфологии колоний различить отдельные виды, особенно при их малочисленности, среди множества других бактерий часто не представляется возможным. Для их выделения можно применять селективные среды, в которые добавлены компоненты, подавляющие рост большинства сопутствующих микроорганизмов. Так, для выделения стрептококков группы *Mutans* используют высокоселективный агар Митиса-Саливариуса с добавлением антибиотика бацитрацина (агар MSB). Такие или подобные среды применяют в коммерческих исследованиях для выявления стрептококков этой группы.

Применение селективных сред повышает вероятность обнаружения бактерий, представленных в низких концентрациях (например, бактериоидов).

Некоторые бактерии имеют особые питательные потребности и поэтому не растут без внесения в среду тех или иных добавок - факторов роста (ауксотрофы). Так, один из возбудителей пародонтита - *Tannerella forsythia* (прежнее название - *Bacteroides forsythus*) удалось выделить в чистой культуре лишь после того, как была установлена метаболическая потребность этого вида в N-ацетилмурамовой кислоте (компоненте

клеточной стенки большинства других бактерий). Однако факторы роста многих других бактерий полости рта остаются неизвестными; с учетом данных клонирования и секвенирования *16S-генов* микроорганизмов полости рта более половины из них пока остаются некультивируемыми.

12.2.2. Потребность микроорганизмов в газовом составе. Анаэриоз

Для бактериального роста важна концентрация кислорода в атмосфере. Большинство бактерий полости рта - факультативные анаэробы (растут независимо от присутствия кислорода) или строгие анаэробы (растут только при отсутствии кислорода). Микроаэрофильные бактерии нуждаются в низких концентрациях кислорода, а капнофильные бактерии (например, *A. actinomycetemcomitans*, возбудитель пародонтальной инфекции) - в углекислом газе.

Важные для развития кариеса *Streptococcus mutans* и лактобактерии - факультативные анаэробы, которые могут расти в обычной атмосфере. Напротив, почти все микроорганизмы поддесневой бляшки - анаэробы, и для их выращивания необходимы специальные камеры со сниженной концентрацией кислорода. Для стимуляции роста капнофилов в таких камерах создают низкие концентрации CO₂.

Кислород стараются также удалить из транспортнх сред. Для этого их предварительно кипятят (восстанавливают) или разливают в бескислородной среде. В продаже имеются готовые восстановленные среды для анаэробов. Многие анаэробы полости рта растут даже после нескольких часов хранения в транспортной жидкости.

Для выращивания в бескислородных условиях используют разные приемы. Например, чашки с посевами помещают в герметично закрытые контейнеры - анаэриостаты (рис. 12-1), из которых кислород удаляют химическим путем (образуемый в результате химической реакции водород связывается с кислородом в присутствии палладиевого катализатора с образованием воды). Концентрацию кислорода обычно контролируют индикаторными полосками. Бескислородные контейнеры помещают в термостат (37 °C). Если контейнеры небольшие, до инкубирования следует обеспечить проведение всех манипуляций в бескислородной атмосфере, что особенно важно для культивирования строгих анаэробов.



Рис. 12-1. Культивирование анаэробных культур в анаэростате

Для манипуляций и культивирования строгих анаэробов применяют также заполненные бескислородной газовой смесью анаэробные пластиковые мешки или боксы (анаэробоксы) - герметично закрывающиеся камеры с термостатом, снабженные перчатками для облегчения работы внутри. Нередко в боксах поддерживают температуру 37 °С, что позволяет использовать их и как место работы, и как термостат. В них иногда используют не перчатки, а специальные рукава, изолирующие руки оператора, что облегчает работу (перед открытием камеры кислород из рукавов удаляют). Для получения объективной картины из материала следует выделять и аэробные, и анаэробные культуры.

12.2.3. Идентификация выделенных чистых культур

До разработки молекулярных методов классификация бактерий базировалась исключительно на фенотипических признаках, выявляемых, как правило, в биохимических и морфологических тестах. Вначале чистую культуру нового бактериального вида описывают морфологически, отмечая культуральные свойства - размер, форму, цвет колоний, хотя рост бактерий на разных средах может существенно отличаться. При

микроскопии определяют форму клеток (палочковидные, кокки или др.), их отношение к окрашиванию по Граму (грамположительные, грамотрицательные).

Определяют также биохимические свойства бактерий, а часто и присутствие характерных метаболитов методом газовой хроматографии. Ввиду того что результаты хроматографии, как и морфологические характеристики, существенно зависят от условий культивирования, а для исследования требуется сложное оборудование, этим методом теперь пользуются редко. Более простой метод - выявление некоторых ферментов или способности утилизировать некоторые углеводы (для чего выпускают коммерческие наборы), но биохимические профили близкородственных видов, а нередко даже представителей одного вида могут отличаться.

Культуральные исследования обеспечили небывалый прогресс в характеристике и классификации бактерий. С появлением молекулярных методов классификация бактерий существенно уточняется на основе установленных филогенетических связей, более того, открыт целый мир некультивируемых бактерий. Теперь культуральные исследования должны быть сосредоточены на их изучении.

12.3. ОСОБЕННОСТИ ИДЕНТИФИКАЦИИ КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ГРУПП МИКРОФЛОРЫ ПОЛОСТИ РТА

12.3.1. Выделение, культивирование и идентификация грамотрицательных анаэробных неспорообразующих бактерий

Большинство грамотрицательных неспорообразующих анаэробных бактерий выделяют на *Columbia agar Base* (BBL/ *Becton-Dickinson* 11124; *bioMerieux ref 5 128 1*) с добавлением канамицина (100 мг/л) и ванкомицина (7,5 мг/л), гемина (10 мг/л), витамина К₃ (1,5 мг/л) или К₁ (1,5 мг/л), а также бараньих эритроцитов (5%). Исследуемый материал засевают методом секторальных посевов. Срок инкубирования составляет 72 ч при температуре 37 °С в анаэроостате.

Эта среда позволяет культивировать бактерии, относящиеся к родам *Bacteroides* и *Prevotella*. Бактерии рода *Porphyromonas* выделяют на средах с добавлением витамина К₃ и гемина, но без добавления ванкомицина. Бактерии рода *Fusobacterium* выделены на *Columbia agar Base*, в который в качестве селективирующих компонентов добавляют кристаллический фиолетовый (3,2 мг/л) и эритромицин (5 мг/л).

Учет посевов включает макро- и микроскопическое изучение изолированных колоний, их подсчет и отсев материала из типичных колоний на 2 чашки с плотной средой без антибиотиков (*Columbia agar Base*), но с добавлением гемина и витамина К в целях выделения чистой культуры. Одну из чашек с пересеянным на нее материалом из отдельной колонии инкубируют в анаэробных условиях при 37 °С в течение 48 ч. Вторую чашку с пересеянным материалом из колонии инкубируют в аэробных условиях. Это необходимо для определения принадлежности микроорганизмов к строгим или факультативным анаэробам и для получения чистой культуры. После получения чистой культуры бактерий и подтверждения их принадлежности к облигатным анаэробам приступают к их идентификации.

Идентификация строго анаэробных грамотрицательных бактерий в зависимости от целей может быть ориентировочной (определение рода) или финальной (определение вида). Ориентировочную идентификацию проводят по следующим характеристикам: рост в присутствии желчи (диски 5 мг, *bioMerieux ref 57301*), бриллиантового зеленого (диски 100 мкг, *bioMerieux ref 57311*) и канамицина (диски 1000 мкг, *BBL/Becton-Dickinson/Taxo 31562*), ферментация глюкозы, наличие черного пигмента. Используя эти методы, бактерии можно разделить на четыре группы.

- Первая группа - *Bacteroides* группы *fragilis*. Все бактерии этой группы сбраживают глюкозу и способны расти в присутствии желчи и канамицина, но ингибируются бриллиантовым зеленым.

- Ко второй группе можно отнести бактерии рода *Prevotella*. Бактерии этой группы не растут в присутствии желчи и бриллиантового зеленого, но резистентны к канамицину. Так же как и бактероиды, они обладают высокой сахаролитической активностью. Некоторые виды образуют черный пигмент на кровяных средах через 57 дней инкубации.

- Третья группа включает асахаролитические бактерии, образующие черный пигмент, чувствительные к желчи и бриллиантовому зеленому, но резистентные к канамицину. Эти бактерии принадлежат к роду *Porphyromonas*. Кроме того, бактерии этой группы, в отличие от других грамотрицательных анаэробов, являются чувствительными к ванкомицину (диски 5 мкг, BBL/Vecton-Diskinson/Taxo 31030).

- Наконец, род *Fusobacterium* входит в четвертую группу. Эти бактерии ингибируются желчью и канамицином, но устойчивы к бриллиантовому зеленому. Еще одним дифференциальным критерием для отличия фузобактерий от бактероидов может служить посев на среды с добавлением фосфомицина (300 мкг/мл). На средах с такой концентрацией этого антибиотика рост фузобактерий отсутствует. Некоторые виды рода *Fusobacterium* имеют форму вытянутых бациллярных клеток с острыми концами.

Для быстрой идентификации в условиях клинических бактериологических лабораторий также применяют тест-системы API An20 и др., которые укладывают для удобства в стерильные чашки Петри и помещают в анаэростат (рис. 12-2).



Рис. 12-2. Контейнер с тест-системами API 20An, подготовленный для помещения в анаэростат

12.3.2. Выделение, культивирование и идентификация грамположительных анаэробных бактерий

Культивирование и приемы идентификации грамположительных споронеобразующих бактерий актиномицетной линии и спорообразующих кластридий принципиально не отличаются от описанных для грамотрицательных.

Грамположительные анаэробные кокки выделяют на среде *Columbia agar Base* с добавлением бараньей крови (5%), витамина К, гемина, фенилэтилалкола (2,5 г/л) или налидиксоновой кислоты (10 мг/л) и колистина (10 мг/л). Анаэробные кокки идентифицируют по их биохимическому профилю с применением биохимической идентификационной системы *RapidID32 A* (API-bioMerieux).

12.3.3. Выделение, культивирование и идентификация стрептококков

Стрептококки выделяют на кровяном агаре с полимиксином. Для биохимической идентификации стрептококков используют системы *API-20 Strept*. Идентификацию стрептококков проводят по следующим показателям: расщепление рибозы, α -арабинозы, маннита, сорбита, лактозы, трегалозы, инсулина, раффинозы, амидона, гликогена, продукции ацетона, гидролиз гипшурата, наличие β -глюкозидазы, пирролидониларамидазы, α -галактозидазы, β -глюкуронидазы, β -галакторидазы, фосфатазы алкалина, лейцинарамидазы, аргининдегидролазы. При необходимости проводят серологическую идентификацию.

12.3.4. Выделение, культивирование и идентификация стафилококков

Для выделения стафилококков используют желточно-солевой агар или *Staphylococcus agar 110*. Для идентификации стафилококков до вида используют дифференциально-диагностические среды или стандартную систему *API-20 Staph*. Идентификацию стафилококков проводят по следующим показателям: расщепление d-глюкозы, d-фруктозы, d-маннозы, мальтозы, лактозы, d-трегалозы, d-маннита, ксилита, d-мелибиозы, раффинозы, ксилозы, сахарозы, α -метил-d-глюкозида и N-ацетилглюкозамина, редукции нитратов и нитритов, продукции ацетилметилкарбинола, наличию аргининдегидролазы и уреазы.

12.3.5. Выделение, культивирование и идентификация дрожжеподобных грибов

Дрожжеподобные грибы рода *Candida* выделяют на среде Сабуро с добавлением хлорамфеникола. *C. albicans* образуют характерные для них хламидоспоры. При определении вида грибов *Candida* можно использовать оценку типа филаментации на рисовом и картофельном агаре.

Биохимическую идентификацию дрожжеподобных грибов проводят с помощью системы *API-20 Aux*. У 80% больных пародонтитом выделяют вид *C. albicans*, однако встречаются также *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. stellatoidea*, *C. glabrata*.

В последнее время получили распространение хромогенные среды, позволяющие дифференцировать наиболее часто встречаемые виды *Candida* в первичном посеве по разнице окраски колоний (рис. 12-3).



Рис. 12-3. Рост колоний *C. albicans* на хромогенной среде

ГЛАВА 13. МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ

13.1. ПРИНЦИПЫ ИНДИКАЦИИ И ИДЕНТИФИКАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Как известно, классическое бактериологическое исследование с применением техники анаэробного культивирования и определения чувствительности к антибактериальным препаратам отличается длительностью (до 3 нед, так как некоторые облигатно-анаэробные виды растут медленно) и не всегда дает возможность получить бактерии искомым видам из десневой борозды.

Точно идентифицировать и подсчитать бактерии в сложных смесях, например в материале из полости рта, - непростая задача. Любой из применяемых для этого методов имеет погрешности. Так, многие молекулярные методы предполагают анализ ДНК, выделенной без культивирования микроорганизмов полости рта - непосредственно из пробы. Такой подход исключает потерю данных по некультивируемым видам бактерий (>50% микрофлоры полости рта) и устраняет погрешности культурального метода. Однако при этом все равно возможны ошибки, обусловленные невозможностью обеспечить оптимальные условия для выделения ДНК из микроорганизмов разных групп, присутствующих в смеси.

Большие надежды в этом плане возлагаются на ПЦР, позволяющую выявлять генетические маркеры любых существ, в том числе клинически значимых видов микроорганизмов.

ПЦР - молекулярно-биологический метод диагностики. Он основан на анализе нуклеиновых кислот, поэтому для проведения теста не требуется сохранения жизнеспособности бактерий, в том числе анаэробных, и специальных предосторожностей

при транспорте исследуемого материала. Преимуществами этого метода являются высокая чувствительность, специфичность и быстрота (анализ проводится в течение нескольких часов). В России первые молекулярно-генетические исследования состава пародонтопатогенной микрофлоры были выполнены с помощью немецкой системы «*MicroDent*», а затем и отечественной системы «Мультидент-5».

Особенность этих систем заключается в том, что пороговый уровень выявляемых с их помощью показателей обеспечивает чувствительность, при которой любой положительный результат имеет клиническое значение, а те концентрации бактерий, которые могут присутствовать в здоровой слизистой оболочке, дают отрицательный результат.

ПЦР является важным диагностическим тестом для определения показаний и прогноза при лечении многих заболеваний, в том числе различных форм пародонтита, а также при имплантации и протезировании. Высокие специфичность и чувствительность ПЦР позволяют быстро определять состав поддесневой микрофлоры, в том числе наличие пародонтопатогенов в области зубодесневой борозды, выделять пациентов группы риска и получать ценную информацию для выбора более эффективного способа лечения, определения времени его окончания, а также диагностировать рецидивы заболевания.

Примерно в 10-15% всех случаев пародонтит проявляется как прогрессирующий процесс, при котором показан этиологический анализ (агрессивные формы юношеских инфекционных пародонтитов). Помимо этого показанием к молекулярно-биологическому исследованию являются тяжелые формы генерализованного пародонтита у взрослых, в том числе торпидные к лечению. Весьма ценным является определение чувствительности пародонтопатогенных бактерий к антибиотикам.

Поскольку пародонтопатогенные бактерии, особенно *A. actinomyces-temcomitans*, *P. gingivalis*, обладают значительной контагиозностью, рекомендуют обследование членов семьи в целях определения потенциальных источников повторного заражения. Наконец, данный метод способен мотивировать пациента к более конструктивному отношению к своему состоянию, что может улучшить гигиену его ротовой полости.

ПЦР обладает предельными чувствительностью и специфичностью, но требует правильного забора материала, наличия тест-систем и специальных условий для постановки реакции (оборудование ПЦР-лаборатории).

В основе метода лежит катализируемое ДНК-полимеразой многократное копирование определенного участка ДНК бактерий, специфичного для данного биологического вида. Выявляют наличие ДНК пародонтопатогенов методом электрофореза в агарозном геле после окрашивания бромистым этидием (специфическим флуоресцентным красителем ДНК). Поглощая ультрафиолетовый свет, краситель, связанный с ДНК, флуоресцирует. В результате должна быть видна оранжевая полоска на уровне контрольной ДНК.

В России в продаже имеются наборы реактивов для определения *A. actinomyces-temcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *T. denticola*, грибов рода *Candida*, хламидий, микоплазм, вирусов семейства *Herpesviridae* и др. Разрабатываются праймеры для актиномицетов, кариесогенных стрептококков, вейллонелл, фузобактерий.

Данный метод позволяет выявить незначительное количество пародонтопатогенов, которые обычно не выделяют бактериологическим методом (*T. forsythia*, *T. denticola*).

13.2. ВЫДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ДНК ИЗ КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

Для того чтобы выделить ДНК из бактериальной клетки, необходимо лизировать клеточную стенку, не разрушив маркерные гены. Для лизиса клеток используют несколько методов, которые позволяют выделить разное количество ДНК в зависимости от группы

бактерий. Выпускают множество коммерческих наборов для выделения ДНК из бактерий определенных групп, например, грамотрицательных. Обычно для лизиса клеточной стенки применяют детергент и протеиназу К. Таким образом, можно лизировать стенки многих бактерий. Этим способом плохо лизируются грамположительные микроорганизмы (например, стрептококки), поэтому в основном его используют для получения ДНК из микроорганизмов поддесневой бляшки.

В последние годы чаще стали применять механическую дезинтеграцию клеток стеклянными мини-бусами. Бактериальную суспензию смешивают с бусами, которые в дезинтеграторе (бактериальной мельнице) за счет вибрации разрушают бактериальные клетки. Степень дезинтеграции можно регулировать, изменяя длительность вибрационного цикла и тип бус. Этим способом удастся лизировать даже самые стойкие клетки, но при этом у хрупких бактерий, например спирохет, может произойти деструкция ДНК.

Для получения ДНК из микроорганизмов наддесневой бляшки (преимущественно стрептококков) механическая дезинтеграция с бусами является методом выбора. Поиски способов получения более репрезентативного профиля ДНК в пробах из полости рта продолжаются. Возможно, имеет перспективу обработка ультразвуком или лазером.

После лизиса подготовку ДНК для молекулярного анализа выполняют различными методами. Простейший из них - непосредственное использование лизата для ПЦР или альтернативных методов, но во избежание ошибок ДНК обычно очищают. На практике широко используют коммерческие наборы для выделения ДНК из проб небольшого объема с расчетом на то, что ДНК адгезирует к стеклу, а загрязнение можно удалить промыванием.

13.3. ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ

Почти во всех методиках обнаружения ДНК без культивирования на определенном этапе применяют амплификацию (накопление копий) ДНК в ПЦР. Эта реакция позволяет определить присутствие бактерий в минимальном количестве (теоретически - одну клетку) и детально изучить пробы очень малого объема.

Наиболее простой способ идентификации бактерий - ПЦР с видо-специфическими праймерами. При этом амплифицируется ДНК искомого вида, даже если в пробе из полости рта присутствует лишь несколько сотен таких клеток (культивируемых или некультивируемых видов).

13.3.1. Конструирование праймеров

Наличие базы нуклеотидных последовательностей ДНК по *16S*-генам тысяч бактерий позволяет без каких-либо лабораторных работ составить нужный праймер и провести виртуальный тест на его специфичность. Вначале из базы данных (например, *GenBank*) выгружают последовательности близкородственных видов, выстраивают их и определяют области, уникальные для искомого вида.

Уникальность выбранной последовательности для праймера затем можно проверить по всей базе *GenBank*. Вероятность, что неизвестные бактерии могут содержать выбранную последовательность, уменьшается с каждым днем ввиду постоянного пополнения базы *16S*-данными о новых таксонах. Однако не исключено, что с выбранным праймером будет перекрестно гибридизоваться ДНК неизвестного вида бактерий.

13.3.2. Амплификация и анализ результатов полимеразной цепной реакции

Для амплификации (т.е. синтеза ДНК-матрицы) отбирают наиболее консервативную часть, уникальный ген. Для запуска синтеза на ДНК-матрице используют 2 праймера (короткие, длиной 20-30 оснований одноцепочечные фрагменты ДНК), комплементарные 3'-концам ДНК искомого гена. Выделенную из исследуемого материала ДНК нагревают. При этом ДНК распадается на две нити. Добавляют праймеры, затем смесь ДНК и

праймеров охлаждают. При этом праймеры при наличии в смеси ДНК искомого гена связываются с его комплементарными участками (отжиг). Добавляют ДНК-полимеразу и нуклеотиды. При температуре, оптимальной для функционирования ДНК-полимеразы, нуклеотиды присоединяются к 3'-концам праймеров, формируется специфический фрагмент (ампликон). После этого цикл повторяют снова, при этом количество ДНК гена будет увеличиваться каждый раз вдвое. Рассчитано, что за 30-40 циклов из одной матрицы можно получить 10^8 ампликонов. Реакцию проводят в специальных приборах - амплификаторах, которые представляют собой термостаты-мультициклеры с программируемым режимом циклов амплификации ДНК (рис. 13-1).

После 30-80 циклов накопления копий ДНК проводят их идентификацию методом гель-электрофореза и визуализацию в ультрафиолетовом свете после окрашивания этидием бромидом (рис. 13-2). Для подтверждения принадлежности ДНК возбудителю можно провести ДНК-гибридизацию. Очень быстро можно определить их в клиническом материале методами ПЦР в режиме реального времени.



Рис. 13-1. Пробирку с выделенной ДНК помещают в мультициклер «Терцик»

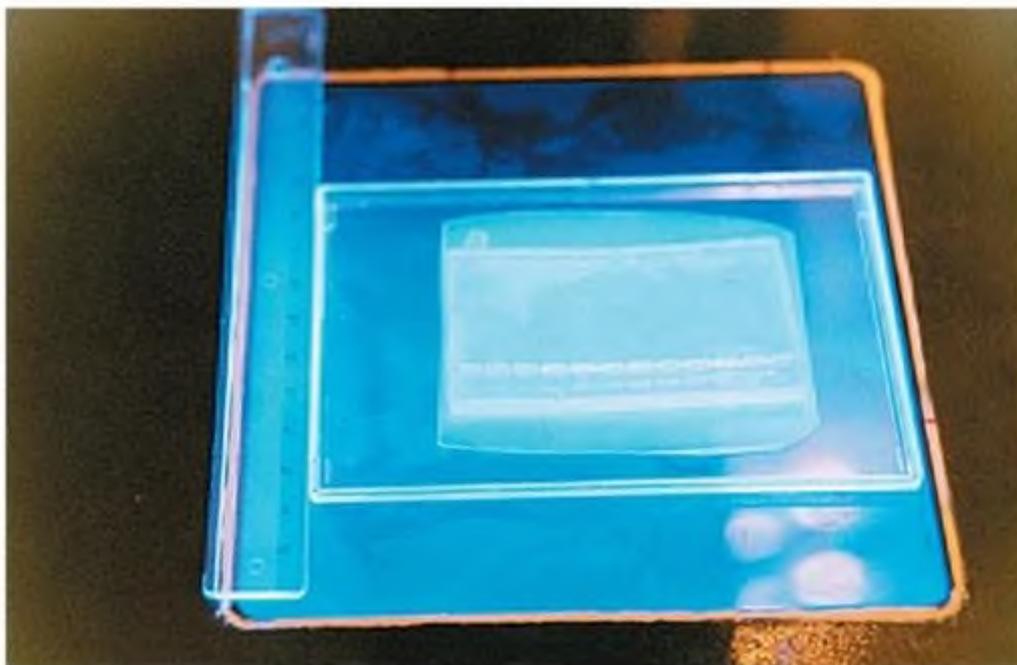


Рис. 13-2. Результаты гель-электрофореза при просмотре в трансиллюминаторе

Нередко для амплификации в ПЦР выбирают не 16S-последовательности, а другие, уникальные для тех или иных бактерий. Так, для выявления *A. actinomycetemcomitans* - бактерий, связанных с локализованными формами агрессивного пародонтита, - применяют ПЦР с праймерами к гену лейкотоксина этих бактерий.

Идентификация бактерий полости рта с помощью ПЦР - очень чувствительный и эффективный метод, позволяющий проводить идентификацию генетического материала труднокультивируемых анаэробных бактерий и вирусов. При наличии проверенных праймеров с его помощью можно анализировать множество проб. На сегодня это наиболее быстрый, простой и высокочувствительный метод выявления бактерий, но он не дает информации об их количестве. Численность искомых бактерий определяют методом количественной ПЦР.

13.3.3. Количественный ПЦР-анализ в режиме реального времени

Результаты ПЦР указывают на присутствие или отсутствие искомых бактерий в пробе и обычно не дают количественной информации (ввиду того что количество полученных амплификатов не зависит напрямую от количества гомологичной ДНК в пробе). Однако если в реакцию ввести флуоресцентный краситель, процесс амплификации можно проследить в динамике и получить его количественные характеристики.

Количественную ПЦР часто называют ПЦР в режиме реального времени - *Real-Time PCR*. Обычно для количественной ПЦР используют индикаторную систему *TaqMan*. При этом наряду с двумя обычными праймерами добавляют меченый олигонуклеотидный зонд, который связывается с ними. Зонд имеет на 5'-конце флуоресцентный краситель, а на 3'-конце - «гаситель», который поглощает испускаемое флуоресцентной меткой излучение, если проба интактна. Внесенная в пробу *Taq*-полимераза в стадии элонгации синтезирует комплементарную цепь ДНК и, дойдя до участка, гибридного с зондом, за счет 5'-экзонуклеазной активности начинает расщеплять его. В результате флуоресцентная метка отделяется от гасителя, и ее свечение можно выявить с помощью флуорометра, причем усиление флуоресценции будет прямо пропорционально количеству нарабатываемого ПЦР-продукта. Сравнение со стандартной кривой позволяет установить исходное количество искомой ДНК в пробе. Термоциклеры

для количественной ПЦР позволяют одновременно следить за изменением флуоресценции в 96 пробках.

В другом варианте для количественной ПЦР применяют краситель (например, SYBR *green*), дающий флуоресценцию только после его связывания с двунитовой ДНК. Введенный краситель позволяет в ходе процесса определять количество вновь синтезированной ДНК, которое сравнивают со стандартом. Этот метод проще и дешевле, чем TaqMan, но не исключает ошибки вследствие амплификации посторонней ДНК. В этой связи сложные смеси ДНК, в том числе пробы из полости рта, обычно анализируют с помощью системы TaqMan.

13.4. ГИБРИДИЗАЦИЯ ДНК

Для изучения этиологии инфекций полости рта требуется одновременно идентифицировать многие виды бактерий в одной пробе, но этому мешает обилие бактериальных видов, населяющих данную экологическую нишу. Для этих случаев разработаны варианты двухмерной ДНК-гибридизации.

13.4.1. Полногеномная двухмерная гибридикация (*Checkerboard analysis*)

В этом исследовании применяют полногеномные видоспецифические гибридикационные зонды. Их готовят из геномов соответствующих видов, метят и гибридируют, нанеся зонды в виде линий, пересекающих под прямым углом линии образцов. Этот метод позволяет анализировать одновременно 30-40 проб на присутствие 30-40 бактериальных видов, а при использовании контролей с известным количеством ДНК метод может быть полуколичественным.

Ввиду использования полногеномных зондов двухмерную ДНК-гибридикацию применяют для анализа только культивируемых микроорганизмов. Несмотря на тщательную подготовку зондов, при анализе этим методом возможно перекрестное реагирование зондов с ДНК близкородственных микроорганизмов за счет общих нуклеотидных последовательностей (не относимых к видоспецифическим).

При исследовании проб очень большого объема метод двухмерной ДНК-гибридикации позволяет за короткое время получить обширные данные для сравнительного анализа по многим бактериальным видам.

13.4.2. Обратная гибридикация ДНК (олигонуклеотидная двухмерная гибридикация)

В этой модификации двухмерную ДНК-гибридикацию проводят не с полногеномными, а олигонуклеотидными зондами, гомологичными *16S*-генам. Ввиду того что первыми на мембране фиксируют зонды, а не образцы, этот метод иногда называют обратной двухмерной гибридикацией. Перед гибридикацией с пробами проводят ПЦР и метят амплификаты (для амплификации применяют меченые универсальные *16S*-праймеры).

Олигонуклеотидная гибридикация может быть более специфичной, чем оригинальный метод. Вместе с тем трудно бывает подобрать оптимальные условия гибридикации, приемлемые для множества разных проб. Преимущество метода состоит в том, что можно использовать зонды для некультивируемых микроорганизмов, если установлены последовательности их *16S*-гена (рис. 13-4-13-6).

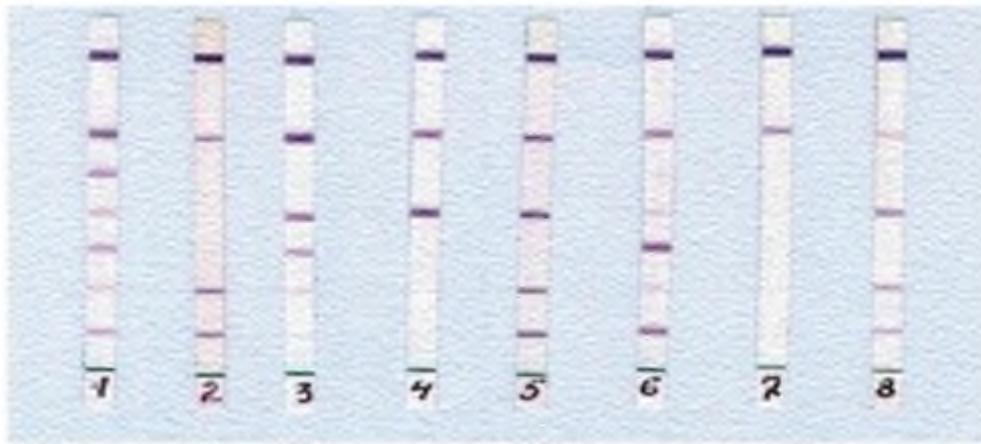


Рис. 13-4. Состав пародонтопатогенных бактерий в экссудате парадонтальных карманов 8 пациентов, выявленный методом ПЦР с обратной гибридизацией ДНК. Расположение полос сверху вниз: контроль конъюгата - подтверждает эффективность связывания конъюгата и реакции с субстратом, эта зона должна быть окрашена положительно; универсальный контроль - показывает, была ли ДНК очищена и амплифицирована; 1-5 - зоны соответствующих видов бактерий (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *T. denticola*)

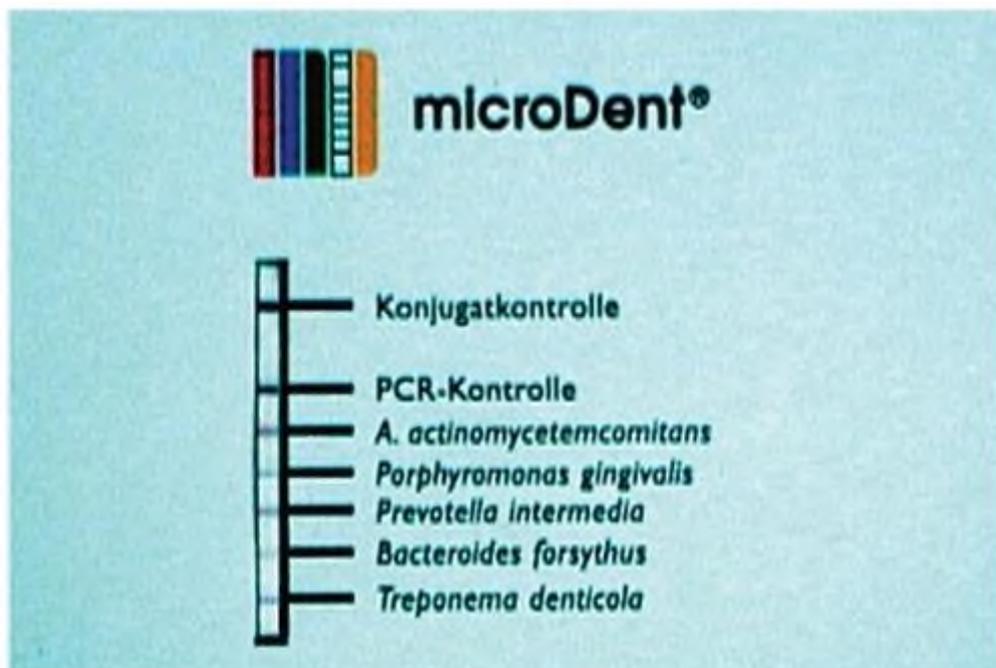


Рис. 13-5. Результаты ПЦР у больного пародонтитом тяжелой степени до лечения. Представлены результаты ПЦР с последующей обратной ДНК-гибридизацией: выявлены все 5 основных пародонтопатогенных видов

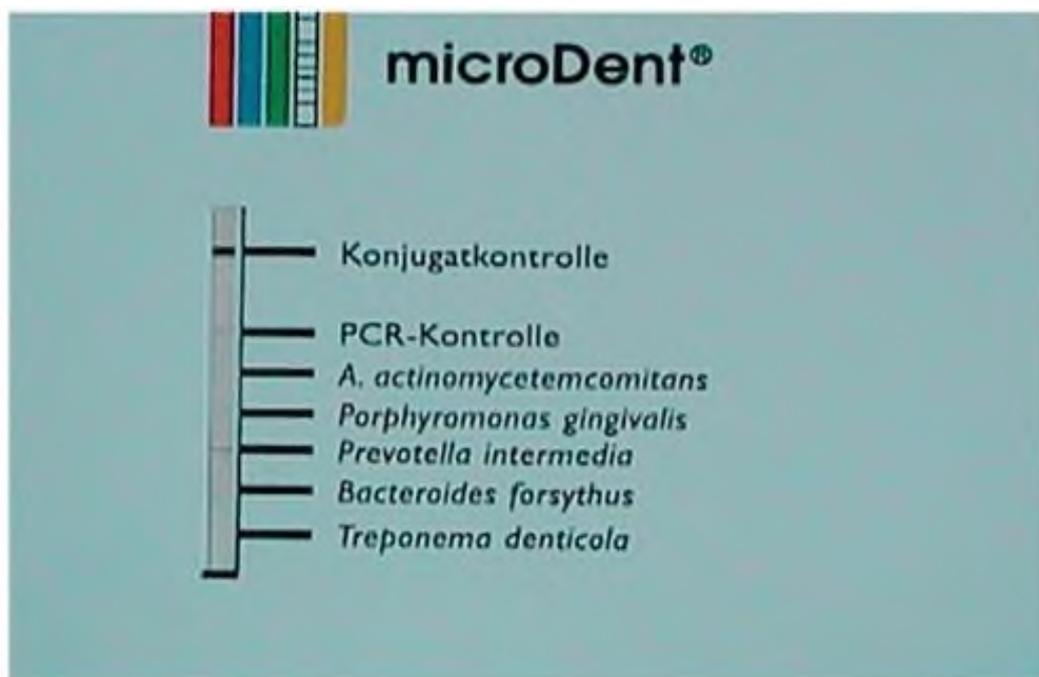


Рис. 13-6. Результаты ПЦР с тест-штаммом *Prevotella intermedia*. Представлены результаты ПЦР с последующей обратной ДНК-гибридизацией штамма *P. intermedia*, взятого для контроля за специфичностью реакции. Положительная реакция отмечена только в зоне одного специфического маркера

13.4.3. Нанотехнологии в гибридизации ДНК и создание биочипов

В настоящее время разрабатывают ДНК-микрочипы с олигонуклеотидными зондами к широкому спектру микроорганизмов полости рта. По сути, микрочип - это двухмерная гибридизация в миниатюре, позволяющая одновременно исследовать материал на присутствие целого ряда (почти неограниченного количества) видов. В идеале - получение микрочипа с зондами ко всем микроорганизмам полости рта. По мере устранения технических сложностей анализа микрочипы, по-видимому, найдут более широкое применение.

13.5. КЛОНИРОВАНИЕ И СЕКВЕНИРОВАНИЕ ГЕНА 16S РИБОСОМНОЙ РНК

Из всех перечисленных приемов молекулярно-биологического исследования лишь ПЦР и двухмерная гибридизация позволяют выявлять некультивируемые виды, но они не подходят для обнаружения новых или неизвестных видов. Для этого применяют другие методы - клонирование и секвенирование гена 16S рибосом.

Это методика с неограниченными возможностями, позволяющая идентифицировать любой бактериальный вид в пробе, в том числе некультивируемые или новые виды. Она основана на амплификации бактериальной ДНК в ПЦР с универсальными 16S-праймерами (гибридизируются с ДНК всех истинных бактерий).

Амплификаты с 16S-последовательностями затем лигируют (сшивают) с плазмидой *Escherichia coli* (вектором) и вводят этот вектор в клетки *E. coli*. В каждой успешно трансформированной клетке, таким образом, появляется 16S-ген другой бактерии. После трансформации клетки *E. coli* выращивают на среде в чашке, где специальная индикаторная система позволяет различить выросшие колонии бактерий с 16S-геном (бесцветные) или без него (окрашенные). ДНК из колоний *E. coli*, содержащих вставку 16S, секвенируют и полученные последовательности сравнивают с базой данных *GenBank* для идентификации бактериального вида.

Последовательности, не встречаемые во всей базе данных, могут принадлежать новому виду. Благодаря этому подходу количество бактериальных видов, обнаруженных в полости рта, возросло более чем в 2 раза.

Если поддерживаются условия для сохранения оригинального состава *I6S*-генов, методика клонирования и секвенирования генов может быть количественной. Для этого перед клонированием ДНК-бактерии можно амплифицировать с применением групповых праймеров (по аналогии с посевом смеси на селективные среды для выращивания тех или иных групп микроорганизмов). Так удастся идентифицировать многие виды бактероидов и трепонем, которые весьма малочисленны в наддесневой биопленке.

ГЛАВА 14. ДРУГИЕ МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОГО И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЙ

14.1. ИММУНОФЕРМЕНТНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИТЕЛ

При заболеваниях пародонта накоплен определенный опыт применения твердофазного ИФА. Первыми предложили определять антитела сыворотки крови и десневой жидкости к антигенам анаэробных возбудителей пародонтита и одонтогенной инфекции в нашей стране В.Н. Царев и Р.В. Ушаков.

В связи с разработкой надежных диагностических систем для определения антител к вирусам герпеса, хламидиям и грибам введены диагностические алгоритмы применения ИФА при заболеваниях пародонта, включая *Candida*- и вирус-ассоциированный пародонтиты.

С помощью ИФА показано, что у 90% обследованных больных, страдающих пародонтитом, в сыворотке крови выявляют IgG-антитела к вирусу простого герпеса, в 70-90% случаев - IgG-антитела к цитомегаловирусу, у 58% больных - антитела к *C. albicans* и у 17% - антитела класса G к *C. trachomatis*. Полученные результаты указывают на наличие латентной полиинфекции и на возможную реактивацию инфекционных агентов у иммунокомпрометированных пациентов, с чем может быть связано прогрессирование пародонтита.

Для того чтобы выявить эти инфекционные агенты непосредственно в пародонтальном кармане, проводят прямую детекцию ДНК перечисленных выше агентов с помощью ПЦР. Выявление антител в периферической крови в более высоких количествах, чем с помощью ПЦР, может свидетельствовать о латентной инфекции, перенесенном ранее заболевании, но не указывает на локализацию инфицирующего агента. Именно поэтому для прямого качественного или количественного обнаружения ДНК возбудителя в пародонтальном материале, повышения качества и сокращения сроков диагностики, контроля за эффективностью терапии можно рекомендовать ПЦР.

В настоящее время Федеральной службой по надзору в сфере здравоохранения и социального развития зарегистрирована медицинская технология применения ПЦР и ИФА (№ ФС-2006/043-У до 2016 г.) для диагностики, прогнозирования течения и оценки эффективности лечения пародонтита (см. приложение 1).

14.2. ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ИММУННОГО СТАТУСА ПАЦИЕНТА

14.2.1. Фенотипирование лейкоцитов моноклональными антителами

Комплекс реакций проводят для определения в крови больного соотношения Т- и В-лимфоцитов, их субпопуляций, рецепторов и маркеров, характеризующих макрофагально-гранулоцитарную систему и активность воспаления и аллергии.

Исследования включают следующие основные этапы.

- Выделение клеток - из крови пациента выделяют фракции лимфоцитов, макрофагов и гранулоцитов, тщательно отмывают от белков жидкой части крови, подсчитывают их количество в 1 мл.

- Постановку реакции с моноклональными антителами - полученную взвесь инкубируют с моноклональными антителами, специфичными по кластеру дифференцировки клеток (от англ. *Cluster of Differentiation* - CD). Как правило, используют антитела, меченные флуорохромами, что позволяет оценивать результаты выявления клеточных рецепторов разной специфичности с применением специальной аппаратуры.

- Регистрация результатов с применением проточного цитофлуориметра (цитометра) - позволяет регистрировать флуоресценцию моноклональными антителами на клеточных рецепторах и определять уровень экспрессии (выраженности плотности) рецепторов на поверхности клеток:

- общее количество Т-лимфоцитов (маркер CD3⁺) - 60-70% в норме (>0,6 тыс. клеток/мл);

- количество Т-хелперов (маркер CD4⁺) - 30-40% в норме (>0,3 тыс. клеток/мкл);

- количество Т-цитотоксических клеток (маркер CD8⁺) - 15-20% в норме (0,15-0,2 тыс. клеток/мл);

- количество В-лимфоцитов (маркеры CD19, CD23) - 20-35% в норме (0,2-0,4 тыс. клеток/мкл);

- количество клеток, несущих маркеры CD11b, CD16 (рецептор для Fc-фрагмента IgG), CD25 (для IL-2), CD71 (для трансферрина) и другие маркеры воспаления и готовности клеток к апоптозу (CD 95).

Оценку результатов трактуют следующим образом:

- снижение показателей по лимфоцитам более чем на 20-30% расценивают как иммунодефицит Т- или В-системы соответственно; увеличение показателей более чем на 15-20% расценивают как лимфопролиферативный синдром, что может наблюдаться при лейкозах, некоторых формах аллергии и воспаления;

- возможны ситуации угнетения реактивности, связанные с избыточной активацией Т-супрессорных клеток;

- увеличение экспрессии маркеров воспаления свидетельствует о наличии в организме очагов инфекции, а снижение - о недостаточности макрофагально-гранулоцитарной системы.

Современные методы оценки иммунного статуса позволяют определить иммунологический вариант развития заболевания (нормо-, гипо-или гиперреактивный) и степень компенсации иммунологических нарушений, а также определить показания к применению иммуномодуляторов Т-, В-системы иммунитета или макрофагально-гранулоцитарной системы в зависимости от характера выявленных нарушений.

14.2.2. Оценка респираторного метаболизма и фагоцитарной активности лейкоцитов методом хемилюминесценции

Исследование люминалозависимой хемилюминесценции фагоцитирующих клеток проводят на специальном приборе - хемилюминометре. Прибор регистрирует пик спонтанной и индуцированной фагоцитозом респираторной активности фагоцитирующих клеток (нейтрофилов или макрофагов). В качестве стандартизованного объекта для фагоцитоза к взвеси клеток добавляют гранулы опсонизированного зимозана (С3b - опосредованный фагоцитоз) и регистрируют кривую хемилюминесценции, отражающую активность респираторного метаболизма клеток в процессе фагоцитоза.

Вначале измеряют фоновую активность, а после снижения интенсивности свечения до исходного уровня добавляют зимозан и снова измеряют хемилюминесценцию. Вычисляют индекс стимуляции лейкоцитов как отношение пика индуцированной к пику спонтанной стимуляции лимфоцитов.

Метод хемилюминесценции имеет широкое применение в экспериментальных исследованиях. Он позволяет не только выявлять дефекты функционирования макрофагально-гранулоцитарной системы, но и проводить оценку влияния на клетки различных препаратов, в частности, иммуномодуляторов, противовоспалительных и антибактериальных средств.

14.2.3. Определение содержания иммуноглобулинов в сыворотке крови человека

Для определения содержания иммуноглобулинов используют реакцию преципитации в геле по Манчини или метод турбодиметрического анализа. Исследуемые и контрольные образцы биологических жидкостей, содержащих иммуноглобулины, смешивают с буфером и антисывороткой к соответствующему классу иммуноглобулинов - IgA, IgM, IgG, IgE. В результате иммунологической реакции образуются иммунные комплексы, содержание которых зависит от концентрации иммуноглобулинов в анализируемых образцах. При учете результатов в геле определяют диаметры зон выпадения преципитатов. Турбодиметрический метод учета результатов основан на том, что содержание иммуноглобулинов прямо пропорционально оптической плотности исследуемых образцов (при длине волны 340 нм).

14.2.4. Цитологический метод изучения смывов из пародонтальных карманов и абсцессов

Цитологический метод используют для исследования содержимого пародонтальных карманов и других очагов поражения пародонта. Содержимое изучают по методике П.М. Покровского и М.С. Макаровой в модификации И.А. Бенюмовой. Пародонтальные карманы предварительно промывают изотоническим раствором натрия хлорида, стерильной корневой иглой с турундой проводят забор материала и наносят его на предметное стекло. Препарат фиксируют смесью Никифорова и окрашивают по Граму и Романовскому-Гимзе.

Состав экссудата изучают с помощью микроскопа; такая оценка позволяет получить представление о защитной реакции тканей пародонта (наличии или отсутствии фагоцитоза, незавершенном фагоцитозе). Определяют качественное состояние и количество нейтрофилов, стадию их дистрофии, состояние других клеточных элементов: лимфоцитов, полибластов, эпителиальных и плазматических клеток.

14.2.5. Миграция лейкоцитов в полость рта

Миграция лейкоцитов в полость рта (метод Ясиновского) позволяет судить о защитных реакциях тканей пародонта, степени фагоцитоза, характере воспалительной реакции.

Для полоскания полости рта используют 10 мл изотонического раствора натрия хлорида. Длительность полоскания - 30 с. Промежутки между полосканиями - 5 мин.

Первые 3 порции отбрасывают, три последующие собирают в пробирки для исследования. Пробирки закрывают и взбалтывают содержимое. Пипеткой отмеряют 1 мл смыва, переносят в другую пробирку, делают разведение (в 9 раз). Тщательно взбалтывают, подкрашивают 1% водным раствором трипанового синего и 1% водным раствором конго красного (по 1 капле). Пипеткой заполняют камеру Горяева. Через 5-10 мин, после оседания лейкоцитов, проводят подсчет в 10 полях зрения количества живых, мертвых лейкоцитов и клеток плоского эпителия. Затем проводят расчеты:

- среднее количество лейкоцитов в 1 поле зрения (живых и мертвых отдельно) и клеток плоского эпителия;

- среднее количество лейкоцитов в 1 поле зрения (живых и мертвых отдельно) и клеток плоского эпителия умножают на 400 и на разведение и делят на 45. Результат показывает количество эмигрировавших лейкоцитов в 1 мл смывной жидкости по Ясиновскому.

Для суждения о качественном составе клеточных элементов смыва готовят мазки из осадка, фиксируют в этиловом спирте и окрашивают по Романовскому-Гимзе. В мазках проводят дифференцированный подсчет относительного количества неизмененных нейтрофилов и находящихся в стадии дистрофии. Учитывают количество фагоцитов и лимфоцитов. Проводят дифференциацию эпителиальных клеток по степени зрелости. Определяют количество ороговевших, промежуточных и парабазальных эпителиальных клеток. Степень ороговения устанавливают по клеточной морфологии в дополнение к реакциям окрашивания. Всего подсчитывают 100 клеток и выводят процент. В норме 80% эмигрировавших в полость рта жизнеспособных лейкоцитов сохраняют подвижность и функцию фагоцитоза в течение 2,5 ч.

По интенсивности миграции лейкоцитов и десквамации можно судить о реактивности слизистой оболочки полости рта, степени тяжести патологического процесса в тканях пародонта.

14.3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ АДГЕЗИИ МИКРООРГАНИЗМОВ К СТОМАТОЛОГИЧЕСКИМ МАТЕРИАЛАМ

14.3.1. Выбор штаммов для изучения адгезии микроорганизмов к стоматологическим материалам в эксперименте *in vitro*

Выбор штаммов микроорганизмов определяется параметрами, предъявляемыми к стоматологическому материалу в зависимости от цели его использования: реставрации зубов, восстановления дефектов зубного ряда (базисные пластмассы или иные материалы), установки имплантатов (сплавы).

В первую группу входят кариесогенные виды. В качестве тестовых штаммов для проведения экспериментов *in vitro* используют двухсуточные культуры грамположительных кислотообразующих микроорганизмов: кокков *Streptococcus sanguis* и *S. mutans*. Все перечисленные виды населяют слизистую оболочку полости рта и зубной налет. *S. sanguis* и *S. mutans* обладают высокой адгезией к эмали здорового зуба и наряду с актиномицетами составляют основу зубного налета. Вместе с тем высокие адгезивные свойства этих микроорганизмов в сочетании с продукцией кислот и токсических факторов определяют как развитие кариеса зубов, так и различные воспалительные процессы.

S. sanguis обладает высокой адгезивной способностью к эмали здорового зуба и наряду с актиномицетами и *S. mutans* составляет основу зубного налета. Показана также высокая адгезивная способность стрептококков полости рта к различным реставрационным, а также базисным материалам для протезирования.

Данные виды стрептококков определяются в зубном налете на стадии как ранней, так и зрелой зубной бляшки. Благодаря активной продукции органических кислот и утилизации фосфатов в процессе окислительного фосфорилирования они способствуют деминерализации эмали и усилению кариесогенного эффекта актиномицетов.

В работах, посвященных микробиологическим аспектам развития кариеса зубов, подчеркивается, что данные стрептококки обладают α -и β -гемолитической активностью, что свидетельствует об их токсических свойствах и способности поддерживать воспалительные процессы челюстно-лицевой области.

Во вторую группу входят пародонтопатогенные виды, прежде всего, представители грамтрицательных палочек из группы облигатно-анаэробных бактерий - *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *F. nucleatum*. Для бактерий этой группы характерно наличие активных протеолитических ферментов и эндотоксинов липополисахаридной природы, приводящих к нарушению микроциркуляции в тканях пародонта. По литературным данным, штаммы *P. gingivalis*, *F. nucleatum*, *P. intermedia* являются наиболее агрессивными представителями анаэробной микрофлоры. Эти виды относятся к пародонтопатогенной группе, так как их количество резко увеличивается при обострениях хронического генерализованного пародонтита. В норме и в период ремиссии пародонтита представители этих видов не выделяются или выделяются в незначительном количестве (логарифм обсемененности варьирует в пределах 2-4). Установлена адгезия представителей этой группы анаэробных бактерий к цементу зубов.

Токсическими свойствами в отношении тканей пародонта обладают грибы рода *Candida*, которые также включены в исследуемую группу штаммов. Известно, что грибы рода *Candida* являются основным фактором развития стоматитов при иммунодефицитных ситуациях в организме, дисбактериозах, нарушении адаптации к протезам.

Активизация оппортунистических микроорганизмов, особенно представителей агрессивной группы (*F. nucleatum*, *P. melaninogenica*, *C. albicans*), наблюдается при различных иммунодефицитах, в том числе при онкологических заболеваниях, а также при лучевой и химиотерапии. В экспериментах *in vitro* доказана адгезия дрожжеподобных грибов к различным базисным полимерным материалам. Полученные результаты сравнительной оценки адгезии данных микроорганизмов в эксперименте *in vitro* позволяют сделать предположительные выводы прогностического характера с точки зрения вероятной дестабилизации микробиоценоза полости рта, кариесогенного эффекта, возможности развития обострения пародонтита или повышения риска протезного стоматита в зависимости от степени выраженности адгезии микроорганизмов.

Для исследования применяют образцы исследуемых материалов в виде дисков с тщательно отшлифованными сторонами. Диаметр дисков, как правило, составляет 3 мм, толщина - 1 мм. При постановке экспериментов используют взвесь бактерий, содержащую 1 млн бактериальных клеток в 1 мл физиологического раствора, грибов - 100 тыс. дрожжевых клеток в 1 мл.

14.3.2. Методика оценки первичной адгезии с ультразвуковой обработкой

Выполняют по следующему алгоритму.

- Образец исследуемого материала помещают в бактериальную взвесь стандартного объема (например, 1 мл) и выдерживают в ней при 37 °С в течение 40 мин (при изучении адгезии анаэробных видов инкубация происходит в бескислородной газовой смеси).

- Выполняют 5-кратное промывание стерильным физиологическим раствором (ополаскивание погружением в 10 мл раствора).

- Образцы помещают в стерильную полужидкую транспортную среду (Стюарта, Эймса или АС) объемом 2 мл и озвучивают при частоте 80 кГц в стерильной ванночке «*Ultrasonic*» («Геософт», Россия) в течение 2 мин.

- Затем из озвученной среды отбирают микропипеткой 50 мкл и проводят посев на 5% кровяной гемин-агар секторальным методом (для бактериальных тест-культур) или среду Сабуро (для тест-культур дрожжеподобных грибов).

- Для получения результата чашки Петри с посевами микроаэрофильных и анаэробных бактерий инкубируют до 5 сут в анаэроstate в атмосфере для поддержания анаэробноза при 37 °С. Чашки Петри с посевами на среде Сабуро инкубируют 24 ч при 37 °С в термостате, а затем еще 24 ч - при комнатной температуре. Учет и подсчет выросших колоний проводят с помощью бинокулярной лупы МЛ-2Б или стереомикроскопа.

Полученный результат выражают через десятичный логарифм (lg) числа КОЕ. Индекс адгезии рассчитывают, как частное от деления полученной величины на десятичный логарифм концентрации бактерий (или грибов) в исходной взвеси, нанесенной на образец исследуемого материала:

где I_a - индекс адгезии; А - количество прилипших бактерий; N - количество бактерий в 1 мл взвеси.

Исследование повторяют как минимум в трех параллелях.

14.3.3. Методика оценки остаточной адгезии способом отпечатков

Оценку выполняют по следующему алгоритму.

- На образец исследуемого материала с помощью микропипетки помещают бактериальную взвесь стандартного объема (например, 100 мкл) и выдерживают во влажной камере при 37 °С в течение 20 мин (при изучении адгезии анаэробных видов инкубация происходит в бескислородной газовой смеси).

- Промывание осуществляют путем длительной обработки ультразвуком в стерильной ванночке «*Ultrasonic*» («Геософт», Россия) при 80 кГц в 100 мл стерильного физиологического раствора с помощью ультразвука в течение 10 мин.

- После ультразвукового промывания образцы прикладывают к поверхности питательной среды той стороной, на которую наносят взвесь микроорганизмов, и слегка прижимают пинцетом для получения отпечатка. Процедуру повторяют 5 раз.

- Затем проводят механическое распределение стерильной бактериальной петлей по всей поверхности питательной среды микроорганизмов, перенесенных отпечатками с образца материала. Для посевов отпечатков используют плотные питательные среды - 5% кровяной гемин-агар (для бактериальных тест-культур) или среду Сабуро (для тест-культур дрожжеподобных грибов).

- Для получения результата чашки Петри с посевами микроаэрофильных и анаэробных бактерий инкубируют до 5 сут в анаэроstate в атмосфере для поддержания анаэробноза. Чашки Петри с посевами на среде Сабуро для оценки адгезии дрожжеподобных грибов рода *Candida* инкубируют 24 ч при 37 °С в термостате, а затем еще 24 ч - при комнатной температуре. Учет и подсчет выросших колоний проводят с помощью бинокулярной лупы МЛ-2Б.

Полученный результат выражают через десятичный логарифм (lg) числа КОЕ. Индекс остаточной адгезии рассчитывают как частное от деления полученной величины на десятичный логарифм концентрации бактерий (или грибов) в исходной взвеси, нанесенной на образец исследуемого материала:

$$I_{ao} = I_g / I_{gN}$$

где I_{a0} - индекс адгезии остаточной; А - количество прилипших бактерий; N - количество бактерий в 100 мкл взвеси.

Исследование повторяют как минимум в трех параллелях.

14.3.4. Комбинированный биохимический метод оценки адгезии

Для определения возможных воздействий бактериальной адгезии выбирают два-три стандартных материала, например, высокодисперсные гибридные композиты (*Charisma: «Kulzer», «Wehrheim», Германия; Pertac Hybrid: ESPE, «Seefeld», Германия*) и компомерный материал (*Dyract: «Dentsply/De Trey», «Konstanz», Германия*). Образцы каждого тестируемого материала сжимают между стеклянными пластинами, покрытыми глицерином, для создания гладких поверхностей. Для того чтобы удостовериться в одинаковой толщине тестовых образцов, между стеклянными пластинами фиксируют металлические полоски толщиной 1 мм. После этого образцы полимеризуют, освещая в течение 90 с с каждой стороны светоотверждающим устройством «*Dentacolor XS*» («*Kulzer», «Wehrheim», Германия*). Затем стеклянные пластины удаляют, образцы снова покрывают глицерином для уменьшения окисления и опять освещают в течение 90 с с каждой стороны для оптимальной полимеризации.

После удаления глицеринового покрытия с помощью водной пульверизации образцы контрольной и опытной групп разрезают на полоски размером 5-10 мм и в каждом таком кусочке просверливают отверстия диаметром 2 мм. Согласно инструкциям производителей, любой вид стерилизации нарушает свойства композитных и компомерных материалов. Именно поэтому кусочки дезинфицируют в течение 24 ч 70% раствором этилового спирта и затем хранят в стерильном 0,9% растворе NaCl.

Продезинфицированные кусочки полимерных материалов подвешивают на ортодонтических проволоках («*Dentaurum», «Pforzeim», Германия; толщина - 0,5 мм*), прикрепленных к силиконовым пробкам, и вносят в тестовые пробирки, содержащие питательный бульон, предварительно стерилизованный автоклавированием. Затем пробирки обсеменяют одним из штаммов (*S. mutans, S. oralis, A. naeslundii*), 0,1% навеской (примерно 1×10^8 КОЕ). Кусочки инкубируют на протяжении 35 сут. Контаминация должна отсутствовать. Отработанную среду ежедневно заменяют свежим бульоном, при этом отбирают образцы для определения глюкозы и лактата.

Для каждого материала и вида бактерий исследование проводят в двух параллелях. Два контрольных набора включают: пробирки, содержащие только полимерные полоски и питательный бульон без бактерий, которые служат контролем для сканирующей электронной микроскопии (они должны оставаться стерильными до конца эксперимента), и пробирки с питательным бульоном, обсемененным бактериями, но не содержащим кусочков полимера, которые служат контролем для потребления глюкозы (рис. 14-1) и выработки лактата (рис. 14-2). В конце эксперимента кусочки вынимают, очищают и подготавливают для дальнейших анализов.

Ферментный анализ

Глюкозу и L-лактат определяют ферментным методом с помощью коммерчески доступного набора реактивов («*UV method», «Boehringer Mannheim», Германия*). Потребление глюкозы рассчитывают как разницу между содержанием глюкозы в среде до обсеменения (27 моль) и через 24 ч бактериального роста.

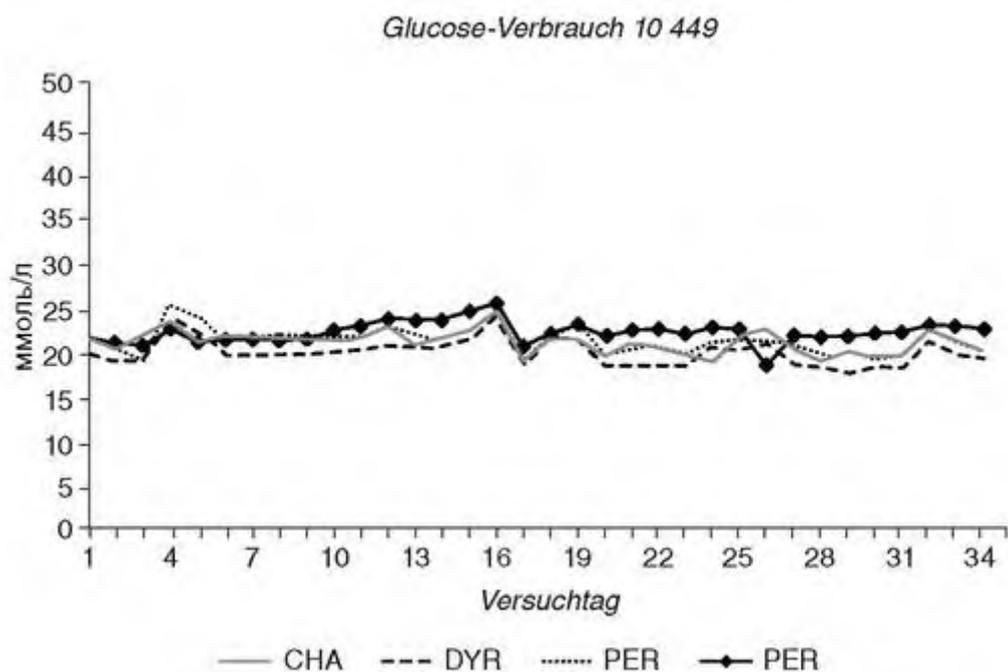


Рис. 14-1. Потребление глюкозы *S. mutans* 10 449 в присутствии образцов *Charisma*, *Pertac Hybrid* и *Dyract* по сравнению с контролем. Даны значения на протяжении всего 35-дневного экспериментального периода

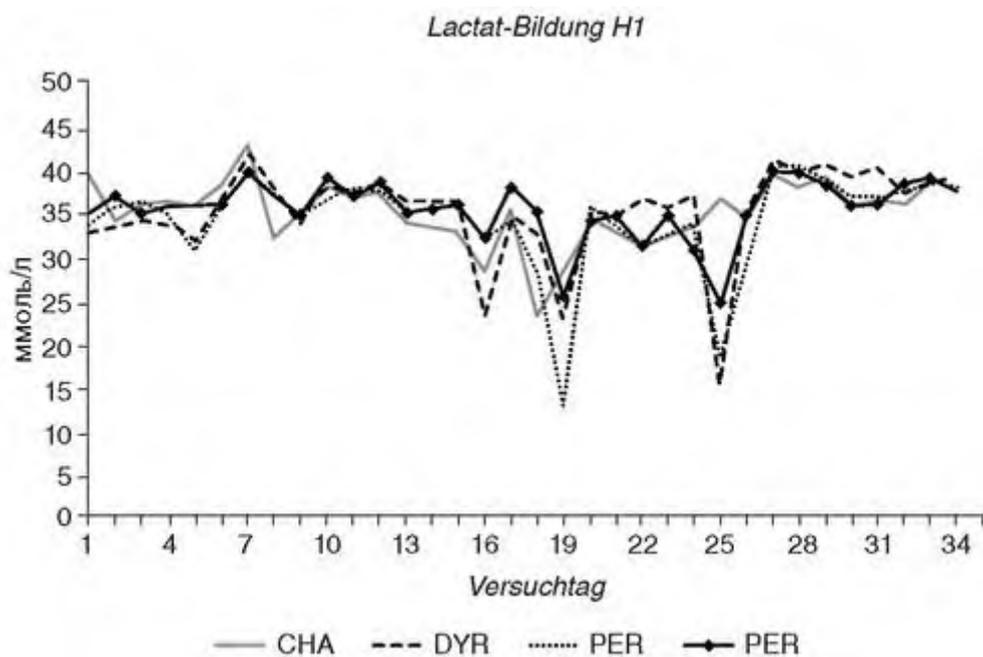


Рис. 14-2. Измерения выработки L-лактата в процессе экспериментальной инкубации с *S. oralis* H1 в присутствии трех полимерных материалов (*Charisma*, *Pertac Hybrid* и *Dyract*) по сравнению с контролем на протяжении 35 дней

Сканирующая электронная микроскопия

Для сканирующей электронной микроскопии полимерные полоски, содержащие абсорбированные *S. oralis* H1, *S. mutans* 10449 или *A. naeslundii* A65, извлекают из тестовых пробирок через 24 ч и дважды промывают. Для того чтобы сделать бактерии видимыми, образцы фиксируют в течение 1-2 ч в 3% растворе формальдегида при комнатной температуре и обезживают последовательным проведением через этиловый спирт от 50 до 96% концентрации. Полимерные кусочки, которые подвергались бактериальной колонизации на протяжении 35 дней, вынимают из тестовых пробирок и тщательно

очищают в ультразвуковой ванне для удаления толстого слоя бактерий до тех пор, пока промывная жидкость не становится чистой.

Все образцы, включая контрольные кусочки, не подвергаемые действию бактерий, высушивают только воздухом. Проведение дальнейшей электронной микроскопии не требует фиксации, последовательного проведения через спирты повышающейся концентрации и особого высушивания. После ионного напыления в холодном распылителе опытные и контрольные образцы рассматривают под сканирующим электронным микроскопом «Zeiss DSM 962» («Oberkochen», Германия) при возрастающем напряжении 10 кВ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В полости рта обитают группы бактерий, отличающиеся по физиологическим потребностям и типу дыхания, что необходимо учитывать при их культивировании в лабораторных условиях.

Обычно культивирование бактерий полости рта начинают с того, что собранный материал немедленно помещают в транспортную среду, которую направляют для исследования в лабораторию. Поскольку бактерии часто слипаются и образуют конгломераты, материал в лаборатории тщательно встряхивают или подвергают щадящей обработке ультразвуком, а затем высевают на питательные среды в чашках Петри. Поскольку пробы из полости рта содержат огромное количество микроорганизмов, для получения роста отдельных колоний обычно выполняют серийные разведения материала или используют методики секторального посева.

Для обеспечения оптимальной температуры роста (37 °С для резидентной микрофлоры полости рта и вирулентных видов) посевы инкубируют в термостатах и анаэроостатах. Выросшие на среде колонии снимают для субкультивирования, получения чистых культур и окончательной идентификации.

Методы идентификации и классификации бактерий можно разделить на 2 категории: культуральные и молекулярно-биологические, не требующие выращивания микроорганизмов. За последние 20 лет молекулярные методы приобрели существенное значение и стали стандартными при исследовании бактерий полости рта. С их помощью выявлены сотни новых бактерий, которые пока остаются некультивируемыми. Многие из них важны для состояния полости рта. Разработка методов их культивирования позволит прояснить многие вопросы в микробиологии полости рта. Для этого могут потребоваться новые методические подходы и питательные среды.

В настоящее время нет единой методики для оценки полного состава микроорганизмов в пробе, поэтому целостное представление о нем может дать лишь использование ряда методов. У каждого из них есть свои достоинства, недостатки и погрешности.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Укажите один правильный ответ.

1. Серологическая диагностика - это определение:

- а) титра антител;
- б) вида неизвестного антигена с помощью известных антител;
- в) неизвестных антител с помощью известных антигенов - диагностику-мов;
- г) количества иммуноглобулинов в сыворотке крови;

д) патогенных свойств бактерий.

2. Серологическая идентификация - это определение:

- а) титра антител;
- б) вида неизвестного антигена с помощью известных антител;
- в) неизвестных антител с помощью известных антигенов - диагностикумов;
- г) количества иммуноглобулинов в сыворотке крови;
- д) количества Ig в сыворотке или биосекретах.

3. Основные характеристики серологических реакций:

- а) имеют двухфазный характер;
- б) проходят по типу физико-химических коллоидных реакций;
- в) взаимодействие антигена и антитела строго специфично;
- г) количества антигена и антител эквивалентны;
- д) выделяется небольшое количество тепла (слабоэкзотермичные);
- е) все верно.

4. Визуальный результат реакции агглютинации:

- а) помутнение прозрачной среды реакции и образование мелкодисперсной взвеси (флокулята) или кольца преципитации;
- б) просветление мутной среды реакции и образование крупнодисперсного (зернистого) осадка;
- в) просветление мутной среды реакции, гибель живых бактерий;
- г) торможение (задержка) гемолиза эритроцитов барана;
- д) гемолиз эритроцитов барана.

5. Визуальный результат реакции преципитации:

- а) помутнение прозрачной среды реакции и образование мелкодисперсной взвеси (флокулята) или кольца преципитации;
- б) просветление мутной среды реакции и образование крупнодисперсного (зернистого) осадка;
- в) просветление мутной среды реакции, гибель живых бактерий;
- г) торможение (задержка) гемолиза эритроцитов барана;
- д) гемолиз эритроцитов барана.

Укажите все правильные ответы.

6. Бактериальная обсемененность пародонтопатогенными видами в норме составляет:

- а) 10^5 и выше;
- б) до 10^4 ;
- в) до 10^5 ;
- г) от 10^2 до 10^4 ;
- д) выше 10^6 .

7. Бактериальная обсемененность стабилизирующими видами в норме:

- а) от 10^5 до 10^7 ;
- б) до 10^4 ;

- в) до 10^5 ;
- г) от 10^2 до 10^4 ;
- д) выше 10^6 .

8. Бактериальная обсемененность стабилизирующими видами при воспалительных процессах полости рта составляет:

- а) 10^7 и выше;
- б) до 10^4 ;
- в) до 10^5 ;
- г) от 10^2 до 10^4 ;
- д) выше 10^6 .

9. При транспортировке материала от больного одонтогенной инфекцией необходимо соблюдать следующие требования:

- а) использовать редуцирующие транспортные системы;
- б) доставлять при $37\text{ }^\circ\text{C}$;
- в) использовать среду с антибиотиком;
- г) доставлять в охлажденном виде.

10. Основные цели применения дифференциально-диагностических сред:

- а) изучение биохимической активности микроорганизмов;
- б) изучение культуральных свойств микроорганизмов;
- в) определение чувствительности к антибиотикам;
- г) дифференциация различных видов микроорганизмов;
- д) транспортировка материала в лабораторию.

11. Сахаролитические свойства микроорганизмов изучают на средах:

- а) мясо-пептонном агаре, мясо-пептонном бульоне;
- б) Гисса;
- в) Ресселя;
- г) в кровяном агаре;
- д) тест-системе АРІ;
- е) тест-системе *Lachema*.

12. Биохимическая активность микроорганизмов на плотных средах Гиса учитывается:

- а) по изменению цвета среды;
- б) образованию осадка;
- в) образованию газа;
- г) разрыву среды;
- д) образованию бактериальной пленки на поверхности среды.

13. Протеолитические ферменты микроорганизмов изучаются на средах с углеводами:

- а) белковыми субстратами;
- б) молоком;

в) желатиной;

г) МПБ.

14. На I этапе бактериологического исследования решают следующие задачи:

а) идентифицируют чистую культуру микроорганизмов;

б) определяют чувствительность к антибиотикам;

в) получают изолированные колонии;

г) определяют вид бактерии;

д) получают чистую культуру.

15. Ферменты в химическом отношении содержат:

а) субстрат;

б) апофермент;

в) простетическую группу;

г) кофермент;

д) метаболит.

16. Основные особенности метаболизма у прокариот:

а) отсутствие типичных ферментов;

б) высокая интенсивность;

в) выделение экзоферментов;

г) высокая проницаемость клеточной стенки и цитоплазматической мембраны для относительно крупных молекул;

д) отсутствие активного транспорта.

17. В понятие «культуральные свойства» бактерии входят:

а) характер роста на питательных средах;

б) макроскопическая характеристика колоний;

в) морфология бактериальных клеток при микроскопии;

г) ферментация углеводов на средах Гиса;

д) отношение возбудителя к окрашиванию по Граму.

18. На рост бактерий влияют следующие условия культивирования:

а) газовый состав;

б) содержание в питательной среде органических соединений;

в) факторы роста;

г) рН среды;

д) влажность среды;

е) ничего из перечисленного.

19. Цели использования серологических реакций:

а) определение титра антител;

б) серологическая диагностика;

в) стандартизация и маркировка сыворотки;

г) серологическая идентификация;

д) получение гипериммунной сыворотки.

20. В качестве неизвестного антигена для сероидентификации возбудителя используют:

- а) токсины;
- б) ткани другого вида;
- в) грибы;
- г) клетки разных органов;
- д) патогенные и непатогенные микроорганизмы.

21. Титр антител - это:

- а) наименьшая концентрация антител в пробирке, при которой происходит реакция;
- б) наибольшее разведение сыворотки, при котором происходит реакция;
- в) наименьшее разведение сыворотки, при котором происходит реакция;
- г) количество антигенов, связавших в эквивалентном соотношении с антителами;
- д) наибольшая концентрация антител в пробирке, при которой происходит реакция.

22. Неизвестным антителом в реакциях серодиагностики является сыворотка людей:

- а) здоровых;
- б) больных;
- в) переболевших;
- г) носителей латентной инфекции;
- д) вакцинированных.

23. Диагностикумы - стандартные препараты, которые:

- а) не обладают антигенностью;
- б) не обладают патогенностью;
- в) сохраняют антигенные свойства;
- г) получают из чистых культур микроорганизмов определенных видов или их антигенов;
- д) являются эндотоксинами.

24. Установите соответствие участия компонента и типа серологической реакции:

1 - компонентнезависимые;

2 - компонентзависимые;

- а) лизис;
- б) агглютинация;
- в) преципитация;
- г) реакция связывания компонента.

25. Для культивирования облигатных анаэробов можно применять следующие газы:

- а) кислород;
- б) метан;
- в) смесь азота, водорода и углекислого газа;
- г) углекислый газ;

д) азот.

26. Для оценки адгезии микроорганизмов в эксперименте *in vitro* используют:

- а) культуральную оценку прилипания тест-штаммов к образцам;
- б) биохимическую оценку плотности раствора;
- в) ультразвуковое измерение колебаний среды;
- г) оценку остаточной адгезии по специальной методике.

27. К современным методам молекулярно-биологического исследования относятся:

- а) ПЦР;
- б) клонирование и секвенирование ДНК;
- в) ИФА;
- г) обратная гибридизация ДНК.

Ответы к тестовым заданиям

1 - в; 2 - б; 3 - е; 4 - б; 5 - а; 6 - б; 7 - а; 8 - а; 9 - а, г; 10 - г; 11 - б, в, д, е; 12 - а, в, г; 13 - а, б, в, г; 14 - в, д; 15 - б, в, г; 16 - б, в, г; 17 - а, б; 18 - а, б, в, г, д; 19 - а, б, в, г; 20 - а, в, д; 21 - а, б; 22 - б, в, г, д; 23 - в, г; 24: 1 - б, в, 2 - а, г; 25 - б, в, г, д; 26 - а, б, г; 27 - а, б, г.

Часть 4. ПРИНЦИПЫ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ И ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ В СТОМАТОЛОГИИ.

ГЛАВА 15. АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ ПРЕПАРАТЫ И ПРОБЛЕМА УСТОЙЧИВОСТИ (РЕЗИСТЕНТНОСТИ) МИКРОФЛОРЫ

15.1. АНТИБИОТИКИ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

Антибиотики представляют самую многочисленную группу лекарственных средств. Все антибиотики, несмотря на различия химической структуры и механизма действия, объединяет ряд уникальных качеств.

Во-первых, уникальность антибиотиков заключается в том, что, в отличие от большинства других лекарственных средств, их мишень - рецептор, который находится не в тканях человека, а в клетках микроорганизмов.

Во-вторых, активность антибиотиков не является постоянной, а снижается со временем, что обусловлено формированием лекарственной устойчивости (резистентности). Резистентность к антибиотикам является неизбежным биологическим явлением, и предотвратить ее развитие очень трудно.

В-третьих, резистентные к антибиотикам микроорганизмы представляют опасность не только для пациента, у которого они были выделены, но и для многих других людей, даже разделенных временем и пространством. Именно поэтому борьба с резистентностью в настоящее время приобрела глобальные масштабы.

Антибиотики - вещества, избирательно угнетающие жизнедеятельность микроорганизмов. Под избирательным действием понимают активность, проявляющуюся только в отношении специфических мишеней в клетках микроорганизмов при сохранении жизнеспособности клеток хозяина. Вследствие этого действие антибиотиков распространяется не на все, а на определенные роды и виды микроорганизмов (понятие спектра действия).

Например, фузидиевая кислота обладает высокой активностью в отношении стафилококков, включая метициллинорезистентные, но не действует на пневмококки и анаэробные бактерии.

Следует отличать антибиотики от антисептиков (которые действуют на микроорганизмы не избирательно и применяются для их уничтожения в живых тканях) и дезинфектантов, предназначенных для неизбирательного уничтожения микроорганизмов вне живого организма (предметы ухода, аппаратура, инструменты, поверхности и др.).

С избирательностью тесно связано понятие о широте спектра действия антибактериальных препаратов. Однако с позиций сегодняшнего дня деление антибиотиков на препараты широкого и узкого спектра действия представляется условным и подвергается серьезной критике, в первую очередь, из-за отсутствия жестких критериев для такого деления.

Ошибочным является представление о том, что препараты широкого спектра активности более надежны, более сильны, а применение антибиотиков с узким спектром действия в меньшей степени способствует развитию резистентности и т.д.

При этом не учитывают приобретенную резистентность. К примеру, тетрациклины, которые в первые годы применения были эффективны против большинства клинически значимых микроорганизмов, в настоящее время потеряли значительную часть своего спектра активности именно из-за развития приобретенной резистентности у пневмококков, стафилококков, гонококков и энтеробактерий. Цефалоспорины III поколения обычно

рассматривают как препараты с широким спектром активности, однако они не действуют на MRSA (метициллинорезистентные *S. aureus*), многие анаэробные виды, энтерококки, листерии, атипичные возбудители и др.

Более целесообразно рассматривать антибиотики с точки зрения клинической эффективности при инфекции определенной органной локализации, так как клинические доказательства эффективности, полученные в хорошо контролируемых (сравнительных, рандомизированных, проспективных) клинических испытаниях, имеют несомненно более важное значение, чем условный ярлык типа антибиотик широкого или узкого спектра активности.

Вследствие существенного роста частоты воспалительных заболеваний слизистой оболочки полости рта и челюстно-лицевой области, вызываемых устойчивыми (или антибиотикорезистентными) штаммами бактерий, рациональный выбор антибактериальных средств для системной терапии в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии приобретает все большее значение.

Появление на отечественном фармацевтическом рынке новых антибактериальных средств, в том числе антибиотиков широкого спектра действия, существенно повышает возможности выбора практических врачей. О распространенности применения данных препаратов свидетельствует тот факт, что уже в 1998 г. на их долю приходилось 16% всего российского рынка медикаментов (по материалам Международной конференции Ассоциации фармацевтических дистрибьюторов «Фармос»).

В настоящее время в России используется более 40 различных групп антибиотиков, антибактериальных, противогрибковых и противопротозойных химиопрепаратов, а общее число наименований (с учетом дженериков) превышает 1000.

Такое многообразие не случайно. Оно является отражением своеобразного эволюционного соревнования микроорганизмов и человека за выживание - гонки приспособления микроорганизмов к вновь создаваемым человеком антибиотикам. В основе этих процессов лежат глубокие биологические закономерности, связанные с процессами наследственности и изменчивости микроорганизмов, которые рассмотрены ниже в настоящей главе.

15.2. КЛАССИФИКАЦИЯ АНТИБИОТИКОВ

Современная классификация антибиотиков разработана в Государственном центре по антибиотикам. Антибиотики подразделяются по механизму действия, химической структуре, антибактериальному спектру, типу действия на клетку.

С учетом механизма действия антибиотики разделяют на группы (рис. 15-1):

- ингибиторы синтеза клеточной стенки микроорганизма (пенициллины, цефалоспорины, ванкомицин, тейкопланин и др.);
- антибиотики, нарушающие молекулярную организацию, функции клеточных мембран (полимиксин, нистатин, леворин, амфотерицин В, грамицидин С и др.);
- антибиотики, подавляющие синтез белка и нуклеиновых кислот, в частности, ингибиторы синтеза белка на уровне рибосом (хлорамфеникол, тетрациклины, макролиды, линкомицин, аминогликозиды);
- ингибиторы РНК-полимеразы (рифампицин);
- ингибиторы синтеза ДНК на уровне ДНК-гиразы (фторхинолоны);
- ингибиторы бактериального метаболизма фолиевой кислоты (сульфаниламиды, триметоприм).



Рис. 15-1. Классификация современных антибактериальных препаратов

По происхождению антибактериальные препараты (табл. 15-1) делят на природные (собственно антибиотики, например, пенициллины), полусинтетические (продукты модификации природных молекул, например, амоксициллин или цефазолин) и синтетические (например, сульфаниламиды, нитрофураны). В настоящее время такое деление потеряло актуальность, так как ряд природных антибиотиков получают путем синтеза (хлорамфеникол), а некоторые препараты, называемые антибиотиками (фторхинолоны), *de facto* являются синтетическими соединениями.

Таблица 15-1. Основные группы антибактериальных препаратов, применяемых в клинической практике на территории Российской Федерации

Пенициллины		Цефалоспорины	
Природные пенициллины	Бензилпенициллин (пенициллин G) Прокаинпенициллин (новокаиновая соль пенициллина G) Бензатинпенициллин (бициллин) Феноксиметилпенициллин	Цефалоспорины первого поколения	Цефазолин Цефалексин Цефаклор ⁹
Пенициллины, резистентные к пенициллиназе	Диклоксациллин [*]	Цефалоспорины второго поколения	Цефамандол Цефокситин Цефотетан Цефуроксим
Аминопенициллины	Оксациллин Амоксициллин Ампициллин	Цефалоспорины третьего поколения	Цефотаксим Цефоперазон Цефтриаксон Цефтазидим Цефтибутен Цефподоксима проксетил ⁹
Уреидопенициллины	Азлоциллин Пиперациллин	Цефалоспорины четвертого поколения	Цефепим
Карбоксипенициллины	Карбенициллин Тикарциллин	Химиопрепараты широкого спектра действия	
Карбапенемы	Имипенем Меропенем	Хинолоны	Налидиксовая кислота Пипемидовая кислота

Продолжение табл. 15-1

Пенициллины		Цефалоспорины	
Монобактамы	Азтреонам	Фторхинолоны	Левифлоксацин Ломефлоксацин Моксифлоксацин Норфлоксацин Офлоксацин

			Пефлоксацин Спарфлоксацин Ципрофлоксацин
Антибиотики широкого спектра действия	Амоксициллин Клавуланат тикарциллин Клавуланат ампициллин Сульбактам пиперациллин Тазобактам Цефоперазон сульбактам	Нитрофураны	Нитрофурантоин Фурагин Фуразолидон
Аминогликозиды	Амикацин Гентамицин Канамицин Нетилмицин Стрептомицин Тобрамицин	Нитромидазолы	Нитрофурантоин Фурагин Фуразолидон
Тетрациклины	Доксициклин Тетрациклин	Производные хиноксалина	Диоксидин Хиноксидин
Макролиды	Азитромицин Джозамицин Кларитромицин Мидекамицин Олеандомицин Рокситромицин Спирамицин Эритромицин	Сульфаниламиды с триметопримом	Котримоксазол
Линкозамины	Клиндамицин Линкомицин	Другие антибактериальные препараты	Спектиномицин Фосфомицин Фузидиевая кислота Грамицидин Хлорамфеникол
Гликопептиды	Ванкомицин Тейкопланин* ⁹	Сульфаниламиды	Сульфадимидин

Оконгание табл. 15-1

Пенициллины		Цефалоспорины	
Оксазолидинолы	Линезолид	Препараты короткого действия	Сульфадиметоксин
Рифамицины	Рифампицин	Препараты среднего действия	Сульфаметоксазол
Полимиксины	Полимиксин В Полимиксин Е (колистин)	Препараты длительного действия	Сульфален
Противотуберкулезные средства	Изониазид Метазид Парааминосалициловая кислота Пиразинамид Рифабутин Рифампицин Стрептомицин Фтивазид Циклосерин Этамбутол Этионамид		
Противогрибковые средства	Производные азола: кетоназол, итраконазол, клотримазол, флуконазол, вориконазол. Производные алиламина: тербинафин. Полиеновые и другие антибиотики: нистатин, флуцитозин, амфотерицин В		

По спектру антибактериального действия антибиотики подразделяют на следующие группы:

- действующие на грамположительные бактерии и кокки - биосинтетические пенициллины, изоксазолпенициллины (оксациллин), линкосамиды, ванкомицин, фузидин;
- активные в отношении грамотрицательных бактерий - азтреонам, полимиксины;
- широкого спектра действия, активные в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, - аминопенициллины (ампициллин), карбенициллин, уреидопенициллины (пиперациллин), цефалоспорины, аминогликозиды, хлорамфеникол, тетрациклины, макролиды, рифампицины, карбапенемы (имипенем, меропенем), фосфомицин;
- противотуберкулезные (стрептомицин, рифампицин, флоримицина сульфат*);
- противогрибковые (нистатин, леворин, гризеофульвин, амфотерицин В, кетоназол, флуконазол и др.).

15.3. ПРИНЯТИЕ РЕШЕНИЯ О НАЗНАЧЕНИИ АНТИБИОТИКА

При решении вопроса об использовании того или иного антибактериального препарата в клинической практике принято учитывать соотношение факторов, свойственных и пациенту, и возбудителю (или возбудителям) инфекции (рис. 15-2).

К факторам пациента можно отнести характер заболевания, его клиническое течение (острое, подострое, обострение хронического и др.); тяжесть процесса, которая может быть обусловлена не только видом возбудителя, но и его локализацией, распространением, сопутствующей патологией и др. Немаловажное значение как в выборе препарата, так и в определении режима его использования (доза, форма назначения, кратность приема, длительность курса) имеют возраст, аллергологический анамнез, состояние печени и почек, иммунной системы, гормональные изменения, способность принимать препарат внутрь. У женщин необходимо учитывать возможную беременность, кормление грудью. Весьма серьезным моментом являются прием лекарственных препаратов, связанных с сопутствующей патологией, предшествующее антибактериальное лечение.

Факторы возбудителя: источник инфицирования (одонтогенный, стоматогенный, тонзиллогенный, экзогенный и др.) и, следовательно, наиболее вероятные при данной нозологической форме патогены или их ассоциации; чувствительность возбудителей к антибактериальным препаратам.

Вместе с тем при сопоставимой эффективности и безопасности препаратов в качестве критерия выбора, в частности, для эмпирической терапии следует использовать также и экономические показатели, такие как минимальная стоимость лечения и соотношение затраты/эффективность лечения. По мнению отечественных исследователей, только рациональное применение антибактериальной терапии с позиций как клинической, так и экономической эффективности может привести к существенной экономии средств, что особенно важно при ограниченных ресурсах российского здравоохранения.



Рис. 15-2. Схема принятия решения о назначении антибактериального препарата

15.4. ПРИНЦИПЫ ПРИМЕНЕНИЯ АНТИБИОТИКОВ

Основные принципы применения антибиотиков в медицинской практике в настоящее время достаточно четко сформулированы.

- Оптимальным условием для антибактериальной химиотерапии следует считать установление инфекционной этиологии процесса на основании соответствующих клинико-лабораторных данных.

Однако далеко не всегда, тем более в первые дни заболевания, удастся определить этиологию воспалительного процесса, в том числе и в полости рта или челюстно-лицевой области по клинической картине и результатам лабораторных исследований. В связи с этим антибиотики назначают на эмпирической основе.

- Препараты следует назначать с учетом взаимодействия с другими, одновременно используемыми лекарственными средствами.

- Обязательно следует учитывать взаимодействие или совместимость антибиотиков.

- При отсутствии клинической эффективности через 36-48 ч антибиотик следует заменить другим.

- Строгое соблюдение сроков применения антибиотиков [часто при клиническом улучшении прием антибиотиков прекращают, что из-за отсутствия эрадикации возбудителя ведет к обострениям и рецидивам заболевания, а в случаях необоснованно длительного (до 2-3 нед) применения антибиотика возможно появление резистентных форм микроорганизмов].

- При назначении антибиотиков (особенно в условиях стационара) следует стремиться использовать принцип ступенчатой терапии. Всегда желателен прием препаратов внутрь, лишь в случаях тяжелого течения заболевания антибиотики вводят парентерально, а через 2-3 дня, при достижении положительной динамики в клиническом течении заболевания, переходят на прием внутрь.

При определении дозы и частоты приема антибиотика следует учитывать не только величину минимальной подавляющей концентрации (МПК), но и способность каждого из них накапливаться в определенных органах и тканях.

- Профилактика возможных побочных действий и осложнений. Наиболее частое побочное действие - аллергия. Есть антибиотики, которые крайне неблагоприятно сочетаются друг с другом, из-за чего возникает так называемая проблема совместимости антибиотиков.

- При заболеваниях с хроническим течением (например, при актиномикозе челюстно-лицевой области) необходимо следить за состоянием иммунной системы.

Вместе с тем антибактериальная химиотерапия при стоматологической патологии имеет ряд особенностей, которые следует учитывать. К ним можно отнести следующие.

- В подавляющем большинстве случаев в развитии воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области принимает участие резидентная микрофлора полости рта, которая в силу физиологических особенностей постоянно подвергается действию лекарственных препаратов, консервантов пищевых продуктов и т.п., из-за чего обладает большей резистентностью к антибактериальным средствам.

- Полиэтиологический характер стоматологической патологии - разные группы резидентных микроорганизмов полости рта чувствительны к принципиально различным антибактериальным препаратам. Необходимо использовать антибактериальные препараты, воздействующие как на анаэробные неспорообразующие микроорганизмы, так и на факультативно-анаэробные.

- Следует учитывать возможность грибкового происхождения заболевания (*Candida*-ассоциированный пародонтит и др.).
- Возможная последовательная замена (или доминирование в бактериальной ассоциации) одних видов другими, что может наблюдаться, в частности, при пародонтите.

15.5. АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ШТАММОВ И ЕЕ ПРЕОДОЛЕНИЕ

Устойчивость (резистентность) микроорганизмов к антибиотикам может быть природной и приобретенной.

Истинная природная устойчивость характеризуется отсутствием у микроорганизмов мишени действия антибиотика или недоступности мишени вследствие первично низкой проницаемости или ферментативной инактивации. При наличии у бактерий природной устойчивости антибиотики клинически неэффективны. Природная резистентность микроорганизмов к антибиотикам является постоянным видовым признаком микроорганизмов и легко прогнозируется.

Примером может служить природная устойчивость облигатно-анаэробных бактерий - превотелл или порфиромонад к аминогликозидным препаратам или, например, стафилококка - к метронидазолу.

Под приобретенной устойчивостью понимают свойство отдельных штаммов бактерий сохранять жизнеспособность при тех концентрациях антибиотиков, которые подавляют основную часть бактериальной популяции. Возможны ситуации, когда большая часть бактериальной популяции проявляет приобретенную устойчивость. Появление у бактерий приобретенной резистентности необязательно сопровождается снижением клинической эффективности антибиотика. Формирование резистентности во всех случаях обусловлено генетически: приобретением новой генетической информации или изменением уровня экспрессии собственных генов.

Среди наиболее распространенных генетических механизмов следует назвать передачу плазмид, имеющих гены, кодирующие устойчивость к лекарственным препаратам (R-плазмид).

R-плазмиды (*resistance* - устойчивость) - это плазмиды, кодирующие множественную лекарственную устойчивость. Бактерии, обладающие такими плазмидами, резистентны к нескольким лекарственным препаратам.

Впервые множественная лекарственная устойчивость была обнаружена в Японии у шигелл (возбудителей бактериальной дизентерии). В 1955 г. в Японию из Гонконга приехала женщина, которая заболела не поддающейся лечению дизентерией. Необычность выделенных шигелл заключалась в том, что они были устойчивы к действию нескольких лекарственных препаратов: хлорамфениколу, стрептомицину и тетрациклину, а также к сульфаниламидам. В дальнейшем в Японии этот возбудитель с множественной лекарственной резистентностью стал распространяться и было отмечено несколько эпидемий неизлечимой дизентерии. К 1964 г. более 50% всех штаммов шигелл, выделенных в больницах Японии, были полирезистентными. Затем такие штаммы стали обнаруживать во всем мире.

Появление такой полирезистентности у бактерий невозможно было объяснить сочетанием мутации с последующим отбором. Детальные исследования японских ученых показали, что от больных дизентерией выделялись не только полирезистентные шигеллы, но и устойчивые к тем же лекарственным препаратам кишечные палочки - нормальные обитатели кишечника. Предположили, что устойчивость к четырем указанным

лекарственным препаратам передается шигеллам от полирезистентных кишечных палочек в кишечнике больного.

Это предположение было полностью подтверждено в опытах, проведенных *in vitro* и на людях-добровольцах. Установили, что фактор, кодирующий множественную лекарственную устойчивость, находится вне хромосомы. Его назвали R-фактор (R-плазида). Важно отметить, что бактерии всегда получают его от других бактерий, уже имеющих R-фактор. Он никогда не появляется в клетках в результате мутаций. R-факторы обычно передаются от одних бактерий к другим путем конъюгации.

Распространение во всем мире бактерий с множественной лекарственной устойчивостью вызвано применением в широких масштабах антибиотиков с профилактической целью (часто совершенно неоправданной) или несоблюдением доз и сроков лечения. В результате среди чувствительной популяции бактерий происходит селекция полирезистентных штаммов. В настоящее время известны бактерии, одновременно обладающие резистентностью к восьми лекарственным препаратам и более.

Изучение строения R-факторов показало, что они образованы двумя фрагментами ДНК (рис. 15-3). Один из них называется RTF (*Resistance Transfer Factor* - фактор переноса устойчивости). Он содержит гены, кодирующие его репликацию и перенос в другие клетки. Второй сегмент состоит из r-генов, отвечающих за устойчивость к конкретным лекарственным препаратам. Например, если бактерия устойчива к 8 антибиотикам, значит, она имеет 8 r-генов. При этом чувствительная к этим антибиотикам мишень в бактериях остается неизменной.

В случае же мутации хромосомных генов, вызывающей появление резистентности к антибиотикам, изменяется только мишень, на которую действует лекарственный препарат.

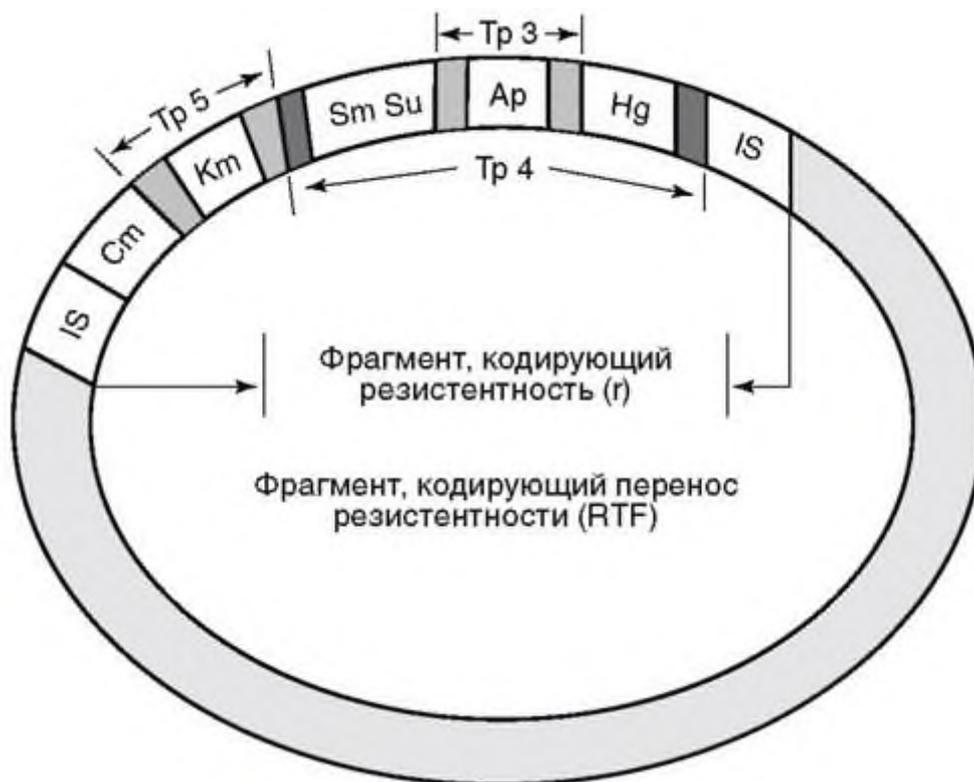


Рис. 15-3. Схема строения R-плазмиды. Гены, кодирующие резистентность к антибиотикам: клотримазолу (Cm), канамицину (Km), стрептомицину (Sm), ампициллину (Ap), сульфаниламидам (Su) и ртути (Hg), объединены на фрагменте r, состоящем из нескольких транспозонов. Концевые инвертированные повторы заштрихованы. Внутри

транспозона Тр 4 находится транспозон Тр 3. Слева на рисунке - транспозон Тр 5. Нижняя часть рисунка - фрагмент, кодирующий перенос резистентности (RTF)

Установлено, что некоторые R-факторы диссоциируют на составляющие их RTF-фактор и γ -детерминанты. Возможна их обратимая ассоциация благодаря интеграции RTF-фактора с γ -детерминантами. Это связано с тем, что в структуру плазмид могут входить транспозоны и IS-последовательности (рис. 15-4).

Передача R-факторов путем конъюгации осуществляется благодаря тому, что они кодируют синтез половых пилей у бактерий. Такие бактерии с R-факторами выступают в роли доноров. Однако под влиянием генов-репрессоров, имеющих в R-факторах, синтез половых пилей через некоторое время после начала конъюгации прекращается.

В связи с этим в устойчивой популяции R⁺-бактерий только немногие образуют пили и являются донорами. Некоторые R-факторы могут включаться в хромосому бактерий и мобилизовать перенос бактериальных генов.

Примером плазмид резистентности являются β -лактамазные (пенициллиназные) плазмиды стафилококков. Эти плазмиды отвечают за синтез ферментов пенициллиназы (β -лактамазы 1-го типа), которая разрушает пенициллин, гидролизуя β -лактамовое кольцо. Для преодоления данного вида резистентности созданы синтетические пенициллины и цефалоспорины, в том числе комбинированные с ингибиторами фермента пенициллиназы - клавулановой кислотой (амоксиклавом) и циластатином натрия. Однако за последние десятилетия у стафилококка появились плазмиды, кодирующие синтез новых ферментов - β -лактамаз 2-го и 3-го типов. Эти ферменты устойчивы к клавулановой кислоте и циллоустатину - препаратам, ингибирующим обычную пенициллиназу.

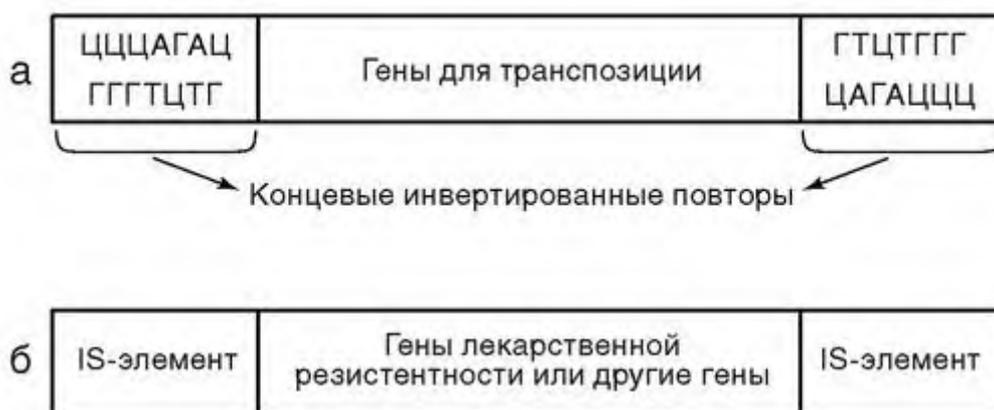


Рис. 15-4. Мигрирующие генетические элементы: а - IS-элемент (последовательность); б - транспозон

Важной особенностью является, что пенициллиназная плазмида передается между стафилококками путем трансдукции, т.е. с помощью переносчика - бактериофага. Трансдукция уравнивает процесс спонтанной потери пенициллиназных плазмид в популяции стафилококков. Значительному распространению стафилококков с такими плазмидами способствовало неоправданно широкое применение пенициллина в профилактических целях, т.е. пенициллин сыграл роль селективного фактора. В последние годы подобные плазмиды выявлены у синегнойной палочки, энтеробактерий, неклостридиальных анаэробов.

Гены, кодирующие резистентность к антибиотикам: клотримазолу (Cm), канамицину (Kt), стрептомицину (Sm), ампициллину (Ap), сульфаниламидам (Su) и ртути (Hg) - объединены на фрагменте γ , состоящем из нескольких транспозонов. Концевые инвертированные повторы заштрихованы. Внутри транспозона Тр 4 находится транспозон

Тр 3. Слева на рисунке - транспозон Тр 5. Нижняя часть рисунка - фрагмент, кодирующий перенос резистентности - RTF.

Известны следующие биохимические механизмы устойчивости бактерий к антибиотикам:

- модификация мишени действия;
- инаktivация антибиотика;
- активное выведение антибиотика из бактериальной клетки (эффлюкс);
- нарушение проницаемости внешних структур бактериальной клетки;
- формирование метаболического шунта.

В настоящее время широкое распространение получили внутрибольничные инфекции, вызываемые метициллино(оксациллино)-резистентными штаммами стафилококков *S. aureus* (MRSA), *S. epidermidis* (MRSE) и ванкомицино-резистентными энтерококками (VREF).

Основным механизмом передачи инфекции, вызванной MRSA, MRSE и VREF, является инфицирование пациентов через руки обслуживающего медицинского персонала. Именно поэтому в лечебно-профилактическом учреждении строго должны соблюдаться меры противоэпидемического контроля, которые не требуют значительных материальных ресурсов. Они включают необходимость мытья рук персонала при переходе от одного пациента к другому, строгое соблюдение принципов асептики и антисептики при работе с больными, изоляцию пациентов-носителей, раннее и активное выявление инфицированного персонала, жесткий контроль за методами дезинфекции, регулярную оценку данных микробиологического исследования и резистентности микрофлоры. Дополнительной мерой противоэпидемического контроля являются выявление и санация пациентов и персонала, являющихся носителями резистентных стафилококков. В дополнение к указанным мерам необходимо придерживаться принципов рациональной антибактериальной терапии, которая способствовала бы снижению вероятности распространения резистентности у бактерий.

Принципы рациональной антибактериальной терапии должны иметь междисциплинарный подход и включать: текущий анализ назначаемых антибактериальных препаратов; регулярно пересматриваемые рекомендации по эмпирической антибактериальной терапии, дозам и продолжительности лечения; обучение врачей, назначающих антибактериальные препараты; адекватные методы микробиологического исследования и регулярный анализ полученных данных.

В большинстве случаев применение этиотропной антибактериальной химиотерапии внутрибольничных инфекций и инфекционно-воспалительных стоматологических заболеваний является затруднительным. Это в первую очередь связано с преимущественно анаэробным характером инфекции, что не только замедляет этиологическую характеристику процесса, но и существенно усложняет и удорожает проведение микробиологических исследований. Разумеется, этот принцип применим в случаях тяжелой, продолжительной инфекции (остеомиелита, флегмон 2-3 областей). Кроме этого необходимость определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам обусловлена получением данных о структуре резистентности возбудителя. В последние годы важную роль отводят также применению антибиотиков для профилактики воспалительных осложнений при дентальной имплантации и других сложных хирургических вмешательствах на челюстно-лицевой области.

Для преодоления устойчивости в состав антибиотиков вводят вещества, ингибирующие бактериальные β-лактамазы, например, клавулановую кислоту и ее натриевую (калиевую) соль, циластатин натрия. Например, амоксиклав (амоксициллин и

клавунат натрия). Известен также ряд средств, обладающих наряду с антибактериальным действием способностью элиминировать плазмиды резистентности к другим антибиотикам, например, фторхинолоны, хлоргексидин. Другое перспективное направление - модификация химической формулы соединения и получение новых синтетических антибиотиков данной группы.

15.6. СПОСОБЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КУЛЬТУР К АНТИБИОТИКАМ

Способы определения чувствительности бактерий к антибиотикам делятся на 2 группы: диффузионные и методы разведения.

В современной лабораторной практике получили распространение следующие способы определения чувствительности:

- с использованием дисков с антибиотиками;
- с помощью E-тестов;
- разведение в жидкой питательной среде (бульоне);
- разведение в агаре;
- микрокассетный.

15.6.1. Дискодиффузионный метод определения чувствительности

При определении чувствительности дискодиффузионным способом на поверхность агаровой среды в чашке Петри наносят бактериальную суспензию определенной плотности (обычно эквивалентную стандарту мутности, содержащую 1 млрд бактериальных тел в 1 мл по *McFarland*) и затем помещают диски, содержащие определенное количество антибиотика. Диски представляют собой кружки диаметром 5 мм, приготовленные из определенных сортов фильтровальной бумаги и пропитанные антибиотиками такой концентрации, которая обуславливает стандартный диаметр зон задержки роста (28-32 мм) чувствительных тест-бактерий.

Перед посевом чашки со средой подсушивают в термостате для лучшей диффузии препаратов в питательную среду. Каждый диск слегка прижимают браншами пинцета, чтобы он плотно прилегал к поверхности агара. Диски следует располагать на равном расстоянии друг от друга и на расстоянии 2-2,5 см от края чашки.

Для более стандартного распределения дисков удобнее пользоваться автоматическим диспенсером (например, фирмы «*Himedia*»). Для определения чувствительности штаммов пародонтопатогенных и других анаэробных бактерий полости рта засеянные чашки (5% кровяной геминагар) с нанесенными на них дисками помещают в анаэрокат с бескислородной газовой смесью и инкубируют 3-5 сут при 37 °С.

Диффузия антибиотика в агар приводит к формированию зоны подавления роста микроорганизмов вокруг дисков. После инкубации чашек в термостате при 35-37 °С в течение ночи учитывают результат путем измерения диаметра зоны вокруг диска в миллиметрах (рис. 15-5).



Рис. 15.5. Дискодиффузионный метод определения чувствительности

Следует учитывать, что при помещении диска на питательную среду антибиотик, находящийся в диске, диффундирует в агар. Наибольшая концентрация антибиотика отмечается в месте расположения диска, по направлению к периферии - снижается.

При учете результатов измеряют зоны торможения роста бактериальной культуры вокруг соответствующих дисков с антибиотиками, которые четко контрастируют на фоне сплошного бактериального роста. Измерение проводят с помощью циркуля, или миллиметровой линейки, или специальным трафаретом. Измеряемый диаметр зоны должен проходить через центр диска.

При зоне задержки роста диаметром до 10 мм штамм расценивается как малочувствительный, более 10 мм - слабочувствительный, или частично резистентный, от 10 до 20 мм - чувствительный и более 20 мм - высокочувствительный (к исследуемому антибиотику). Однако при этом надо также учитывать, что существуют диски, содержащие разные концентрации антибиотика.

15.6.2. Определение чувствительности культур с помощью E-теста

Определение чувствительности культур с помощью E-теста проводят аналогично тестированию дискодиффузионным методом. Отличие состоит в том, что вместо диска с антибиотиком используют полоску E-теста, содержащую градиент концентрации антибиотика от максимальной к минимальной (рис. 15-6). В месте пересечения эллипсоидной зоны подавления роста с полоской E-теста получают значение МПК.



Рис. 15-6. Е-тест определения чувствительности чистых культур

Несомненное достоинство диффузионных методов - простота тестирования и доступность выполнения в любой бактериологической лаборатории. Однако с учетом высокой стоимости Е-тестов для рутинной работы обычно используют дискодиффузионный метод.

15.6.3. Способы разведения

Способы разведения основаны на использовании двойных последовательных разведений концентрации антибиотика от максимальной к минимальной (например, от 128, 64 и т.д. до 0,5, 0,25 и 0,125 мкг/мл).

Сущность данного метода сводится к выявлению роста исследуемой бактериальной культуры в ряду пробирок с питательной средой, содержащей разные концентрации антибиотиков или антисептиков. Метод серийных разведений позволяет определить МПК, при которой ингибируется рост изучаемого микроорганизма.

Для разведения препаратов используют стандартные питательные среды (сердечно-мозговой бульон; рН - 7,2-7,4), которые обеспечивают оптимальные условия роста исследуемого вида и не содержат веществ, подавляющих действие антибиотиков и антисептиков.

В приготовленные разведения препаратов вносят бульонные культуры микроорганизмов в логарифмической или ранней стационарной фазе роста. Для большинства патогенных видов бактерий этот период соответствует 16-18 ч роста для некоторых видов, рост которых замедлен (актиномицеты), - 48-72 ч культивирования. Вместо бульонных допускается использование агаровых культур, которые разводят бульоном и стандартизируют в соответствии со стандартом мутности 0,5 по *McFarland* (1 млрд клеток в 1 мл). Бульонную культуру или взвесь агаровой культуры исследуемых бактерий в бульоне добавляют в объеме 1 мл к каждому разведению препарата. При этом концентрация препарата в первом разведении становится в 2 раза ниже. Все исследования сопровождаются контролем - пробирка, содержащая 1 мл бульона и 1 мл культуры каждого испытуемого штамма без добавления препарата.

После внесения бактериальной культуры штатив с пробирками помещают в термостат и инкубируют при температуре 37 °С 3-5 сут. При исследовании микрофлоры полости рта и анаэробных бактерий культивирование проводят в анаэроостате до 7 сут.

Рост микроорганизма в бульоне (помутнение бульона) или на поверхности агара свидетельствует о том, что данная концентрация антибиотика недостаточна, чтобы подавить его жизнеспособность. По мере увеличения концентрации антибиотика в ряду пробирок рост микроорганизма ухудшается. Первую наименьшую концентрацию антибиотика (из серии последовательных разведений), где визуально не определяется бактериальный рост, принято считать МПК. Измеряют МПК в мг/л или мкг/мл (рис. 15-7).



Рис. 15-7. Определение значения минимальной подавляющей концентрации методом разведения в жидкой питательной среде

МПК - наименьшая концентрация антибиотика (мг/л или мкг/мл), которая *in vitro* полностью подавляет видимый рост бактерий.

Методику можно модифицировать, добавляя в питательную среду индикатор. В этом случае изменение цвета индикатора на выделяемые бактериями кислые продукты позволяет регистрировать рост культуры раньше, чем визуально заметно помутнение среды.

15.6.4. Микрометоды определения чувствительности

Синтезом способов разведения и диффузионного являются кассетный микрометод и различные методики автоматизированного учета определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам.

Кассетный микрометод представляет модификацию определения чувствительности бактерий к антибактериальным и антисептическим препаратам в плотной среде (5% сердечно-мозговой агар, 5% кровяной гемин-агар или питательный) с использованием триацетатных кассет или 96-луночных планшеток. Микрометод в триацетатных кассетах, или блистерах (рис. 15-8), разработан специально для определения чувствительности чистых и смешанных культур анаэробных бактерий, а также расчета МПК антибиотиков, химиопрепаратов и антисептиков.

Стерильные триацетатные кассеты содержат 20 лунок по 0,25 мл или 42 лунки по 0,125 мл, которые помещают в чашки Петри, а затем в лунки вносят исследуемые лекарственные препараты в виде раствора необходимой концентрации (в количестве 0,02 мл) или стандартные диски с антибиотиками (при объеме лунок 0,25 мл). Препараты высушивают, после чего заливают расплавленную питательную среду в количестве 0,25-0,125 мл соответственно в зависимости от типа кассет.

Необходимые концентрации, мг/л:

[0,01]
[0,05]
[0,1]
[0,5]
[1,0]
[3,0]
[5,0]
[10,0]
[50,0]

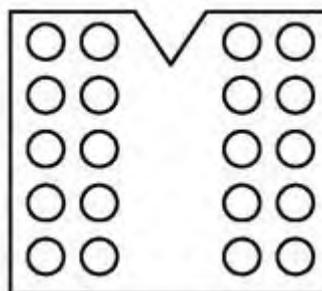


Рис. 15-8. Схема разведения противогрибкового химиопрепарата итраконазола и кассета для определения чувствительности культур грибов с помощью кассетного микрометода

При исследовании инокулом тестируемых микроорганизмов (13 колонии с плотной средой суспендируют в 0,2 мл изотонического раствора натрия хлорида или в жидкой питательной среде) наносят бактериологической петлей на поверхность среды в виде бляшки, имеющей стандартный объем 0,002-0,005 мл. Концентрация бактериальных клеток в изотоническом растворе натрия хлорида (или в жидкой питательной среде) составляет 10^5 - 10^6 в 1 мл в соответствии с оптическим стандартом мутности.

После завершения посева чашки Петри с тест-системами помещают в анаэробстат. Учет результатов проводят по наличию или отсутствию роста колоний бактерий в лунке с исследуемым препаратом через 48 ч инкубации при 37 °С (для анаэробов - в атмосфере, состоящей из 80% азота, 10% углекислого газа и 10% водорода) с использованием бинокулярной лупы.

Данным методом возможно определение МПК для исследуемых препаратов в отношении тестируемых штаммов бактерий. Для этого выполняют разведения препаратов в дистиллированной воде или в соответствующем растворителе (от 0,1 до 120 мкг/мл и более).

15.6.5. Интерпретация результатов определения чувствительности бактериальных культур

На основании получаемых количественных данных (диаметра зоны подавления роста антибиотика или значения МПК) микроорганизмы подразделяют на чувствительные, умеренно резистентные и резистентные (рис. 15-9). Для разграничения этих трех категорий чувствительности (или резистентности) между собой используют так называемые пограничные концентрации (*breakpoint*) антибиотика (или пограничные значения диаметра зоны подавления роста микроорганизма).

Пограничные концентрации не являются неизменными величинами. Они могут пересматриваться в зависимости от изменения чувствительности популяции микроорганизмов. Разработкой и пересмотром критериев интерпретации занимаются ведущие специалисты (химиотерапевты и микробиологи), входящие в государственные комитеты.

Одним из них является Национальный комитет по клиническим лабораторным стандартам США (*National Committee for Clinical Laboratory Standards - NCCLS*).

В настоящее время стандарты NCCLS признаны в мире и используются как международные для оценки результатов определения чувствительности бактерий при многоцентровых микробиологических и клинических исследованиях.

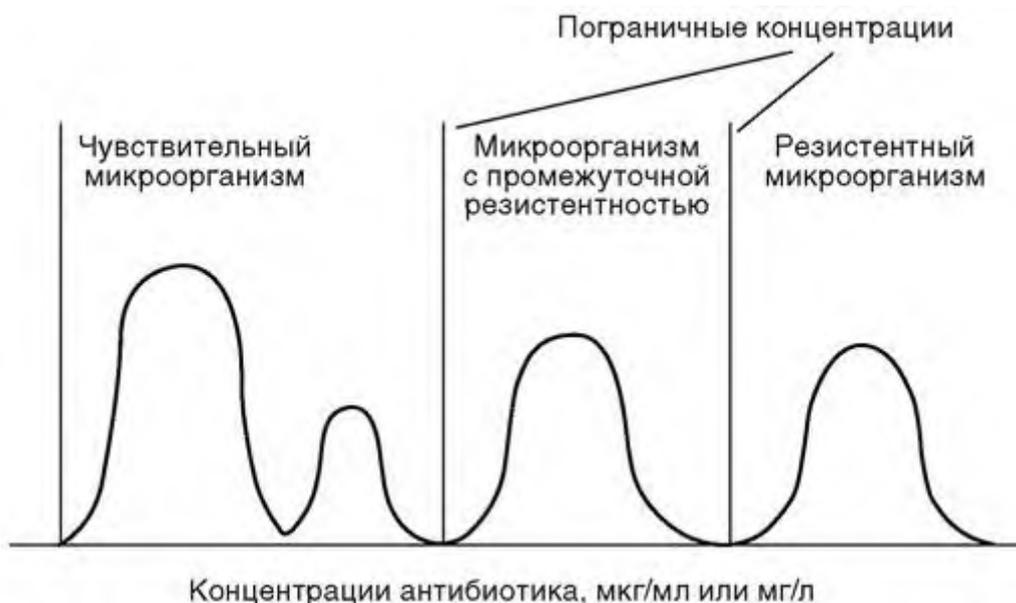


Рис. 15-9. Интерпретация результатов определения чувствительности бактерий в соответствии со значениями минимальной подавляющей концентрации

Существуют два подхода к интерпретации результатов определения чувствительности - микробиологический и клинический. Микробиологическая интерпретация основана на анализе распределения значений концентраций антибиотика, подавляющих жизнеспособность бактерий. Клиническая интерпретация основана на оценке эффективности антибактериальной терапии.

Чувствительные микроорганизмы (S-susceptible)

Клинически бактерии относят к чувствительным (с учетом параметров, полученных *in vitro*), если при лечении стандартными дозами антибиотика инфекций, вызываемых этими микроорганизмами, наблюдают хороший терапевтический эффект.

При отсутствии достоверной клинической информации распределение микроорганизмов на категории чувствительности основывается на совместном учете данных, полученных *in vitro*, и фармакокинетики, т.е. на концентрациях антибиотика, достижимых в месте инфекции (или в сыворотке крови).

Резистентные микроорганизмы (R-resistant)

К резистентным (устойчивым) относят бактерии, когда при лечении инфекции, вызванной этими микроорганизмами, нет эффекта от терапии даже при использовании максимальных доз антибиотика. Такие микроорганизмы имеют механизмы резистентности.

Микроорганизмы с промежуточной резистентностью (*i - intermediate*). Клинически промежуточную резистентность у бактерий подразумевают в случае, если инфекция, вызванная такими штаммами, может иметь различный терапевтический исход. Однако лечение может быть успешным, если антибиотик используется в дозе, превышающей стандартную, или инфекция локализуется в месте, где антибактериальный препарат накапливается в высоких концентрациях. С микробиологической точки зрения к бактериям с промежуточной резистентностью относят субпопуляцию, для которой значения МПК или диаметр зон занимают промежуточное положение между чувствительными и резистентными микроорганизмами. Иногда штаммы с промежуточной резистентностью и резистентные бактерии объединяют в одну категорию резистентных микроорганизмов.

В определенных клинических ситуациях, когда недостаточно результатов исследования чувствительности обычными методами, определяют минимальную бактерицидную концентрацию (МБК).

МБК - наименьшая концентрация антибиотика (мг/л или мкг/ мл), которая при исследовании *in vitro* вызывает гибель 99,9% микроорганизмов от исходного уровня в течение определенного периода времени.

Значение МБК используют при лечении антибиотиками, обладающими бактериостатическим действием, или при отсутствии эффекта от антибактериальной терапии у особой категории больных.

Частными случаями для определения МБК могут быть, например, бактериальный эндокардит, остеомиелит или генерализованные инфекции у пациентов с иммунодефицитными состояниями.

Следует выделять микробиологический и клинический подход к интерпретации результатов определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам. Микробиологическая интерпретация основана на анализе распределения значений концентраций антибиотика, подавляющих жизнеспособность бактерий. Клиническая интерпретация основана на оценке эффективности антибактериальной терапии (табл. 15-2).

Таблица 15-2. Критерии микробиологической и клинической интерпретации чувствительности бактерий к антибиотикам

Критерии чувствительности микроорганизма	Микробиологическая характеристика	Клиническая характеристика (прогноз)
Чувствительный (SS, S)	Популяция не имеет генетических факторов, кодирующих механизмы устойчивости	Терапия успешна при использовании обычных доз
С промежуточной резистентностью (i)	Популяция имеет генетические факторы устойчивости у части особей, возможна быстрая селекция устойчивого штамма	Терапия успешна при использовании максимальных доз или при локализации инфекции в местах, где антибиотик накапливается в высоких концентрациях, возможен рецидив инфекции
Резистентный (R)	Вся популяция уже имеет генетические факторы, кодирующие механизмы устойчивости (селекция уже произошла)	Нет эффекта от терапии при использовании максимальных доз

В заключение необходимо отметить, что клиническая интерпретация чувствительности бактерий к антибиотикам является условной, поскольку исход терапии не всегда зависит только от активности антибактериального препарата против возбудителя. Клиницистам известны случаи, когда при резистентности микроорганизмов, по данным исследования *in vitro*, получали хороший клинический эффект. Наоборот, при высокой чувствительности возбудителя к используемому антибиотику может наблюдаться неэффективность терапии. Характерный пример этого - попытки лечения нескрытых или недостаточно дренированных гнойно-воспалительных очагов.

15.7. СТРАТЕГИЯ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ РАЗВИТИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ И РАСПРОСТРАНЕНИЯ РЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ

В целях профилактики развития устойчивости микроорганизмов к лекарственным средствам необходимо руководствоваться следующими принципами.

- Обоснованно выбирать оптимальный антибиотик на основе данных бактериологического исследования, качественного и количественного определения чувствительности к антибиотикам; проводить микробиологический мониторинг - повторные бактериологические исследования в ходе антибактериальной терапии, особенно при ее безуспешности или недостаточной клинической эффективности.

- Подбирать рациональные схемы применения - оптимизировать дозы и способ введения.

- В тяжелых случаях - проводить антибиотикотерапию с применением антибактериальных препаратов в максимальных дозах до полного преодоления заболевания; предпочтительный способ введения препаратов - внутривенный (с учетом локализации процесса), а также местный.

- Необходимо периодически заменять широко применяемые препараты недавно созданными или редко назначаемыми (резервными).

- Комбинировать использование препаратов с точки зрения достижения их наибольшей клинической и фармакоэкономической эффективности.

- Разделять антибиотики, используемые в амбулаторной практике и применяемые только в стационаре. В стационаре разделять антибиотики на применяемые при инфекциях амбулаторной этиологии и используемые при лечении госпитальных инфекций с выделением препаратов резерва для наиболее тяжелых случаев.

- Постоянно анализировать виды возбудителей и устойчивость штаммов микроорганизмов, циркулирующих в больничной среде конкретного стационара, намечать меры борьбы для предупреждения внутрибольничной инфекции.

ГЛАВА 16. ПРИНЦИПЫ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ И ТЕРАПИИ В СТОМАТОЛОГИИ

16.1. ОСНОВНЫЕ ПОКАЗАНИЯ К ПРОВЕДЕНИЮ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ ПРИ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

В настоящее время показания к проведению системного антибактериального лечения при стоматологической патологии находятся в стадии разработки. Во многом они строятся по аналогии с общей хирургией, терапией и другими смежными специальностями. К сожалению, стоматологические клиники, отделения, кабинеты (особенно частные) чаще всего расположены в отрыве от крупных лечебно-профилактических учреждений, где существуют клинические фармакологи - специалисты по химиотерапии.

Первым требованием (показанием) является то, чтобы антибиотики воздействовали на строгую анаэробную микрофлору, так как, по мнению разных авторов, большая часть бактериального пейзажа при воспалительных стоматологических заболеваниях представлена облигатными анаэробами и микроаэрофильными стрептококками.

По данным исследователей 1980-х гг., наиболее активными препаратами в отношении анаэробных бактерий являлись клиндамицин, эритромицин, тетрациклин, полусинтетические пенициллины, цефалоспорины и производные нитроимидазола.

Как показали исследования, проведенные с применением современных методов оценки чувствительности в 1990-е гг., МПК антибиотиков для разных штаммов возбудителей одонтогенных гнойно-воспалительных заболеваний может колебаться от 0,01 до 200 мкг/мл и выше. При этом за последнее десятилетие отмечено изменение чувствительности ряда анаэробных видов к антибиотикам, которые широко использовались в предыдущие годы. Накоплены данные о резистентности пародонтопатогенов к тетрациклам, хлорамфениколу и метронидазолу - важнейшим препаратам с высокой активностью в отношении анаэробов.

Традиционным в лечении воспалительных процессов одонтогенного происхождения стало применение линкомицина гидрохлорида[▲] и другого препарата из группы линкозаминов - клиндамицина, в том числе местно, в составе резорбируемых пленок. В настоящее время линкозамиды и макролиды рекомендуют для лечения воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области и профилактики осложнений хирургического лечения в качестве основных групп выбора. Вместе с тем широко применяют β -лактамы антибиотики, в частности, имеющие защиту от бактериальных β -лактамаз, например, амоксиклав[▲].

Необходимость в антибактериальной терапии при комплексном лечении больных инфекционно-воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области является аксиомой, и любые отклонения от нее (замена гомеопатическими средствами, пробиотиками и т.п.) противоречат здравому смыслу и являются грубейшей врачебной ошибкой, которая может стоить больному жизни.

Антибактериальное лечение при стоматогенной (одонтогенной) инфекции может быть:

- местным или региональным;
- общим или системным;
- комбинированным.

Однако многие вопросы антибактериальной терапии, и особенно профилактического применения антибиотиков, остаются дискуссионными.

В первую очередь это касается вопроса, с какой формы одонтогенного воспаления (если рассматривать традиционную динамику развития воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области) требуется дополнение местной антибактериальной терапии системной. Об отсутствии единой точки зрения на данный вопрос свидетельствует приведенный ниже пример.

При социологическом исследовании по изучению назначения антибиотиков член. Американской ассоциации *Endodontists* (AAE) *Yingling N.M. et al.* (2002) установили, что пенициллин VK (500 мг, 4 раза в сутки) являлся антибиотиком выбора, который назначали пациентам 61,48% врачей-эндодонтов. Клиндамицин (150 мг, 4 раза в день) назначали 29,59% респондентов. В случае аллергических реакций у пациентов на пенициллины 57,03% врачей предписывали клиндамицин и 26,65% - различные формы эритромицина. Средняя продолжительность лечения антибиотиком составляла 7,58 сут. Для случаев профилактики после эндодонтического лечения 16,76% специалистов назначали различные антибиотики, при обострении периодонтита и остром периодонтите такие назначения делали 53,93%.

Вместе с тем существует группа пациентов (так называемая группа риска), имеющих серьезные нарушения со стороны иммунной системы, которым назначение антибактериальных препаратов при инвазивных стоматологических вмешательствах является обязательным.

По мнению Е.В. Боровского (1999), использование антибиотиков на этапе эндодонтического лечения должно быть ограничено, так как существует:

- возможность широкой сенсibilизации организма при приеме антибиотиков;
- выработка бактериальной резистентности в результате применения малых доз при эндодонтическом лечении;
- лимитирующий фактор, что связано с действием антибиотиков на ограниченный круг микроорганизмов при их огромном спектре в корневом канале.

В ряде зарубежных исследований и работах отечественных авторов нового поколения пропагандируется более широкое применение антибиотиков в эндодонтии. Ссылка на сенсibilизацию организма сегодня признана несостоятельной, так как этот процесс зависит от индивидуальных особенностей организма (предрасположенности к развитию аллергических реакций) и химико-фармакологических особенностей самого препарата, а не от пути его введения.

Более серьезные ограничения местного применения антибиотиков связаны с отсутствием надежных методов обеспечения постоянной эффективной концентрации препарата в процессе лечения, особенно при заболеваниях слизистой оболочки, когда препарат активно смывается ротовой жидкостью и его концентрация быстро падает, что может спровоцировать развитие резистентности возбудителей.

Учитывая вышеизложенное, основные показания к проведению антибактериальной химиотерапии при воспалительных стоматологических заболеваниях следующие:

- профилактика воспалительных осложнений при операциях, связанных с риском инфицирования раны, например, на челюстях (цистэктомия, резекция верхушки корня, дентальная имплантация и др.) - так называемая периоперационная профилактика, а также при травмах челюстей;
- профилактика эндокардита у пациентов группы риска (при эндодонтическом лечении по поводу пульпита, периодонтита и при других инвазивных вмешательствах);
- профилактика развития и распространения инфекции при инвазивных стоматологических вмешательствах у иммунокомпromетированных пациентов;
- риск распространения локальной формы инфекции на окружающие ткани (острый гнойный периодонтит, перикоронит, периостит и т.д.);
- риск перехода серозного воспалительного процесса в гнойный (целлюлит, лимфаденит и др.);
- обострение хронического генерализованного пародонтита и других хронических заболеваний челюстно-лицевой области;
- гнойно-воспалительные заболевания мягких тканей челюстно-лицевой области (лимфаденит, абсцесс, флегмона и др.);
- воспалительный процесс костной ткани (остит, остеомиелит).

16.2. ВЫБОР АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА

Первоначальный выбор антибиотика и пути его введения зависит, прежде всего, от вида или рода предполагаемого вероятного возбудителя (или возбудителей), степени тяжести заболевания, возраста больного, функций метаболизирующих и элиминирующих систем, сопутствующих хронических заболеваний, состояния иммунитета, питания, водно-солевого и кислотно-щелочного равновесия.

- При тяжелом течении заболевания и факторах риска обязательно парентеральное введение антибиотиков.

- Для лечения различных инфекций в амбулаторной практике, учитывая современный ассортимент антибиотиков, следует применять только антибиотики для приема внутрь с высокой биодоступностью и длительным периодом полувыведения, но с минимальным при этом воздействием на микрофлору кишечника.

- При лечении в стационаре наиболее рационален выбор тех антибиотиков, для которых существуют лекарственные формы для парентерального введения и приема внутрь в целях осуществления ступенчатой терапии.

- При различных вариантах должен быть выбран антибиотик, который имеет минимальное количество побочных эффектов, не наносящих вреда организму пациента.

- Путь введения препарата во многом определяется его биоусвояемостью, под которой подразумевается та часть препарата, которая после приема внутрь попадает в системный кровоток в активной форме.

Антибактериальные препараты с биоусвояемостью более 60%: хлорамфеникол, доксицилин, аминопенициллины (кроме ампициллина), энтеральные формы цефалоспоринов, фузидин, фосфомицин, рифамицины, фторхинолоны (кроме норфлоксацина), котримоксазол, нитроимидазолы - следует при возможности назначать энтерально, так как высокая биоусвояемость обеспечивает близость доз энтерального и парентерального введения препарата при минимальной опасности нежелательных явлений, простоте и экономической эффективности.

Антибактериальные препараты с биоусвояемостью 30-60% более эффективны при парентеральном введении (оксациллин, ампициллин, линкозамиды), применяют внутрь при высокой чувствительности к ним возбудителя (тетрацилин, макролиды, феноксиметилпенициллин, норфлоксацин, нитрофураны).

Антибактериальные препараты с биоусвояемостью менее 30%: аминогликозиды, уреидопенициллины, инъекционные формы цефалоспоринов, карбапенемы, азтреонам, ванкомицин - применяют парентерально. При приеме внутрь они дают лишь местный эффект.

16.3. КЛИНИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ АНТИБИОТИКОВ

16.3.1. Возможности и ограничения применения антибиотиков для профилактики и лечения инфекционных заболеваний

Для эффективного использования антибиотиков для лечения инфекционных заболеваний необходимо точное знание патогенной и резидентной микрофлоры, населяющей данный биотоп. До 70-х гг. XX в., когда еще не была разработана методология выделения и идентификации анаэробных микроорганизмов, считалось, что оппортунистические инфекционные процессы вызываются в основном различными видами стафилококков, стрептококков, энтерококков, синегнойной и кишечной палочкой, палочками протей, клебсиеллами и т.п. Сегодня известно, что от 60 до 90% оппортунистических инфекций организма человека (особенно в стоматологии) связано с облигатно-анаэробными и микроаэрофильными видами. Аэробные и факультативно-анаэробные виды бактерий редко являются единственной причиной таких инфекций.

Именно поэтому при антибиотикотерапии оппортунистических заболеваний и антибиотикопрофилактике при хирургических вмешательствах всегда необходимо учитывать наличие анаэробного компонента ассоциаций. В противном случае инфекция может оказаться торпидной к выбранной терапии (отсутствие клинического эффекта лечения).

Помимо состава бактериальных ассоциаций, торпидность к антибиотикотерапии могут вызывать и другие факторы, в том числе:

- высокая степень бактериальной обсемененности;
- формирование биопленок с участием вирулентного вида;
- нейтрализация препарата секретами организма и тканевыми структурами;
- формирование резистентных клонов, например, продуцентов β -лактамаз;
- инвазия бактерий в ткани с формированием осумкованных очагов, абсцессов;
- диссеминация микроорганизмов из первичных очагов, генерализация инфекции.

16.3.2. Применение антибиотиков для профилактики инфекционного эндокардита при стоматологических процедурах

Принято считать, что инвазивные стоматологические вмешательства (включая эндодонтическое лечение) могут привести к гематогенному распространению микроорганизмов, продуктов их жизнедеятельности или иммунных комплексов в отдаленные участки организма. Одним из осложнений, которые могут возникнуть вследствие этого, является инфекционный эндокардит. Инфекционный эндокардит - заболевание, при котором возбудитель первично локализуется на клапанах сердца, пристеночном эндокарде, реже - на эндотелии аорты и крупных артерий.

В последние годы отмечается рост количества случаев острого инфекционного эндокардита, являющегося одним из проявлений сепсиса. Несмотря на современные достижения в лечении инфекционного эндокардита, высокая летальность при этом заболевании (от 20 до 45%) определяет его профилактику как задачу первостепенной важности.

Многие авторы указывают на общую тенденцию к возрастанию частоты инфекционного эндокардита, в том числе высокой распространенности стоматологических инфекций (хронических периапикальных инфекций, периодонтитов, гингивитов, пародонтитов, которые служат источником гематогенной диссеминации микроорганизмов с вовлечением в процесс клапанов сердца).

Подтверждением активности одонтогенной микрофлоры может служить исследование *A.L. Bate et al.* (2000). Проведено изучение способности микрофлоры корневого канала вызывать эндокардиты. С этой целью были изучены гены стрептококкового фибронектинзависимого белка (FnBP) и стафилококкового, связанного с фибриногеном белка (FgBP). Установлено, что микрофлора некротизированной пульпы обладает такими генами и, следовательно, способна вызывать эндокардиты.

B.J. Waldman et al. (1997), определяя связь между эндодонтическим лечением и развитием поражений суставов, рекомендуют за час до и через 8 ч после эндодонтической обработки корней назначать цефало-спорины. Некоторые микроорганизмы, в частности *P. endodontalis*, связанные с эндодонтическими инфекциями, проявляют агрессивность и могут поражать сердечно-сосудистую систему. Авторы делают вывод, что микроорганизмы некротизированной пульпы могут играть роль в патогенезе сердечно-сосудистой патологии, и в данном аспекте системное назначение антибиотиков вполне оправданно.

В связи с этим существуют определенные показания к профилактическому назначению антибиотиков:

- инфекционный эндокардит в анамнезе;
- врожденные заболевания сердца;
- ревматические заболевания сердца;
- гипертрофическая кардиомиопатия;
- дефекты сердечных клапанов и искусственные клапаны сердца;

- внутренний сердечный катетер (справа);
- идиопатический гипертрофированный стеноз аорты;
- диализ почек с АВ-шунтом.

Выделяют высокую и умеренную категорию риска развития инфекционного эндокардита у стоматологических пациентов. К высокой категории риска относят:

- сложный врожденный порок сердца синего типа;
- инфекционный эндокардит в анамнезе (категория наиболее высокого риска);
- искусственные клапаны сердца;
- хирургически имплантированные системные легочные шунты или трубки.

К умеренной категории риска относят:

- приобретенную дисфункцию клапанов (например, ревматическую болезнь сердца);
- гипертрофическую кардиомиопатию;
- пролапс митрального клапана с регургитацией и/или утолщением створок;
- другие врожденные пороки сердца (за исключением вторичных дефектов межпредсердной перегородки и хирургически скорректированные дефекты межпредсердной перегородки и артериального протока через 6 мес после операции. Эти состояния не требуют антибактериальной профилактики).

Антибиотикопрофилактика показана при следующих манипуляциях:

- удалении зуба;
- дентальной имплантации;
- эндодонтических инструментальных манипуляциях за пределами верхушки корня зуба;
- первичной постановке ортодонтических аппаратов, за исключением брекетов;
- внутрисвязочной местной анестезии;
- манипуляции на парадонте, включая хирургию, удаление назубных отложений ультразвуковым скалером, кюретаж;
- профилактической чистке зубов или имплантата при возможном кровотечении;
- помещении пропитанных антибиотиком материалов под десну.

Антибиотикопрофилактику не проводят: при процедурах, не приводящих к кровотечению из десен (удалении наддесневых зубных отложений); пломбировании канала зуба; инъекциях и местной анестезии в полости рта; выпадении молочных зубов.

Профилактика эндокардита при стоматологических процедурах, отраженная в «Федеральном руководстве для врачей по использованию лекарственных средств (формулярная система)», включает:

- амоксициллин: взрослые - внутрь 2 г за 1 ч до вмешательства, дети - 50 мг/кг;
- при невозможности приема внутрь - ампициллин внутривенно: взрослые - 2 г за 30 мин до вмешательства, дети - 50 мг/кг;
- при аллергии к пенициллину - клиндамицин: взрослые - 600 мг внутрь за 1 ч до вмешательства, дети - 20 мг/кг или азитромицин либо кларитромицин: взрослые - 500 мг внутрь за 1 ч до вмешательства, дети - 15 мг/кг;
- при аллергии к пенициллину и невозможности приема внутрь - клиндамицин внутривенно: взрослые - 600 мг за 30 мин до вмешательства, дети - 20 мг/кг.

16.3.3. Применение антибиотиков для профилактики воспалительных осложнений при хирургических операциях

Вопрос в пользу применения антибиотикопрофилактики воспалительных осложнений при хирургических операциях был решен в мире в конце 1970-х - начале 80-х гг., и с тех пор никто не ставит под сомнение ее рациональность с точки зрения значительного уменьшения риска осложнений инфекционного генеза.

По определению Комитета по антибактериальным препаратам Американского общества хирургической инфекции, профилактическим применением антибиотиков является их назначение больному до бактериальной контаминации операционной раны или развития раневой инфекции, а также при признаках контаминации и инфекции, когда первичным методом лечения является хирургическое вмешательство, а назначение антибиотиков имеет своей целью снизить до минимума риск развития раневой инфекции.

На развитие раневой инфекции в послеоперационном периоде влияют состояние местного и общего иммунитета, характер предоперационной подготовки, техника выполнения операции, операционная травма тканей, кровопотеря, наличие инородных тел, степень бактериальной обсемененности раны, вирулентность микрофлоры и резистентность бактерий к антибактериальным препаратам. Одним из основных факторов, влияющих на вероятность развития раневой инфекции, является степень бактериальной обсемененности.

В зависимости от нее раны подразделяют на чистые, условно чистые, контаминированные и грязные. При операциях с образованием чистых ран (вмешательствах на коже, без сообщения с полостью рта, пазухами носа, выполненных в плановом порядке и с соблюдением всех правил асептики и антисептики) антибиотикопрофилактика не показана.

Необходимо учитывать, что все операции, связанные с полостью рта или риском сообщения с полостью рта, являются условно чистыми в связи с относительно высоким содержанием микрофлоры. К этой же группе можно отнести раны, при которых возможно экзогенное бактериальное обсеменение, например, первичную хирургическую обработку при травме. Однако в профилактическом применении антибиотиков нуждаются далеко не все пациенты. Так, не следует проводить антибиотикопрофилактику при небольших, нетравматичных операциях в полости рта, например, при пластике уздечек языка и губ и других или хирургической обработке непроникающих резаных или небольших ушибленных ранах лица. Риск развития воспалительных осложнений при таких вмешательствах мал и кроме этого есть возможность при необходимости обеспечить антибактериальную санацию раны местными средствами.

Контаминированные раны - операционные раны с признаками негнойного воспаления [например, при операции радикальной гайморотомии по поводу хронического полипозного (гиперпластического) гайморита, удаление зуба мудрости на фоне перикоронита].

Грязные операции - вмешательства на заведомо инфицированных тканях. Примерами таких ран могут быть раны после открытого кюретажа или лоскутных операций по поводу пародонтита, радикальная гайморотомия с пластикой свища и др.

При контаминированных и грязных хирургических вмешательствах всегда показана антибиотикопрофилактика. Кроме того, необходимо учитывать, что при грязных ранах, даже если антибактериальные препараты вводили с профилактической целью до операции, по мнению большинства отечественных исследователей, целесообразно проводить антибактериальную терапию в полном объеме и в послеоперационном периоде. При этом в послеоперационном периоде обоснованной представляется замена препарата (или формы антибиотика), который использовали для периоперационной профилактики, препаратом другой группы, который будет применяться далее (ступенчатый принцип). Это обеспечит

более эффективную элиминацию резистентных штаммов, возникших в результате возможной селекции под действием антибиотиков.

В амбулаторной хирургической стоматологической практике антибиотикофилактика показана в двух ситуациях:

- при высоком риске развития послеоперационной инфекции (операциях дентальной имплантации, на слюнных железах, синуслифтинге, переломах челюсти, хирургической коррекции альвеолярного отростка и челюстей, резекции альвеолярного отростка и челюсти по поводу опухолей, хроническом остеомиелите и др.);
- при условии, что вторичная (оппортунистическая) инфекция развивается на фоне отягощенного анамнеза: иммунодефицитов, диабета, ожирения, радиационного поражения и т.п., что представляет непосредственную угрозу жизни больного.

Послеоперационные гнойно-воспалительные осложнения в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии имеют неоднозначную микробиологическую картину. При операциях, проведенных экстраоральным доступом, если не было сообщения с полостью рта, гайморовыми пазухами и слюнными железами, микрофлора соответствует классическим формам госпитальной инфекции (к ним относятся грамположительные: *S. aureus*, коагулаза, отрицательные стафилококки, такие как *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*; *Streptococcus spp.*; энтерококки; грамотрицательные: *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter*, *P. aeruginosa*, а также грибы). При операциях в полости рта (или при доступе к глублежащим тканям через полость рта) возможно инфицирование резидентной микрофлорой полости рта или микрофлорой периапикального воспалительного очага (*Streptococcus spp.*, в том числе *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*), *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium Actinomyces*.

И, наконец, при операциях, проведенных экстраоральным доступом, но имеющих сообщение в первую очередь с полостью рта (остеосинтезе при травме челюстей, огнестрельных ранениях и др.), возможен двойной путь инфицирования: госпитальными штаммами и резидентной микрофлорой полости рта.

Требования к антибиотику для профилактики при стоматологических операциях следующие.

- Спектр активности антибиотика должен соответствовать возможным представителям микрофлоры, характерной для того или иного операционного доступа.
- Спектр активности антибиотика, используемого для периоперационной профилактики амбулаторных операций в полости рта, должен в первую очередь включать наиболее агрессивные группы резидентных бактерий слизистой оболочки полости рта и зубного налета, загрязняющих рану при хирургическом вмешательстве.
- Антибиотик должен быть активен против группы микроорганизмов, наиболее часто встречаемых в хроническом одонтогенном воспалительном очаге (периодонте, пародонтальном кармане).
- Препарат должен обладать наименьшей способностью вызывать резистентность микрофлоры.
- Препарат должен хорошо проникать в ткани, находящиеся в зоне оперативного вмешательства (например, при операциях на челюстях - в кости, при лоскутных операциях - в ткани десны, кости и должен выделяться с десневой жидкостью).
- Концентрация в тканях и операционной ране должна быть выше МПК данного антибиотика для всех возможных патогенов и поддерживаться на этом уровне в течение всего времени оперативного вмешательства.

- Антибиотик должен обладать минимальными побочными эффектами (не взаимодействовать с препаратами для анестезии).

Изучение особенностей фармакодинамики, фармакокинетики и спектра действия различных антибиотиков, рекомендуемых для периоперационной профилактики, позволило в последние годы сформулировать следующие правила их применения с этой целью.

- Введение препарата следует проводить не раньше чем за 1 ч до операции и не позже чем за 30 мин, хотя для разных видов антибиотиков возможны незначительные отклонения в пределах 30-60 мин до начала операции.

- Эффективная концентрация антибиотика (т.е. выше МПК) в операционной ране должна сохраняться на протяжении всей операции и, что особенно важно, поддерживаться к моменту наложения швов, когда бактериальная контаминация достигает максимума; обычно это исчисляется временем так называемого критического периода (в пределах 3 ч после операции).

- Введение антибиотика только после окончания операции неэффективно в плане снижения частоты послеоперационных раневых инфекций.

- Продолжение введения антибиотика более чем через 24 ч после операции является нежелательным, так как может отрицательно влиять на динамику воспалительной реакции и часто не приводит к повышению эффективности периоперационной профилактики.

- Если рана сообщается с полостью рта и при этом присутствуют дополнительные факторы, способные вызвать воспалительную реакцию (операционная травма тканей, длительная операция, наличие большого числа имплантатов, инородные тела, например, йодоформные тампоны при цистотомии, использование биологических трансплантатов, например, консервированной кости, и т.д.), назначение антибиотиков показано и в послеоперационном периоде. Продолжительность назначения препарата зависит от объема вмешательства и, как правило, составляет 5-7 сут.

- При проведении периоперационной профилактики необходимо стремиться не к полной элиминации всех бактерий в операционной ране, а к значительному уменьшению их количества до уровня, который облегчает эффективную работу иммунной системы и предотвращает развитие гнойной инфекции.

Антибиотикопрофилактику в хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии можно проводить с использованием следующих схем и препаратов (табл. 16-1). Вместе с тем в последние годы в стоматологии распространяется сочетанная антибиотикопрофилактика.

Таблица 16-1. Антибиотикопрофилактика в хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии

Операции	Примеры	Препараты
Не связанные с полостью рта (чистые)	Удаление опухолеподобных и доброкачественных опухолей на лице, кисты шеи и т.п.	Цефазолин в дозе 1 г внутривенно. Ампициллин + сульбактам в дозе 1,5 г внутривенно. Амоксициллин + клавуланат калия* в дозе 1,2 г внутривенно. При аллергии к β-лактамам - ванкомицин в дозе 1 г внутривенно.
Связанные с полостью рта (условно чистые) и	Дентальная имплантация, синуслифтинг, коррекция альвеолярного отростка,	Рокситромицин в дозе 150 мг за 30-60 мин до операции. Кларитромицин по 500 мг

<p>чистые в группах риска</p>	<p>удаление ретенированных зубов, углубление преддверия полости рта и др.</p>	<p>внутримышечно или внутривенно за 30 мин до операции.</p> <p>Спирамицин в дозе 1,5 млн ЕД внутримышечно или внутривенно за 30 мин до операции.</p> <p>Цефазолин в дозе 1-2 г внутривенно за 30 мин до операции. Цефуроксим в дозе 750 мг за 30 мин до операции внутривенно или внутримышечно.</p> <p>Ципрофлоксацин в дозе 0,2 г за 30 мин до операции внутривенно.</p> <p>Клиндамицин в дозе 600-900 мг внутривенно за 30 мин до операции. Линкомицин в дозе 0,5 г за 30 мин до операции внутримышечно.</p>
<p>Связанные с полостью рта (контаминированные) и условно чистые в группах риска</p>	<p>Радикальная гайморотомия при гипертрофическом гайморите, остеосинтез при переломе челюсти в пределах зубного ряда, резекция верхушки корня и цистэктомия, удаление дистопированных зубов на фоне перикоронита (без гнойного воспаления) и др.</p>	<p>Ампициллин за день до операции и после операции в дозе 0,5 г 4 раза в сутки в сочетании с метронидазолом в дозе 0,2-0,25 3 раза в сутки.</p> <p>Амоксициллин + клавулат калия* за 30 мин до операции в дозе 1,2 г внутривенно, после операции - 625 мг 3 раза в сутки. Рокситромицин - 150 мг за 30-60 мин до операции (в группах риска после операции - 3-5* сут по 150 мг 2 раза в сутки). Кларитромицин по 500 мг внутримышечно или внутривенно за 30 мин до операции (в группах риска после операции рокситромицин - 3-5* сут - 150 мг 2 раза в сутки).</p> <p>Спирамицин в дозе 1,5 млн ЕД внутримышечно или внутривенно за 30 мин до операции (в группах риска после операции - ровамицин или рокситромицин 3-5 *сут).</p> <p>Клиндамицин в дозе 600-900 мг внутривенно за 30 мин до операции. Линкомицин в дозе 0,5 г за 30 мин до операции внутримышечно, после операции - по 1 г 2 раза в сутки (3-5 *сут)</p>

Оконгание табл. 16-1

Операции	Примеры	Препараты
Грязные	Иссечение очага при актиномикозе, секвестрэктомия, гайморотомия с пластикой свища и др.	Те же препараты на сроки от 5 до 7 сут. При актиномикозе - за 30 мин до операции ампициллин в дозе 0,5 г внутривенно или внутримышечно, после операции - 0,5 г 4 раза в сутки или амоксициллин/клавулат калия* за 30 мин до операции в дозе 1,2 г внутривенно, после операции - 625 мг 3 раза в сутки. При непереносимости β-лактамов - макролиды

* В группах риска при условно чистых ранах профилактика после операции составляет 3 сут.

Ее смысл - в системном назначении антибиотика до оперативного вмешательства и в местном применении препаратов, содержащих антибиотик, в послеоперационном периоде в случае условно чистых ран. Например, использование адгезивных двухслойных стоматологических пленок «Диплен-дента» с антибиотиками для профилактики послеоперационных осложнений при дентальной имплантации, а также применение разработанного метода использования этих же пленок. Предлагаемый нами способ подслизистой изоляции костной раны после операций на альвеолярном отростке (альвеолярной части) заключается в том, что пленку перед наложением швов накладывают на костную рану клеящей стороной в сторону кости и сверху закрывают слизисто-надкостничным лоскутом. Располагаясь под линией швов, пленка препятствует проникновению микрофлоры в область костной раны из полости рта. Вместе с тем пленка практически не препятствует проникновению сквозь нее раневого экссудата, так как обладает паропроницаемостью. Входящие в ее состав полимеры снижают воспалительную реакцию, а антибиотики (линкомицин, метронидазол) сохраняются в ране в течение 3 сут.

16.4. ПРИМЕНЕНИЕ АНТИБИОТИКОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИЙ

При назначении антибиотиков возможны два методических подхода:

- эмпирическое;
- этиотропное.

Эмпирическое назначение антибиотиков основано на знаниях о природной чувствительности бактерий, эпидемиологических данных о резистентности микроорганизмов в регионе или стационаре, а также на результатах контролируемых клинических исследований.

Несомненное преимущество эмпирического назначения химиопрепаратов - возможность быстрого начала терапии. Кроме того, при таком подходе нет затрат на проведение дополнительных исследований.

Однако при неэффективности проводимой антибактериальной терапии, при нозокомиальных (внутрибольничных) инфекциях, когда затруднительно предположить возбудителя и его чувствительность к антибиотикам, стремятся проводить этиотропную терапию.

Этиотропное назначение антибиотиков предполагает не только выделение возбудителя инфекции из клинического материала, но и определение его чувствительности к антибиотикам.

Получение достоверных данных в таких случаях возможно только при строгом выполнении всех звеньев бактериологического исследования в соответствии с существующими стандартами - от взятия клинического материала, транспортировки его в бактериологическую лабораторию, посева до идентификации возбудителя и определения его чувствительности к антибиотикам, включая интерпретацию полученных результатов.

Вторая причина, обуславливающая необходимость определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам заключается в получении эпидемиологических данных о структуре резистентности возбудителей внебольничных и нозокомиальных (внутрибольничных) инфекций (мониторинг антибиотикорезистентности).

На практике эти данные используют при эмпирическом назначении антибиотиков, а также для формирования больничных формуляров.

16.4.1. Эмпирическое назначение антибиотиков

Эмпирический выбор одного или нескольких препаратов является результатом комплексной оценки факторов возбудителя и факторов пациента.

Эмпирическая химиотерапия основана на данных ведущих лабораторий и публикациях, свидетельствующих о том, что многие воспалительные процессы пародонта и тканей челюстно-лицевой области вызываются преимущественно облигатно-анаэробными бактериями, и зависят от их чувствительности к антибактериальным средствам.

В такой ситуации оправданно назначение антибиотиков, активных в отношении этих возбудителей: бактероидов, фузобактерий, превотелл, порфиромонад, пептострептококков, актиномицетов, пропионибактерий и др. Не следует также забывать, что нередко участниками ассоциаций в воспалительном очаге являются факультативно-анаэробные виды - стрептококки (*S. sanguis*, *S. milleri* и др.) и стафилококки.

Определить возможного возбудителя инфекции врачу нередко помогают клинические проявления и знание того возбудителя, который может вызвать эти проявления.

В качестве характерного примера эмпирической антибактериальной химиотерапии можно привести лечение ювенильного пародонтита. По многочисленным данным, при этой патологии наиболее часто определяется *Actinobacillus actinomycetemcomitans* и значительно реже - *Porphyromonas gingivalis*. Большинство штаммов *A. actinomycetemcomitans* устойчивы к метронидазолу, линкомицину, макролидам (которые широко используют при лечении других форм пародонтита), но все штаммы чувствительны к фторхинолонам, в частности, цiproфлоксацину и моксифлоксацину. Следовательно, при постановке диагноза «ювенильный пародонтит» при эмпирической антибактериальной терапии целесообразно назначать цiproфлоксацин или моксифлоксацин либо комбинации с β-лактамами антибиотиками.

После установления роли неспорообразующих анаэробных бактерий в развитии одонтогенных гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей челюстно-лицевой области были попытки определить участие анаэробов в развитии гнойного воспаления на основании общих и местных клинических проявлений (характера тканей, отека, вида экссудата и др.). Однако такие признаки, которые свидетельствуют о наличии определенного вида возбудителя, например, характерные для общей хирургии (клостридиальная или синегнойная инфекция), при детальном рассмотрении обнаружены не были. Именно поэтому, учитывая данные по частоте встречаемости и этиологической значимости микроорганизмов, выделяемых при отдельных формах одонтогенной инфекции, для эмпирической химиотерапии используют препараты, влияющие на максимально больший спектр возбудителей.

16.4.2. Этиотропное назначение антибиотиков с учетом чувствительности микроорганизмов

После выделения и идентификации возбудителей химиотерапия должна быть изменена с учетом данных о наибольшей чувствительности выделенных бактерий. В этом случае говорят об этиотропной терапии с учетом чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Получение достоверных данных возможно только при последовательном выполнении всех звеньев бактериологического исследования - от взятия клинического материала, транспортировки его в бактериологическую лабораторию, идентификации возбудителя до определения его чувствительности к антибиотикам и интерпретации полученных результатов. Причем требуется проведение исследований как в аэробных, так и в анаэробных условиях. Это существенно ограничивает использование этого принципа в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, где предпочтение отдается эмпирическому принципу. Однако для его детализации требуется определение чувствительности к антибактериальным препаратам независимо от того, будут ли использованы эти данные для лечения конкретного больного.

16.5. ПРОТИВОГРИБКОВЫЕ АНТИБИОТИКИ И ХИМИОПРЕПАРАТЫ (АНТИМИКОТИКИ)

В настоящее время арсенал антимикотических средств, используемых для профилактики и лечения, вполне достаточный, что позволяет свести до минимума вероятные побочные эффекты этих препаратов. Следует отметить, что полиеновые препараты для применения внутрь - нистатин и леворин не всасываются, поэтому могут применяться только для лечения и профилактики местных поверхностных микозов, в частности, орофарингеального.

Подавляющее большинство штаммов *C. albicans*, *C. tropicalis* и *C. parapsilosis* чувствительны к системным азолам (флуконазолу, итраконазолу) и амфотерицину В. Вместе с тем следует учитывать возможность развития устойчивости этих возбудителей к антимикотикам при длительном лечении кандидоза у пациентов с иммунодефицитом. К флуконазолу устойчивы большинство штаммов *C. krusei* и часть изолятов *C. glabrata*, а к итраконазолу - почти половина штаммов *C. glabrata* и треть штаммов *C. krusei*. К амфотерицину В нередко резистентны *C. lusitaniae* и *C. guilliermondii*, а при инфекциях, вызванных *C. glabrata* и *C. krusei*, необходимо увеличение дозы этого препарата.

Было проведено определение МПК препаратов, которые могут быть включены в комплексное лечение *Candida*-ассоциированной стоматологической патологии. Данное исследование проводили с помощью кассетного микрометода. В качестве тест-штаммов использовали все перечисленные выше штаммы, относящиеся к видам *C. albicans*, *C. stellatoidea*, *C. krusei*, *C. tropicalis*.

Данные, полученные с помощью кассетного микрометода, подтверждают, что флуконазол обладает наиболее выраженной фунгицидной активностью в диапазоне от 0,5 до 30 мкг/мл (табл. 16-2), причем большая часть штаммов (виды *C. albicans*, *C. stellatoidea*, *C. tropicalis*) чувствительны к крайне малым концентрациям флуконазола - 0,25-0,5 мкг/мл. Только два штамма *C. krusei* обладали более низкой чувствительностью - 30 мкг/мл. Чувствительность исследуемых штаммов дрожжеподобных грибов к итраконазолу была несколько ниже. Так, большинство штаммов (виды *C. albicans*, *C. stellatoidea*, *C. tropicalis*) проявляли чувствительность к концентрации $1,5 \pm 0,2$ мкг/мл ($p < 0,05$ по сравнению с дифлюканом), а *C. krusei* были еще более устойчивы и погибали только при концентрации 50 мкг/мл.

Таблица 16-2 Активность фунгицидных препаратов по данным кассетного микрометода определения чувствительности штаммов дрожжеподобных грибов

Виды дрожжеподобных грибов рода <i>Candida</i>	МПК90, мг/л		
	флуконазол (дифлюкан [▲])	итраконазол (орунгал [▲])	нистатин
<i>C. albicans</i>	0,5	1,5	18,1
<i>C. stellatoidea</i>	0,5	1,0	20,0
<i>C. krusei</i>	30	50	100
<i>C. tropicalis</i>	0,25	2,0	20
Диапазон МПК 90	0,25-30,0	1-50	18-100

Именно поэтому по результатам изучения фунгицидной активности в целях клинического применения можно сделать выбор в отношении орунгала и дифлюкана.

16.6. СТУПЕНЧАТАЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

В последние годы стала популярной концепция целенаправленной замены одного препарата другим или одного вида введения другим видом - так называемая ступенчатая антибактериальная терапия (которая может носить эмпирический характер).

В большинстве случаев лечения воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области антибиотика следует назначать внутрь. Парентеральное введение в амбулаторной практике должно являться исключением и может быть связано с периоперационной антибактериальной профилактикой. В условиях стационара при тяжелом течении заболевания или развитии осложнений начинать терапию следует с парентерального введения и затем, по мере улучшения состояния, переходить на прием внутрь (ступенчатая терапия) (синонимы: *sequential therapy*, *streamline therapy*, *step-down therapy*, *switch therapy*, *follow-on therapy*, *deescalation therapy*).

Основная идея ступенчатой терапии заключается в сокращении парентерального введения антибактериального препарата, что может значительно снизить стоимость лечения, уменьшении срока пребывания в стационаре при сохранении высокой клинической эффективности терапии. Ступенчатая терапия предполагает двухэтапное применение антибактериальных препаратов: вначале парентеральное введение антибиотика, а при улучшении состояния (как правило, на 3-4-й день) - переход на прием внутрь этого же или сходного по спектру активности препарата. Например: амоксициллин/клавуланат калия[▲] внутривенно или ампициллин/сульбактам внутримышечно в течение 3 сут, затем амоксициллин/клавуланат калия[▲] внутрь; цефуроксим внутривенно в течение 3 сут, далее цефуроксим внутрь. На сегодняшний день проведен целый ряд контролируемых клинических испытаний, убедительно подтвердивших клиническую эффективность ступенчатой терапии. Более того, в последнее время ступенчатая терапия стала предметом фармакоэкономических исследований, которые показали, что она способна значительно сократить расходы лечебных учреждений. Ступенчатая терапия обеспечивает клинические и экономические преимущества как пациенту, так и лечебному учреждению.

Преимущества для пациента связаны с уменьшением количества инъекций, что делает лечение более комфортным и уменьшает риск возникновения постинъекционных

осложнений: флебитов, постинъекционных абсцессов, катетер-ассоциированных инфекций. В случае положительной динамики заболевания и отсутствия необходимости в лечебно-диагностических мероприятиях, требующих пребывания пациента в стационаре, он может выписаться раньше и продолжать лечение в домашних условиях, что благоприятно сказывается на его психоэмоциональном состоянии; сокращение срока госпитализации позволяет снизить частоту нозокомиальной инфекции.

Преимущества для стационара складываются из следующих факторов:

- из снижения затрат в связи с меньшей стоимостью оральных антибиотиков;
- снижения расходов при применении антибиотиков внутрь, что связано с устранением дополнительных затрат на введение парентеральных препаратов: специальные медицинские принадлежности (шприцы, иглы, системы для введения инфузионных растворов, перчатки, дезинфектанты и др.), на утилизацию шприцев, игл и других расходуемых материалов;
- снижения риска возникновения нозокомиальной инфекции, в том числе и постинъекционных осложнений, а также расходов, связанных с их лечением.

Наряду с преимуществами можно выделить определенные клинические и экономические ограничения ступенчатой терапии. Первые из них связаны с тем, что существует риск клинической неэффективности вследствие снижения приверженности (*compliance*) пациента при приеме антибиотиков внутрь (т.е. желания пациента выполнять рекомендации и назначения врача). Нельзя сбрасывать со счета социальный статус пациента, его финансовые возможности в приобретении необходимых препаратов, адекватность оценки состояния здоровья и возможных последствий отказа от продолжения лечения (обострения, рецидивы) и др.

На эффективность тех или иных антибактериальных средств существенное влияние оказывают взаимодействия антибиотиков с другими препаратами, продуктами и режимом питания, что может изменять биодоступность отдельных оральных антибиотиков. Так, антациды, препараты железа и кальция (молочные продукты) снижают всасывание оральных фторхинолонов, тетрациклина, поэтому пациенту, получающему эти препараты, следует делать двухчасовой интервал между ними и приемом вышеуказанных антибиотиков.

Другой, не менее важной причиной клинической неэффективности антибактериальной химиотерапии может быть заниженная доза перорального антибиотика, а в случае назначения на втором этапе препарата другого класса - резистентность к нему возбудителя и/или нежелательные реакции, которые потребуют отмены антибиотика.

Относительные экономические недостатки ступенчатой терапии связаны с ранней выпиской и продолжением лечения в амбулаторных условиях, что вынуждает самого пациента покупать антибиотик для завершения курса лечения.

Сравнительные клинические испытания таких антибиотиков для приема внутрь, прежде всего группы цефалоспоринов, выявили близкие значения фармакологических показателей и критериев эффективности, практически соответствующих таковым при парентеральном введении цефалоспоринов III поколения. Наряду с этим установлены очевидные преимущества пероральных форм по экономике лечения, удобству применения, лучшей переносимости (меньшая частота побочных реакций). Аналогичные данные имеются для современных макролидов, применяемых в инъекционных и таблетированных формах (спирамицина, кларитромицина). Допустима также замена инъекционной формы одного макролидного антибиотика таблетированной формой другого, например, спирамицина или кларитромицина рокситромицином.

Важным фактором при ступенчатой терапии является срок перевода пациента на прием внутрь антибиотика; ориентиром могут служить стадии инфекции. *R. Quintiliani et al.* выделяют три стадии инфекционного процесса у пациентов, находящихся на стационарном лечении:

- I стадия продолжается 2-3 сут и характеризуется нестабильной клинической картиной. Возбудитель и его чувствительность к антибиотику, как правило, неизвестны, антибактериальная терапия носит эмпирический характер, чаще всего назначают препарат широкого спектра действия.

- На II стадии клиническая картина стабилизируется или улучшается, возбудитель и его чувствительность могут быть установлены, что позволяет провести коррекцию терапии.

- На III стадии (примерно через 7 сут от начала заболевания) наступает выздоровление, и антибактериальная терапия может быть завершена.

Оптимальным временем для перевода пациента на пероральную терапию является II стадия инфекционного процесса. Выделяют клинические, микробиологические и фармакологические критерии перевода пациента на второй этап ступенчатой терапии.

Л.С. Страчунский и О.Л. Розенсон выделяют следующие критерии перевода больного на пероральный антибиотик (табл. 16-3).

Таблица 16-3. Критерии перевода больного на пероральный антибиотик

Основные (клинические) критерии	Дополнительные критерии	
	микробиологические	фармакологические
Температура тела <38 °С в течение 24-48 ч. Тенденция к нормализации клинического анализа крови, СРБ*. Улучшение/стабилизация клинической картины. Возможность приема внутрь пищи и жидкости. Отсутствие нарушения всасывания в пищеварительной системе. Низкая вероятность лекарственных взаимодействий	Возбудитель выделен или нет. Известна чувствительность возбудителя к антибиотикам. Моно- или комбинированная антибиотикотерапия	Наличие соответствующего антибиотика. Достаточная биодоступность антибиотика. Спектр активности антибиотика

* СРБ - С-реактивный белок.

Выбирая пероральный антибиотик, необходимо учитывать его спектр активности, фармакокинетические характеристики, взаимодействие с другими препаратами, переносимость, а также достоверные данные о его клинической эффективности при лечении конкретного заболевания. Оральные антибиотики отличаются друг от друга по биодоступности. Предпочтение следует отдавать препарату с наибольшей биодоступностью, ее необходимо учитывать и при определении дозы.

Выбор оптимального антибиотика для ступенчатой терапии не является простой задачей. *P. Jewesson* приводит характеристики идеального перорального антибиотика для второго этапа ступенчатой терапии:

- оральный антибиотик тот же, что и парентеральный;
- доказанная клиническая эффективность при лечении данного заболевания;
- наличие различных оральных форм (таблетки, растворы и т.д.);
- высокая биодоступность;

- отсутствие лекарственных взаимодействий на уровне всасывания;
- хорошая переносимость при приеме внутрь;
- длительный интервал дозирования;
- низкая стоимость.

В зависимости от орального антибиотика выделяют 4 варианта ступенчатой терапии:

I - парентерально и внутрь назначают один и тот же антибиотик; оральный антибиотик обладает хорошей биодоступностью;

II - парентерально и внутрь назначают один и тот же антибиотик; оральный препарат имеет низкую биодоступность;

III - парентерально и внутрь назначают разные антибиотики; оральный антибиотик обладает хорошей биодоступностью;

IV - парентерально и внутрь назначают разные антибиотики; оральный препарат имеет низкую биодоступность.

Примером использования принципа ступенчатой антибиотикотерапии может служить использование его в комплексном лечении одонтогенных абсцессов и флегмон (рис. 16-1), где выбор препарата или способа его введения зависит как от исходного состояния (локализованный или разлитой воспалительный процесс), так и от клинического течения.

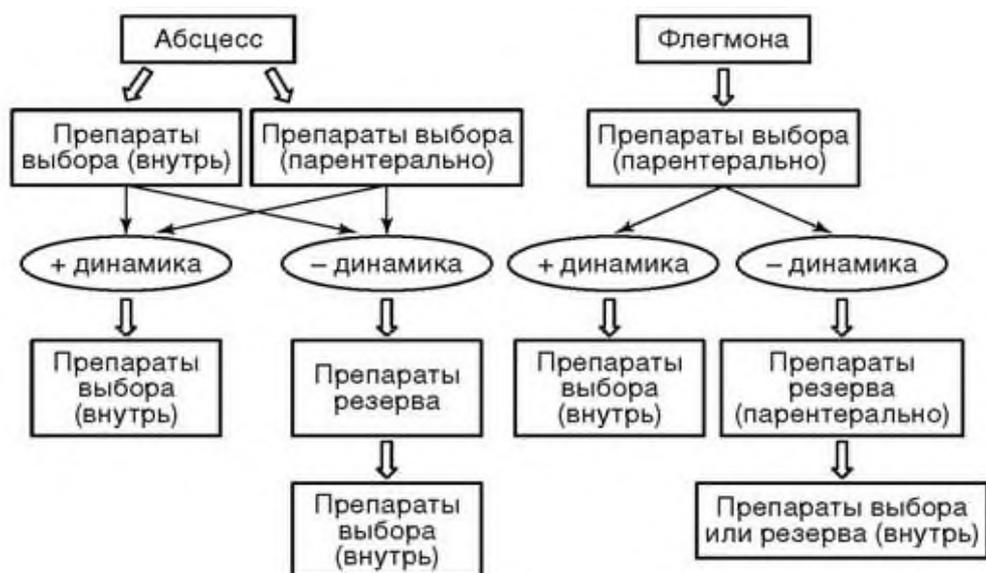


Рис. 16-1. Схема ступенчатой антибактериальной терапии на примере воспалительных заболеваний мягких тканей челюстно-лицевой области (абсцесса, флегмоны)

16.7. КОМБИНИРОВАННАЯ АНТИБИОТИКОТЕРАПИЯ

Нередко в клинической практике инфекционисты используют комбинированную антибиотикотерапию. Под комбинированной антибиотикотерапией понимают использование двух антибактериальных средств и более, дополняющих друг друга по эффективности. Основные показания к ее проведению:

- смешанные инфекции;
- необходимость предупреждения развития устойчивости микроорганизмов к антибиотику;
- целесообразность усиления антибактериального эффекта;
- недостаточная чувствительность возбудителей к моноантибиотикам.

При выборе комбинации необходимо стремиться к усилению антибактериальной активности, расширению спектра антибактериального воздействия, снижению частоты развития лекарственной устойчивости, улучшению переносимости препаратов и тяжести побочных эффектов за счет снижения доз препаратов.

Вместе с тем возможны следующие варианты взаимодействия антибиотиков при сочетанном их применении.

- Индифферентное действие - изменение эффекта каждого из противобактериальных средств не отмечается (хлорамфеникол и эритромицин).

- Аддитивное действие (суммация) - антибактериальный эффект применяемых препаратов равен сумме действия каждого из них в отдельности, независимо один от другого (ампициллин + оксациллин).

- Синергидное действие - эффект одновременного применения двух антибиотиков превышает простую суммацию действия каждого препарата в отдельности (β -лактамы + аминогликозиды).

- Антагонистическое действие - эффект, достигаемый при сочетании нескольких препаратов, ниже, чем эффект каждого в отдельности (β -лактамы + тетрациклины).

Антагонистическое взаимодействие антибиотиков объясняется их механизмом действия на бактериальную клетку. Так, β -лактамы, ванкомицин и фосфомицин действуют на микроорганизмы только во время митоза, и поэтому одновременное назначение бактериостатиков, которые нарушают деление бактериальных клеток, может лишить бактерицидные антибиотики субстрата, на который направлено их действие. Оптимальной является комбинация двух бактерицидных антибактериальных средств.

При сочетании различных антибиотиков бактерицидного типа случаев антагонизма, как правило, не наблюдается. Комбинация бактериостатических и бактерицидных препаратов иногда приводит к их антагонизму.

Известно, что свойства микрофлоры под влиянием антибиотиков изменялись, претерпели трансформацию взгляды на механизмы резистентности, появилась множественная резистентность. Это осложнило принятие решения по применению комбинации различных антибиотиков. Однако на практике врач не должен полностью отказываться от рекомендуемых в справочниках и руководствах их сочетаний. При этом необходим всесторонний учет свойств возбудителей инфекций. Однако все же следует иметь в виду, что приоритетной является моноантибиотикотерапия, при которой предпочтительнее назначение препаратов более узкого спектра действия, особенно в случаях продолжительного лечения. При назначении комбинации антибиотиков целесообразно пользоваться таблицами их совместимости. Они при определенной условности помогут избежать неблагоприятных (снижения эффективности и др.) последствий.

Наиболее частыми комбинациями являются сочетания препаратов группы пенициллина, в частности, аугментина, имеющего защиту от бактериальных β -лактамаз (препарат содержит ингибитор β -лактамаз - амоксициллин + клавулановая кислота), и метронидазола. 5-нитроимидазолы (5-НИМЗ) хорошо сочетаются с другими группами химиотерапевтических средств и в комбинированной терапии могут применяться с β -лактамами (бензилпенициллином, цефалоспоринами), аминогликозидами, фторхинолонами, макролидами, ванкомицином, котримоксазолом⁸.

Для эмпирической терапии анаэробной или аэробно-анаэробной инфекции можно предложить ряд схем лечения с включением нитроимидазолов, например: цефалоспорин III поколения + нитроимидазол (инъекционные формы или внутрь), фторхинолоны (ципрофлоксацин или офлоксацин) + нитроимидазол⁹.

Комбинация фторхинолонов с другими антибактериальными препаратами обычно оказывает аддитивный и индифферентный, реже - синергидный, но не антагонистический эффект.

Возможно комбинированное применение фторхинолонов с клиндамицином, эритромицином, метронидазолом, ванкомицином, пенициллинами, цефалоспоридами, аминогликозидами, рифампицинами.

Синергизм в отношении всех возбудителей (в том числе множественно-устойчивых) проявляется при комбинации фторхинолонов с рифампицином.

Такие комбинации необходимы при лечении тяжелых смешанных аэробно-анаэробных инфекций, тяжелой стафилококковой или стрептококковой инфекции (табл. 16-4).

Однако при комбинированной химиотерапии необходимо помнить, что отдельные штаммы микроорганизмов даже одного вида могут быть неодинаково чувствительны как к отдельному антибиотику, так и к комбинации препаратов.

При длительной антибактериальной терапии, особенно в случае хронических одонтогенных воспалительных заболеваний, необходимо учитывать риск развития дисбиоза и активизации дрожжеподобных грибов рода *Candida*. Это нередко требует назначения специфических противогрибковых препаратов: группы полиеновых антибиотиков (нистатина) или производных азола (кетоназола, итраконазола, флуконазола).

Антибиотики широкого спектра действия и макролиды обычно не требуют дополнительного назначения других антибактериальных средств. Для монотерапии применяют также антибиотики широкого спектра действия: тетрациклины (не всегда), левомицетин.

Таблица 16-4. Совместимость антибактериальных препаратов

Антибиотики	Пенициллины	Цефалоспорины	Карбапенемы	Аминогликозиды	Макролиды
Пенициллины	+++	++	X	+++	X
Цефалоспорины	0	+0	X	x0	X
Карбапенемы	X	X			
Аминогликозиды	+++	X	x0	X	X
Макролиды	X	X	X	X	+
Тетрациклины	X	X	X	+	++
Линкозамины	X	X	X	X	X
Фузидин натрия	++				++
Хлорамфеникол	X	X	X	+	0
Рифампицин	+++	+++			+0
Фторхинолоны	++	++	++	++	+
Нитрофураны	+	+	+	+	++

Имидазолы	++	++	++	++	++
Сульфаниламиды	X	+	X	+	++
Триметоприм	++	++		++	+

Продолжение табл. 16-4

Антибиотики	Тетрациклины	Линкозамины	Фузидин натрия	Хлорамфеникол	Рифампицин
Пенициллины	X	X	++	X	++
Цефалоспорины	X	X		X	++
Карбапенемы					
Аминогликозиды	+	+		+	
Макролиды	++	+	++	X	+0
Тетрациклины		++	++	++	
Линкозамины	++	-		X	
Фузидин натрия	++				
Хлорамфеникол	++	X		-	X
Рифампицин				X	
Фторхинолоны	+	++	+	+	++
Нитрофураны	++	++		0	
Имидазолы		0			
Сульфаниламиды	++	++		X	
Триметоприм	++	+		X	

Окончание табл. 16-4

Антибиотики	Сульфаниламиды	Нитрофураны	Имидазолы	Фторхинолоны	Триметоприм
Пенициллины	X	+	++	++	+++
Цефалоспорины	+	+	++	++	+++
Карбапенемы	X	+	++	++	
Аминогликозиды	+	+	++	++	+++
Макролиды	++	++	++	+	+
Тетрациклины	++	++		+	++

Линкозамины	++	++	0	++	+
Фузидин натрия					
Хлорамфеникол	X	X		+	X
Рифампицин				++	
Фторхинолоны	+	+	++	+	+
Нитрофураны	X	-	X		X
Имидазолы		X		++	+
Сульфаниламиды	-	X		+	X
Триметоприм	X	X	+	+	-

«++» - синергидное действие; «+» - аддитивное действие (суммация); 0 - индифферентное действие; X - антагонистическое действие (усиление или ослабление токсического действия). Верхняя строка - типичное действие, нижняя строка - варианты.

16.8. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ

Эффективность лечения антибиотиками при своевременном их назначении во многом определяется следующими факторами:

- этиологической диагностикой заболевания, клинической диагностикой нозологических форм инфекционного заболевания, выделением возбудителя заболевания с последующим определением его чувствительности к антибиотикам;
- выбором наиболее активного и в то же время наименее токсичного для конкретного больного препарата;
- определением оптимальной дозы антибиотика, метода его введения для создания концентрации в очаге инфекции, в 2-3 раза превышающей МПК для данного микроорганизма;
- знанием и учетом возможных побочных реакций на антибиотик;
- применением по соответствующим показаниям комбинации препаратов в целях расширения спектра их действия и/или усиления антибактериального эффекта.

В практике клинициста нередко возникает ситуация, когда необходимо назначить антибактериальную терапию до определения окончательного диагноза заболевания, уточнения его этиологии (выделения возбудителя заболевания и определения чувствительности к антибиотикам и химиопрепаратам). В подобных случаях используют принцип стартовой антибактериальной терапии.

Основным критерием эффективности антибактериальной терапии чаще всего является уменьшение степени интоксикации с понижением температуры тела. Наряду с клиническим контролем за динамикой инфекционного процесса используют бактериологические приемы: выделение возбудителя, количественное и качественное определение его чувствительности к антибиотикам, сопоставление фармакодинамических и фармакокинетических показателей.

16.9. ПОБОЧНЫЕ ДЕЙСТВИЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Клинические проявления аллергических реакций выражаются в виде анафилактического шока, поражения кожи, слизистых оболочек, отека Квинке, астматического бронхита.

Токсические реакции характеризуются четкой симптоматикой и возникают чаще аллергических. При приеме аминогликозидов они характеризуются невритом слухового нерва, поражением зрительного нерва, вестибулярными расстройствами, возможным развитием полиневрита, токсическим поражением почек. Тетрациклины, рифампицин, эритромицин, сульфаниламиды обладают гепатотоксичным действием. Патологическое влияние на кровотворную систему могут оказывать хлорамфеникол, рифампицин, стрептомицин. Токсически действуют на пищеварительную систему тетрациклин, эритромицин, амфотерицин В.

К побочному эффекту антибиотиков, связанному с биологической активностью, следует отнести реакцию Яриша-Герксгеймера - инфекционно-токсический шок, который обусловлен так называемым токсинным ударом в результате массивного бактериолиза. Инфекционно-токсический шок чаще развивается при инфекциях с напряженной бактериемией (менингококкемии, брюшном тифе, лептоспирозе и др.), особенно в случаях применения антибактериальных препаратов бактерицидного действия. Развитию шока препятствуют одновременное назначение глюкокортикоидов (пульс-терапия), проведение инфузионно-детоксикационной терапии.

Антибактериальные препараты могут вызвать дисбактериоз, снижение напряженности иммунного ответа организма, что в конечном итоге проявляется реинфекцией или суперинфекцией. Вследствие подавления нормальной микрофлоры кишечника может развиваться гиповитаминоз.

В основе профилактики побочных реакций при приеме антибиотиков и химиопрепаратов лежит радикальная терапия со знанием общих свойств препарата, механизмов его действия, фармакокинетики и схем применения.

Побочные эффекты при терапии метронидазолом, тинидазолом, орнидазолом и другими 5-НИМЗ в основном однотипные. При применении препаратов возможны следующие побочные реакции:

- со стороны пищеварительной системы - неприятный (металлический) привкус, сухость во рту, тошнота, боли в животе, диарея, рвота;
- со стороны центральной нервной системы - головная боль, головокружение, нарушение координации движений, атаксия; при передозировке препаратов - депрессия, периферические невропатии, судорожные реакции (очень редко - эпилептические припадки);
- кожно-аллергические - кожные сыпи, кожный зуд;
- гематологические - лейкопения, нейтропения;
- после внутривенного введения препаратов возможны флебиты и тромбофлебиты, боли в области введения растворов.

При назначении препаратов следует учитывать перекрестный характер аллергии ко всем 5-НИМЗ.

Основные побочные эффекты сгруппированы и представлены в табл. 16-5.

При проведении антибактериальной химиотерапии часто приходится сталкиваться с проблемой совместимости антибиотиков с одновременно назначаемыми лекарственными средствами по поводу сопутствующего заболевания или при лечении основной острой или хронической инфекции. Часть таких комбинаций являются опасными для жизни больного,

часть приводит к снижению эффективности. В приведенной ниже табл. 16-6 сгруппированы некоторые комбинации антибиотиков с другими лекарственными препаратами, используемыми в стоматологии.

Таблица 16-6. Некоторые отрицательные эффекты взаимодействия антибиотиков с другими лекарственными средствами, используемыми в стоматологии

Антибиотики	Одновременно назначаемые другие лекарственные средства	Результаты возможного взаимодействия
Азлоциллин, пиперациллин, карбенициллин	Антикоагулянты непрямого действия	Кровотечения
Цефалексин, цефалотин	Фуросемид	Снижение слуха
Цефамандол	Гепарин, антикоагулянты непрямого действия	Кровотечения
Макролиды (кроме азитромицина)	Антигистаминные средства II поколения	Желудочковые аритмии, синкопальные состояния
Макролиды (кроме азитромицина и рокситромицина)	Карбамазепин	Тошнота, рвота, нистагм, атаксия
Аминогликозиды	Нестероидные противовоспалительные препараты	Нарушения функций почек
Метронидазол	Антикоагулянты непрямого действия	Увеличение протромбинового времени

Таблица 16-5. Возможные побочные эффекты, характерные для группы антибиотиков, наиболее часто используемых в стоматологии

Антибиотики \ Побочные эффекты	Антибиотики												
	Пенициллины	Цефалоспорины	Карбапенемы	Макролиды	Линкозамиды	Тетрациклины	Фуразидины	Хлорамфеникол	Фторхинолоны	Рифамицины	5-НИМЗ	Кло-тримоксимол	
Аллергическая реакция (кожные реакции, дерматит, анафилактический шок)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Боли в животе, тошнота, снижение аппетита, неспецифическая диарея, другие диспепсии	-	-	-	-**	-**	-**	-	-	-**	-	-**	-	
Нефротоксическое действие		-				+				-		-	
Гепатотоксическое действие				-	-	+	-			-		-	
Угнетение кроветворения					-	+				-		-	
Угнетение роста хрящей, костей, зубов						+			+				
Нейротоксичность	-				+			+	+	-	-		
Псевдомембранозный колит	-	-**			-								
Активность печеночных ферментов	-	-	-	-						+			
Фотосенсибилизация (фотодерматит)						+			+		-	-	
Кандидоз, дисбактериоз	-*	-*	-*	-*	-*	-*	-*	-*	-*	-*	-*	-*	
Стоматит												-	
Глоссит						-		-				-	

* При длительном применении. ** При приеме внутрь.

ГЛАВА 17. ПРИНЦИПЫ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ В СТОМАТОЛОГИИ

17.1. ИММУНОДЕФИЦИТНЫЕ СОСТОЯНИЯ В СТОМАТОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Иммунодефицитные (иммунокомпromетированные) состояния - субклинические и клинические состояния, развиваемые вследствие врожденных или приобретенных дефектов иммунной системы.

За последнюю четверть XX в. наблюдалось драматическое увеличение иммунокомпromетированных больных во всех странах мира. Ранее это было связано с последствиями неблагоприятной экологии, связанной с деятельностью человека (радиационного, химического и других факторов), жесткими медицинскими методами при лечении опухолей, заболеваний крови, при трансплантации и т.п. (использование лучевой терапии, глюкокортикоидов, цитостатиков и других лекарственных средств, угнетающих иммунитет). В настоящее время тяжелые иммунные дефекты все больше обусловлены вирусными инфекциями, вызванными ВИЧ, вирусами группы герпеса и др.

Таким образом, основные группы иммунодефицитов - лица с трансплантатами органов и получающие иммуносупрессирующую терапию, а также ВИЧ-инфицированные, герпес-инфицированные и больные хроническими вирусными заболеваниями.

Группу приобретенных иммунодефицитов можно охарактеризовать в основном как иммунодефициты Т-системы. Другие состояния реже встречаются, однако в клинической практике, особенно в педиатрии, можно встретиться с проявлениями различных иммунных дефектов, включая дефекты В-лимфоцитов, нейтрофилов, синтеза иммуноглобулинов, системы комплемента и другими, которые обычно генетически детерминированы и называются врожденными иммунодефицитами.

Т-лимфоциты (Т-клетки) - гетерогенная популяция лимфоидных клеток, созревающих в вилочковой железе (тимусе). Их рецепторная специфичность по кластеру дифференцировки генов (*Gasters of*

Differentiation - CD) обозначается соответствующими буквами и цифрами, например: CD3, CD4, CD21. Основная субпопуляция Т-лимфоцитов (CD4⁺-клетки) выполняют антигенраспознающую и иммунорегулирующую функции, они активируют В-лимфоциты (CD21⁺), которые формируются в костном мозге и трансформируются в плазмочиты, продуцирующие антитела. Лимфоциты участвуют также в реакциях гиперчувствительности замедленного типа, аллергических реакциях, реакциях отторжения трансплантата.

Все перечисленные клетки играют важную роль в защите организма от патогенного воздействия резидентной микрофлоры, включая представителей грибов, простейших и вирусов. Однако этим перечнем многозвеньевая клеточная популяция иммунной системы человека не исчерпывается.

При ВИЧ-инфекции снижение количества CD4⁺-лимфоцитов обусловлено поражением вирусами клеток, имеющих этот маркер. Однако следует учитывать, что рецептор CD4, наряду с Т-лимфоцитами-хелперами, имеет некоторые клетки нервной системы, эндотелий сосудов и макрофаги, находящиеся в полости рта. Совокупностью поражений этих клеток определяется патогенез иммунологических нарушений. Кроме того, некоторые антигены ВИЧ специфически взаимодействуют с мембранным маркером клеток человека - CD95, или «белком смерти». Он назван так, поскольку при его активации начинается процесс апоптоза - программируемой гибели клетки. Это также приводит к резкому снижению клеточной массы иммунной системы и организма в целом.

Собственно синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД) как заключительная стадия ВИЧ-инфекции возникает, прежде всего, когда ВИЧ приводит к резкому снижению количества клеток Т-хелперов (CD4-лимфоцитов).

Критическим уровнем является снижение CD4-лимфоцитов менее 200 клеток в 1 мл. Большинство иммунокомпрометированных больных склонны к инфекциям, вызываемым микроорганизмами, которые в литературе часто называют условно патогенными и активируются при иммунодефицитах. Такие инфекции, как уже отмечалось, являются оппортунистическими.

Первые проявления оппортунистических инфекций у пациентов с иммунодефицитами, в том числе при СПИДе, обычно наблюдаются в ротовой полости. В этих случаях заболевания ротовой полости склонны к рецидивам, затяжным, тяжелым течениям, нередко устойчивым к лечению, и могут распространяться, приобретая системный характер.

В эту группу входят лица с иммуносупрессией или иммунодефицитами различной этиологии и в том числе с ВИЧ-, герпес-инфекциями. Количество иммуносупрессированных больных растет из-за ятрогенной иммуносупрессии и инфекции, вызываемой различными вирусами.

Чаще всего симптомокомплекс СПИДа и других приобретенных иммунодефицитов включает следующие клинические состояния: кандидоз (активизацию грибов рода *Candida*) и проявления простого герпеса, гнойно-некротические язвы (активизацию анаэробной флоры, прежде всего, фузобактерий и трепонем), волосатую лейкоплакию языка, лимфомы, саркому Капоши (вызванные вирусом Эпштейна-Барр или цитомегаловирусом из группы герпес-вирусов) и другие патологические процессы, обусловленные различными видами оппортунистических бактерий, грибов и простейших (пневмоцистами, токсоплазмами).

17.2. ИММУНОТРОПНАЯ ТЕРАПИЯ В СТОМАТОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Иммунотропная терапия - направленное воздействие на иммунную систему организма в целях нормализации ее функционирования.

Под направленным воздействием следует понимать, прежде всего, применение фармакологических препаратов (иммуномодуляторов и др.), однако иммунотропный эффект могут оказывать также и различные виды электромагнитных излучений: ультрафиолетовые, инфракрасные лучи, лазер и некоторые другие физические воздействия.

Понятие «иммунотропная терапия» включает ряд терминов, значение которых требует уточнения. Иммунотерапия - использование специфических препаратов, содержащих антигены (вакцины, анатоксины) или антитела (иммуноглобулины), а также активных факторов иммунитета, которые оказались в дефиците.

Основные варианты:

- специфическая иммунопрофилактика - применение вакцин и анатоксинов для предупреждения развития инфекционных заболеваний;
- специфическая иммунотерапия - применение анитоксических сывороток и иммуноглобулинов для лечения инфекционных заболеваний (или экстренной профилактики, например, для предупреждения развития столбняка при грязных ранах);
- заместительная иммунотерапия - применение недостающих факторов доиммунной защиты: интерлейкинов, интерферонов, лизоцима, компонентов комплемента, гормонов тимуса и т.п.

Иммуномодулирующая терапия - воздействие на иммунную систему, приводящее к снижению гиперактивных и/или стимуляции угнетенных компонентов иммунной системы при использовании одного препарата или иного фактора воздействия.

Возможные варианты:

- иммунокоррекция - использование приемов воздействия на иммунную систему, приводящих к ликвидации дефектов и восстановлению ее нормального функционирования (идеальные иммуномодуляторы);

- иммуностимуляция - использование препаратов, оказывающих преимущественно стимулирующее системное воздействие как на нормальные, так и на угнетенные компоненты иммунной системы (тимомиметики, адьюванты и т.д.);

- иммуносупрессия - использование препаратов, оказывающих преимущественно угнетающее (супрессорное) системное воздействие как на нормальные, так и на стимулированные компоненты иммунной системы (глюкокортикоиды, иммунодепрессанты, цитостатики и т.п.).

Иммунореабилитация - комплекс иммуотропных воздействий, включающих медикаментозные и физические (физиотерапию, климато-и курортотечение, режим труда и отдыха, быта пациента), направленных не только на восстановление иммунореактивности больного, но и на закрепление достигнутого эффекта после клинического выздоровления.

На основании анализа клинических и лабораторных методов исследования определяют показания к проведению того или иного вида иммуотропной терапии:

- иммунодефициты - приобретенные (на фоне авитаминозов, неблагоприятных экологических факторов, вирусных инфекций и др.) и врожденные, включая так называемые минорные иммунодефициты отдельных компонентов иммунной системы (врожденный дефект С1q-ингибитора, приводящий к наследственному ангионевротическому отеку, дефицит других компонентов системы комплемента, лизоцима и т.д.);

- аутоиммунные процессы - нарушения презентации, процессинга на макрофагах и собственно распознавания антигена, в частности, коллагенозы, заболевания крови, эндокринных желез и аутоиммунные компоненты в развитии хронических инфекционных (туберкулеза, лепры, бруцеллеза) и оппортунистических (бронхита, ХОБЛ, пиелонефрита и т.д.) заболеваний;

- аллергические процессы - гиперпродукция реактивных антител класса IgE и/или IgG4, образование цитотоксических антител и иммунных комплексов IgM и IgG, формирование клонов Т-цитотоксических лимфоцитов и/или Т-киллеров.

Основные виды препаратов, которые в настоящее время используют для иммуотропной терапии, представлены в табл. 17-1.

Таблица 17-1. Основные виды препаратов, используемых для иммуотропной терапии

Вид иммуотерапии	Препарат	Краткая характеристика
1. Заместительная	Имуноглобулин Пентаглобин (с преобладанием IgM) Интраглобулин (с преобладанием IgG)	Антитела против возбудителей бактериальных и вирусных инфекций

2. Тимоиметики	I поколения: тимозин, тималин [▲] , тактивин [▲]	Производные гормонов тимуса
	II поколения: тимоген [▲] , тимопентин, тимулин	Синтетические аналоги гормонов тимуса
	III поколения: иммунофан, бестим, неоген	Синтетические модифицированные аналоги гормонов тимуса
3. Стимуляторы антителогенеза	Миелопид [▲]	Действует также и на другие звенья иммунной системы
	Бронхомунал [▲] , рибомунил [▲]	Бактериальные лизаты для стимуляции местного иммунитета бронхолегочной системы
	Имудон [▲] , ИРС-19	Бактериальные лизаты для стимуляции местного иммунитета носа и полости рта
4. Стимуляторы макрофагально-гранулоцитарной системы	Левамизол	Фенилимидотиазол
	Диуцифон [▲]	Диаминодефинилсульфон
	Ликопид [▲]	Мурамилдипептид
	Иммунал [▲]	Сок эхинацеи пурпурной
	Метилурацил [▲] , нуклеинат натрия, деринат, полудан, инозин (гпропринозин)	Производные азотистых оснований - интерфероногены
5. Индукторы эндогенных интерферонов	Арбидол [▲] , амиксин [▲] , анаферон [▲] , циклоферон [▲] , кагоцел [▲]	Синтетические химические соединения с противовирусным действием

Окончание табл. 17-1

Вид иммунотерапии	Препарат	Краткая характеристика
6. Цитокины	Лейкинферон [▲] , суперлимф [▲]	Комплексы естественных цитокинов
	Ронколейкин [▲]	Интерлейкин-2
	β-Лейкин [▲]	Интерлейкин-1β
	Лейкомас", нейпоген [▲]	Колониестимулирующий фактор
7. Иммунокорректоры и	Галавит [▲]	Производное фталгидрозида ВМ-

химически чистые модуляторы	Полиоксидоний [▲] , гриппол [▲] , лонгидаза [▲] Аллоферон [▲] Гепон [▲]	производное полиэтилен-пиперазина
		Олигопептид из 13 аминокислот
	Глутоксим [▲]	Олигопептид из 14 аминокислот
		Бисглутамил-цистеин-бисглицин динатриевая соль

Значительный интерес для врачей представляет группа препаратов-иммунокорректоров и химически чистых иммуномодуляторов, синтезированных отечественными производителями в последние годы, так как они характеризуются:

- известной химической формулой и фармакокинетикой;
- предсказуемым механизмом действия;
- комбинированным влиянием на активность макрофагально-фагоцитарной системы и другие звенья иммунной системы;
- отсутствием серьезных побочных эффектов.

17.3. МЕСТНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ В СТОМАТОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Особую группу пациентов, имеющих существенно более высокое содержание бактерий в полости рта, представляют больные хроническими заболеваниями, например пародонтитом. В случае клинически осложненного течения (обострения хронического пародонтита, развития пародонтального абсцесса) количество микроорганизмов резко увеличивается, наблюдаются сдвиги в составе симбиотической микрофлоры полости рта.

Вместе с тем многие исследователи приходят к выводу, что местное применение антибактериальных средств при комплексном лечении пародонтита является предпочтительным по сравнению с применением препаратов внутрь или парентерально. Однако применение таких антисептических препаратов, как хлоргексидин, листерин и триклозан в виде полоскания или введение метронидазола, линкомицина, левомецетина в пародонтальный карман под лечебную повязку, сопряжено с довольно быстрым вымыванием препарата, нестабильностью его концентрации в зоне воздействия, что чревато серьезными последствиями с точки зрения селекции антибиотикорезистентных штаммов бактерий.

В настоящее время считается доказанным, что начальные изменения трофики тканей десны обусловлены различными механизмами, ассоциированными с деятельностью грамотрицательных или грамположительных видов пародонтопатогенных бактерий. Так, у грамположительных видов - актиномицетов *A. naeslundii*, *A. viscosus*, *A. israelii* и стрептококков *S. sanguis*, *S. intermedius*, *P. anaerobius* - пародонтопатогенное действие обусловлено экзотоксинами, амфифильными полисахаридами и токсичными фракциями тейхоевых и липотейхоевых кислот. Что касается грамотрицательных пародонтопатогенных видов бактерий - бактероидов *Prevotella melaninogenica*, *P. intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium spp.*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, то их патогенетическое воздействие преимущественно касается механизмов микроциркуляции и индукции ряда иммунологических феноменов, обусловленных действием липида А, токсическими ЛПС клеточной стенки и капсулы.

В связи с этим стратегической линией комплексного лечения пародонтита в настоящее время является воздействие на бактериальный и иммунный компоненты развития пародонтита.

В настоящее время хорошо известны негативные стороны действия антибиотиков при общей антибактериальной химиотерапии. Показано, что антибиотики отрицательно влияют на иммунную систему, нарушают функциональную активность лимфоидных клеток, угнетая клетки иммунной памяти. Многие антибиотики подавляют спонтанную активность нейтрофилов, макрофагов, тормозят спонтанную миграцию и хемотаксис фагоцитов, снижают бактерицидную и лизосомальную активность сыворотки крови, что приводит к снижению противоинфекционной сопротивляемости организма в целом.

Однако подбор антибиотиков, обладающих иммуномодулирующими свойствами, и введение их в пролонгированные лекарственные формы для местного применения позволяют решить эту проблему и нивелировать побочные действия даже тех антибиотиков, которые угнетают иммунную реакцию.

В связи с этим широкое применение при лечении пародонтита получили адгезивные стоматологические пленки «Диплен-Дента» (ООО «Норд-Ост», Россия) с антибактериальными компонентами.

Известны пленки со следующими антибактериальными компонентами:

- с метронидазолом;
- гентамицином;
- линкомицином;
- клиндамицином;
- грамицидином С.

Кроме того, разработаны и выпущены специальные пленки данной серии, содержащие кавентон (стимуляция микроциркуляции в пародонте), солкосерил (стимуляция процессов регенерации), галавит (модулятор фагоцитоза), дексаметазон (для супрессии гиперактивности местных механизмов) и некоторые другие компоненты.

Все адгезивные пленки применяют по единой схеме - на вестибулярную и щечную поверхности десен верхней и нижней челюсти короткими полосками размером 2,5x1,0 см в 4 местах, на уровне зубов 5-7 соответственно.

При первом посещении пациенту назначают один из описанных видов местной терапии. Первое наложение адгезивных пленок проводят непосредственно на приеме у стоматолога. Одновременно инструктируют больного, как проводить лечение дома.

Особое внимание следует уделять обучению пациента правилам гигиены полости рта, технике наложения адгезивных пленок в домашних условиях и контролю за тщательностью и правильностью проведения гигиенических мероприятий. Использовать адгезивные пленки в домашних условиях рекомендуют на ночь, после тщательной чистки зубов. Курс лечения у больных пародонтитом средней степени тяжести составляет 7-14 сут с повторными курсами 1 раз в месяц.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В арсенале антибактериальных средств ведущее место занимают антибиотики - химиотерапевтические препараты, происхождение которых или их исходных аналогов связано с биологическим синтезом в живых системах. Наибольшее практическое значение в качестве источника биосинтеза при промышленном получении антибиотиков имеют микроорганизмы.

В процессе использования антибиотиков в качестве химиотерапевтических средств при заболеваниях инфекционной природы желательно выделять группы этих препаратов, обладающих иммуностимулирующими или иммуносупрессорными свойствами, а также инертных по отношению к иммунной системе. Однако допущение о существовании последней группы антибактериальных средств - утопия, поскольку антибиотики являются биологически активными веществами, а все биологически активные вещества, как правило, имеют далеко не одну мишень в живых системах, среди которых специалисты выделяют основную, являющуюся объектом лекарственного воздействия. В то же время у каждого препарата, включая антибактериальные средства, существуют побочные эффекты, возникающие в результате взаимодействия с другими молекулярными и клеточными мишенями.

Антибиотики, в основе антибактериального действия которых лежит влияние на субклеточные структуры микроорганизмов, являющихся, в свою очередь, носителями антигенов и других лигандов для клеток иммунной системы, обязательно в той или иной степени оказывают воздействие и на последние.

Проблеме иммунотропных эффектов антибиотиков, возможности их применения у иммунокомпрометированных пациентов или сочетания с другими иммунотропными препаратами за последние 10-15 лет посвящено очень много обзоров как отечественных, так и зарубежных исследователей. Многие исследователи, характеризуя взаимодействие антибиотиков с клетками иммунной системы, подчеркивают, что особенности такого воздействия очень часто связаны как с механизмами антибактериального действия антибиотиков, так и с механизмами формирования микробной устойчивости к ним.

С другой стороны, существуют препараты прямого иммунотропного действия, рассмотренные в последней главе учебника, которые могут обладать преимущественно иммуномодулирующей, иммуносупрессирующей или иммунозаместительной активностью. Это позволяет проводить иммуномодулирующую терапию - воздействие на иммунную систему, приводящее к снижению гиперактивных и/или стимуляции угнетенных компонентов иммунной системы при использовании одного препарата или иного фактора воздействия. Для правильного выбора тактики иммуномодулирующей терапии необходимо всестороннее исследование иммунного статуса организма человека: определение активности фагоцитирующих клеток, фенотипирование субпопуляций лейкоцитов, определение уровня иммуноглобулинов и других молекулярных факторов крови, а при необходимости - тканей.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Укажите один или несколько правильных ответов.

1. Операционные раны называются чистыми при хирургических вмешательствах на голове и шее, при которых нет контакта инструментов:

- а) со слизистой оболочкой полости рта;
- б) слизистой оболочкой придаточных пазух носа;
- в) кожей;
- г) слизистой оболочкой носовых ходов.

2. Операционные раны называются условно чистыми, если в процессе хирургического вмешательства происходит контакт инструментов:

- а) со слизистой оболочкой полости рта;
- б) слизистой оболочкой придаточных пазух носа;
- в) кожей;

г) гнойным экссудатом воспалительного очага.

3. Операционные раны называются контаминированными, или грязными, если в процессе хирургического вмешательства происходит контакт инструментов:

а) с экссудатом хронического воспалительного очага;

б) слизистой оболочкой придаточных пазух носа;

в) слизистой оболочкой полости рта;

г) гнойным экссудатом воспалительного очага.

4. Антибиотикопрофилактика показана:

а) при чистых операциях;

б) грязных операциях;

в) условно чистых операциях;

г) контаминированных операционных ранах.

5. Клиническими показаниями к периоперационной антибиотикопрофилактике являются:

а) дентальная имплантация;

б) синус-лифтинг;

в) операции на слюнных железах;

г) удаление зубов.

6. Клиническими показаниями к периоперационной антибиотикопрофилактике являются:

а) протезирование;

б) резекция альвеолярного отростка при хроническом остеомиелите;

в) операции при переломах челюстей;

г) удаление зубов.

7. Общими клиническими показаниями к периоперационной антибиотикопрофилактике (группы риска) являются следующие соматические состояния:

а) диабет;

б) иммунодефицит;

в) ожирение;

г) лучевая болезнь.

8. Основные требования к антибиотикам, назначаемым для профилактики:

а) активность в отношении анаэробного компонента бактериальных ассоциаций;

б) хорошее проникновение в ткани челюстно-лицевой области, ротовую и десневую жидкости;

в) концентрация в крови и ране должна быть ниже МПК данного антибиотика;

г) концентрация в крови и ране должна быть выше МПК данного антибиотика.

9. Антибиотик в целях периоперационной профилактики необходимо вводить:

а) не раньше чем за 1 ч до операции и не позже чем за 30 мин;

б) не раньше чем за 3 ч до операции и не позже чем за 30 мин;

в) за сутки до операции;

г) в день операции и в течение 3-5 дней после ее завершения.

10. Антибиотики разных фармакологических групп следует вводить для периоперационной профилактики с таким расчетом, чтобы:

а) спектр действия препарата соответствовал видовому составу предполагаемых возбудителей в данном биотопе;

б) МПК препарата сохранялась в ране на протяжении большей части операции, исключая наложение швов;

в) МПК препарата сохранялась в ране, включая момент наложения швов;

г) в послеоперационном периоде в обязательном порядке можно было продолжить введение данного препарата.

11. Антибиотиками выбора для периоперационной профилактики в стоматологии являются:

а) цефазолин и другие цефалоспорины;

б) ампициллин, амоксициллин и лактамазозащищенные пенициллины;

в) линкомицин, клиндамицин (далацин С);

г) гентамицин и другие аминогликозиды.

12. Для ступенчатого применения при грязных операциях и в группах риска рекомендуют:

а) цефалоспорины;

б) тетрациклины;

в) макролиды;

г) аминогликозиды.

13. Хлоргексидинсодержащие препараты, используемые для местной антибактериальной профилактики:

а) элюдрил[®];

б) гексорал[®];

в) диплен дента[®] ХГ;

г) элюгель[®].

Ответы к тестовым заданиям

1 - в; 2 - а,б; 3 - г; 4 - б, в, г; 5 - а, б, в; 6 - б, в; 7- а, б, в, г; 8 - а, б, г; 9 - а; 10 - а, в; 11 - а, б, в, г; 12 - а, б, в; 13 - а, в, г.

Часть 5. МИКРОФЛОРА И ИММУННЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ КАРИЕСЕ ЗУБОВ.

ГЛАВА 18. ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ КАРИЕСОГЕННОСТИ И КАРИЕСОРЕЗИСТЕНТНОСТИ

Кариес - заболевание зубного ряда, проявляющееся после прорезывания зубов, при котором происходят деминерализация и размягчение твердых тканей зуба с последующим образованием дефекта в виде полости.

Кариозное поражение может начаться в любой твердой ткани зуба - эмали, дентине или цементе. Оно начинается с поверхностной деминерализации и заканчивается прогрессирующей бактериальной деструкцией коллагеновых опорных структур дентина с образованием полости на поверхности зуба, что уже является очевидным симптомом заболевания.

Этиология кариеса представляется многофакторной. Однако ведущим пусковым моментом развития является бактериальный фактор, который в то же время отражает нарушение микробиологического баланса в полости рта, участие в патогенезе различных бактерий, как кариесогенных, так и их антагонистов, а также их взаимодействие с легкоусвояемыми углеводами пищи, которые бактериальная популяция разлагает до органических кислот (особенно велика роль молочной кислоты). Длительное закисление среды бактериями приводит к постоянной деминерализации эмали зубов.

В полости рта встречаются многочисленные стрептококки: *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. gordonii*, *S. sobrinus*, *S. salivarius*, *S. mitis* и др. В 1890-х гг. В.Д. Миллер (*W.D. Miller*) опубликовал свою теорию разрушения зубов паразитическими бактериями, четко показав роль кислотопродуцирующих бактерий в развитии заболевания зубов. Более того, он утверждал, что для профилактики заболевания важен правильный уход за зубами (с тщательным удалением органического налета). Эта мысль намного опережала его время.

Пользующийся наибольшим вниманием как основной этиологический агент кариеса микроорганизм - *S. mutans* впервые был выделен от человека и идентифицирован *J.K. Clarke* в 1924 г.

Название этого стрептококка отражает его переменчивую морфологию при выращивании в присутствии сахаров. В конце 1920-х - начале 30-х гг. *S. mutans* с высокой частотой выделяли при кариесе, что позволило считать его возможной причиной разрушения зубов. Экспериментальное подтверждение этой гипотезы получила лишь в 1950-х гг., когда *Orland, Fitzgerald et al.* показали, что инфицирование безбактериальных крыс и хомячков штаммами *S. mutans* ведет к развитию кариеса зубов.

18.1. КАРИЕСОГЕННАЯ МИКРОФЛОРА

Наиболее изученный возбудитель кариеса - *Streptococcus mutans* - грамположительный кокк (рис. 18-1), хотя с кариесом у человека могут быть ассоциированы и другие кислотоустойчивые стрептококки полости рта (включая *S. sobrinus*, *S. sanguis*), актиномицеты *Actinomyces odontolyticus*, *Rothia dentocariosa* и другие виды (рис. 18-2, 18-3), а в некоторых случаях - штаммы *Lactobacillus* (рис. 18-4). Показано, что перечисленные микроорганизмы вызывают кариес у лабораторных животных.

Ведущая роль *S. mutans* обусловлена эпидемиологическими данными о корреляции заболевания у детей и взрослых с высокой степенью обсемененности этими бактериями, их способностью расти в кислой среде *in vitro* и вызывать кариес у экспериментальных животных. Это позволило микробиологам разработать специальные тесты для оценки бактериальной кариесочувствительности организма, заключающиеся в проведении экспресс-посевов ротовой жидкости или биопленки зуба на пластины, которые затем в

специальной гермокамере помещают в термостат при температуре 37 °С (рис. 18-5). Методика позволяет провести количественную оценку стрептококков и лактобацилл по числу выросших колоний и с помощью стандартных таблиц установить степень обсемененности исследуемого материала представителями кариесогенной микрофлоры.

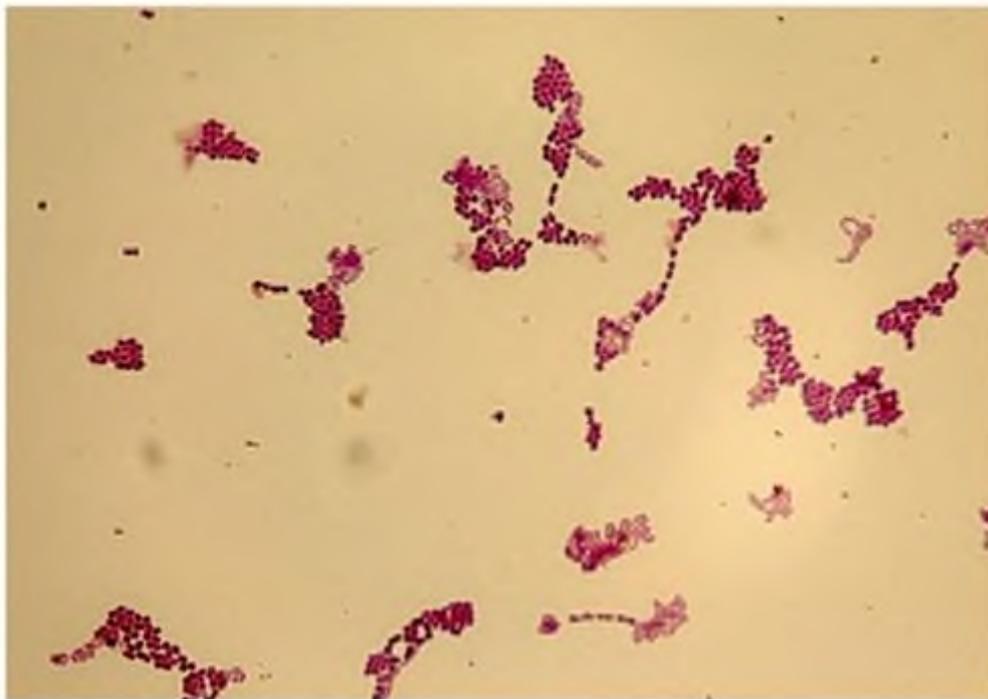


Рис. 18-1. Мазок из чистой культуры *Streptococcus mutans*. Окрашивание по Граму. Объектив x90, иммерсия

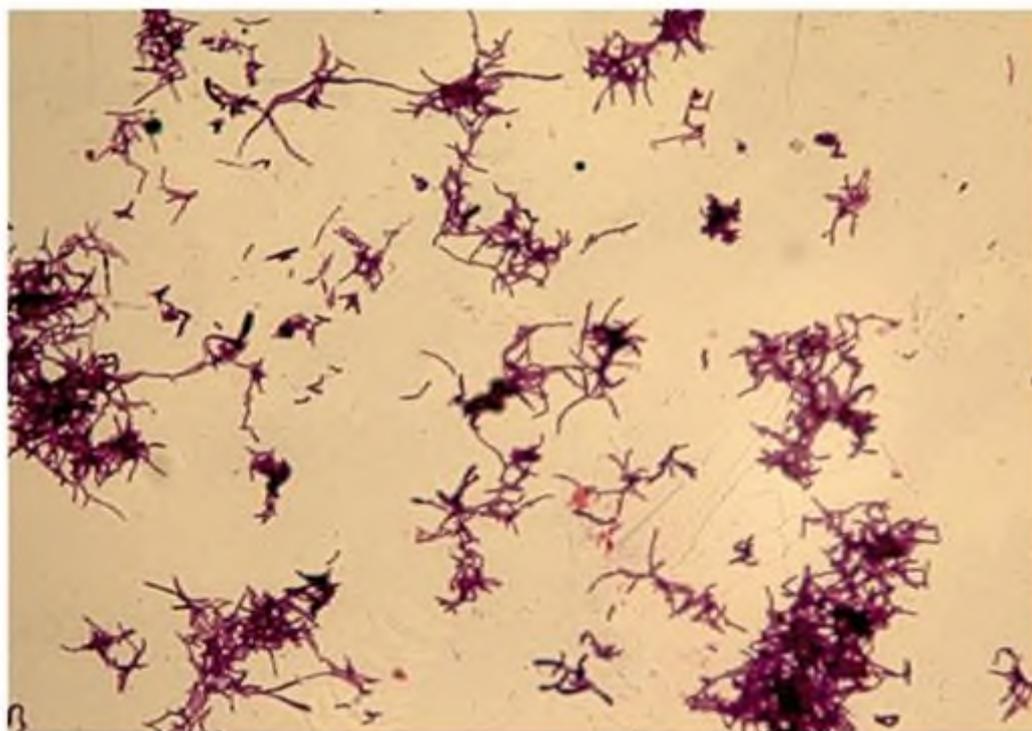


Рис. 18-2. Мазок из чистой культуры *Actinomyces odontolyticus*. Окрашивание по Граму. Объектив x90, иммерсия

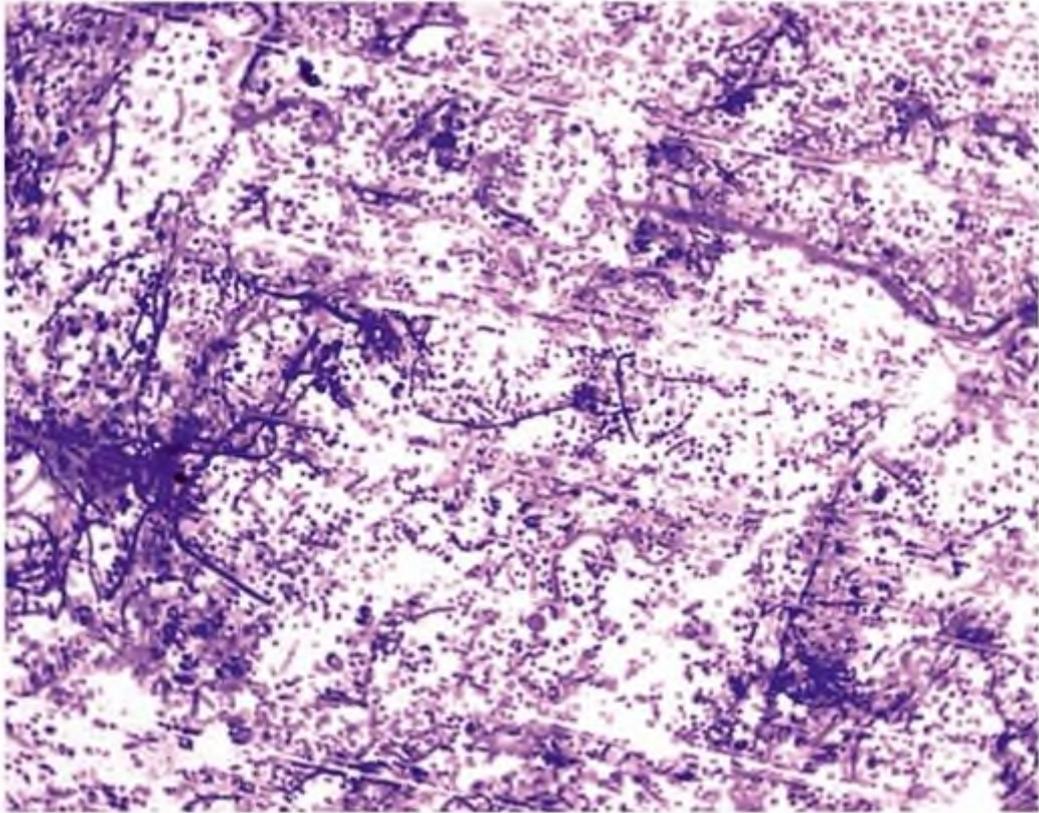


Рис. 18-3. Мазок из чистой культуры *Rothia dentocariosa*. Окрашивание по Граму. Полиморфизм - наличие кокковых, палочковидных и нитевидных форм. Объектив х90, иммерсия

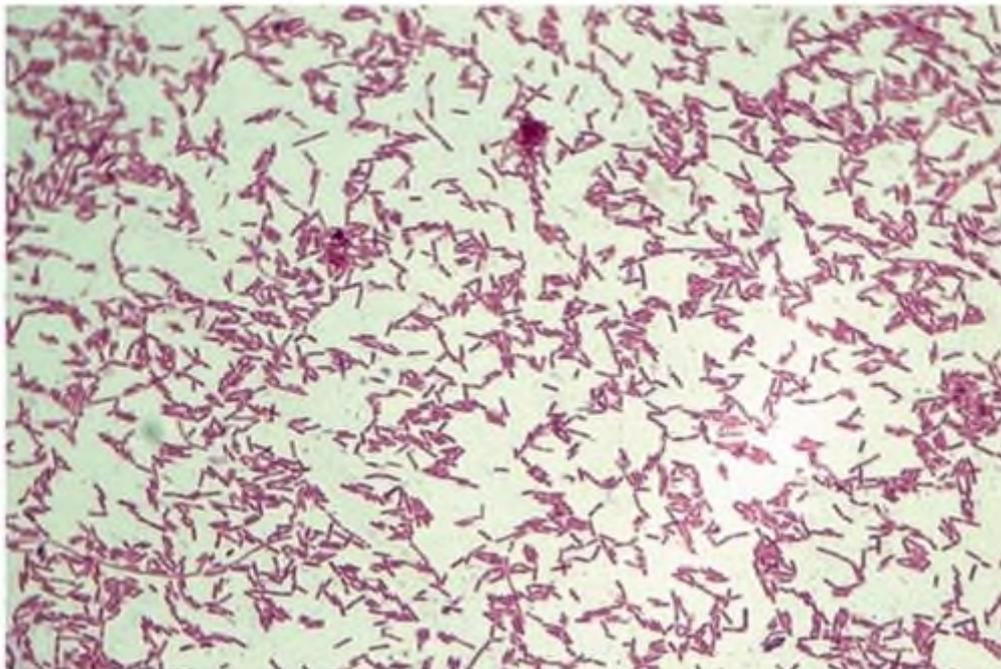


Рис. 18-4. Мазок из чистой культуры *Lactobacillus spp.* Окрашивание по Граму. Объектив х90, иммерсия



Рис. 18-5. Динамика бактериальной обсемененности у пациента до (слева) и после (справа) проведения гигиенических мероприятий

S. mutans как возбудитель кариозного процесса имеет широкий набор генетически детерминированных факторов патогенности, играющих роль как в адгезии к эмали зуба, так и в процессах деминерализации и деструкции органической основы зуба (табл. 18-1). С точки зрения развития кариеса особенно важны 2 признака:

- способность *S. mutans* образовывать из сахарозы пищи нерастворимые полимеры, способствующие постоянной колонизации твердых поверхностей (эмали зуба и реставрационных материалов - пломб);

Таблица 18-1. Факторы кариесогенности и вирулентности *S. mutans*

Фактор вирулентности	Локализация	Функция
Адгезины SpaP(AgV, AgI/II, PI)	Клеточная стенка	Адгезия, связывание с покрытой слюной поверхностью зубов и слюнным агглютинином
Глюкозилтрансферазы Gtf B, Gtf C и GtfD	Секретируются, часто связаны с клеточной поверхностью	Образование из сахарозы α -1,3/ α -1,6-связанных полимеров глюкозы; расцениваются как факторы адгезии и образования биопленки

Гликансвязывающие белки GbpA, GbpB и GbpC	Клеточная поверхность, фиксированы в клеточной стенке	Связывают гликаны, образуемые глюкозилтрансферазами; адгезия к поверхности зубов, образование биопленки
Фруктозилтрансфераза Ftf	Секретируется, иногда связана с клеткой	Образование из сахарозы β 2,1/ β 2,6-связанных полимеров фруктозы, которые в первую очередь служат внеклеточным запасом углеводов; возможно, участвует в адгезии
Фруктаназа	Секретируется и фиксирована в клеточной стенке	Гидролиз фруктанов, образуемых с участием Ftf; способствует глубокому и длительному закислению среды
Декстраназа	Секретируется и иногда связана с клеткой	Эндогликолитическое расщепление α -1,6-связанных гликанов и перестройка их, ведущая к повышению водонерастворимости и высвобождению глюкозы, которая может ферментироваться с образованием кислоты
Внутриклеточные полисахариды	Внутри клетки	Гликогеноподобный полимер глюкозы; в условиях истощения экзогенной глюкозы используется как запас полисахаридов; способствует глубокому и длительному закислению среды

Окончание табл. 18-1

Фактор вирулентности	Локализация	Функция
Фосфоенолпируватзависимая фосфотрансферазная система переноса Сахаров (PTS)	Мембрана / цитоплазма	Катализирует высокоаффинный и специфичный захват различных углеводов; важна для роста и выработки кислоты
F-АТФаза (F ₁ F ₀ -АТФаза или H ⁺ -АТФаза)	Мембрана (F ₀) и цитоплазма (F ₁)	Крупный ферментный комплекс, использующий АТФ для выброса протонов из цитоплазмы; важный фактор кислототолерантности
Кислототолерантность и адаптация к кислой среде	Многофакторный процесс, вся клетка	Позволяет микроорганизмам повышать устойчивость и более эффективно расти при низких значениях pH

• выживание *S. mutans* в кислой среде, токсичной для большинства остальных микроорганизмов ротовой полости. Способность к адаптации в кислой среде - основа патогенного потенциала *S. mutans*.

S. mutans способен также метаболизировать ряд других сахаров с образованием органических кислот. При высокой концентрации углевода он продуцирует преимущественно молочную кислоту, которая быстро закисляет среду вокруг клетки. Если не удалять физически эти клетки, зубная бляшка будет расти (за счет роста *S. mutans*, привлечения других бактерий, белков слюны, остатков пищи) и повышать кислотообразование. Кариес характерен для индустриализированного общества, где наиболее выражено потребление сахара. Неудивительно, что в ходе эволюции этот микроорганизм стал эффективной «сахароперерабатывающей фабрикой»: его внеклеточные функции и метаболизм направлены на утилизацию привычного в питании субстрата.

В норме эмаль омывается слюной, которая имеет физиологические уровни pH и достаточные концентрации кальция и фосфата - основных минералов эмали. Как известно, основу зубов составляет гидроксил-апатит, построенный из кальция. В процессе эволюции у позвоночных животных возникла система, поддерживающая постоянство концентрации Ca^{2+} в плазме. Эта система состоит из двух петель отрицательной обратной связи - внутренней и внешней. Внутренняя петля включает паращитовидные железы и кости и регулирует поступление Ca^{2+} из костной ткани в плазму. Малейшее снижение концентрации Ca^{2+} в плазме стимулирует секрецию паратиреоидного гормона. Под влиянием этого гормона активируются клетки остеокласты и усиливается резорбция костной ткани. Внешняя петля включает паращитовидные железы, почки и кишечник. Паратиреоидный гормон стимулирует реабсорбцию Ca^{2+} в дистальных извитых канальцах почек. В результате снижаются потери Ca^{2+} с мочой. Другой важный эффект паратиреоидного гормона - стимуляция синтеза комплексов витамина D₃ в проксимальных извитых канальцах, который, в свою очередь, усиливает всасывание Ca^{2+} в кишечнике и, по-видимому, также усиливает резорбцию костной ткани и подавляет секрецию самого паратиреоидного гормона. Повреждения одного или нескольких звеньев этой системы либо внешние воздействия (дефицит или избыток кальция в пище, дефицит витамина D) приводят к нарушениям обмена кальция - гипоили гиперкальциемии (рис. 18-6).

Достаточно высокое содержание сахара в пище приводит к образованию и секреции стрептококками полости рта преимущественно молочной кислоты.

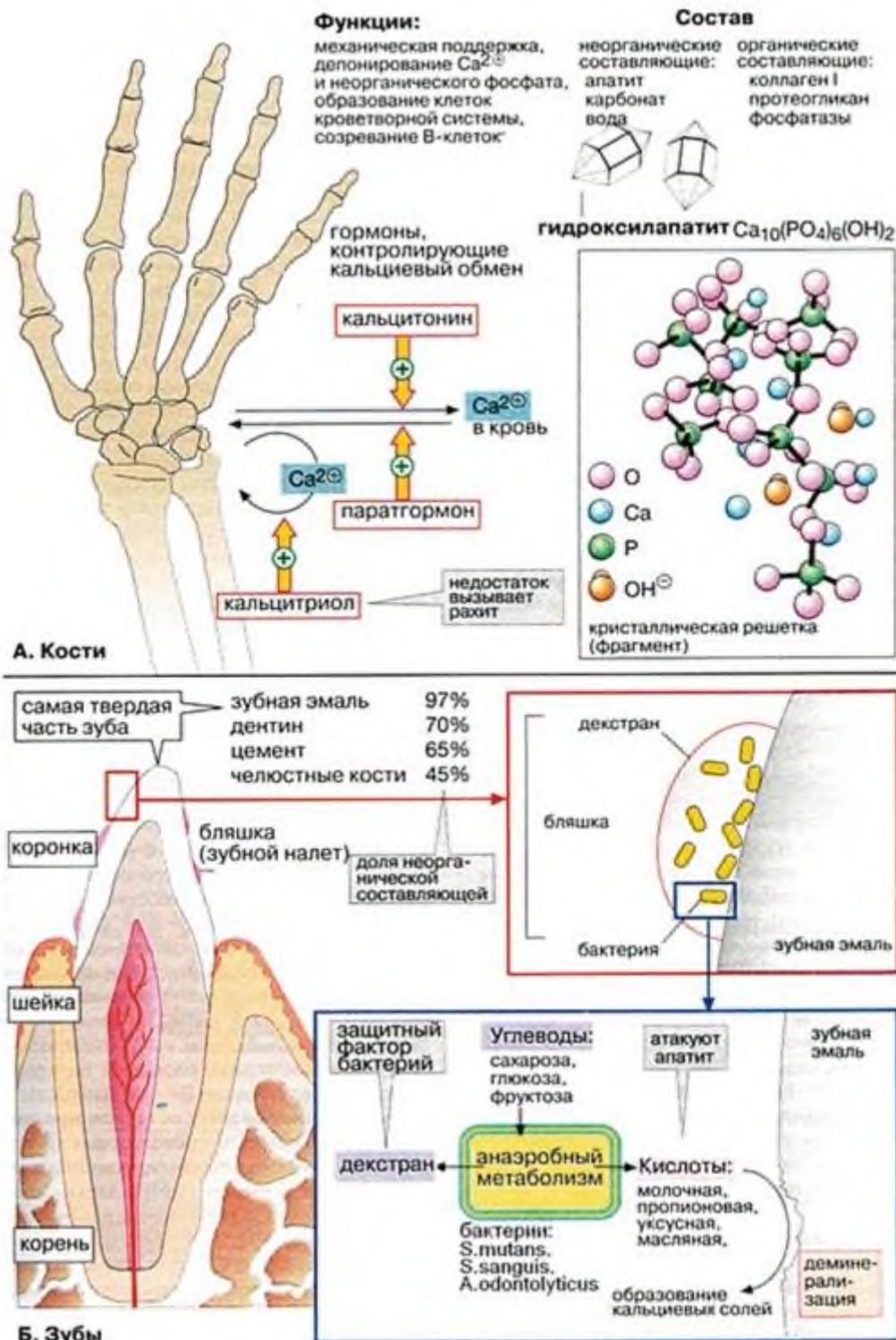


Рис. 18-6. Регуляция обмена кальция в организме и патогенетические механизмы развития кариеса зубов

Ее константа ионизации ($\text{pK}_a = 3,5$) ниже, чем у эмали. При достижении критической точки pH в зубной бляшке ($\sim 5,5$) нарушается баланс между процессами реминерализации/деминерализации эмали и начинается кариес. Длительные периоды закисления способствуют растворению минералов зуба и его постоянному разрушению.

Основным субстратом для приложения действия ферментов кариесогенной микрофлоры в процессе развития человеческой популяции стала сахароза - столовый сахар, издавна используемый человеком. В ранних исследованиях на экспериментальных животных и добровольцах однозначно показано, что для необратимой колонизации полости

рта требуется присутствие не отдельных моносахаров (фруктозы или глюкозы), а именно сахарозы.

Возрастание утилизации сахаров после приема пищи, происходящее под действием кариесогенной микрофлоры, получило название метаболического взрыва. Именно это явление, сопряженное с двумя важнейшими бактериальными процессами - усилением синтеза органических кислот, с одной стороны, и резкой активацией поглощения фосфатов за счет субстратного фосфорилирования, с другой стороны, - является основным фактором дестабилизации гидроксиапатита эмали.

Распространенность кариеса тем больше, чем выше индустриализация общества, так как с увеличением благосостояния человека растет и потребление сахаросодержащих продуктов. Применение в развитых странах систем фторирования воды и введение фторидов в фасованные продукты и напитки позволили заметно снизить заболеваемость кариесом. Тем не менее снижение риска кариеса зависит от образа жизни и доступности стоматологической помощи. В США, например, где централизованно фторированная вода, равно как и медицинские услуги, доступна не всем, остается довольно высокая заболеваемость кариесом. Из доклада медицинского ведомства США «*Oral Health Care in America*», где суммированы результаты последних исследований по распространению кариеса в различных возрастных, расово-этнических и экономических группах, следует, что кариес чаще встречается у лиц, пренебрегающих гигиеной полости рта, и в группах с ограниченным доступом к медицинским услугам. Эти выводы, по-видимому, относятся и к другим индустриально развитым странам, в том числе к России. Следует также учитывать, что почти у половины лиц старше 70 лет имеется кариозное поражение корней, и по мере увеличения продолжительности жизни этот показатель, вероятно, возрастет.

18.2. КАРИЕСЛИМИТИРУЮЩАЯ МИКРОФЛОРА

Из наддесневых бляшек часто выделяют виды резидентных микроорганизмов полости рта - представителей родов *Veillonella*, *Neisseria* и *Corynebacterium*. Некоторые из них, особенно вейллонеллы, по-видимому, обладают выраженным антикариозным потенциалом. Дело в том, что вейллонеллы (*V. parvula*, *V. alcalescence*) обладают способностью утилизировать кислые продукты метаболизма других микроорганизмов - проще говоря, они ими питаются. Вейллонеллы выдерживают высокие концентрации кислот и, используя их для своего метаболизма, защелачивают среду биопленки, покрывающей зуб, и таким образом тормозят процессы деминерализации эмали (рис. 18-7, 18-8).

Учитывая, что на долю вейллонелл у здорового взрослого человека после 30 лет в среднем приходится 25% массы биопленки, становится понятной роль этого микроорганизма как важнейшего фактора кариесорезистентности. Следует отметить, что у детей популяция вейллонелл возрастает в меньшем темпе, чем популяция микроаэрофильных стрептококков, и эта диспропорция сохраняется до 25-30 лет.

Другие представители так называемой стабилизирующей микрофлоры, по-видимому, также играют антагонистическую роль как конкуренты за размещение в процессе колонизации на эмали зуба - сайтспецифическая конкуренция.

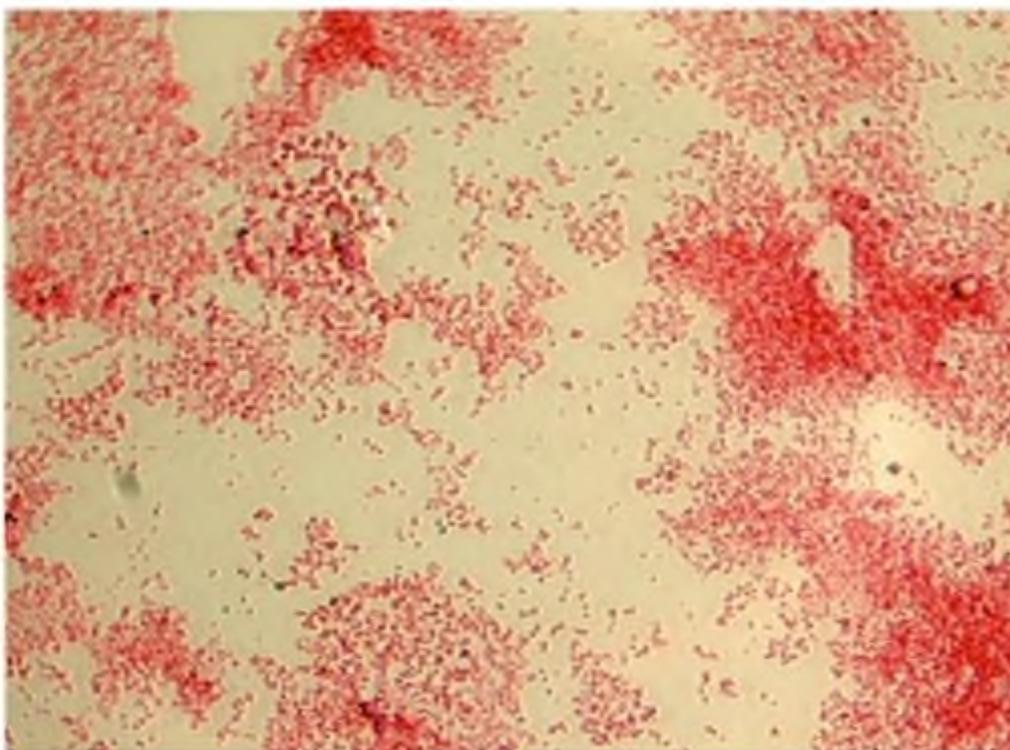


Рис. 18-7. Мазок из чистой культуры *Veillonella parvula*. Окрашивание по Граму. Объектив x90, иммерсия

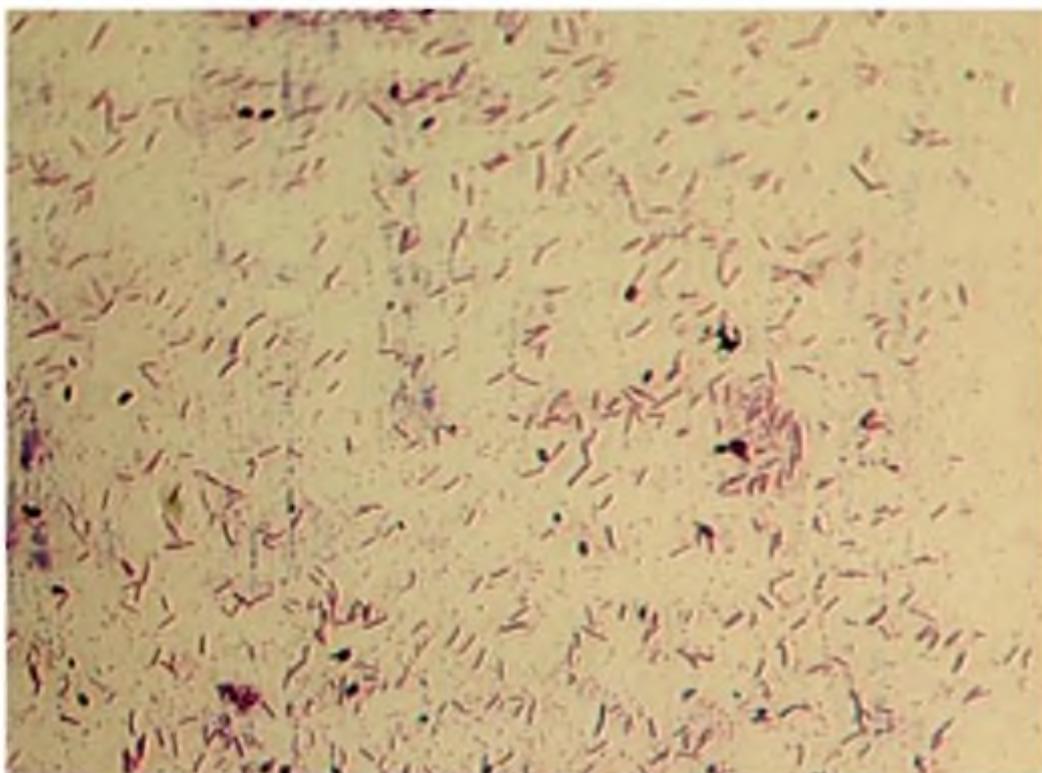


Рис. 18-8. Мазок из чистой культуры *Corynebacterium* spp. Окрашивание по Граму. Объектив x90, иммерсия

18.3. ЛОКАЛИЗАЦИЯ КАРИОЗНОГО ПРОЦЕССА ЗУБОВ

Кариес видимой части зубов называют супрагингивальным (наддесневым), или коронковым. Корневой кариес, описанный в следующем подразделе, поражает поверхность зуба, которая в норме покрыта десной.

Видимая белая часть зуба - эмаль. Она покрывает дентин, пульпу и цемент, является одной из самых прочных биологических тканей (если не самой прочной). Эта минерализованная ткань содержит два основных белка - амелогенин и энамелин, а также связанные с белками минералы - кальций, фосфат, карбонат и (в небольших количествах) другие неорганические вещества. Призмы твердой эмали - результат секреции многочисленных клеток, называемых амелобластами.

Энамелин фосфорилирован, насыщен остатками аспарагиновой и глутаминовой кислот. Амелогенин, напротив, богат пролином, гистидином, глутаматом и лейцином. При формировании эмали амелогенин преимущественно утрачивается, а энамелин остается, приобретая кристаллическую структуру. Сначала выделяется секрет с относительно высоким содержанием воды и белка. Белок со временем замещается кальцием, фосфатом и карбонатом.

Долгое время минеральный состав эмали привлекал внимание не только в плане изучения роли микроэлементов для структуры и функции эмали, но и для оценки влияния факторов среды на развитие человека. В этой связи уместным будет привести два примера. Во-первых, это связь высоких концентраций свинца в организме женщин с дефектами развития у их детей. Свинец может также способствовать формированию более мягкой эмали и, соответственно, повышению риска кариеса. Во-вторых, это влияние фтора. С его присутствием эмаль становится более прочной кристаллической структурой. Польза фторирования воды отчасти обусловлена тем, что присутствие фтора в слюне способствует реминерализации и, следовательно, укреплению эмали.

Расположенный под эмалью дентин - тоже высокоминерализованная ткань, но больше сходная с костной тканью (возможно, ввиду их общего мезодермального происхождения). Дентин образуется из секрета одонтобластов; он содержит около 20% белка, представленного в основном коллагеном типа I, а также фосфопротеинами и протеогликанами. Цемент, подобно дентину, имеет мезодермальное происхождение и близок к нему по химическому составу, служит для соединения зубов с костными лунками. Внутренняя часть зуба - пульпа при далеко зашедшем кариесе также может поражаться.

Кариес корня сопровождается кариозным поражением поверхности корней зубов. С возрастом частота развития кариеса корня существенно повышается, достигая 60%. При этом наряду с начальным нередко отмечается также и рецидивирующий кариес. С возрастом и в результате заболевания десны отступают и корни обнажаются. Есть данные, что почти у одной трети лиц в возрасте 60 лет имеются проявления корневого кариеса.

Эта проблема в будущем, по-видимому, будет усугубляться, так как продолжительность жизни людей в развитых странах увеличивается, и у них больше остается естественных зубов, чем раньше. Это обусловлено тем, что с потерей защитного покрова - десны и периодонтальной связки - корни становятся чувствительными к бактериальной инфекции и на них образуются зубные бляшки. Подобно бляшкам при коронковом кариесе, они представляют угрозу концентрирования кислых метаболитов. По сравнению с коронковой эмалью поверхность корней мягче и легче деминерализуется в кислой среде.

Постепенное разрушение цемента приводит также к деминерализации дентина и в конечном счете к поражению пульпы с утратой ее коллагенового матрикса. По мере развития корневого кариеса меняется цвет очага поражения, происходит размягчение его

структур, и в конечном счете с поражением пульпы ослабевает вся структура и зуб может сломаться.

С точки зрения бактериологии кариес корня очень схож с коронковым. Многочисленные исследования показали, что в очаге доминируют бактерии-кислотообразователи. Бактериальная причина корневого кариеса была установлена не сразу. В ранних исследованиях выявлено небольшое количество стрептококков (или даже их отсутствие) и явное преобладание актиномицетов. Позднее получены данные об избытии стрептококков, причем у одних и тех же лиц количества *S. mutans* и *S. sobrinus* в очаге были выше, чем на здоровых зубах, а концентрации актиномицетов, напротив, не различались.

Таким образом, складывается представление о том, что кариес корня вызывают кислотообразующие бактерии - стрептококки группы *Mutans* и лактобактерии. Это не исключает участия в процессе других бактерий. Ввиду распространения кариозного процесса на пульпу и потери коллагенового матрикса можно предположить участие на стадии глубокого кариеса протеолитических бактерий - пептострептококков, бактероидов и фузобактерий.

18.4. КЛИНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КАРИЕСА ЗУБОВ. ЭНДОДОНТИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ

Кариес зубов давно признан инфекционным заболеванием, для возникновения которого необходимы восприимчивый организм, кариесогенная микрофлора и питание с высоким содержанием рафинированных углеводов, служащих питательной средой для бактерий. Соответственно, при лечении первую проблему представляет контроль над микрофлорой, а вторую - устранение полости и реставрация коронки в ее изначальной форме.

До недавнего времени именно последнему обстоятельству уделялось наибольшее внимание, и стоматолог упрямо продолжал бороться с заболеванием, убирая значительную часть зубных тканей, о чем свидетельствует широко используемый метод профилактического расширения (по *Black*). Дизайн полости классифицирован, стандартизирован, и здоровая естественная зубная ткань приносится в жертву геометрическому совершенству в целях предупреждения возможных осложнений после использования реставрационного материала.

Метод биологической целесообразности (по Лукомскому) и его модификация по С.И. Вайсу, предусматривающие щадящее отношение к непораженным тканям зуба, не имели широкого распространения в практике из-за того, что в прошлом не было эффективных фторсодержащих препаратов и долговечных пломб (вследствие высокой частоты развития рецидивного кариеса).

В настоящее время, когда созданы многочисленные композитные и гибридные материалы, стеклоиономерные цементы и в схемы лечения введены мощные антисептики, картина кардинально меняется. Однако стоматологи по-прежнему недооценивают роль микрофлоры и сложные связи, возникающие при взаимодействии ее с организмом человека.

Зубная бляшка формируется также и на поверхности пломб, причем состав ее несколько отличается и зависит от характера и качества пломбирочного материала. Как показано в исследованиях, проведенных на кафедре микробиологии ММСИ им. Н.А. Семашко (ныне МГМСУ им. А.И. Евдокимова), наиболее богато представлена микрофлора на фосфат-цементях. Средний уровень колонизации характерен для амальгам и макрофильных композитных пломбирочных материалов. И наконец, на микрофильных композитных и некоторых гибридных материалах зубная бляшка формируется плохо

благодаря низкому аффинитету бактерий. Обычно в составе бляшки на микрофильных композитных пломбах определяются лишь микроаэрофильные стрептококки и актиномицеты в небольшом количестве.

18.5. МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ КАРИЕСА ЗУБОВ

Роль молекулярной биологии в изучении механизмов патогенности *S. mutans* трудно переоценить. Для изучения кариеса применялись многие современные методы анализа нуклеиновых кислот, в перспективе - привлечение разрабатываемых методов геномики и протеомики. Среди взаимополезных исследований современной биологии и микробиологии полости рта это не только ставшие стандартными методы клонирования ДНК, но и направленный мутагенез хромосомы *S. mutans*, получение предполагаемых белков вирулентности для биохимического анализа, изучение экспрессии генов вирулентности (а в перспективе - генопродуктов, улучшающих экспрессию генов в организме гетерологичного хозяина), применение бактериальных штаммов с молекулами-репортерами для тонкого изучения экспрессии тех или иных генов в определенных условиях.

Рассматривая молекулярные подходы к изучению патогенеза инфекции, вызываемой *S. mutans*, необходимо учитывать, что основные представления о нем сформировались еще в середине 1970-х гг. Широкое распространение у людей стрептококковой инфекции, обусловленной *S. mutans*, определило главное направление исследований по созданию вакцины против кариеса. Известно, что фторирование питьевой воды позволяет значительно снизить заболеваемость кариесом, но такая вода доступна не всем даже в развитых странах. В этой связи продолжается тщательный поиск подходящих антигенов для создания вакцины, что требует изучения антигенной структуры кариесогенных микроорганизмов.

В конце 1960-х - начале 1970-х гг. *Bratthall et al.* показали, что на самом деле *S. mutans* -совокупность серологически неоднородных микроорганизмов. Они описали 5 серогрупп *S. mutans* (*a, b, c, d, e*); позже добавились серогруппы *f* и *g*. С заболеваниями человека чаще связаны стрептококки серогруппы *c*. Новые методы, включая изучение кинетики восстановления ДНК (основанной на содержании Г+Ц-пар), позволили *Coykendall et al.* выделить 4 подгруппы *S. mutans*, позднее получившие видовые названия: *S. mutans* (серогруппы *c, e* и *f*, генотип I); *S. rattii* (иногда называемые *S. rattus*; серогруппа *b*, генотип II); *S. sobrinus* (серогруппы *d* и *g*, генотип III) и *S. cricetus* (серогруппа *a*, генотип IV). Было известно, что бактерии образуют органические кислоты, вызывающие растворение зубной эмали. Химическими воздействиями удавалось получить мутантные штаммы с дефектами связывания (их выявляли разными способами, в том числе на кариозных моделях). Хорошо была изучена роль пищевого сахара и его участие в формировании гликана *S. mutans*.

До появления технологии клонирования ученые применяли биохимические подходы для расшифровки механизмов колонизации стрептококков с участием белков (внутри-, внеклеточных или связанных с мембраной клетки). На этом фоне появилась возможность изучать роль отдельных генов. Эти коренные изменения привели к соединению возможностей генетики, физиологии и биохимии в изучении способности микроорганизма вызывать заболевание.

ГЛАВА 19. БИОПЛЕНКА ЗУБНОЙ ПОВЕРХНОСТИ И ПАТОГЕНЕЗ КАРИЕСА ЗУБОВ

19.1. ОСОБЕННОСТИ БИОПЛЕНКИ ЗУБНОЙ ПОВЕРХНОСТИ

Зубная бляшка - вариант многослойной биопленки, покрывающей супра- и субгингивальную части зуба (последняя играет большую роль в развитии заболеваний пародонта). Биопленка формируется как на эмали, так и на цементе зуба, проникая в естественные углубления - фиссуры и патологические образования - кариозные полости.

Многочисленные исследования показали, что в зубной бляшке биопленки имеют высокоупорядоченную структуру, а микроорганизмы тесно взаимодействуют, распределяя при этом свои функции.

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 микрофлоры от доминирования аэробных и факультативно-анаэробных форм, преимущественно грамположительных кокков, к облигатно-анаэробным грамотрицательным палочкам и извитым формам.

- Первая фаза - формирование зубной бляшки - первые 1-4 ч после тщательной чистки зубов (или обработки ультразвуком на аппарате «Пьезон-Мастер»). Она преимущественно состоит из кокков (стрептококков, нейссерий, вейллонелл) и коротких палочек (дифтероидов). Это так называемая ранняя зубная бляшка.

- Вторая фаза - динамичная бляшка - до 4-5 сут. Характеризуется уменьшением доли грамположительных кокков и нарастанием доли грамвариабельных нитевидных форм - лептотрихий, а также грамотрицательных вейллонелл и фузобактерий. 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. Такая зубная бляшка называется равновесной, так как соотношение микроорганизмов поддерживается даже при отсутствии систематической чистки зубов.

- Третья фаза - зрелая зубная бляшка - от 6-7 сут и более. Зубная бляшка принимает окончательный по составу симбионтов вид, хотя количественные сдвиги в ней происходят постоянно. Это зрелая зубная бляшка. В ней резко снижается количество аэробных видов: нейссерий, ротий, факультативно-анаэробных стрептококков. Преобладают нитевидные бактерии и палочки, формирующие цепочки. Подобная бляшка может длительное время оставаться равновесной, и ее следует называть зрелой стабильной зубной бляшкой.

Однако в большинстве случаев при неправильной и нерегулярной чистке зубов в составе бляшки преобладают отрицательные тенденции с точки зрения гигиенического состояния полости рта. Резко увеличивается количество грамотрицательных облигатно-анаэробных бактерий: бактероидов, фузобактерий, извитые формы, а из грамположительных нарастает количество актиномицетов, микроаэрофильных стрептококков и пептострептококков и энтерококков. В избытке могут появляться кластридии и вирулентные представители бактероидов, превотелл, порфиромонад и актинобацилл. Такую бляшку следует называть зрелой нестабильной, или прогрессирующей. Она характеризует отрицательное гигиеническое состояние полости рта и может индуцировать развитие гингивита и пародонтита у лиц, которые нерегулярно или неправильно чистят зубы.

Предполагают, что специфические связи между представителями разных бактериальных видов могут быть обусловлены (по крайней мере, частично) выработкой

однотипного адгезина, который помогает группам разных микроорганизмов колонизировать одну и ту же ткань или с высоким аффинитетом прилипнуть друг к другу. Важно отметить, что тесные межбактериальные связи могут обеспечивать преимущества в питании или другую взаимную для клеток выгоду.

Например, кооперативный рост за счет адгезивных взаимодействий наблюдается у *S. mutans*, продуцирующих в больших количествах молочную кислоту, и другого важного представителя микробиоты полости рта - *Veillonella parvula*, который потребляет молочную кислоту. Подобным образом выработка бактериями вида *P. gingivalis* некоторых жирных кислот может стимулировать рост спирохеты *T. denticola*.

На состав и биологические свойства биопленок зубов и мягких тканей полости рта может влиять бактериальный антагонизм. По-видимому, в наиболее простой форме это проявляется, когда конечные продукты метаболизма одного вида подавляют рост других микроорганизмов в зубной бляшке. Это можно наблюдать в процессе развития кариеса. Потребление пищи, богатой сахарами, приводит к выработке бактериями органических кислот (молочной, уксусной), понижающих рН в биопленках полости рта до 4,0 и менее. Закисление бляшки кариесогенными бактериями - *S. mutans* и лактобактериями - приводит к подавлению роста микроорганизмов, чувствительных к действию кислот. Со временем такие микроорганизмы проигрывают конкуренцию, что приводит к преобладанию в кариесогенных биопленках *S. mutans*, лактобактерий и других толерантных к кислотам микроорганизмов.

Другой пример антагонизма, способного влиять на микроэкологию зубной бляшки, - выработка некоторыми стрептококками перекиси водорода (H_2O_2). Это соединение токсично для многих бактерий, не имеющих (по крайней мере, в достаточном количестве) ферментов, необходимых для обезвреживания кислородных радикалов. Перекись водорода легко диффундирует и может вызывать гибель (или подавление роста) таких бактерий, что дает преимущество H_2O_2 -продуцирующим бактериям. Существуют и более изощренные формы антагонизма, как, например, выработка бактериями зубной бляшки особых молекул - бактериоцинов. Хорошо известны бактериоцины, продуцируемые *S. mutans*, - мутацины. Они представляют собой пептидные антибиотикоподобные вещества, специфически подавляющие рост близкородственных микроорганизмов. С помощью бактериоцинов *S. mutans* могут подавлять рост других стрептококков, конкурирующих с ними за питательные вещества.

Профилактические мероприятия, включающие чистку зубов, полоскание ротовой полости, использование зубных щеток, зубочисток, зубных нитей и ирригаторов, направлены на устранение избытка зрелого зубного налета и поддержания равновесной зубной бляшки на третьей фазе.

19.2. АДГЕЗИЯ И КОЛОНИЗАЦИЯ *S. MUTANS*

Применение технологии рекомбинантной ДНК для изучения кариеса проводилось в русле многочисленных исследований ферментов *S. mutans*, участвующих в образовании внеклеточных углеводных полимеров. В изучении этого процесса любой современный подход приносит пользу, поэтому далее следует остановиться на методах, раскрывающих важную роль в данном процессе глюкозил- и фруктозилтрансфераз. Новые методы применяли и в изучении других аспектов патогенеза стрептококковой инфекции, но первоначально эти исследования касались генов, кодирующих синтез внеклеточных белков, участвующих в образовании углеводного полимера.

Установлено, что *S. mutans* образует ряд ферментов - Gtf и Ftf, образующие из сахарозы гликановые и фруктановые цепи, и другие гено-продукты, предположительно деградирующие их. Однако долгое время было непонятно, каким образом условия внешней

среды регулируют экспрессию генов *gtf* и *ftf* или их продуктов, сколько генов участвует в этом процессе и какова роль белков в патогенезе. В поисках ответа на эти вопросы у многих видов стрептококков полости рта клонировали гены *gtf*. Усилиями многих исследователей открыты 3 хромосомных гена *S. mutans*, кодирующие синтез глюкозилтрансфераз.

Клонирование генов, в свою очередь, позволило наработать большое количество высокоочищенного фермента. К середине 1980-х гг. стало ясно, что каждый из этих генов кодирует белок с уникальными ферментативными свойствами, что определяет тип образуемого гликана. Анализ нуклеотидных последовательностей генов также подтвердил наличие у них общих доменов, что согласуется с данными о консервативных доменах у аминоконцевого участка глюкозилтрансфераз и наличием у них аминокислотных повторов на карбоксилконцевых участках. Затем ученые попытались выяснить роль каждого домена глюкозилтрансфераз в образовании гликана. Для этого из генов вырезали *gtf*-фрагменты и получали ступенчато укороченные белки, у которых изучали способность к синтезу гликанов и связыванию с ними. Показано, что глюкозилтрансферазы содержат два особых домена: аминоконцевой отвечает за синтез гликана, а карбоксилконцевой - за связывание с ним. Остаток аспарагиновой кислоты у первого из них характерен для белков, участвующих либо в синтезе, либо в деградации различных полимеров глюкозы (включая целлюлозу, хитин и гликан, присутствующий в зубной бляшке). Карбоксилконцевой домен состоит из серии повторяющихся аминокислотных последовательностей, образующих спираль, предназначенную для связывания с гликаном. В последующих исследованиях было показано, что разные стрептококки полости рта образуют отдельные домены гликансвязывающих белков, имеющие сходство с доменами глюкозил-трансфераз, но у них отсутствуют ферментативно-активные домены.

Доступность генов *gtf* позволила провести соответствующие эксперименты по изучению вирулентности. У многих других бактерий идентифицированы и охарактеризованы области ДНК, кодирующие антибиотикорезистентность. Фрагменты ДНК с генами резистентности (так называемые кассеты резистентности) оказались полезным инструментом для получения мутантов *S. mutans*. При изучении биологии *gtf* использовали рестриктазы - с их помощью изучаемые гены и кассеты резистентности разрезали в специфических сайтах, с тем чтобы затем последовательность гена прервать геном антибиотикорезистентности.

Подобные генные конструкции затем вводили в хромосому *S. mutans* посредством генетической трансформации. Так, в ходе изучения вирулентности последовательность ДНК, кодирующую предположительно белки вирулентности, можно нарушить вставкой кассеты антибиоти-корезистентности и вернуть в хромосому исходного штамма. Это позволяет отобрать штаммы *S. mutans* с дефектами каждой из трех глюкозилтрансфераз и быть уверенным (в отличие от других методов) в отсутствии других изменений генотипа изучаемого штамма. Штаммы с дефектами выработки одного фермента и более испытывали на моделях экспериментального кариеса у крыс. Подобные эксперименты в ряде лабораторий были проведены со штаммами *S. mutans*, мутантными по многим генам *gtf* и *ftf*. Их результаты убедительно показали важнейшее значение глюкозилтрансфераз этого микроорганизма для возникновения кариеса (особенно гладких поверхностей).

Благодаря молекулярным исследованиям прояснился патогенез кариеса у человека: *S. mutans* образуют глюкозилтрансферазы, которые при поступлении с пищей сахаров образуют из них водонерастворимые гликаны, обеспечивающие необратимую связь микроорганизмов с поверхностью зубов. При отсутствии Gtf и Ftf способность *S. mutans* вызывать заболевание резко снижается или исчезает.

Молекулярные методы, несомненно, сыграли важную роль в установлении патогенетического значения внеклеточных ферментов *S. mutans*, образующих полимеры. Изучение вновь выявленных белков вирулентности - Gtf - было продолжено, причем как минимум в двух направлениях применяли также ДНК-технологии. Значение Gtf для колонизации полости рта можно было подтвердить, блокируя их ферментативную активность химическими или иммунологическими средствами (это могло бы предупредить кариес или уменьшить его проявления).

В качестве кандидатов вакцины против кариеса с этой целью испытано множество производных Gtf и генно-инженерных Gtf, содержащих дополнительные белковые сегменты (например, субъединицу В холерного токсина). В ходе исследования встал вопрос о том, когда включаются гены *gtf*. Отвечая на него, исследователи вводили рядом с генами *gtf* репортерные гены и конструировали таким образом химерные белки - продукт совместной экспрессии двух генов.

Сначала в качестве репортерных использовали гены антибиотикорезистентности (в частности, ген ацетилтрансферазы хлорамфеникола). Это позволяло измерять активность генетической конструкции (например, по ферментативной активности ацетилтрансферазы). Так было установлено, что продукция глюкозилтрансферазы максимальна при росте в кислой среде - условиях, вызывающих также растворение зубной эмали и инициацию кариозного процесса.

Позже в химерных белках в качестве репортера стали использовать GFP (зеленый флуоресцирующий белок). Как видно из названия, его преимущество - способность к флуоресценции, а значит, и возможность по свечению (без биохимических методов) определять условия, при которых экспрессируется соответствующий ген. Подобный подход оказался полезным при изучении биопленок - их стало возможно изучать без разрушения, получая картину в флуоресцентном микроскопе и фиксируя ее на цифровую камеру.

Изучение глюкозилтрансфераз и их роли при кариесе стало прототипом многих исследований в области микробиологии полости рта. Однако применение молекулярно-биологических исследований не ограничилось тремя генами. Подобную технологию рекомбинантной ДНК применяли часто: при изучении продукции запасных внутриклеточных полисахаридов, захвата фосфоенолпируватзависимой транспортной системой различных сахаров, а также поверхностного белка AgI/II. В последнее время было обращено внимание и на многие другие гены, связанные с образованием биопленки. Можно ожидать, что с расшифровкой все большего количества геномов бактерий полости рта указанные методы будут использоваться чаще.

19.3. СТРЕССОВЫЕ ОТВЕТЫ МИКРООРГАНИЗМОВ В БИОПЛЕНКЕ И ИХ РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ КАРИЕСА

После колонизации поверхности зубов *S. mutans* должны размножиться и выживать в условиях различных стрессовых воздействий: неравномерного поступления углеводов, присутствия кислорода и его метаболитов, накопления органических кислот в результате расщепления углеводов. Поняв природу ответа бактерий на стресс, можно рассчитывать на выявление новых точек терапевтического воздействия и разработать, например, новые антибиотики, эффективные в отношении *S. mutans*. Увидеть стрессовый ответ бактерий непросто. Для его изучения требуются молекулярные подходы - идентификация генов, создание мутантных штаммов, дефектных по определенному стрессовому генопродукту, слияние генов с репортерами, указывающими на активность изучаемого гена в определенных условиях роста бактерий.

Исследования касались нескольких вариантов стрессовых ответов: выработки белков общего бактериального стресса, более специфичных ответов - на кислотный и кислородный

стрессы, а также на стресс в связи с ростом внутри биопленки. У *S. mutans* идентифицировано больше 100 белков с изменением экспрессии при росте в кислой среде (рН-5,0). Из них более 61 участвуют в стрессовых ответах - это АТФаза протонного насоса, молекулярные проводники (шапероны) *GroEL*, *DnaK*, триггерный фактор, а также не менее одного представителя семейства протеаз *Clp*, который обеспечивает реорганизацию поврежденных белков.

Помимо указанных белков, стрептококки, стремясь противостоять кислой среде, повышают внутриклеточный уровень рН за счет выработки аммиака. Некоторые виды стрептококков полости рта обладают уреазой, которая при расщеплении мочевины слюны высвобождает аммиак и углекислоту. Недавно полученные данные показывают, что существенное значение может иметь и высвобождение аммиака из белков слюны и аминокислот. Обычно стрептококки полости рта образуют аммиак с участием аргининдезаминазы, а недавно установлено, что аммиак могут продуцировать и *S. mutans* (не имеющие этого фермента) из декарбоксилированного метаболита аргинина с участием аргининдезаминазы.

Роль в патогенезе многих стрессовых белков до конца не выяснена. Тем не менее изменение экспрессии более чем 100 белков при росте в кислой среде указывает на их отношение к «кислотному» образу жизни *S. mutans* и позволяет надеяться на обнаружение уникальных для этого микроорганизма белков. Уже показано, что экспрессия уреазы *S. salivarius* в клетках *S. mutans* (в норме не имеющих уреазы) приводит к повышению минимума рН для роста. Этот факт указывает на то, что для борьбы с чрезмерным закислением среды в клетках *S. mutans* может экспрессироваться не только уреазы *S. salivarius*. Изучение стрессовых ответов *S. mutans*, таким образом, сопряжено с получением новой полезной информации.

19.4. ГЕНОМИКА БАКТЕРИЙ ПОЛОСТИ РТА И ДОСТИЖЕНИЯ В ИЗУЧЕНИИ КАРИЕСА ЗУБОВ

Определение полногеномных последовательностей бактерий коренным образом повлияло на оценку роли тех или иных генов в патогенезе заболевания, вызываемого *S. mutans*. С помощью ПЦР, амплифицируя высокоспецифичные области хромосомы, теперь можно быстро выделить любой ген до определения его функции. Сравнение нуклеотидных последовательностей *S. mutans* с последовательностями геномов других бактерий (они представлены во всемирно доступных базах данных) показывает, что примерно 1/3 генома этих стрептококков кодирует белки с неизвестной функцией. Ясно, что ближайшая задача - определить их роль в развитии заболевания, вызываемого *S. mutans*, и разработать методы оценки роли этих белков. Указанные выше подходы в ближайшее время, по-видимому, будут доминировать.

Установлено, что у большинства бактерий в стрессовом ответе задействовано множество генов, и только немногие из них принадлежат категории генов, кодирующих белки с неизвестными функциями. Хотя сегодня это кажется нереальным, но следующее поколение геномных чипов скорее всего будут покрывать белковыми частицами, образованными изучаемым микроорганизмом, что позволит определять, какие белки взаимодействуют друг с другом. Полагают, что таким образом можно решить одну из насущных задач генных чипов: с помощью современных микрочипов невозможно определить белки вирулентности, непосредственно реагирующие на внешние сигналы (без регуляции на генном уровне). Хотя многие из таких белков еще не известны, эту важную задачу, вероятно, можно решить с помощью белковых микрочипов.

Большое внимание в настоящее время уделяется технологии ДНК-микрочипов для идентификации генов, реагирующих на те или иные внешние сигналы. На тщательно

отполированные и химически чистые предметные стекла или другую твердую подложку раскапывают генные фрагменты или олигонуклеотиды, представляющие весь геном бактерии (создают так называемый генный чип). Из культуры, выращенной при определенных условиях, извлекают РНК, которую обрабатывают ферментом обратной транскриптазой для получения ДНК-копии. Последнюю можно пометить флуоресцентным красителем и использовать для гибридизации с микрочипом. Количество флуоресцентной краски на каждом генном пятне указывает на уровень транскрипции данного гена в данных условиях. Так, можно быстро выявить гены, необходимые для выживания клетки, например, в присутствии кислоты или антибактериального средства. Можно надеяться, что этим путем удастся выявить новые видоспецифические гены патогенности или резистентности и в конечном счете - терапевтические средства против соответствующих генопродуктов. Подобные технологии уже широко используются при изучении бактерий, их стали применять и для изучения экспрессии.

Расшифровка генома *S. mutans* и других микроорганизмов полости рта обещает ускорить оценку взаимодействия бактерий друг с другом и со многими другими организмами. Раньше просто оценивали выживание вида в смешанных популяциях при воздействии различных уровней рН, давления кислорода или концентраций углеводов. Теперь можно применять гены-репортеры, отражающие изменения роста в присутствии других бактерий или клеток хозяина. Полученные результаты свидетельствуют о лидирующей роли микробиологии полости рта в изучении образа жизни бактериальных сообществ, подобных тем, которые населяют зубную бляшку.

ГЛАВА 20. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ РАЗВИТИЯ КАРИЕСА ЗУБОВ

20.1. МОДЕЛИ КАРИЕСА НА ГРЫЗУНАХ

При изучении кариеса на животных подтверждается этиологическая роль *S. mutans* и показано, что бактерия передается от одного хозяина к другому. Фундаментальные исследования *Orland*, а также *Fitzgerald* и *Keyes*, проведенные с использованием крыс и сирийских хомячков, на десятилетия определили подходы к изучению патогенеза заболевания, вызываемого *S. mutans* у человека. В этих работах исследователи не только изучали этиологию и распространение кариеса, но и предложили стандартизацию методов, оценок и понятийного аппарата при экспериментальном изучении кариеса. Подобные модели позволяют также применять молекулярные методы оценки участия тех или иных генов в патогенезе кариеса. Примечательно, что в оценках эффективности средств на животных и у человека (в тех же условиях) до сегодняшнего дня не зафиксировано ни одного расхождения. Экспериментальные модели позволяют не только отобрать перспективные средства, но и предсказать степень их профилактической эффективности.

Экспериментальное моделирование кариеса у животных начали с 1920-х гг., однако стандартизировали эти исследования не так давно. Для воспроизведения кариеса пытались использовать все доступные виды грызунов и более крупных животных - собак, кошек, лошадей, свиней. В настоящее время крупных животных используют редко из-за высокой стоимости и недостаточной чувствительности к кариесу.

Для разработки вакцины во многих исследованиях применяли приматов (чаще макак ввиду их сходства с человеком по физиологии и организации зубного ряда). Однако в обычных исследованиях по кариесу их стали применять значительно реже, так как с ними сложно работать, дорого содержать и непросто получить в лаборатории.

За последние десятилетия крысиная модель стала наиболее распространенной. У нее есть ряд преимуществ. Ввиду небольшого размера животных легче содержать, но, главное, у них легко возникает кариес при кормлении пищей с преобладанием углеводов.

Для этой модели важны порядок инфицирования, диета и кормление, а также индигенная микрофлора животных. При оптимальных условиях обширные кариозные поражения у крыс можно получить менее чем за 4 нед. К тому же показано, что формирование кариеса можно существенно ускорить. Для этого у животных хирургическим путем удаляют подчелюстную и подъязычную слюнные железы, а доступ в полость рта слюны из околоушной железы ограничивают, сужая ее проток.

В настоящее время существуют 2 варианта экспериментальных моделей на крысах - гнотобиотическая и альтернативная, или обычная. Для гнотобиотической модели используют безбактериальных животных (крысят извлекают кесаревым сечением и кормят стерильной пищей). Значительно чаще используют альтернативную модель - свободных от патогенной микрофлоры животных (их отбирают для эксперимента по отсутствию характерных для человека микроорганизмов полости рта, особенно *S. mutans*, а также некоторых специфических возбудителей, например, вируса сialодакриоаденита, способного изменить функцию слюнных желез).

У белых крыс (линии *Sprague-Dawley*) первые моляры нижней и верхней челюстей обычно прорезываются примерно на 16-й день жизни, 2-е - через 1-2 сут, а к 20-21-му дню жизни (когда животных отнимают от груди) - все три моляра. Крысят обычно заражают в период отъема - на 17-21-е сутки жизни. Для этого стерильный ватный тампон погружают в бактериальную суспензию и тщательно протирают тампоном зубы животных. На сроке более 27 сут жизни воспроизвести инфекцию у крысят бывает трудно. Для этого есть, по крайней мере, две причины.

Во-первых, инфекцию может блокировать нарастающая по численности индигенная микрофлора животного. Во-вторых, с возрастом у грызунов изменяется плотность эмали, что вносит существенную коррекцию в эксперимент. Инфицирование животных для верности повторяют в течение нескольких дней подряд. Обычно для заражения используют генетически маркированные штаммы (часто антибиотикоустойчивые). Подобная метка позволяет легко определять присутствие возбудителя при посеве материала тампоном на селективные питательные среды с соответствующим антибиотиком.

Для развития кариеса необходимо поступление в полость рта углеводов. С этой целью испытывали ряд диет, но для крысиной модели кариеса обычно подходит сахарозная диета. В продаже имеются специальные готовые корма как с высоким (56% соотношения масса/объем), так и низким (5%) содержанием сахарозы. Вопрос о содержании сахара в кормах и составе самого корма изучался во многих исследованиях, но единые рекомендации пока отсутствуют. Однако большинство исследователей сходятся во мнении о важности присутствия сахара в пище для формирования кариеса в модельных системах и у человека. Для эксперимента можно приобрести коммерческие корма, содержащие подходящую смесь питательных веществ с разным содержанием углеводов.

Существенное преимущество крысиной модели - количественный учет проявлений кариеса, разработанный *Keyes* и *Fitzgerald*, а позже модифицированный *Larson*. В его основе лежит разделение поверхности зубов на зоны и нумерическая система для обозначения тяжести кариозного процесса по степени проникновения поражений из эмали в дентин.

20.2. ПЕРСПЕКТИВЫ МОДЕЛИРОВАНИЯ КАРИЕСА

Предпринималось немало попыток разработать альтернативные модели кариеса, включая искусственную ротовую полость и ношение добровольцами протезов с эмалевыми пластинками. Последнее перспективно в плане получения адекватной информации, и эта модель активно разрабатывается в некоторых центрах. С этой целью в полости рта с помощью ортодонтических скобок или другими методами крепят пластинки эмали или

другие материалы. При этом предполагается, что введенные материалы будут омываться нормальной слюной, на них будет вегетировать нормальная микрофлора индивидуума, и можно будет оценивать различные варианты обработки и др. Основные споры вокруг монтируемых устройств сводятся к тому, что такие конструкции, в сравнении с поверхностью нормальных зубов, чаще вносят дополнительные переменные в дизайн эксперимента, что, в свою очередь, сказывается на получаемых результатах. Можно лишь с уверенностью сказать, что в обозримом будущем применение внутриротовых конструкций как отдельное направление в изучении кариеса будет продолжено.

Несмотря на существование крысиной модели, в качестве альтернативы рассматривают экспериментальный кариес у мышей. Их используют нечасто ввиду малых размеров и относительно сложном расположении моляров в челюсти. Преимущество данной модели - в хорошей изученности за последние десятилетия генетических линий мышей. Секвенирование геномов человека и мышей показало синтению (сходство групп сцепления) генов слюнных белков, а также высокую степень консерватизма их структуры и функции у двух видов. Одно это позволяет предполагать, что, подобно человеку, с нарушением доступа слюны в ротовую полость у этих животных будет бурно развиваться кариозный процесс.

Манипулирование генами слюнных белков у грызунов позволило бы получить ценную информацию о роли слюны для поддержания баланса между инфекцией и механизмами защиты зубов. В рамках мышинной модели можно использовать разработанные для крыс методы и инструменты, а кроме того - генетически обособленные линии животных (у крыс генетические манипуляции в настоящее время не так доступны). В этой связи мышинная модель имеет неплохие перспективы для изучения взаимодействия бактерий полости рта с белками и тканями хозяина.

ГЛАВА 21. ИММУНОЛОГИЯ КАРИЕСА ЗУБОВ И ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ ВАКЦИНЫ

21.1. СЕКРЕТОРНЫЕ ИММУНОГЛОБУЛИНЫ - ДОМИНИРУЮЩИЕ ИММУНОГЛОБУЛИНЫ СЛЮНЫ

Ввиду того что исследования по разработке вакцин против кариеса проводятся преимущественно на крысах, следует коротко остановиться на иммунных механизмах полости рта у человека и крысы. У человека в полости рта преобладают sIgA. Подкласс антител IgA1 отличается от IgA2 гликозилированным шарнирным участком. К сожалению, они разрушаются под действием протеаз, секретлируемых многими патогенными микроорганизмами слизистых оболочек и не участвуют в агглютинации бактерий. Однако на слизистой оболочке остаются антитела IgA2 (на этот подкласс приходится около 40% всех sIgA слюны).

Секреторные IgA вырабатываются всеми слюнными железами, причем в значительной доле - губными и нёбными железами. Основную часть этих антител продуцируют крупные железы. В ранних исследованиях использовали стимуляцию их продукции введением антигена в лимфоидную ткань вблизи слюнных желез или непосредственно в слюнные протоки (ретроградные инъекции). Это позволяло добиться повышения титров IgA в слюне, что могло бы способствовать предотвращению колонизации полости рта *S. mutatis*. Однако эти способы иммунизации малопримемлемы для человека, особенно при массовой вакцинации. Для поиска механизмов стимулирования секреторного иммунитета испытано много других подходов. Дальнейшие исследования были сосредоточены на методах повышения продукции sIgA и очистки предполагаемых антигенов для стимуляции местного иммунитета.

Установлено, что для продукции антител у грызунов полезно стимулировать лимфоидную ткань, ассоциированную со слизистой оболочкой носа. Эквивалентные ткани у человека - миндалины и кольцо Вальдейера-Пирогова - анатомические образования, обеспечивающие нормальный иммунный ответ. Однако коренное отличие местного иммунитета у грызунов - присутствие у них в слюне IgG. Антитела этого класса поступают в полость рта грызунов из десневых борозд ввиду постоянного грызения пищи и материалов, что травмирует ткани возле резцов. Присутствие IgG дает им возможность эффективно очищать полость рта от микроорганизмов. Следовательно, при разработке вакцины следует интерпретировать результаты вакцинации грызунов, учитывая состав иммуноглобулинов слюны животных, а выводы об эффективности вакцины в отношении кариеса или других инфекций полости рта экстраполировать с осторожностью.

21.2. ПРОБЛЕМА ВЫБОРА ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ АНТИГЕНОВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ВАКЦИНЫ И СИСТЕМ ИХ ДОСТАВКИ

Экспериментальные иммунизации против кариеса раньше проводили целостными клетками *S. mutans*. Для повышения титров антител к *S. mutans* в слюне и сыворотке крови добровольцы должны были проглатывать шарики с убитыми стрептококками. Ввиду предшествующей инфицированности *S. mutans* большинства лиц и наличия у них сывороточных антител ставили цель зафиксировать всплески продукции антител к определенным антигенам. Обычно это были поверхностные антигены, хотя повышались титры антител и к цитоплазматическим антигенам, что согласуется с данными по другим инфекциям.

Однако установленный факт, что иммунизация может стимулировать выработку перекрестно реагирующих с тканями сердца антител, вынудил проводить тщательный отбор и очистку антигена. К счастью, примерно в то же время появились сведения о молекулярных механизмах колонизации *S. mutans*, и ученые сосредоточились на специфических белках, экспрессируемых на поверхности или секретлируемых этим микроорганизмом. В качестве кандидатов для вакцины испытывали глюкозилтрансферазы, гликансвязывающий белок и антиген семейства AgI/II (*SpaP*). Ставилась цель предотвратить колонизацию полости рта, уменьшив или устранив способность микроорганизма закрепляться на поверхности зубов.

Известно, что белок AgI/II связывает агглютинин и муцин слюны (вероятно, за счет N-концевого домена молекулы), поэтому целью вакцинации было нарушить связи этого белка со слюнными гликопротеинами. Привлекательность такого подхода была обусловлена многофункциональностью выбранной молекулы: могла блокироваться ранняя адгезия, подавляться первичная колонизация (опосредованная молекулами слюны) и, возможно, инвазия дентинных трубочек.

В течение последнего десятилетия велись работы по созданию таких форм антигена, которые могли бы длительно стимулировать иммунный ответ, присутствуя в зоне MALT (у слизистой оболочки носа или в пейеровых бляшках кишечника). Для повышения уровня sIgA с некоторым успехом применяли дисперсные материалы - сорбирование антигена на квасцах или заключение его в микросферы из поли-L-лактозы. Вначале в качестве сорбируемого антигена применяли интактные молекулы - глюкозилтрансферазу или гликансвязывающий белок *S. mutans*. Антиген с адьювантом вводили грызунам в полость носа посредством спрея или инъекции. Позже стали применять пептидные производные Gtf и AgI/II, полагая, что у пептидов более выражены способность представлять эпитопы антигена. Принимали во внимание и то, что пептиды легче комбинировать и, используя технику рекомбинантной ДНК, получать гибридные белки с биологическими адьювантами (субъединицей В холерного токсина или обезвреженным термолабильным

токсином *Escherichia coli*). В результате применения таких адъювантов (токсинов) удалось добиться более продолжительной выработки антител на антигены *S. mutans*.

Для доставки антигена пробовали также использовать живые бактерии. Были получены аттенуированные штаммы *Salmonella enterica* серовара *Typhimurium*, способные инфицировать кишечник. Разработаны генно-инженерные штаммы, обсеменяющие связанную с кишечником лимфоидную ткань и постоянно продуцирующие необходимые белки возбудителя. Введение в носовую полость или кишечник экспериментальной вакцины из рекомбинантного штамма, продуцирующего химерный белок (фрагмент AgI/II *mutans* I + фрагмент холерогена), приводило к индукции IgA в слюне. Более того, это вело к сокращению высеваемости *S. mutans*, что указывает на перспективность такого подхода. Для использования подобных штаммов в будущем необходимо добиться, чтобы продуцент вырабатывал рекомбинантный белок путем, близким к естественному, - как это происходит у возбудителя инфекции.

21.3. ПРОБЛЕМА ПЕРЕКРЕСТНО РЕАГИРУЮЩИХ АНТИТЕЛ

Любая вакцина против кариеса по определению должна быть безопасной для человека. Первыми о небезопасности подобных вакцин сообщили *van de Rijn et al.*, показавшие, что сыворотки кроликов, иммунизированных стрептококками *mutans* сероваров *a, b, c, d*, перекрестно реагируют с сердечной тканью человека. Естественно, многих заинтересовала природа этой антигенной связи.

Позже было показано, что перекрестные антитела можно адсорбировать экстрактами сердечной ткани и мембранами стрептококков группы А, но не компонентами питательной среды, на которой выращивали бактерии. После этого многие исследователи пытались идентифицировать перекрестно реагирующие антигены.

В первую очередь предположили, что перекрестные реакции обусловлены эпитопами на поверхности *S. mutans*, подобно известному белку М на поверхности стрептококков группы А. К тому же хорошо известно, что белок клеточной стенки AgI/II обладает иммуногенностью и высококонсервативен у стрептококков полости рта. Однако удалить перекрестно реагирующие антитела путем адсорбции очищенным AgI/II не удалось, а мутантные по этому белку штаммы все равно индуцировали выработку указанных антител у кроликов. Встал вопрос о других источниках антигенности *S. mutans*, приводящей к выработке антител против сердечной ткани человека.

В этой связи высказывалось несколько предположений.

Во-первых, сама иммунизация кроликов приводит к выработке в низких титрах аутоантител. Во-вторых, если выработку перекрестных антител индуцирует неизвестная молекула на поверхности *S. mutans*, это может быть результатом посттрансляционной модификации белка, которую нельзя идентифицировать при простом анализе генотипа. В-третьих, антигенный сайт мог быть результатом комбинирования двух поверхностных молекул и более.

Исследователей несколько успокаивал тот факт, что у лиц, инфицированных *S. mutans*, часто обнаруживаются антитела к этому стрептококку, но осложнения, как правило, с ними не связаны. Тем не менее провели ряд исследований для выявления источника антител к сердечной ткани. На причастность к их выработке проверяли компоненты бактериологических питательных сред (отдельно и в сочетании с *S. mutans*). В качестве молекул, способных индуцировать у кроликов выраженную продукцию антител (но не перекрестно реагирующих с сердечной тканью), описаны антигены А и ID - предположительно компоненты поверхности клеток *S. mutans*. Дальнейшей характеристики их не подвергали из-за отсутствия индукции нежелательного иммунного ответа.

Пожалуй, наибольшую ясность в этот вопрос внесли работы с *S. ratti* - стрептококком, который вызывает выработку антител к сердечной ткани, но не кодирует синтез белка AgI/II. Установлено, что мембранные компоненты *S. ratti* реагируют с антителами кроликов, иммунизированных мышечной тканью сердца. И наоборот, антитела к препаратам мембран *S. ratti* реагировали со многими антигенами сердечной ткани. В совокупности это позволяет предположить структурное сходство сердечной ткани человека и мембран стрептококков. Распространенность этого феномена у стрептококков установили, когда удалось показать, что моноклональные антитела к белку массой 62 кДа *S. ruogenes* реагируют не только с миозином - белком мышечной ткани, но и с белками подобной массы из *S. mutans* и *S. ratti*.

В настоящее время получены аргументы в пользу того, что перекрестно реагирующие с миозином и стрептококковыми мембранами антитела - побочный продукт иммунизации кроликов. На самом деле в человеческих сыворотках с антителами к стрептококковым антигенам не выявлено повышенных титров перекрестно реагирующих антител, хотя нельзя и утверждать, что их там нет. Так или иначе остается справедливым утверждение, что в материале, предназначенном для иммунизации человека, не должно содержаться компонентов, вызывающих выработку антител к тканям хозяина.

Таким образом, многими исследователями показана возможность различными путями повысить уровень sIgA в слюне. При этом обычно у животных отмечается снижение численности *S. mutans* и постепенное уменьшение кариозных проявлений. В будущем исследования должны быть направлены на снижение частоты ревакцинаций и уменьшение выраженности кариеса. Поскольку инфекция *S. mutans* не относится к угрожающим жизни, для обеспечения необходимого уровня безопасности, эффективности и показателя цена/качество вакцине против кариеса потребуется значительное увеличение продолжительности IgA-памяти и способность более существенно снижать заболеваемость кариесом.

21.4. ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ КАРИЕСА

Известно, что фторирование питьевой воды позволяет значительно снизить заболеваемость кариесом, но такая вода доступна не всем даже в развитых странах. В этой связи продолжается тщательный поиск подходящих антигенов для будущей вакцины. Широкое распространение у людей стрептококковой инфекции, обусловленной *S. mutans*, определило главное направление исследований по созданию вакцины против кариеса на антигенных препаратах из микроорганизмов данного вида, хотя нельзя не учитывать также роль других микроаэрофильных стрептококков (*S. sanguis*, *S. mitis*) и особенно актиномицетов (*Actinomyces odontolyticus*, *A. naeslundii* др.).

В конце 1960-х - начале 1970-х гг. *Bratthall et al.* показали, что на самом деле *S. mutans* - совокупность серологически неоднородных микроорганизмов. Они описали 5 серогрупп *S. mutans* (*a*, *b*, *c*, *d*, *e*), позже добавились серогруппы *f* и *g*. Эти данные были подтверждены в отечественных исследованиях населения России в 1980-85 гг., выполненных под руководством профессора И.И. Олейника. Было установлено, что заболевание кариесом у человека чаще вызывают стрептококки серо-группы *c*. Сформулированы основные требования к вакцине против кариеса. Подобная вакцина должна быть специфичной и эффективной, т.е. вызывать выработку длительного иммунитета к кариесу и минимум нежелательных реакций.

Вместе с тем разработка вакцины против *S. mutans* сопряжена с особыми трудностями. Этот микроорганизм в изобилии находится на твердых тканях полости рта, где уровни циркулирующих антител весьма невысоки. Наибольшая часть иммуноглобулинов слюны представлена секреторными антителами (sIgA). Более того, до

настоящего времени неясно, какой (какие) из антигенов *S. mutans* требуется блокировать антителами, чтобы предотвратить колонизацию этих стрептококков и последующее развитие кариеса.

Как известно, эффективная вакцина способствует выработке циркулирующих антител нужной специфичности и формированию клеток иммунной памяти, обеспечивающих анамнестический иммунный ответ (своего рода память о вакцинировании) и, соответственно, продолжительную невосприимчивость к возбудителю.

Современные методы, включая изучение кинетики восстановления ДНК (основанной на содержании Г+Ц-пар), позволили выделить 4 подгруппы *S. mutans*, позднее получившие видовые названия: *S. mutans* (серогруппы *c*, *e* и *f*, генотип I); *S. rattii* (иногда называемые *S. rattus*; серо-группа *b*, генотип II); *S. sobrinus* (серогруппы *d* и *g*, генотип III) и *S. cricetus* (серогруппа *a*, генотип IV).

Вместе с тем идентифицированы некоторые бактериальные антигены (см. ниже), устранение которых существенно уменьшает проявления кариеса у грызунов в эксперименте. Кроме того, изучение многокомпонентных вакцин позволило получить важную информацию, использование которой может привести к созданию вакцины против *S. mutans* и, возможно, против других возбудителей, колонизирующих слизистые оболочки и другие ткани тела человека.

Ниже обсуждаются современное состояние вопроса и сложности на пути разработки вакцины против кариеса. Основная сложность состоит в том, как индуцировать достаточно продолжительный IgA-опосредованный иммунный ответ на антигены кариесогенных стрептококков. В большинстве публикаций по результатам исследований у грызунов и человека сообщается о повышении уровня иммуноглобулинов не на годы, а лишь на недели или месяцы. Во многих работах показано, что уровни sIgA против *S. mutans* в слюне (и секретах других экзокринных желез) удается поднимать повторно. Однако вскоре они вновь снижаются, что требует введения очередной «бустерной» дозы антигена.

Другой важнейший вопрос - специфичность создаваемой защиты. В этом направлении можно выделить две сложные задачи: надежную идентификацию возбудителя и определение его факторов вирулентности, блокирование которых могло бы предотвратить развитие заболевания. По этим вопросам известно значительно больше.

Как отмечалось, *S. mutans* может быть не единственным видом бактерий в составе зубной бляшки, способным выживать в кислой среде, необходимой для инициации кариозного процесса. Вместе с тем существование лиц, не болеющих кариесом при воздействии ряда неблагоприятных внешних факторов, свидетельствует о важности защиты самого макроорганизма. В этой связи исследователи концентрируют внимание на поиске антигена(ов) для будущей вакцины и разработке способов индукции продолжительного местного иммунитета в полости рта. Оба направления поиска основаны на предположении, что микроорганизм связывается с поверхностью зуба и начинает размножаться. Именно поэтому предотвращение адгезии микроорганизма могло бы уменьшить численность бактерий на поверхности зубов и тем самым снизить риск заболевания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Кариес - обусловленный метаболизмом бактерий физико-химический процесс, ведущий к деминерализации тканей зуба. Следовательно, для возникновения кариеса необходимо участие чувствительного хозяина, патогенных бактерий и питательного субстрата на них.

Кариес может поражать гладкие поверхности, ямки, бороздки и корни зубов. Незалеченный кариес может распространяться на дентин и пульпу, вызывая различные формы одонтогенной инфекции.

К кариесогенным бактериям относят стрептококки группы *mutans*, лактобактерии и актиномицеты. Среди стрептококков ведущая роль принадлежит *S. mutans* и *S. sobrinus*. Лактобактерии часто присоединяются позже и ускоряют деминерализацию. Актиномицеты реже участвуют в развитии кариеса, но могут иметь значение при корневом кариесе, когда поражается цемент - менее минерализованная ткань зуба.

Хорошо известно, что при кариесе устойчивые ассоциации образуют *S. mutans* и вейллонеллы. Следовательно, рост различных бактерий в составе плотных биопленок может приносить реальную выгоду, а специфические межбактериальные связи могут быть важным условием их существования в зубном налете.

Кариесогенные бактерии (например, *S. mutans*) кислототолерантны - они преодолевают побочные эффекты, связанные с закислением ими среды. Для этого они применяют протонный насос, образуют стрессовые белки и повышают рН за счет образования аммиака.

Утилизируя сахарозу пищи, *S. mutans* образуют из мономеров глюкозы гликан (с участием гликантрансфераз), а из мономеров фруктозы - фруктан (с участием фруктантрансфераз). Водонерастворимые полимеры гликана помогают бактериям прикрепиться к поверхности зубов. Гликан и фруктан могут также служить источником питательных веществ для бактерий.

Физиологический процесс, ведущий к кариесу, - выработка микроорганизмами из углеводов пищи органических кислот (например, молочной). Для выработки молочной кислоты требуется фермент лактатдегидрогеназа. Органические кислоты понижают рН на поверхности зубов до такого уровня, когда входящий в состав эмали гидроксиапатит становится растворимым.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Укажите один правильный ответ.

1. С точки зрения возникновения кариеса антагонистами являются:
 - а) стрептококки и вейллонеллы;
 - б) стрептококки и актиномицеты;
 - в) стрептококки и бактероиды;
 - г) грибы и спирохеты.
2. Пролонгирование кариесогенного эффекта бактерий полости рта в ночное время обеспечивается за счет:
 - а) депонирования моносахаров в печени;
 - б) продукции некоторыми микроорганизмами декстранов и леванов;
 - в) снижения слюноотделения;
 - г) коллоидных свойств слюны.
3. Бляшкообразующее действие актиномицетов обусловлено:
 - а) коагgregацией с другими микроорганизмами за счет лектинов;
 - б) синтезом органических кислот;
 - в) продукцией ферментов агрессии;
 - г) отсутствием способности к адгезии на эмали.
4. Антагонистами кариесогенных бактерий являются:
 - а) ротии и актиномицеты;

- б) бактериоиды и спирохеты;
 - в) лактобактерии и бифидобактерии;
 - г) нейссерии и вейллонеллы.
5. Кариесогенное действие бактерий в ночное время реализуется благодаря:
- а) наличию лектинов клеточной стенки;
 - б) продукции полимеразы;
 - в) синтезу гликанов;
 - г) образованию капсулы.
6. Под метаболическим взрывом в полости рта понимают:
- а) резкое усиление гликолиза и фосфорилирования после приема пищи;
 - б) дегрануляцию иммунокомпетентных клеток;
 - в) активацию комплемента по альтернативному пути;
 - г) выброс ферментов агрессии и токсических метаболитов микроорганизмов.
7. Основным фактором инфективности у *S. mutans* является:
- а) образование гемолизина;
 - б) адгезины клеточной стенки;
 - в) декстраны, продуцируемые при утилизации сахарозы;
 - г) молочная кислота.
8. По данным Всемирной организации здравоохранения, группа кариесогенных микроорганизмов включает:
- а) *S. mutans*, *S. sobrinus*, *Lactobacillus*, *Actinomyces*;
 - б) *S. sanguis*, *Fusobacterium*, *Actinomyces*, *E. corrodens*;
 - в) *S. mutans*, *S. sanguis*, *Bacteroides*, *R. dentocariosa*, *Neisseria*;
 - г) *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*.
9. Основные механизмы формирования зубной бляшки:
- а) адгезия и инвазия *S. mutans*;
 - б) адгезия и коагрегация *S. mutans* и других оральных бактерий;
 - в) продукция молочной и других кислот *S. mutans* и другими оральными бактериями;
 - г) продукция декстранов и леванов *S. mutans* и *S. sanguis*.
5. Кариесогенное действие бактерий в ночное время реализуется благодаря:
- а) наличию лектинов клеточной стенки;
 - б) продукции полимеразы;
 - в) синтезу гликанов;
 - г) образованию капсулы.
6. Под метаболическим взрывом в полости рта понимают:
- а) резкое усиление гликолиза и фосфорилирования после приема пищи;
 - б) дегрануляцию иммунокомпетентных клеток;
 - в) активацию комплемента по альтернативному пути;
 - г) выброс ферментов агрессии и токсических метаболитов микроорганизмов.

7. Основным фактором инфективности у *S. mutans* является:

- а) образование гемолизина;
- б) адгезины клеточной стенки;
- в) декстраны, продуцируемые при утилизации сахарозы;
- г) молочная кислота.

8. По данным Всемирной организации здравоохранения, группа кариесогенных микроорганизмов включает:

- а) *S. mutans*, *S. sobrinus*, *Lactobacillus*, *Actinomyces*;
- б) *S. sanguis*, *Fusobacterium*, *Actinomyces*, *E. corrodens*;
- в) *S. mutans*, *S. sanguis*, *Bacteroides*, *R. dentocariosa*, *Neisseria*;
- г) *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*.

9. Основные механизмы формирования зубной бляшки:

- а) адгезия и инвазия *S. mutans*;
- б) адгезия и коагрегация *S. mutans* и других оральных бактерий;
- в) продукция молочной и других кислот *S. mutans* и другими оральными бактериями;
- г) продукция декстранов и леванов *S. mutans* и *S. sanguis*.

10. Для поверхности зуба наиболее характерны следующие представители орального микробиоценоза:

- а) бактероиды, порфиромонады и превотеллы;
- б) фузобактерии и лептотрихии;
- в) микроаэрофильные стрептококки и актиномицеты;
- г) стафилококки и коринебактерии.

11. Какие бактерии орального микробиоценоза и почему считаются фактором кариесорезистентности:

- а) нейссерии, так как утилизируют кислород и снижают редокс-потенциал;
- б) вейллонеллы, так как утилизируют кислоты и повышают рН;
- в) лактобактерии, так как тормозят размножение стрептококков;
- г) коринебактерии, так как синтезируют витамин К, необходимый для размножения анаэробов.

12. Механизмом кариесогенного действия *S. mutans* и *S. sanguis* является:

- а) адгезия на поверхности эмали;
- б) кислотообразование и деминерализация эмали;
- в) полимеризация глюкозы и других моносахаридов;
- г) формирование ветвящихся микроколоний.

Ответы к тестовым заданиям

1 - а; 2 - б; 3 - а; 4 - г; 5- в; 6 - а; 7 - б; 8 - а; 9 - б; 10 - в; 11 - б; 12 - б.

Часть 6. МИКРОФЛОРА И ИММУННЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПАРОДОНТА

Воспалительные заболевания пародонта характеризуются поражением десны, связочного аппарата зуба и альвеолярной кости челюстей инфекционно-воспалительной природы, сопровождаемым развитием серозного или гнойного воспаления с последующим (или одновременным) присоединением аллергических и дистрофических процессов.

Воспалительные заболевания пародонта (особенно гингивит и пародонтит) широко распространены среди населения (поражается свыше 90% взрослых после 40 лет практически во всех цивилизованных странах) и являются ведущей причиной потери зубов у большинства взрослых людей. Многочисленные исследования отечественных и зарубежных авторов продемонстрировали выраженную зависимость между количеством зубного налета и тяжестью хронического гингивита. Полная отмена гигиены полости рта приводит в течение 1-3 нед к развитию катарального гингивита, в то время как адекватная гигиена - к снятию воспаления десен.

Изучение роли бактерий - представителей резидентной микрофлоры ротовой полости в развитии гингивита и пародонтита - проводилось в трех основных направлениях:

- поиск потенциальных возбудителей заболеваний пародонта в экспериментах на животных;
- изучение влияния биологически активных метаболитов пародонтальных бактерий на ткани пародонта;
- сравнительное изучение микрофлоры здоровых и пораженных тканей пародонта в целях выявления так называемых пародонто-патогенных видов бактерий.

ГЛАВА 22. ХАРАКТЕРИСТИКА ПАРОДОНТОПАТОГЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ

Вирулентность возбудителей заболеваний пародонта обусловлена рядом факторов. Многие из них направлены на модуляцию врожденного иммунитета. Однако появление подобных свойств у микроорганизмов согласуется с экологической гипотезой роли бактериальной биопленки: у микроорганизмов, выявляемых в норме и при патологии, различные внешние условия могут индуцировать разные фенотипы. В данном разделе рассмотрены главные из предполагаемых факторов вирулентности этих микроорганизмов.

Согласно современным представлениям, ряд облигатно-анаэробных и микроаэрофильных бактерий, ассоциированных с развитием заболеваний пародонта (прежде всего юношеского, быстро прогрессирующего и хронического генерализованного пародонтита), условно объединен в группу пародонтопатогенной микрофлоры.

При оценке роли отдельных видов микроорганизмов в возникновении или развитии пародонтита следует выделять:

- пародонтопатогенные виды 1-го порядка («красный комплекс», по *Sochransky*);
- пародонтопатогенные виды 2-го порядка («оранжевый комплекс»);
- коинфицирующие агенты (вирусы, хламидии, грибы, простейшие и др.);
- оппортунистические виды, представители которых встречаются в полости рта постоянно, но количество их резко возрастает при развитии пародонтита.

К сожалению, пока нет единой теории, объясняющей роль в микроэкологии полости рта комплекса всех перечисленных групп микроорганизмов при заболевании и при его отсутствии; тем не менее ниже представлены модели заболевания, основанные на взаимодействии факторов бактерий с организмом человека.

Частота выделения пародонтопатогенных видов микроорганизмов колеблется в разных популяциях людей, разных регионах и, кроме того, существенно зависит от метода диагностики (табл. 22-1).

Таблица 22-1. Сравнительная частота обнаружения пародонтопатогенных бактерий разными методами

Пародонто-патогены	Бактериологическое исследование		ПЦР		Совпадение результатов	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
<i>P. intermedia</i>	14	38,8	22	61,1	14	63,6
<i>P. gingivalis</i>	11	30,5	20	55,6	11	55,0
<i>A. actinomycetemcom.</i>	8	22,2	14	38,9	5	35,7
<i>T.forsythia</i>	0	0	21	58,3	-	-
<i>T. denticola</i>	0	0	19	52,7	-	-
<i>Candida albicans</i>	10	27,8	13	36,1	7	53,9

В табл. 22-1 и 22-2: *n* - число пациентов; % - доля общего количества пациентов.

Существенный интерес представляет также вариабельность определения коинфицирующих агентов, к которым можно отнести дрожжеподобные грибы, хламидии и вирусы (табл. 22-2).

Таблица 22-2. Сравнительная частота обнаружения коинфицирующих агентов разными методами

Пародонто-патогены	ПЦР		ИФА		Совпадение результатов
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
<i>Candida albicans</i> : положительные отрицательные	13 23	36,1 63,9	22 14	61,1 38,9	75,0
<i>Herpes simplex virus</i> : положительные отрицательные	6 14	16,7 83,3	36 0	100 0	16,7
<i>Cytomegalovirus</i> : положительные отрицательные	3 33	8,3 91,7	32 4	8,9 11,1	19,4
<i>Chlamydia trachomatis</i> : положительные отрицательные	2 34	5,6 94,4	6 30	16,7 83,3	88,9

К пародонтопатогенам 1-го порядка относят: *Aggregatibacter actino-mycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* и *Tannerella forsythia*, для которых доказаны возможность распространения в человеческой популяции по типу экзогенного инфекционного агента и выраженная тенденция к внутриклеточному паразитизму в десневом эпителии и тканях пародонта (табл. 22-3). Ниже рассмотрены основные данные о факторах патогенности возбудителей пародонтальной инфекции.

Таблица 22-3. Критерии этиологической значимости пародонтопатогенов 1-го порядка при воспалительных заболеваниях пародонта

Критерии	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Tannerella forsythia</i>
Связь с заболеванием	Возрастает количество при ювенильном и некоторых формах хронического пародонтита. Обнаруживаются в тканях и клетках	Возрастает количество в участках поражения пародонта, могут располагаться внутриклеточно	Возрастает количество в участках повреждения пародонта, могут располагаться внутриклеточно
Удаление возбудителя (эрадикация)	При успешном лечении не обнаруживаются или количество резко сокращается	При успешном лечении не обнаруживаются или количество резко сокращается	При успешном лечении не обнаруживаются или количество резко сокращается
Рецидив	Обнаруживаются	Обнаруживаются	Обнаруживаются
Реакция хозяина	У больных ювенильным пародонтитом повышаются уровни антител в сыворотке и десневой жидкости	У больных пародонтитом повышаются уровни антител в сыворотке и десневой жидкости	У больных пародонтитом повышаются уровни антител в сыворотке и десневой жидкости
Эксперименты на животных	Показан патогенный потенциал на моделях пародонтита у грызунов	Показан патогенный потенциал на моделях пародонтита у грызунов и нечеловекоподобных обезьян	Показан патогенный потенциал на моделях пародонтита у грызунов

Окончание табл. 22-3

Критерии	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Tannerella forsythia</i>
Факторы вирулентности	Адгезия и инвазия клеток хозяина при участии фимбрий, белков ОМР и мембранных пузырьков; наличие эндотоксина (ЛПС), выработка лейкотоксина (RTX), CDT, актинобациллина, иммуносупрессорного фактора,	Адгезия и инвазия клеток хозяина при участии фимбрий, гемагглютининов, белков ОМР и мембранных пузырьков; отклонение от факторов иммунной защиты - наличие	Адгезия и инвазия клеток хозяина, поверхностный (S)-белок, поверхностный белок, богатый лейцином (BspA), изогенный мутант BspA, адгезии, индуцирующий

	шаперонина 60, коллагеназы, факторов подавления фибробластов, индукции апоптоза и резорбции костной ткани	эндотоксина (ЛПС), капсулы; выработка протеаз, разрушающих иммуноглобулины и комплемент, гемолизинов; повреждение тканей - выработка Arg- и Lys-гингипаинов, коллагеназ, фибринолизина, фосфолипазы А, трипсиноподобных ферментов, кератолитических и других гидролитических энзимов, фосфатаз и токсичных для тканей метаболитов (сероводорода, аммиака, жирных кислот)	разрушение альвеолярной кости (мышинная модель), наличие эндотоксина (ЛПС), выработка протеаз, трипсиноподобных ферментов, нейроминидазы (сиалидазы) и токсичных для тканей метаболитов (сероводорода, аммиака, жирных кислот)
--	---	--	--

22.1. *PORPHYROMONAS GINGIVALS* (ДЕСНЕВАЯ ПОРФИРОМОНАДА)

Porphyromonas gingivalis (десневая порфиромонада) - один из основных пародонтопатогенных видов (первого порядка), способный к экзогенной передаче, инвазии и внутриклеточному паразитизму (рис. 22-1).

Этимология

Название *Porphyromonas* (*Porphyromonas*) образовано от греч. прилагат. *Porphyreos* - «пурпурный» и сущ. *monas* - «единица, неделимое»; от лат. эквив. - сущ. ж. р. - «порфириновая клетка»; *gingivalis* - «гингивальный» (десневой).

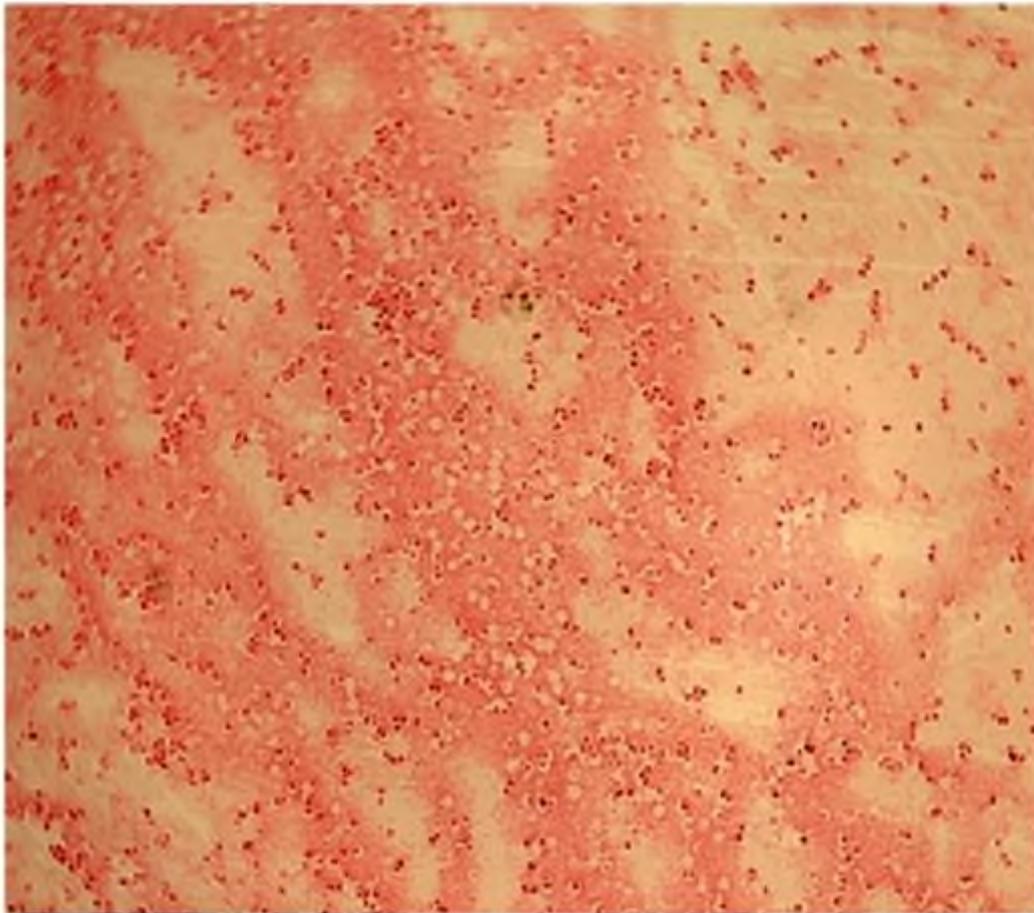


Рис. 22-1. Препарат чистой культуры *Porphyromonas gingivalis* при световой микроскопии под иммерсией. Окрашивание по Граму. Видна капсула. Объектив x90, масл. иммерсия

Факторы патогенности

Протеазы

P. gingivalis вырабатывает множество различных протеаз. Их основная функция - обеспечение растущей клетки пептидами, но ввиду способности разрушать белки хозяина (в том числе несущие защитную функцию) им приписывают роль основных факторов вирулентности:

- аргинин- и лизинспецифичные цистеиновые протеиназы, или гингипаины R и K [их синтез кодируют 3 гена: *rgpA* - кодирует аргининспецифичную протеиназу RgpA, имеющую домены адгезина/гемагглютинаина, генетическая информация которых заключена в последовательности *hag*; *rgpB* - протеиназу RgpB; *kgr* - лизин-специфичную протеиназу Kgp, имеющую домены адгезина/гемагглютинаина (последовательность *hag*)];

- цистеиновые протеиназы, получаемые из продуктов гена *prtT*, - стрептопаиноподобная протеаза и периодонтаин - фермент, расщепляющий и инактивирующий ингибитор протеиназы (на С-концевом участке гена *prtT* есть также область кодирования гемагглютинирующей активности, не сходная с областью *hag* гингипаинов). Ген (*tpr*) кодирует синтез Pz-пептидазы - фермента, напоминающего папаин (он связан с бактериальной поверхностью и имеет широкий спектр активности - не действует на природный коллаген, но может гидролизовать желатин и Pz-пептид, что позволяет предположить его участие на поздних стадиях деградации коллагена);

• аминопептидазы, эндотелинпревращающая ферментоподобная эндопептидаза и пролилдипептидилпептидаза IV (помимо участия в питании, протеиназы имеют ряд биологических свойств, потенциально способствующих развитию заболевания) (табл. 22-4).

Таблица 22-4. Функции протеиназ *P. gingivalis*

Нарушение целостности тканей	Повреждение защитных механизмов хозяина	Значение для бактерий
<p>Разрушение белков внеклеточного матрикса (фибронектина, ламинина). Гидролиз коллагенов I, III, IV и V.</p> <p>Разрушение фибриногена. Инактивация тканевых и плазменных ингибиторов протеиназ.</p> <p>Активация матриксных металлопротеиназ. Активация калликреинкининовой системы</p>	<p>Разрушение иммуноглобулинов.</p> <p>Инактивация или активация компонентов системы комплемента. Деструкция цитокинов и хемокинов.</p> <p>Расщепление поверхностных рецепторов лейкоцитов.</p> <p>Разрушение антибактериальных пептидов</p>	<p>Получение гемина и ионов железа из белков хозяина.</p> <p>Высвобождение внутренних антигенных детерминант (бактерий и хозяина).</p> <p>Посттрансляционный процессинг протеаз, фибриллина и белков наружной мембраны. Участие во внутриклеточной инвазии</p>

Гемагглютинины

Связь бактерий с рецепторами клеток хозяина и последующую колонизацию могут обеспечивать поверхностные гемагглютинины. У многих бактерий, включая *P. gingivalis*, их рассматривают в качестве факторов патогенности. Гемагглютинирующая активность *P. gingivalis* определяется:

- фимбриями;
- ЛПС клеточной стенки;
- липидами на поверхности клетки;
- соответствующими доменами протеаз;
- молекулами специфических протеинов - HagA, HagB и HagC (HagA - крупный белок с молекулярной массой 230 кДа, содержащий 4 блока смежных прямых 440- и 456-аминокислотных повторов; белки HagB и HagC очень схожи и имеют молекулярную массу ~40 кДа).

Все адгезины участвуют в прикреплении *P. gingivalis* к клеткам хозяина, например эндотелиоцитам или эритроцитам. В связывании могут участвовать также поверхностно расположенные протеазы. Установлено, что у *P. gingivalis* образование фибрилл, факторов адгезии, гемагглютинации и протеолиза тесно связано, что подтверждается исследованиями генома, в частности, генов протеинов HagA, HagB и HagC. По-видимому, этот сложный комплекс факторов важен для роста бактерий (например, в пептидах, ионах железа) и проявления патогенности.

Липополисахариды

ЛПС *P. gingivalis* не содержит гептоз (или содержит их очень мало), его жирные кислоты более длинные и разветвленные, и он менее токсичен, по сравнению с ЛПС энтеробактерий. Биологические отличия ЛПС этих бактерий, по-видимому, отражают несходство их химической структуры, что, в свою очередь, обусловлено разной ролью этих структур в патогенезе.

ЛПС *P. gingivalis* не стимулирует экспрессию эндотелиальными клетками E-селектина, а подавляет его экспрессию, стимулированную ЛПС других бактерий. По сравнению с *Escherichia coli*, микроорганизм является слабым активатором IL-1 β и TNF α моноцитов (эти цитокины являются непрямыми активаторами экспрессии селектинов человека). На модели раннего воспаления у мышей показано, что ЛПС *P. gingivalis* слабее, чем эндотоксин *E. coli*, индуцирует цитокины фибробластов, E- и P-селектины, белок 1 хемотаксиса моноцитов.

Фимбрии

Поверхность *P. gingivalis* покрыта перитрихияльными фимбриями. На основе *fimA* генов, кодирующих субъединицу фимбрий FimA, выделяют 6 типов фимбрий, играющих ключевую роль во взаимодействии бактерий с тканями хозяина. Под электронным микроскопом различают 2 типа фимбрий, но встречаются и другие структуры. Так называемые главные фимбрии (варьируют по длине от 0,3 до 3,0 мкм, по ширине - от 3 до 5 нм) состоят из субъединиц фибриллина массой ~45 кДа (FimA). Длинные фимбрии *P. gingivalis* проявляют гомологию с фимбриальными доменами бактерий других видов. Короткие фимбрии встречаются реже и состоят из белка массой 67 кДа.

В опытах *in vitro* показана потенциальная роль фимбрий в адгезии, колонизации и деструкции тканей пародонта. Многочисленные исследования *in vivo* указывают на важную роль фимбрий при развитии инфекционного процесса. Например, предварительная иммунизация крыс очищенными фимбриями (*FimA*) или заражение мутантным штаммом без длинных фимбрий защищает животных от индуцируемой *P. gingivalis* деструкции костной ткани.

Пузырьки (везикулы) наружной мембраны

В результате выпячивания наружной мембраны образуются пузырьки, связанные с поверхностью грамотрицательных бактерий. Именно поэтому они содержат ее структуры (протеазы, ЛПС, гемагглютинины), а также захваченные компоненты периплазмы. Пузырьки участвуют в связывании *P. gingivalis* с эритроцитами, другими бактериями и поверхностью гидроксиапатита, агрегируют тромбоциты. На поверхности везикул *P. gingivalis* находятся фимбрии. Предполагают, что адгезивные микропузырьки могут адресно доставлять факторы вирулентности (токсины, протеазы) к клеткам-мишеням; их малые размеры позволяют проникать в места, недоступные клетке.

Полисахаридная капсула

Различают 6 сероваров капсул *P. gingivalis*. Поскольку инкапсулированные штаммы плохо фагоцитируются, капсулу считают важным фактором вирулентности. Наличие капсул у *P. gingivalis* коррелирует с патогенностью для лабораторных животных. Вирулентность бактерий различается в зависимости от серотипа капсулы. Полисахаридный слой на поверхности этих микроорганизмов может скрывать ЛПС, изменяя тем самым его активность.

Этапы симбиоза и вирулентность

Первый этап: инфективность и образование биопленки

Адгезия *P. gingivalis* к специфическому субстрату необходима для их последующего размножения и колонизации экологической ниши. В качестве поверхности для первичной адгезии могут выступать зубы, ранее прикрепленные бактерии и их метаболиты, слизистая оболочка, белки внеклеточного матрикса и прочие структуры в полости рта, включая ортопедические конструкции и некоторые виды реконструктивных материалов. *P. gingivalis* предпочитает колонизировать как поверхность формирующейся, так и зрелой дентальной биопленки. Биопленка защищает микроорганизм от неблагоприятных воздействий внешней среды, поэтому существование в ней патогенного микроорганизма

существенно повышает его вирулентность. В исследованиях *in vitro* показана межродовая коагрегация *P. gingivalis* со многими первичными колонизаторами или ранними бактериями зубной бляшки - стрептококками (*S. sanguis*, *S. gordonii*, *S. mitis*, *S. oralis*, *S. cristatus*) и *Actinomyces naeslundii*. Они коагрегируют также с промежуточными и поздними колонизирующими бактериями (в частности, с фузобактериями и такими пародонтопатогенными видами, как *T. denticola* и *T. forsythia*).

Важным фактором адгезии *P. gingivalis* являются главные фимбрии: они обеспечивают прикрепление к эпителиоцитам, фибробластам, эндотелиальным клеткам, компонентам клеточного матрикса (фибронектину, фибриногену). Фимбрии связываются и с другими объектами ротовой полости: компонентами слюны (пролиновыми белками и статерином), покрытому слюной гидроксипатиту (зубной модели) и другим бактериям полости рта (например, стрептококкам, актиномицетам). В отличие от других грамтрицательных бактерий, у которых адгезию обеспечивают минорные компоненты фимбрий, а основные лишь образуют каркас, у *P. gingivalis* за связывание отвечают *FimA*.

Колонизация

Главные фимбрии необходимы для колонизации зубной бляшки. Экспрессия гена *fimA*, кодирующего синтез *FimA*, регулируется сигналами внешней среды. Также ее может регулировать, по крайней мере, один из видов микроорганизмов зубной бляшки. Контакт *P. gingivalis* и *Streptococcus cristatus* запускает сигнальный механизм, ведущий к ослаблению экспрессии *fimA*, что предупреждает адгезию и последующее образование биопленки. Можно предположить, что переход комменсальной зубной бляшки в патогенную зависит от присутствия *S. cristatus*, которые, блокируя экспрессию указанного гена, предотвращают включение *P. gingivalis* в состав зубодесневой биопленки и тем самым способствуют их удалению из полости рта. Наоборот, в условиях *in vitro* после адгезии *P. gingivalis* к *S. gordonii* образуется биопленка из нагромождающихся микроколоний, пронизанная каналами с жидкостью. На поверхностях обоих микроорганизмов обнаружено несколько специфических адгезин-рецепторных пар (включая главные фимбрии *P. gingivalis* и SspB - многофункциональный поверхностный белок *S. gordonii*), необходимых для образования подобной смешанной биопленки.

Протеолиз и протективные свойства

Протеолитические ферменты *P. gingivalis* могут разрушать различные белки хозяина (протекция) и, возможно, нарушать функции его клеток (см. табл. 22-3). Они разрушают фибриноген и белки плазмы, разрушают или трансформируют цитокины - TNF- α , IFN- γ , IL-6 и IL-8, расщепляют или инактивируют рецептор C5a фагоцитов, индуцируют хемотаксис нейтрофилов (за счет компонента C5 комплемента). Это свидетельствует о роли протеаз в развитии воспалительного ответа хозяина. Кроме того, протеазы могут активировать протромбин, белок C, фактор X, калликреин-кининовую систему и нейтрофилы. Опосредованный ферментом RgpA/B гидролиз молекул CD14 на десневых фибробластах человека приводит к уменьшению индуцированной ЛПС выработки IL-8.

Фимбрии *P. gingivalis* и их белковые субъединицы индуцируют выработку провоспалительных цитокинов перитонеальными макрофагами мышей и десневыми фибробластами человека. Они могут также индуцировать продукцию IL-6 (экспрессию мРНК соответствующим геном), тирозинное и серин/треониновое фосфорилирование белков в мононуклеарах периферической крови человека, влияя таким образом на сигнальные системы клеток хозяина. Фимбрии повышают экспрессию генов IL-1 β и TNF- α на перитонеальных макрофагах мышей. Ввиду того что рецептором фимбрий является β_2 -интегрин, полагают, что ключевую роль в повышении экспрессии играет сигнал β -цепи. После адгезии и инвазии *P. gingivalis* существенно возрастает секреция IL-1 β эпителиоцитами, уменьшается продукция IL-8, экспрессия молекул межклеточной адгезии (ICAM-1) и подавляется миграция нейтрофилов через эпителий. Таким образом, используя

комплекс факторов для уменьшения продукции ICAM-1 и IL-8, *P. gingivalis* выводит из строя один из важных механизмов защиты хозяина.

Второй этап: инвазивность и проникновение в клетки

Развитие заболевания происходит вследствие контакта бактерий зубной бляшки с тканями десны и их последующего внедрения в ткань - инвазии. После колонизации слизистой оболочки *P. gingivalis* преодолевают эпителиальный барьер и обнаруживаются в десневой ткани. Безусловным показателем вирулентности *P. gingivalis* следует считать то, что они могут внедряться в эпителиоциты и размножаться внутриклеточно. При контакте с эпителиальными клетками *P. gingivalis* индуцируют стрессорные метаболические процессы (увеличение реактивности на окислительный стресс и экспрессии генов белков теплового шока), что способствует выживаемости бактерий. Инвазия является результатом взаимодействия главных фимбрий микроорганизма с интегринами на поверхности эпителиоцитов. Это взаимодействие активирует сигнальную систему, что ведет к цитоскелетной перестройке клетки и погружению в нее прилипшей бактерии. Сигнальный путь включает изменение внутриклеточных концентраций ионов кальция и модулирование митогенактивируемых протеинкиназных каскадов эукариотической клетки. Этот процесс получил название интернализации. Он занимает несколько минут, и вскоре в перинуклеарном пространстве клетки накапливается множество бактерий.

Повреждение сигнальной системы эпителиоцита может приводить к подавлению транскрипции и секреции нейтрофилами IL-8. *P. gingivalis* может противодействовать секреции IL-8 после стимуляции десневых эпителиоцитов комменсалами зубной бляшки. В целом это может существенно ослабить местный иммунный ответ. Помимо инвазии, *P. gingivalis* может разрушать компоненты межклеточного соединения (белок окклюдин), адгезии (E-кадгерин) и связи с внеклеточным матриксом (β_1 -интегрин). Это способствует межклеточному проникновению бактерий в более глубокие участки ткани, т.е. дальнейшей инвазии.

Эндотелиальные клетки. При воспалении и кровотечении, сопровождающих инвазию соединительной ткани десны, бактерии полости рта могут поступать в кровоток (бактериемия) и формировать отдаленные очаги инфекции. Этот факт лежит в основе популярной гипотезы о связи заболеваний пародонта и сердечно-сосудистой системы. Во всяком случае установлена связь развития атеросклеротических бляшек с пародонтопатогенными бактериями, включая *P. gingivalis*, подтвержденная результатами опытов *in vitro* по адгезии и инвазии бактерий в эндотелий коронарных артерий человека и аорты крупного рогатого скота. Инвазия эндотелия *P. gingivalis* сопряжена с атерогенным процессом: при этом стимулируются провоспалительные цитокины и молекулы клеточной адгезии - факторы, участвующие в патогенезе ишемической болезни сердца и стенокардии. Подобно инвазии эпителиоцитов, для проникновения в эндотелиальные клетки *P. gingivalis* использует главные фимбрии. После обработки клеток *P. gingivalis* амилоглюкозидазой, разрушающей полисахаридную капсулу, интенсивность инвазии еще более возрастает. Известно, что капсула препятствует взаимодействию некоторых бактерий с эпителиальными и эндотелиальными клетками. По-видимому, ферментная обработка высвобождает дополнительные адгезины. Внутри эндотелия *P. gingivalis* остается в аутофагосоме, которая не сливается с лизосомами, что позволяет бактерии избежать гибели.

Третий этап: токсическое действие - резорбция, деструкция костной ткани и подавление ее формирования

P. gingivalis может и активировать, и подавлять неспецифический воспалительный ответ хозяина. Клетки микроорганизма и их компоненты индуцируют экспрессию различных цитокинов и хемокинов. Это ведет к появлению стимулированных ПЯЛ, моноцитов, макрофагов, фибробластов и эпителиоцитов. Такие цитокины, как IL-1 β , TNF- α ,

IL-6 и IL-8, способствуют воспалению и деструкции тканей, включая костную. Другие цитокины (IL-1а, IL-4), напротив, препятствуют воспалению - разрушают имеющиеся цитокины и нарушают продукцию IL-8 эпителиоцитами.

ЛПС *P. gingivalis* не только не стимулирует экспрессию эндотелиальными клетками E-селектина, но и подавляет ее при стимуляции ЛПС других бактерий. По сравнению с *Escherichia coli*, *P. gingivalis* является более слабым активатором IL-1 β и TNF- α моноцитов (цитокинов - не прямых активаторов экспрессии человеческого селектина). В опытах *in vitro* главные фимбрии стимулируют костные клетки к выработке IL-1 β и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора, а фибробласты, макрофаги и моноциты - к выработке медиаторов костной резорбции (IL-1 β и TNF- α).

22.2. AGGREGATIBACTER ACTINOMYCETEMCOMITANS (ПО СТАРОЙ НОМЕНКЛАТУРЕ -ACTINOBACILLUS ACTINOMYCETEMCOMITANS)

A. actinomycetemcomitans - один из основных пародонтопатогенных видов (первого порядка), способных к экзогенной передаче, инвазии, синтезу экзотоксина и внутриклеточному паразитизму (рис. 22-2).

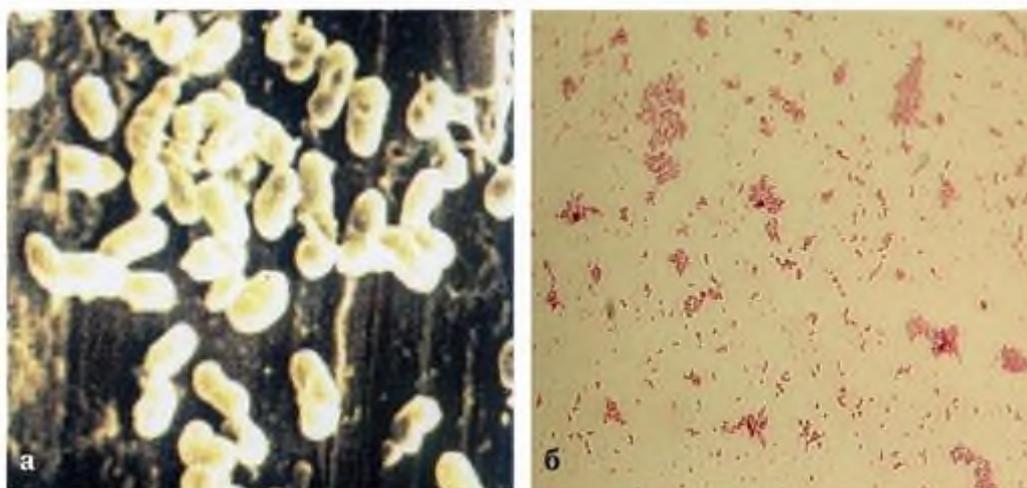


Рис. 22-2. Препарат чистой культуры *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: а - при сканирующей электронной микроскопии. Увеличение x50 000; б - при световой микроскопии под иммерсией. Окрашивание по Граму. Объектив x90, масл. иммерсия

Этимология

Aggregatibacter (от лат. *aggregare* - «агрегировать, объединяться» и сущ. м. р. *bacter* - «палочка»). Сущ. м. р. *Aggregatibacter* - бактерия палочковидной формы, агрегирующая с другими бактериями; *actinomycetemcomitans* - от греч. сущ. *actis* - «луч»; от лат. сущ. *myses* - «грибок»; от лат. отглагольное прилагат. *comitans* - «сопровождающий, следующий вместе, аккомпанирующий»; отглагольное прилагат. *actinomycetemcomitans* - «сопровождающий актиномицеты».

Факторы патогенности

Токсины и токсические субстанции

• Лейкотоксин - относится к семейству порообразующих гемолизин/лейкотоксинов (RTX), экспрессируемых различными патогенными бактериями. В опероне из 4 генов (С, А, В, D) структурный ген этого токсина - 2-й (*ItxA*). Белки генов *ItxB* и *ItxD* участвуют в транспортировке токсина на поверхность клетки, а продукт гена *ItxC* - в посттрансляционной активации токсина. Гибель клетки является следствием осмотического шока или апоптоза.

- Термолабильный голотоксин (CTD), или токсин летального набухания клетки, - способствует набуханию и остановке жизненного цикла эукариотических клеток, перестройке их актина и апоптозу, однако проявление его активности зависит от типа изучаемых клеток.

- Фактор иммуносупрессии (ISF) *A. actinomycetemcomitans* - относится к семейству белков Cdt и кодируется геном *cdtB* (белки ISF и CdtB, по сути, эквивалентны). Гены *cdtA*, *cdtB* и *cdtC* кодируют синтез трех полипептидов - CdtA, CdtB и CdtC (27, 29 и 20 кДа соответственно).

Все экзотоксины возбудителя могут индуцировать апоптоз иммунцитов, нарушая тем самым иммунологический надзор.

- ЛПС - эндотоксин, компонент наружной мембраны, составляет 75% клеточной поверхности. О-полисахаридный компонент ЛПС является основным антигеном, стимулирующим иммунный ответ организма хозяина. В соответствии со строением О-полисахарида выделяют 6 серотипов *A. actinomycetemcomitans*: *a*, *b*, *c*, *d*, *e*, *d*, /. Серотип *b* ассоциирован с агрессивными формами пародонтита. Серотип *c* доминирует в большинстве популяций. Микроорганизмы этих серотипов чаще, чем другие, выявляют при системных инфекциях, например при эндокардите. ЛПС *A. actinomycetemcomitans* вызывает резорбцию костной ткани, агрегацию тромбоцитов, некроз кожи.

Он также активирует макрофаги и активно связывает гемоглобин - источник ионов железа для роста микроорганизма. Низкие концентрации ЛПС стимулируют продукцию макрофагами IL-1 α , IL-1 β и TNF- α (цитокинов, участвующих в воспалении и резорбции кости), а высокие - продукцию системных про- и противовоспалительных цитокинов. Предполагают, что соотношение этих двух типов цитокинов может определять развитие и исход пародонтита.

Белки, связывающие Fc-фрагмент антител

Антитела связываются с рецепторами полиморфноядерных лейкоцитов своими Fc-фрагментами. Бактериальные Fc-рецепторы - выделяемые или связанные с клеткой белки, способные связываться с Fc-фрагментом иммуноглобулинов. Тем самым они могут конкурировать с ПЯЛ за Fc-фрагменты и угнетать фагоцитоз. Такими свойствами обладает представитель семейства термомодулируемых мембранных белков граммотрицательных бактерий - OmpA, а также поверхностный капсульный слой. Ввиду того что Fc-рецепторы играют определенную роль и при активации комплемента, предполагается, что Fc-связывающие белки *A. actinomycetemcomitans* подавляют оба защитных механизма хозяина.

Мембранные пузырьки

Выступающие участки поверхности *A. actinomycetemcomitans* - пузырьки - являются остатками соединения клеток или результатом выпячивания их мембран. Большое количество пузырьков выделяется в окружающую среду. Пузырьки у *A. actinomycetemcomitans*, выращенных на агаре, имеют вид толстых фибрилл с шаровидными концами. У высоколейкотоксических штаммов много пузырьков, у низкоили нелейкотоксических - мало или не наблюдаются вовсе. Помимо лейкотоксина, везикулы *A. actinomycetemcomitans* содержат эндотоксин с костно-резорбтивной активностью, а также актинобациллин (бактериоцин). Прилипание к эпителиальным клеткам слабоадгезивных или неадгезивных штаммов при наличии у них пузырьков существенно возрастает. Выявление адгезивных свойств пузырьков *A. actinomycetemcomitans* позволило выдвинуть гипотезу, что они являются средствами доставки токсичных материалов этого микроорганизма.

Он также активирует макрофаги и активно связывает гемоглобин - источник ионов железа для роста микроорганизма. Низкие концентрации ЛПС стимулируют продукцию макрофагами IL-1 α , IL-1 β и TNF- α (цитокинов, участвующих в воспалении и резорбции

кости), а высокие - продукцию системных про- и противовоспалительных цитокинов. Предполагают, что соотношение этих двух типов цитокинов может определять развитие и исход пародонтита.

Белки, связывающие Fc-фрагмент антител

Антитела связываются с рецепторами полиморфноядерных лейкоцитов своими Fc-фрагментами. Бактериальные Fc-рецепторы - выделяемые или связанные с клеткой белки, способные связываться с Fc-фрагментом иммуноглобулинов. Тем самым они могут конкурировать с ПЯЛ за Fc-фрагменты и угнетать фагоцитоз. Такими свойствами обладает представитель семейства термомодулируемых мембранных белков граммотрицательных бактерий - OmpA, а также поверхностный капсульный слой. Ввиду того что Fc-рецепторы играют определенную роль и при активации комплемента, предполагается, что Fc-связывающие белки *A. actinomycetemcomitans* подавляют оба защитных механизма хозяина.

Мембранные пузырьки

Выступающие участки поверхности *A. actinomycetemcomitans* - пузырьки - являются остатками соединения клеток или результатом выпячивания их мембран. Большое количество пузырьков выделяется в окружающую среду. Пузырьки у *A. actinomycetemcomitans*, выращенных на агаре, имеют вид толстых фибрилл с шаровидными концами. У высоколейкотоксических штаммов много пузырьков, у низкоили нелейкотоксических - мало или не наблюдаются вовсе. Помимо лейкотоксина, везикулы *A. actinomycetemcomitans* содержат эндотоксин с костно-резорбтивной активностью, а также актинобациллин (бактериоцин). Прилипание к эпителиальным клеткам слабоадгезивных или неадгезивных штаммов при наличии у них пузырьков существенно возрастает. Выявление адгезивных свойств пузырьков *A. actinomycetemcomitans* позволило выдвинуть гипотезу, что они являются средствами доставки токсичных материалов этого микроорганизма.

Фимбрии

A. actinomycetemcomitans имеют высокоантигенные фимбрии, играющие важную роль в колонизации и инвазии тканей пародонта.

Мишенями на клетках организма хозяина для них являются трансферриновые рецепторы и эпителиальные интегрин. Фимбрии *A. actino-mycetemcomitans* расположены перитрихально, имеют длину около 2 мкм и диаметр 5 нм, часто формируют пучки. У свежeweделенных штаммов фимбрий много, но после субкультивирования *in vitro* их количество резко снижается. Адгезия *A. actinomycetemcomitans* к эпителию или гидроксиапатиту (покрытому или непокрытому слюной) связана как с культуральным полиморфизмом, так и с фимбриями. В адгезии участвует субъединица фимбрий массой 54 кДа - фимбриальный белок. В составе фимбрий можно определить дополнительный белок массой 6,5 кДа (Flp), который по аминокислотной последовательности схож с пилином типа IV. Между наличием фимбрий и адгезией *A. actinomycetemcomitans*, безусловно, имеется корреляция, но штаммы без фимбрий также проявляют адгезивные свойства, что указывает на участие в этом процессе других компонентов.

Внеклеточный гликопротеин

На поверхности некоторых *A. actinomycetemcomitans* имеется внеклеточный аморфный материал, который в виде матрикса окутывает смежные клетки. Установлено, что он имеет белковую природу (скорее всего, это гликопротеин), обладает адгезивными свойствами и костно-резорбтивной активностью. К тому же, если слабоадгезивные штаммы *A. actinomycetemcomitans* суспензировали в аморфном материале, они прочно прикреплялись к эпителиоцитам (за счет «пассажирской» адгезии).

Протеазы

Активность трипсиноподобных протеаз *A. actinomycetemcomitans* коррелирует с клиническими параметрами пародонтита. Они расщепляют коллаген, фибронектин, IgG, сывороточный, но не секреторный IgA, IgM *in vitro*.

Возможность R-S-диссоциации и вариабельность колоний

На плотной среде *A. actinomycetemcomitans* образует три типа колоний. В первичном посеве из десневого материала обычно вырастают шероховатые колонии небольшого размера (0,5-1,0 мм), прозрачные, округлые, с неровными краями, подрывающими агар. Расположение клеток в колонии напоминает звезду или скрещенные сигары, что отражено в названии рода - лучистые. В жидкой среде эти клетки формируют агрегаты на стенках сосуда, оставляя среду прозрачной. При повторных посевах на агаре формируются колонии двух вариантов - гладкие прозрачные и гладкие непрозрачные. Прозрачные, по-видимому, являются промежуточным вариантом между шероховатыми и гладкими непрозрачными. Если переход от шероховатых к гладким колониям происходит вскоре после выделения штамма, то превращение гладких колоний в шероховатые *in vitro* бывает очень редко, что, видимо, связано с факторами питания.

Вариабельность колоний отражает различную экспрессию поверхностных компонентов клетки. Шероховатые варианты *A. actinomyce-temcomitans*, в отличие от гладких, экспрессируют белки наружной мембраны массой 43 и 20 кДа - белки А и В соответственно. Кодирующие их гены гомологичны генам фимбриальных белков. Клетки шероховатых вариантов имеют много фимбрий, у гладких их мало или отсутствуют вообще. Роль фенотипической вариабельности микроорганизма пока не выяснена. Возможно, она влияет на цикличность течения пародонтита - смену фаз обострения и ремиссии.

Этапы симбиоза и вирулентность

Первый этап: инфективность и образование биопленки

Ключевым этапом в колонизации тканей и их последующей деструкции при пародонтите, по-видимому, является адгезия *A. actinomycetemcomitans* к эпителию десневой борозды. У штаммов с фимбриями более выражена адгезия к поверхности зубов. В отличие от многих бактерий поздней колонизации, у *A. actinomycetemcomitans* мало партнеров для коагрегации (выявлена коагрегация только с *F. nucleatum*).

Неспецифическая адгезия. Некоторые, особенно свежeweделенные, клинические штаммы образуют вязкие биопленки на твердых поверхностях - пластике, стекле, гидроксипатите. Такая неспецифическая адгезия обусловлена локусом *tad* - кластером из 7 генов (*tadABCDEFG*), кодирующим образование длинных фибрилл и пакетных пилей. Образование плотно прилегающей биопленки может быть ранней стадией колонизации *A. actinomycetemcomitans* зубной поверхности.

Специфическая адгезия к эпителиальным клеткам. Большинство изученных штаммов *A. actinomycetemcomitans* прочно прикрепляются к эпителиоцитам. В адгезии *A. actinomycetemcomitans* к эпителиоцитам участвует несколько видов адгезинов и механизмов адгезии. Адгезия опосредована фимбриями, внеклеточным аморфным материалом и пузырьками. Вместе с тем штаммы с гладкими колониями, без фимбрий или с небольшим их количеством, прочно связываются с эпителиальными клетками. Это указывает на существование адгезинов, отличных от фимбрий. К нефимбриальным адгезинам относятся: эпителиальный адгезин Aae, многофункциональный белок, участвующий как в адгезии, так и в инвазии, Omp100 и экстраклеточный матриксный белковый адгезин А (EmaA), опосредующий взаимодействие *A. actinomycetemcomitans* с коллагеном.

Адгезия к белкам внеклеточного матрикса. Адгезия *A. actinomycetemcomitans* к внеклеточному матриксу связана с антенноподобными поверхностными структурами, состоящими из EmaA олигомеров. EmaA - белок внешней мембраны, аналогичный аутопереносчику YadA, фактору вирулентности *Yersinia enterocolitica*.

Внеклеточный матрикс - сложная сеть белков и полисахаридов, окутывающая клеточные компоненты в соединительной ткани. Его основным белковым компонентом является коллаген. В соединительной ткани преобладают коллагены типов I, II, III, V, XI (волокнообразующие), тогда как структурно отличающийся от них коллаген типа IV - основной в базальных мембранах. В соединительной ткани и базальных мембранах встречаются также фибронектин и ламинин - неколлагеновые гликозилированные белки. *A. actinomycetemcomitans* связываются с иммобилизированными коллагенами типов I, II, III, V, но не IV. Связывания с этими коллагенами в растворе не происходит, что указывает на необходимость конформационных изменений фибрилл коллагена для связывания. В этом процессе участвуют белки внешней мембраны *A. actinomycetemcomitans*. Этот микроорганизм связывает также фибронектин, но не фибриноген плазмы. Следовательно, связывание - высокоспецифичный процесс. Способность *A. actinomycetemcomitans* связываться с нерастворимыми белками - главным структурным компонентом внеклеточного матрикса - может помочь *A. actinomycetemcomitans* колонизировать соединительную ткань полости рта (и не только этой зоны).

Протекция. Подобно другим пародонтопатогенным видам, *A. actinomycetemcomitans* вырабатывает факторы, способные изменять или подавлять защитные механизмы хозяина. Среди механизмов первой линии защиты - привлечение в очаг фагоцитов (хемотаксис). Процесс проходит ряд стадий: связь с фагоцитом сигнальных молекул, формирование внутрисосудистых рецепторов адгезии, связывание фагоцита с эндотелием и выход его в очаг поражения. Фагоцитоз - серьезная угроза для проникших микроорганизмов, поэтому им важно его избежать, например, нарушив хемотаксис. *A. actinomycetemcomitans* могут подавлять хемотаксис полиморфноядерных лейкоцитов, а их капсулоподобный типоспецифический полисахаридный антиген препятствует фагоцитозу и перевариванию. Полиморфноядерные лейкоциты уничтожают фагоцитированные микроорганизмы путем слияния фагосомы с лизосомами (содержащими ряд антибактериальных веществ), но *A. actinomycetemcomitans* могут нарушать процесс слияния или уклоняться от воздействия содержимого лизосом. К одним компонентам эти микроорганизмы устойчивы, выработку лейкоцитами других факторов они подавляют. Так, термостабильный белок *A. actinomycetemcomitans* подавляет образование H₂O₂, но многие штаммы и без этого выдерживают высокие концентрации перекиси. *A. actinomycetemcomitans* устойчивы также к действию ряда дефензинов - защитных катионных пептидов нейтрофилов. Помимо участия в фагоцитозе, лейкоциты и моноциты/макрофаги выделяют биологически активные вещества - цитокины, активные формы кислорода и др. Некоторые компоненты *A. actinomycetemcomitans* индуцируют или усиливают синтез цитокинов (ЛПС, ISF, типоспецифический полисахарид, антиген массой 65 кДа). Такое модулирующее воздействие микроорганизма на иммунную систему нарушает гомеостаз и способствует развитию заболевания. *Второй этап: инвазивность и проникновение в клетки*

Наиболее важным свойством *A. actinomycetemcomitans* является способность избегать врожденную защиту организма и выживать при механическом удалении бактериальных отложений, проникая в ткани десен и особенно в эндотелиальные клетки. В клинических исследованиях показана возможность *A. actinomycetemcomitans* пенетрировать десневой эпителий, причем очень необычным образом и с последующей специфической внутриклеточной локализацией. Проникновение *A. actinomycetemcomitans* в клетки является энергозависимым процессом, связано с адгезией, синтезом протеинов, активным рецепторозависимым эндоцитозом. В ходе этого динамичного процесса прикрепление *A. actinomycetemcomitans* к клетке хозяина инициирует у нее образование вакуоли, в составе

которой микроорганизм проникает внутрь, после чего вакуоль быстро разрушается и микроорганизм поступает в цитоплазму. Аналогичным образом осуществляется инвазия эпителиальных клеток в экспериментах *in vitro*.

Попав в цитоплазму, *A. actinomycetemcomitans* не остаются пассивными - через индуцируемые бактерией выступы мембран клетки хозяина они перемещаются в соседние клетки (при сканирующей, трансмиссионной и флуоресцентной микроскопии бактерии обнаруживаются в этих выступах). По-видимому, внутри клеток и межклеточном пространстве *A. actinomycetemcomitans* перемещаются по микротрубочкам клеток хозяина. Так, в опытах *in vitro* показано, что эти бактерии локализуются исключительно возле плюско-концов микротрубочек в индуцированных звездчатых структурах. Результаты исследований *in vitro* позволяют полагать, что инвазия эпителиальных клеток и процесс внутри- и межклеточного распространения *A. actinomycetemcomitans* в соединительной ткани десны могут вызывать деструкцию тканей пародонтита.

Третий этап: токсическое действие - резорбция, деструкция костной ткани и подавление ее формирования

По вирулентному потенциалу различают пять серотипов *A. actinomycetemcomitans*. Частота выявления серотипов *A. actinomycetemcomitans* отличается в различных популяциях. Обычно пациенты инфицированы стабильно в течение долгого времени только одним серотипом *A. actinomycetemcomitans*. Например, штаммы серотипа *c* чаще выявляют при экстраоральных инфекциях и у людей со здоровым пародонтом. Штаммы *A. actinomycetemcomitans* серотипа *b* продуцируют повышенное количество лейкотоксина - основного фактора вирулентности, ассоциированного с заболеваниями пародонта. Доказан механизм генетической регуляции синтеза избыточного количества экзотоксина у актинобацилл (рис. 22-3).

Функции токсинов до конца не изучены. Для лейкотоксина характерны видовая (человек, приматы) и клеточная специфичность.

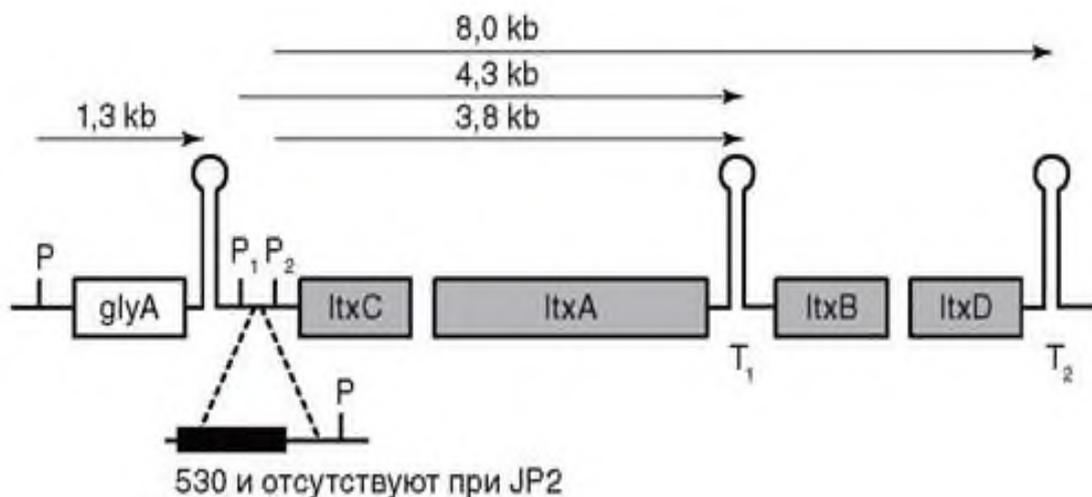


Рис. 22-3. Схема строения лейкотоксина *A. actinomycetemcomitans*, серотип *b*, и генетической регуляции его образования. *ItxA* - кодирует сам токсин; *ItxC* - кодирует активацию первичного продукта; *ItxB*, *ItxD* - кодируют протеины внутриклеточного транспорта. У нетоксигенных штаммов серотипа *a* отсутствуют специфические нуклеотидные пары на промоторном участке, и поэтому продукция токсина резко снижена (в 20-30 раз) по сравнению с токсигенным серотипа *b*

Он связывается только с моноцитами, нейтрофилами, некоторыми субпопуляциями лимфоцитов. Высокие дозы лейкотоксина вызывают образование пор, лизис клеток, секрецию неактивной формы про-IL-1 β . *A. actinomycetemcomitans*, таким образом, избегают

влияния факторов врожденного иммунного ответа, напрямую его атакуя. Как ни странно, лейкотоксин запускает выброс ферментов полиморфноядерных лейкоцитов и антибактериальных пептидов - дефензинов, способных разрушить эту молекулу. Однако сывороточные ингибиторы протеаз препятствуют разрушению токсина, т.е. сыворотка поддерживает лейкотоксическую активность. *A. actinomycetemcomitans* могут иметь преимущество на какой-либо стадии заболевания (например, при выделении из инфицированных эпителиальных клеток десны), снижая продукцию лейкотоксина и, таким образом, подавляя воспалительный ответ.

Cdt-токсин *A. actinomycetemcomitans* вызывает нарушение гомеостаза тканей пародонта и защитной системы организма. В частности, он индуцирует задержку клеточного цикла (фазы G2 - подготовку к митозу), ингибирует функции клеток пародонтальных связок, пролиферацию десневых фибробластов, способствует образованию выростов клеток соединительной ткани пародонта. На клетках СНО удалось показать, что CdtA фиксирует токсин на поверхности, а CdtB и CdtC отвечают за токсичность. CDT может стимулировать образование особой сети цитокинов - IL-1 β , IL-6, IL-8 и IFN- γ , но не IL-12, TNF- α или гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор мононуклеарами периферической крови. Известно, что компонент ISF - CdtB - это ДНКазы типа I. По-видимому, в патогенезе инфекции, обусловленной *A. actinomycetemcomitans*, определенную роль играют подавление пролиферации и индукция цитокинов.

Резорбция кости

Пародонтит сопровождается утратой костной ткани альвеолы и опорных структур зуба. В резорбции костной ткани участвуют не менее трех компонентов *A. actinomycetemcomitans*: ассоциированный с поверхностью клетки материал (SAM), ЛПС и чувствительный к протеолизу фактор микропузырьков. Активным компонентом SAM является молекулярный проводник белка теплового шока - GroEL, который, по-видимому, действует непосредственно на остеокласты. SAM также может оказывать антипролиферативное влияние на остеобластоподобные клетки. Механизмы действия SAM и ЛПС существенно отличаются. Эндотоксин *A. actinomycetemcomitans* модулирует ответные реакции организма хозяина и способствует деструкции тканей. Он индуцирует секрецию макрофагами окиси азота, IL-1 β и TNF- α , IL-6 десневыми фибробластами, способствующими резорбции костей. В эксперименте ЛПС *A. actinomycetemcomitans* вызывает выход кальция из длинных костей плода, что, вероятно, связано с участием простагландина и IL-1. Дексаметазон полностью подавляет подобную резорбцию. В отличие от этого резорбция, обусловленная GroEL, не подавляется антагонистическим рецептором IL-1.

Апоптоз

Протеины *A. actinomycetemcomitans* (особенно лейкотоксин) могут индуцировать апоптоз иммунных клеток организма хозяина. Обусловленное лейкотоксином уничтожение промиелоцитных клеток HL-60 включает активацию каспаз и развитие апоптоза. Этот токсин индуцирует апоптоз и по митохондриальному пути. Cdt способен индуцировать апоптоз Т-лимфоцитов, активируя каспазы-2 и -7. Устранение клеток острого воспаления с помощью апоптоза может играть важную роль в патогенезе заболеваний, опосредованных *A. actinomycetemcomitans*.

22.3. *TANNERELLA FORSYTHIA* (СТАРОЕ НАЗВАНИЕ - *BACTEROIDES FORSYTHUS*)

Tannerella forsythia - один из пародонтопатогенных видов (первого порядка), способных к инвазии и синтезу токсинов (рис. 22-4).

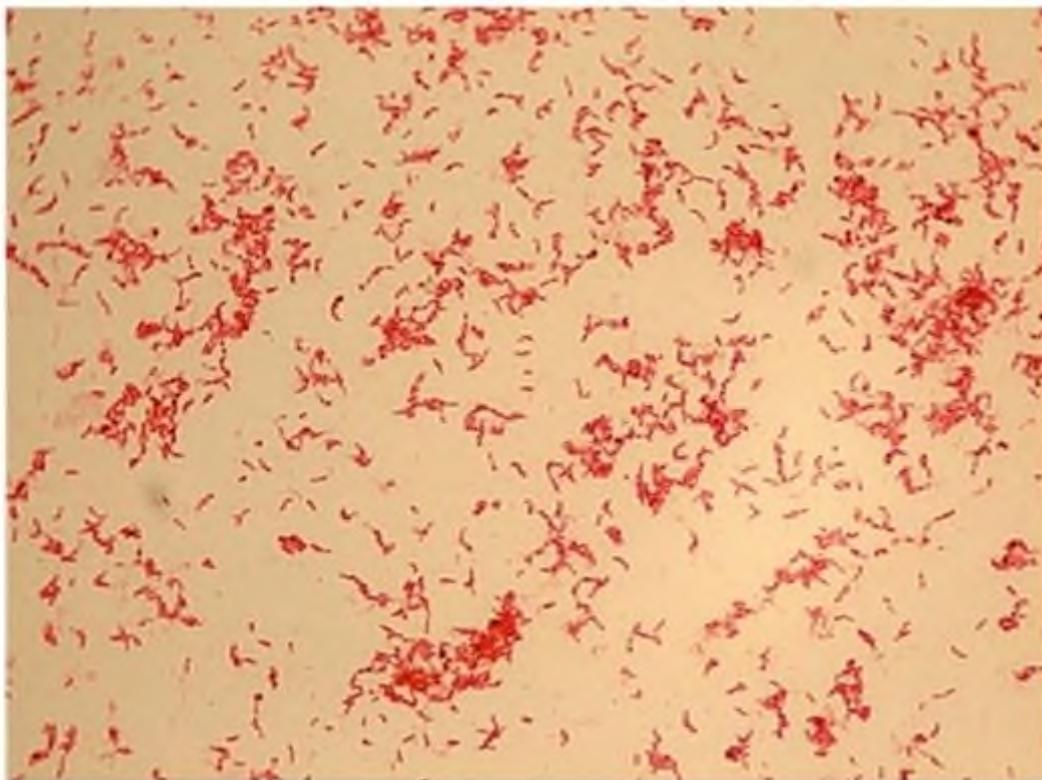


Рис. 22-4. Препарат чистой культуры *Tannerella forsythia* при световой микроскопии под иммерсией. Окрашивание по Граму. Объектив х90, масл. иммерсия

Этимология

Род *Tannerella* назван по имени американского микробиолога *Anne C.R. Tanner* за ее вклад в изучение заболеваний пародонта (совр. лат. суф. ж. р. *Tannerella*: *Tanner* + лат. уменьш. суф. *-ella*); *forsythia* (*Forsyth* - институт в Бостоне, в котором впервые была выделена *Tannerella forsythia*).

Ввиду высоких потребностей в питательных веществах (нуждается в производном пептидогликанового каркаса) микроорганизм трудно культивировать, поэтому он изучен недостаточно. Известно лишь несколько предполагаемых факторов патогенности *T. forsythia*, однако имеется ряд немногочисленных подтверждений передачи от человека к человеку в качестве экзогенного возбудителя.

Факторы патогенности

Гидролазы

T. forsythia образует трипсиноподобные протеазы - аргининспецифичную цистеиновую протеазу и сиалидазу. Цистеиновая протеаза обладает также гемолитической активностью, ее обнаруживают в мембранных фракциях микроорганизма, что может указывать на ее участие в приобретении железа из эритроцитов.

Этапы симбиоза и вирулентность

Первый этап: инфективность

При участии белково-белковых взаимодействий *T. forsythia* коагрегирует с *P. gingivalis*, причем процесс подавляется сывороткой крови. Возможна коагрегация и с *S. cristatus* - комменсальным стрептококком бляшки.

Адгезия

В связывании *T. forsythia* с фибронектином и фибриногеном участвует BspA - поверхностный антиген с богатыми лейцином повторами. *T. forsythia* может прикрепляться также к эритроцитам, фибробластам и лейкоцитам.

22.4. *TREPONEMA DENTICOLA* (ТРЕПОНЕМА ДЕНТИКОЛА)

Treponema denticola - один из пародонтопатогенных видов (второго порядка), способных к инвазии, синтезу экзотоксина и внутриклеточному паразитизму (рис. 22-5).

Этимология

Treponema denticola (по Flügge, 1886) (от лат. *treponemat*, *treponema*; от греч. *trepein* - «вращаться, изгибаться»).

Этот вид удовлетворяет всем требованиям классического патогена за исключением одного - пока не удалось установить его передачу от человека к человеку как экзогенного возбудителя, что, возможно, связано с трудностями культивирования и изучения микроорганизма.

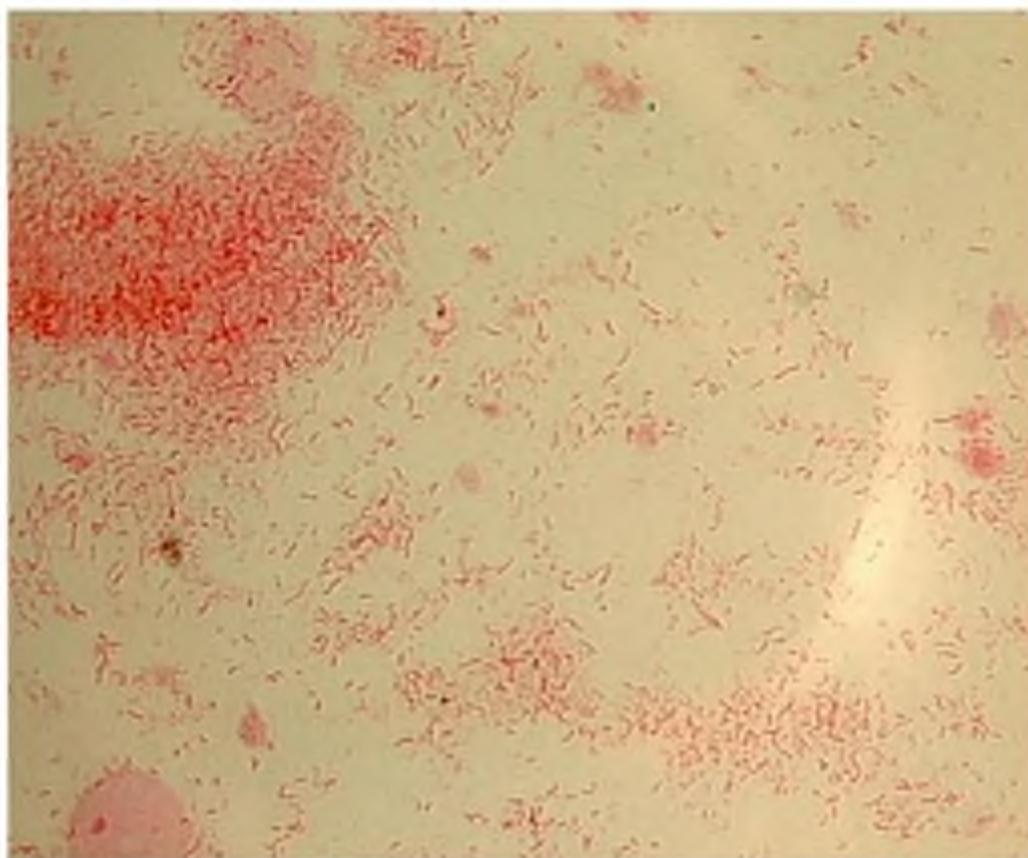


Рис. 22-5. Препарат чистой культуры *Treponema denticola* при световой микроскопии под иммерсией. Окрашивание по Граму. Объектив x90, масл. иммерсия

Факторы патогенности

Основной белок *T. denticola* - олигомерный адгезин массой 53 кДа (Msp), кодируемый генами локуса *prcA-prtP*, обладает цитопатической активностью. Msp является пориноподобным белком наружной мембраны, нарушает метаболизм Ca^{2+} и сборку

цитоскелета фибробластов. Основной белок наружной мембраны Msp *T. denticola* связывается с фибронектином, фибриногеном и ламинином, играя важную роль в адгезии к клеткам организма хозяина. Он токсичен для клеток Hela, оказывает цитотоксическое действие на десневые фибробласты, эпителиальные клетки, лимфоциты и эритроциты. Msp усиливает воспалительный ответ, индуцируя дегрануляцию нейтрофилов, выделение коллагеназ, желатиназ и матриксных металлопротеиназ MMP-8 и MMP-9.

Гемин- и лактоферринсвязывающие белки

У *T. denticola* выявлено не менее 2 механизмов связывания гемина, в одном из которых участвует фосфолипаза С. Геминсвязывающие белки считают компонентами особого пути захвата железа. У *T. denticola* идентифицированы также белки, связывающие лактоферрин. Используя рецепторы своей наружной мембраны (массой 17 и 43 кДа), микроорганизм может утилизировать лактоферрин слюны.

Протеазы

На клеточной поверхности экспрессирована наиболее изученная протеаза - дентилизин, или треполизин, - хемотрипсиноподобная сериновая протеаза, гидролизующая фибриноген, трансферрин, желатин, сывороточный альбумин, ламинин, коллаген IV, IgG и IgA *in vitro*, а также деградирующая брадикинин, субстанцию Р, ангиотензин I и II, ингибиторы протеаз клеток хозяина, α_1 -антитрипсин, антихемотрипсин, α_2 -макроглобулин, антитромбин III, антиплазмин и цистатин С. PrtP - комплекс с протеазной активностью, состоящий из денсилитина, PrcA1 и PrcA2 протеинов массой 72, 40 и 30 кДа соответственно. Этот пролилфенилаланинспецифичный протеиназный комплекс обладает широким спектром активности. Он способствует пенетрации тканей *T. denticola* и модулирует продукцию воспалительных цитокинов. Продукт гена *prcA* - PrcA массой 70 кДа расщепляется белком PrtP на белки массой 40 и 30 кДа (PrcA1 и PrcA2 соответственно). Предполагают, что расщепление необходимо либо для формирования комплекса, либо для его стабилизации. Все они обладают адгезивной способностью и цитотоксической активностью против эпителиальных клеток. PrtP участвует в связывании *T. denticola* с *P. gingivalis*. У *T. denticola* обнаружен ряд других протеолитических ферментов, способных разрушать структурные компоненты пародонта и биологически активные молекулы хозяина.

Этапы симбиоза и вирулентность

Первый этап: инфективность и образование биопленки

Адгезия к фибробластам. *T. denticola* адгезируют к десневым фибробластам человека в аэробных и анаэробных условиях (вероятно, за счет взаимодействия лектина микроорганизма с галактозо- и маннозо-содержащим рецептором фибробласта).

Большинство штаммов *T. denticola* связываются с внеклеточными белками, например, в базальной мембране - с фибронектином, ламинином, коллагенами типов I и IV, а также фибриногеном и желатином (наиболее прочно - с ламинином). В специфической связи с каждым белком участвуют его сульфгидридные и карбоксильные группы. Ламинин, фибронектин и фибриноген связываются с главным белком (53 кДа) *T. denticola*. Очищенный мембранный комплекс CTLP (дентилизин) может гидролизовать IgA, IgG, фибриноген, α_1 -антитрипсин, желатин, ламинин, сывороточный альбумин и трансферрин. Он также связывается с гиалоуронатом - полисахаридом многослойного плоского эпителия полости рта.

Эпителиальные клетки. *T. denticola* может связываться с эпителиоцитами и вызывать цитопатический процесс. Предполагают, что в адгезии участвует дентилизин, который при этом взаимодействует с главным белком наружной мембраны (Msp) микроорганизма. Считается, что Msp интегрирует в плазматическую мембрану клетки хозяина и опосредует перенос в нее поверхностных компонентов микроорганизма. Обладая цитотоксичностью,

дентилизин вызывает также «вспенивание» мембраны эпителиоцита, подавляет адгезию и подвижность мигрирующих клеток.

Эндотелиальные клетки. *T. denticola* может адгезировать к эндотелию, связываясь с клетками на всем их протяжении и часто используя для этого микроворсинки клеток хозяина.

Коагрегация. *T. denticola* коагрегирует с *P. gingivalis* и фузобактериями, что может иметь значение для формирования зубной бляшки, а также для питания бактерий.

Подвижность. Подвижность считается ключевым фактором вирулентности спирохет, так как неподвижные мутанты неспособны инфицировать ткани хозяина. Подобно другим спирохетам, подвижность *T. denticola* зависит от вязкости среды. В десневой борозде она высока, поэтому подвижность может обеспечить бактерии проникновение в ткани. Благодаря подвижности *T. denticola* выявляли между клетками эпителия, которые в норме очень плотно соединены, в соединительной ткани и на поверхности альвеолярной кости.

Второй этап: инвазивность и проникновение в клетки

Проникновение в ткани. На модели абсцесса в условиях как нарушенной, так и нормальной функции нейтрофилов *T. denticola* вызывает стойкие глубокие очаги. Другие трепонемы ротовой полости вызывали подобные поражения, но они не были связаны с активностью химотрипсиноподобных протеаз.

Инвазия клеток. *T. denticola* может пенетрировать прочные монослои эпителиальной и эндотелиальной ткани, а также проникать в эпителиоциты.

Протеолитическая активность. Дентилизин (PrtP/CTLP) нарушает межклеточные связи и, соответственно, ослабляет барьерную функцию эпителия. Дефицитный по протеазной активности мутант, в отличие от исходного штамма, не разрушал соединения между мышинными эпителиальными клетками.

Третий этап: токсическое действие

T. denticola способны агглютинировать и лизировать эритроциты. Гемагглютинирующая активность зависит от фазы роста и наличия гемолизина (белка массой 45 кДа). Он гомологичен аминотрансферазам и связывается с D-глюкозаминоподобными компонентами. Гемолиз может вызывать и дентилизин. Лизаты *T. denticola* подавляют пролиферативный ответ лимфоцитов человека (без нарушения их жизнеспособности, но при участии моноцитов) на антигены и мутагены, таким образом оказывая иммуносупрессорное действие. Липопротеиновая фракция микроорганизма модулирует защитные механизмы полиморфноядерных лейкоцитов (зависимые и независимые от кислорода). Прямых доказательств роли микроорганизма в декструкции костной ткани нет.

22.5. *PREVOTELLA INTERMEDIA* (ПРЕВОТЕЛЛА СРЕДНЯЯ)

Prevotella intermedia - один из пародонтопатогенных видов (второго порядка), способных к инвазии и синтезу токсинов и внутриклеточному паразитизму.

Этимология

Род *Prevotella* (*Prevotella*) назван в честь французского микробиолога А.Р. Prevot, пионера в области анаэробного культивирования микроорганизмов. Название образовано на основе лат. сущ. ж. р. с окончанием -*ella*; *intermedia* (от лат. *inter* - между, *media* от лат. *medius* - средний). Значение - промежуточный (по цвету, форме, функциям).

Факторы патогенности

Фимбрии

Различают 4 типа фимбрий *P. intermedia*. В основе их классификации лежит диаметр фимбрий. Тип и характер их расположения зависят от штамма: некоторые не образуют фимбрии, другие - только один тип, третьи - несколько типов фимбрий.

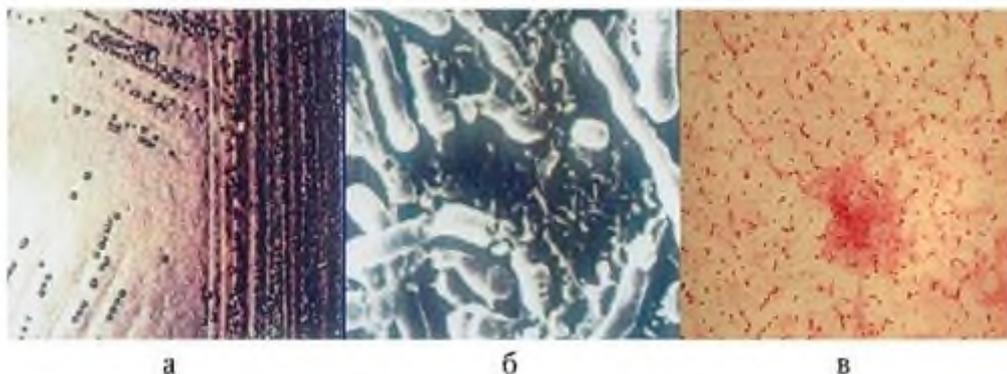


Рис. 22-6. Препарат чистой культуры *Prevotella intermedia*: а - рост чистой культуры на 5% кровяном геминагаре. Видны черные пигментированные колонии; б - при сканирующей электронной микроскопии с компьютерной обработкой. Увеличение $\times 50\,000$; в - при световой микроскопии под иммерсией. Окрашивание по Граму. Объектив $\times 90$, масл. иммерсия

Гидролазы

Для *P. intermedia* характерна гидролитическая, в том числе протеолитическая, активность. Выраженность этих свойств зависит от штамма. Цистеиновые протеазы *P. intermedia* отщепляют CD14 и липополисахаридсвязывающий белок (LBP), модулируя, таким образом, вирулентность ЛПС. В дозозависимой манере они снижают экспрессию IL-1 β -специфической mRNA на активированных ЛПС макрофагоподобных клетках U937 и THP-1. Хотя эти свойства подробно не изучены, они могут играть важную роль в развитии инфекционного процесса с участием *P. intermedia*.

Гемолизин и гемагглютинин

Связанные с поверхностью *P. intermedia* везикулы наружной мембраны обладают термолabileм гемолитической активностью. По-видимому, она обусловлена многокомпонентным гемолизинном, существующим как минимум в двух функциональных формах.

P. intermedia могут агглютинировать эритроциты, причем термолabileмная агглютинация может быть обусловлена главными фимбриями, а термостабильная - ЛПС-подобными структурами.

Этапы симбиоза и вирулентность

Первый этап: инфективность

Коагрегация. Коагрегация *P. intermedia* - высокоспецифичный процесс. Определенные штаммы коагрегируют только с отдельными видами *Actinomyces*, так как некоторые структуры микроорганизма видоспецифичны по отношению к актиномицетам. В коагрегации участвуют поверхностный белок или гликопротеин *P. intermedia*.

Адгезия.

Эпителиальные клетки. Клетки *P. intermedia* могут прилипать к буккальным эпителиоцитам. Подобно гемагглютинации, эта способность зависит от штамма. Наибольшим аффинитетом обладают штаммы с фимбриями типа С.

Белки хозяина. Связываясь с коллагеном типа I, *P. intermedia* может колонизировать внеклеточный матрикс. Микроорганизм связывается также с фибриногеном, ламинином и

IgG, а также разрушает лактоферрин (что способствует адгезии к эпителиоцитам, фибробластам и колонизации ткани).

Второй этап: инвазивность

Инвазия эпителиальных клеток. Эти микроорганизмы одними из первых колонизируют ротовую полость в начале инфекционного процесса, связываясь или приликая к другим бактериям и эпителиальным клеткам. Инвазия бактерий из биопленки в соединительную ткань считается особенно важным этапом патогенеза пародонтита. У экспериментально инфицированных крыс *P. intermedia* обнаруживали в эпителии и соединительной ткани полости рта. Инвазия микроорганизмом эпителиальных клеток, по-видимому,

Третий этап: токсичность

ЛПС и поверхностные компоненты *P. intermedia* могут индуцировать экспрессию лимфокинов воспаления (IL-1, IL-6, IL-8). IL-1 β способствует резорбции костной ткани, IL-8 - хемокин для ПЯЛ, а IL-6 - провоспалительный цитокин, вызывающий пролиферацию Т- и В-лимфоцитов. Гликопротеиновая фракция, не относимая к ЛПС, индуцирует секрецию IL-8, гранулоцитарного и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующих факторов, а также ICAM-1 десневыми эпителиоцитами человека. Некоторые штаммы могут также активировать $\nu\beta$ -специфические CD4⁺-Т-лимфоциты. Указанные механизмы воспаления, вероятно, участвуют в патогенезе заболевания пародонта.

Патогенность *P. intermedia* и *P. nigrescens* снижается в присутствии глюкозы, так как при этом они меньше выделяют конечные цитотоксические продукты метаболизма: сукцинат, изобутират, изовалериат и аммоний.

22.6. *EIKENELLA CORRODENS* (ЭЙКЕНЕЛЛА)

Eikenella corrodens - один из пародонтопатогенных видов (второго порядка), способных к инвазии и синтезу токсинов.

Этимология

Eikenella corrodens (*Eiken M.* - датский микробиолог); *corrodens* (от лат. *corrodere* - разъедать).

Этот вид бактерий связывают с заболеваниями пародонта и оппортунистическими инфекциями другой локализации (абсцессами, эндокардитами), но его этиологическое значение и факторы патогенности пока изучены недостаточно.

Факторы патогенности

Пили IV типа

Эти пили *E. corrodens* связаны с фазовой изменчивостью микроорганизма: варианты с пилиями формируют на агаре мелкие колонии с подрытыми краями, без пилей - крупные колонии без углублений. Подобная вариабельность, связанная с пилиями, описана также и у других патогенных видов - *Neisseria gonorrhoeae* и *Moraxella bovis*.

Внеклеточный полисахарид

Клетки *E. corrodens* окружает связанный с поверхностью слизистый слой экзополисахаридов, который может препятствовать фагоцитозу. Очищенный экстракт слизи также проявляет иммуносупрессивную активность.

Липополисахариды

ЛПС *E. corrodens* агглютинирует эритроциты. Возможна его роль в адгезии к эпителиоцитам. В органной культуре ЛПС вызывает резорбцию костной ткани.

Белки наружной мембраны

Белки наружной мембраны *E. corrodens* вызывают ряд цитотоксических эффектов и, вероятно, являются факторами патогенности. Функции главного белка (РОМР массой 33-42 кДа) не выяснены, хотя он может быть порином. В низких дозах он индуцирует выброс лизосомальных ферментов макрофагами, в высоких - вызывает цитотоксический эффект. К тому же он нарушает фагоцитоз макрофагами, вызывает агрегацию тромбоцитов и снижает активность комплемента.

Этапы симбиоза и вирулентность

Первый этап: инфективность

Адгезия. *E. corrodens* адгезирует к различным клеткам хозяина (эпителиальным клеткам, макрофагам, эритроцитам и др.). В адгезии участвует лектиноподобная N-ацетил-D-глюкозаминспецифичная субстанция (EcLS). В ее состав входит пориноподобный белок. *In vitro* *E. corrodens* коагрегирует (вероятно, при участии EcLS) с *Actinomyces viscosus* и *Streptococcus sanguis*. Имеются данные, что EcLS - не единственный адгезин *E. corrodens*.

Второй этап: инвазивность

Инвазия микроорганизмом эпителиоцитов до настоящего времени не доказана.

Третий этап: токсичность

Под влиянием клеток *E. corrodens* или продуктов их жизнедеятельности (растворимых частиц размером менее 10 кДа) человеческие эпителиоциты секретируют медиаторы воспаления - ИЛ-6, ИЛ-8 и простагландин E2. Подобная экспрессия цитокинов может инициировать и поддерживать воспаление в ходе хронической инфекции.

Подавление роста клеток. Белок *E. corrodens*, выделенный из бесклеточных растворимых экстрактов микроорганизма и из зубной бляшки (P80/лизиндекарбоксилаза), вызывает подавление роста эпителиальных клеток за счет захвата из культуральной среды лизина и превращения его в кадаверин.

22.7. FUSOBACTERIUMNUCLEATUM (ВЕРЕТЕНООБРАЗНАЯ ПАЛОЧКА)

Fusobacterium nucleatum - один из пародонтопатогенных видов (второго порядка), способных к инвазии и синтезу токсических метаболитов (рис. 22-7).

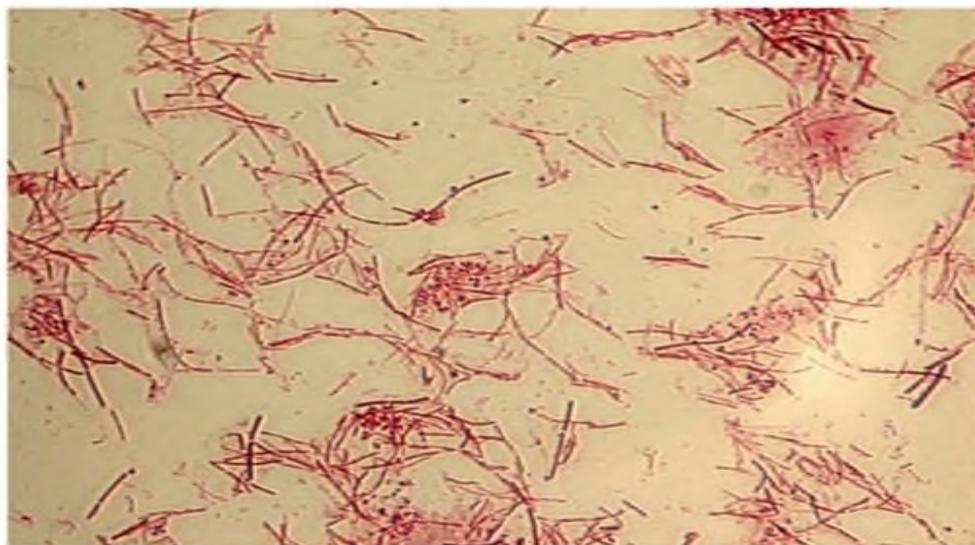


Рис. 22-7. Препарат чистой культуры *Fusobacterium nucleatum* при световой микроскопии под иммерсией. Окрашивание по Граму. Объектив x90, масл. иммерсия

Этимология

Fusobacterium (от лат. сущ. *fuscus* - веретено, *bacterium* - палочка), *nu-cleatum* - нуклеарная (имеющая ядро, ядерная).

Является представителем резидентной микрофлоры полости рта в незначительных количествах. Популяция микроорганизма резко увеличивается при развитии пародонтита и других гнойно-воспалительных процессов.

Факторы патогенности

Для вирулентности *F. nucleatum* важны его токсические метаболиты, которые могут препятствовать пролиферации клеток хозяина или вызывать их гибель (например, фибробластов). Продуцируемые микроорганизмом и определяемые в экстрактах зубных бляшек бутират, пропионат и ионы аммония могут подавлять пролиферацию десневых фибробластов.

При разрушении бактерий выделяется эндотоксин (ЛПС), влияющий на микроциркуляцию в капиллярах.

Этапы симбиоза и вирулентность

Первый этап: инфективность

Коагрегация. Подобно большинству бактерий десневой борозды, фузобактерии широко участвуют в межродовой коагрегации. Коагрегацию обычно опосредуют белковые адгезины на поверхности наружной мембраны. Связываясь со многими бактериями полости рта, фузобактерии могут играть роль якоря для более прихотливых грамотрицательных микроорганизмов поздней колонизации, в частности, *P. gingivalis* (рис. 22-8).

F. nucleatum прочно связывается с фибронектином - крупным гликопротеином, который обнаруживается не только во внеклеточном матриксе, но также в слюне и плазме. В условиях *in vitro* микроорганизм связывается также с коллагеном IV и мембраноподобными матриксами базальной мембраны. *F. nucleatum* может адгезировать к ПЯЛ, макрофагам, лимфоцитам, клеткам HeLa, фибробластам и буккальному эпителию. Адгезия осуществляется с помощью нескольких механизмов. Так, в адгезии к лимфоцитам и эритроцитам участвует лектинозависимый механизм, подавляемый галактозидами. Напротив, агглютинацию эритроцитов подавляет не N-ацетилглюкозамин, а L-аргинин.



Рис. 22-8. Препарат субгингивальной бляшки. Сканирующая электронная микроскопия. Видны бактерии разных размеров и форм. Bar = 10 μm

Второй этап: инвазивность

F. nucleatum может проникать в клетки десневого эпителия, при этом наблюдается выраженная секреция провоспалительного цитокина IL-8 этими клетками.

Третий этап: токсичность

В патогенезе воспаления играют роль ЛПС (эндотоксин) и токсические метаболиты.

ГЛАВА 23. ЭТИОЛОГИЯ И ПАТОГЕНЕЗ ГИНГИВИТА

Гингивит - поверхностное воспаление, которое ограничивается пределами слизистой оболочки десны и характеризуется обратимыми воспалительными изменениями тканей пародонта, обусловленными микрофлорой зубной бляшки.

Этиология

Гингивит может иметь инфекционную, инфекционно-аллергическую, токсико-аллергическую природу.

Общее количество микроорганизмов при гингивите в 10-20 раз больше, чем в здоровом пародонте. Еще до появления клинических симптомов темнопольная микроскопия позволяет выявить изменение состава микрофлоры: увеличение грамотрицательной и смену кокковой микрофлоры палочковидными формами.

Бактериологическое исследование бляшки, расположенной по краю десны, выявило превалирование различных видов актиномицетов в период перед развитием гингивита. При длительном гингивите поддесневая микрофлора характеризовалась увеличением количества грамотрицательных палочек - фузобактерии, бактероиды, гемофильные палочки, кампилобактер и другие составляли около 45% всей культивируемой микрофлоры. Грамположительные микроаэрофильные палочки, в основном *Actinomyces naeslundii*, *A. viscosus*, *A. israelii*, обнаруживали с частотой около 25% (рис. 23-1).

В небольших количествах выделяли пропионибактерии и зубактерии. В 27% случаев обнаружены грамположительные микроаэрофильные и анаэробные стрептококки (рис. 23-2).

Патогенез

Воздействие бактериальных токсинов обеспечивает воспалительную реакцию с отеком десневых сосочков, гиперемией и лейкоцитарной инфильтрацией десневого эпителия. Существенную роль в патогенезе гингивита, и особенно пародонтита (см. ниже) играют иммунные механизмы.

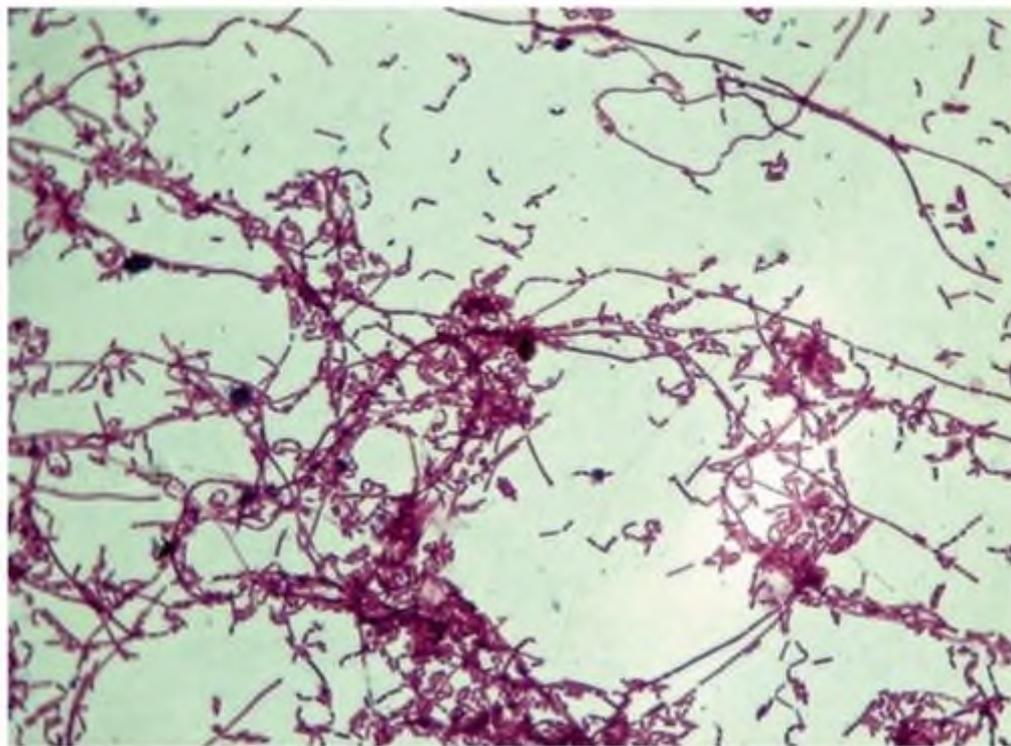


Рис. 23-1. Препарат субгингивальной биопленки при гингивите. Окрашивание по Граму. Преобладание нитевидных форм и актиномицетов

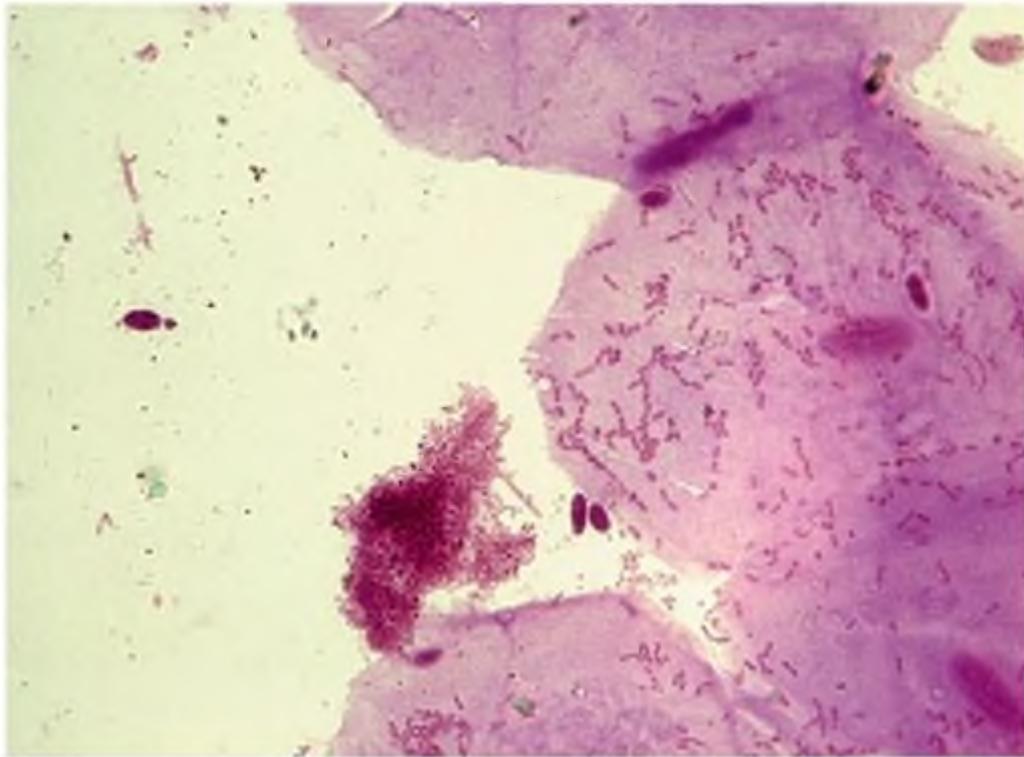


Рис. 23-2. Соскоб десневого эпителия при гингивите. Окрашивание по Граму. Массивная инвазия стрептококковой микрофлоры

Первые представления об иммунопатогенезе пародонтита сформировались под влиянием работ *R. Page* и *M. Schroeder*, подробно описавших гистологические признаки развивающегося очага поражения тканей пародонта. Они выделили 4 стадии патологических изменений в тканях пародонта и появления в них клеток иммунного ответа: первичное, раннее, стойкое и далеко зашедшее поражение.

Гистология первичного поражения соответствует острому воспалению и характеризуется сосудистыми изменениями, деградацией коллагена, видоизменениями эпителиальных клеток и инфильтрацией ткани нейтрофилами. Ввиду отсутствия самих бактерий в тканях предполагается, что эти изменения обусловлены хемотаксисом нейтрофилов к бактериальным компонентам, а также активацией иммунной системы - комплемента, кининовой системы и арахидонового пути. Раннее поражение отличается инфильтрацией тканей лимфоидными клетками (преимущественно Т-лимфоцитами), усилением деградации коллагена и дальнейшими изменениями эпителия, предвещающими его миграцию к корням зубов. Возрастает количество В-лимфоцитов, которые будут доминировать в стадии стойкого поражения наряду с плазматическими клетками и мононуклеарными фагоцитами, а также большим количеством нейтрофилов, инфильтрирующих эпителий.

На стадиях раннего и стойкого гингивита наблюдаются хронический воспалительный инфильтрат и деформации сосудов, а изменения тканей, включая деструкцию коллагена и пролиферацию эпителиоцитов, отражают различные иммунопатологические процессы. Хотя непосредственное участие специфических механизмов не доказано, по-видимому, бактериальные продукты, взаимодействуя с мононуклеарными фагоцитами и фибробластами, активируют систему местного иммунитета и цитокиновые пути, совокупность которых достаточна для развития указанных изменений.

Цитокины, ответственные за привлечение, дифференциацию и пролиферацию лимфоцитов и моноцитов, вероятно, обеспечивают переход от Т- к В-клеточному доминированию в очаге, а хемоаттрактанты бактерий или хозяина (системы комплемента и

арахидоновой кислоты) привлекают нейтрофилы. Следует отметить, что при гингивите удаление бактериальной бляшки с поверхности зуба может приводить к обратному развитию очага и практически полному восстановлению тканей.

Клиническая картина

Гингивит клинически проявляется болезненностью и припухлостью десен на фоне плохой гигиены полости рта, в тяжелых случаях - изъязвлением (язвенно-некротический гингивит). Для гингивита характерны покраснение десен (гиперемия), отек, кровоточивость, изменение контуров ткани, нарушение прилегания ткани к зубу и наличие воспалительного экссудата (рис. 23-3). Развитие процесса четко зависит от присутствия и накопления бактерий в зубной бляшке, стимулирующих патологический иммунный ответ.

Течение, как правило, острое и непродолжительное (до 2-3 нед), за исключением тяжелых форм, связанных с иммунодефицитами или эндокринной патологией (сахарным диабетом, например). При более продолжительном течении и повторных обострениях гингивит рассматривают как начальную фазу пародонтита.



Рис. 23-3. Состояние десны при остром катаральном гингивите

Лечение

Как правило, при гингивите антибиотиков системного назначения не требуется, используются местные антибактериальные препараты. Исключение составляют больные, имеющие дефекты со стороны иммунной системы с язвенно-некротическими поражениями полости рта и десны, - так называемый некротический стоматит (язвенно-некротический гингивостоматит Венсана), основными возбудителями которого являются *F. nucleatum*, *F. necroforum*, *T. vinsentii*, *T. denticola*, *W. recta*, *P. me-laninogenica*, *P. gingivalis* и *P. intermedia* (рис. 23-4).



Рис. 23-4. Состояние десны при остром язвенно-некротическом гингивите

Препараты для эмпирической химиотерапии приведены в табл. 23-1. Длительность терапии зависит от степени тяжести течения (7-10 сут).

Таблица 23-1. Эмпирическая антибактериальная химиотерапия при язвенно-некротическом гингивостоматите Венсана

Препараты выбора	Формы пероральные для ступенчатой терапии	Альтернативные	Формы пероральные для ступенчатой терапии
Ампициллин в дозе 1 г 4 раза в сутки внутримышечно в сочетании с метронидазолом по 500 мг 3 раза в сутки (внутривенно или внутрь в зависимости от тяжести)	Ампициллин в дозе 0,5 г/сут 4 раза в сутки в сочетании с метронидазолом по 200-250 мг 3 раза в сутки	Цефотаксим внутримышечно в дозе 1 г 3 раза в сутки (2-3 дня)	Цефиксим в дозе 400 мг 1 раз в сутки
Рокситромицин в дозе 150 мг 2 раза в сутки в сочетании с метронидазолом по 500 мг 3 раза в сутки (внутривенно или внутрь в зависимости от тяжести)	Рокситромицин в дозе 150 мг 2 раза в сутки в сочетании с метронидазолом по 500 мг 3 раза в сутки	Кларитромицин в дозе 500 мг в сутки внутривенно (2-3 сут)	Кларитромицин в дозе 500 мг 2 раза в сутки в сочетании с тинидазолом по 1000 мг 1 раз в сутки, в последующие дни - по 500 мг
Азитромицин 1 раз в сутки в дозе 500 мг, в	Доксициклин в дозе 200 мг 2 раза в сутки	Метациклин в дозе 300 мг 2 раза в сутки в	Тинидазол 1000 мг 1 раз

последующие дни - по 250 мг		сочетании с метронидазолом по 500 мг 3 раза в сутки (внутривенно или внутрь в зависимости от тяжести)	в сутки, в последующие - по 500 мг
-----------------------------	--	---	------------------------------------

ГЛАВА 24. ЭТИОЛОГИЯ И ПАТОГЕНЕЗ ПАРОДОНТИТА

Пародонтит - инфекционно-воспалительное поражение всего комплекса поддерживающих структур зубов (пародонта) с прогрессирующей деструкцией десны, пародонтальной связки и альвеолярной кости, ведущее к выпадению зубов.

Этиология

Анализ данных молекулярно-генетических и микробиологических исследований позволил сделать заключение, что у больных хроническим генерализованным пародонтитом в стадии обострения. Распространенность разных видов, которые принято считать пародонтопатогенными, существенно различалась (табл. 24-1).

Таблица 24-1. Частота встречаемости основных представителей микрофлоры пародонтального кармана

Группа видов	Количество штаммов	Частота встречаемости, %
1. Пигментообразующие бактероиды:	76 (38*)	8,32
<i>Tannerella forsythia</i>	21 (21*)	2,30
<i>Prevotella intermedia</i>	22 (8*)	2,41
<i>P. melaninogenica</i>	13	1,42
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	20 (9*)	2,19
2. Грамотрицательные анаэробные бактерии:	76	8,32
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	16 (6*)	1,75
<i>Fusobacterium spp.</i>	34	3,72
<i>Eikenella corrodens</i>	3	0,33
<i>Treponema denticola</i>	19 (19*)	2,08
<i>Wollinella recta</i>	4	0,44
3. Грамположительные анаэробные бактерии	120	13,14
<i>Actinomyces naeslundii</i>	21	2,30
<i>A. israelii</i>	8	0,88
<i>A. viscosus</i>	8	0,88
<i>Actinomyces spp.</i>	20	2,19

<i>Peptostreptococcus micros</i>	15	1,64
<i>Streptococcus intermedius</i>	48	5,26

Окончание табл. 24-1

Группа видов	Количество штаммов	Частота встречаемости, %
4. Бактерии-транскионты	45	4,93
<i>Enterobacter spp.</i>	15	1,64
<i>Klebsiella spp.</i>	11	1,21
<i>Pseudomonas aeruginosae</i>	3	0,33
<i>Haemophilus spp.</i>	6	0,66
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	0,44
<i>Staphylococcus spp.</i>	6	0,66
5. Стабилизирующая резидентная микрофлора	181	20,02
<i>Streptococcus sanguis</i>	62	6,79
<i>S. salivarius</i>	12	1,31
<i>S. milleri</i>	11	1,21
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	27	2,96
<i>Peptococcus saccharolyticus</i>	14	1,53
<i>Enterococcus spp.</i>	19	2,08
<i>Veillonella spp.</i>	6	0,66
<i>Prevotella oralis</i>	7	0,77
<i>Corinebacterium spp.</i>	8	0,88
<i>Lactobacillus spp.</i>	7	0,77
<i>Neisseriae spp.</i>	8	0,88
6. Дрожжеподобные грибы	19	2,08
<i>Candida albicans</i>	6	0,66
<i>C. stellatoidea</i>	2	0,22
<i>C. krusei</i>	1	0,11
<i>Candida spp.</i>	10	1,20
Всего	913	100,0

* Выявлены у пациентов только по данным ПЦР с ДНК-гибридизацией.

В ассоциациях доминировали представители следующих видов: *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* (по старой номенклатуре - *Bacteroides forsythus*), *Fusobacterium nucleatum*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (по старой номенклатуре - *Actinobacillus actinomycescomitans*), *Treponema denticola*, *Wolinella recta* (по старой номенклатуре - *Campylobacter rectus*), *Actinomyces naeslundii*, *A. israelii*, *Streptococcus intermedius*, *Peptostreptococcus micros*.

При бактериологическом исследовании с применением техники анаэробного культивирования типичным является выделение пигментообразующих бактерий группы бактероидов, в частности, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis* (рис. 24-1).



Рис. 24-1. Культура *P. intermedia*, выделенная из пародонтального кармана. 5% кровяной геминагар

Проведение ПЦР с последующей обратной гибридизацией ДНК позволило выделить ряд пародонтопатогенных видов, о находках которых ранее в отечественной литературе достоверных данных не приводилось. В частности, при обследовании экссудата пародонтального кармана выявлены маркеры *T. forsythia*, *T. denticola*, *A. actinomycetemcomitans*.

Обнаружение маркеров пигментообразующих *P. intermedia* и *P. gingivalis* с помощью ПЦР существенно превышало количество находок традиционным бактериологическим

методом: они выявлены в 61,1% случаев с помощью ПЦР и только в 39,8% случаев - с помощью анаэробного культивирования. Современные представления об этиологии пародонтита основаны на экологической гипотезе зубной бляшки. В соответствии с ней резидентная микрофлора десневой борозды проявляет патогенные свойства под влиянием факторов, запускающих изменение соотношения или патогенного потенциала резидентных микроорганизмов. Следовательно, для возникновения и развития заболевания требуются присутствие достаточного количества потенциально патогенных микроорганизмов или их групп, отсутствие полезных видов (дисбиоз) и наличие специфических факторов предрасположенности хозяина.

Микроорганизмы, выделенные из пародонтального кармана, можно разделить на следующие группы:

- группу 1 - пигментообразующие бактероиды (*Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *P. melaninogenica*, *Porphyromonas gingivalis*);

- группу 2 - прочие грамотрицательные анаэробные бактерии (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium spp.*, *Eikenella corrodens*, *Treponema denticola*, *Wollinella recta*);

- группу 3 - грамположительные анаэробные бактерии (*Actinomyces naeslundii*, *A. israelii*, *A. viscosus*, *Peptostreptococcus micros*, *Streptococcus intermedius*);

- группу 4 - стабилизирующую резидентную микрофлору (*Streptococcus sanguis*, *S. salivarius*, *Veillonella spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*);

- группу 5 - трансбионты - бактерии, свойственные другим биотопам (*Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus spp.*);

- группу 6 - дрожжеподобные грибы рода *Candida* (*Candida albicans*, *C. stellatoidea*, *C. krusei*, *Candida spp.*).

Бактериальные ассоциации при пародонтите могут носить различный характер, что необходимо учитывать при антибактериальном лечении (табл. 24-2).

Таблица 24-2. Характер бактериальных ассоциаций при пародонтите

Основные компоненты ассоциаций	Число выделенных ассоциаций	
	абс.	%
Пигмент (+) бактероиды, грамотрицательные и грамположительные анаэробы	23	27,7
+ трансбионтная микрофлора	9	10,8
Грамотрицательные и грамположительные анаэробы	24	28,9
+ трансбионтная микрофлора	11	13,3
+ грибы рода <i>Candida</i>	7	8,4
Грамположительные анаэробы	24	28,9
+ трансбионтная микрофлора	13	15,7
+ грибы рода <i>Candida</i>	7	8,4

Патогенез

Заболевание пародонта возникает вследствие контакта бактерий зубной бляшки с тканями десны. Ввиду обнаружения *P. gingivalis* в десневой ткани можно предположить, что эти микроорганизмы после колонизации слизистой оболочки преодолевают эпителиальный барьер. *P. gingivalis* могут инвазировать эпителиоциты и размножаться внутри-клеточно.

Инвазия - результат взаимодействия главных фимбрий микроорганизма с интегринами на поверхности эпителиоцитов. Это взаимодействие активирует сигнальную систему, что ведет к цитоскелетной перестройке клетки и погружению в нее (эндоцитозу) прилипшей бактерии. Сигнальный путь включает изменение внутриклеточных концентраций ионов кальция и модулирование митогенактивируемых протеинкиназных каскадов эукариотической клетки. Колонизация внутри клетки (интернализация) занимает несколько минут, поэтому вскоре в перинуклеарном пространстве клетки накапливается множество бактерий.

Повреждение сигнальной системы эпителиоцита может приводить к подавлению транскрипции и секреции нейтрофилами IL-8. К тому же *P. gingivalis* может противодействовать секреции IL-8 после стимуляции десневых эпителиоцитов комменсалами зубной бляшки. В целом это может существенно ослабить местный иммунный ответ. Помимо инвазии, *P. gingivalis* может разрушать компоненты межклеточного соединения (белок окклюдин), адгезии (E-кадгерин) и связи с внеклеточным матриксом. Это способствует межклеточному проникновению бактерий в более глубокие участки ткани.

Клиническая картина

Клинические признаки пародонтита - деструкция соединительной ткани у поверхности корней зубов и резорбция костной ткани, сопровождаемые миграцией прилегающего эпителия к апикальной части зубов (рис. 24-2).

Согласно МКБ-10, различают две основные формы пародонтита - хроническую и агрессивную.

Хронический пародонтит (хронический генерализованный пародонтит - ХГП) - наиболее частая форма пародонтита, которая встречается главным образом у взрослых. Тяжесть заболевания при этом согласуется с местными факторами - выраженностью бляшко- и камнеобразования. Это наиболее широко распространенная нозологическая форма, характеризующаяся длительным рецидивирующим течением гнойного воспаления десен с формированием патологических пародонтальных карманов вследствие нарушения прикрепления десны и постепенным разрушением костной основы зубной альвеолы, приводящим к выпадению зубов. Заболевание в острой фазе сопровождается выраженным выделением гнойного экссудата из пародонтального кармана и кровоточивостью десен.



Рис. 24-2. Состояние десны при хроническом генерализованном пародонтите средней степени тяжести

Деструкция развивается относительно медленно, иногда с короткими периодами ускорения. Характер течения может усугубляться системными (например, сопутствующим диабетом) или внешними факторами (курением). Хроническое течение плохо леченных форм генерализованного пародонтита осложняется формированием пародонтальных абсцессов, иногда множественных. Существует также локализованный пародонтит с формированием пародонтальных карманов в пределах одного-двух зубов, который обычно имеет одонтогенную природу.

При агрессивном пародонтите заболевание быстро прогрессирует, тяжесть заболевания не согласуется с выраженностью локальных факторов. Часто наблюдается семейная распространенность, что указывает на важную роль для восприимчивости наследуемых факторов. Обычно у больных агрессивным пародонтитом обнаруживают нарушения функций ПЯЛ и гиперреактивность макрофагов.

Различают 2 формы агрессивного пародонтита - локализованную, или ЛАП (ранее - локализованный ювенильный пародонтит), и генерализованную. ЛАП начинается в период полового созревания и поражает обычно резцы и первые моляры, а генерализованный обнаруживается, как правило, у лиц старше 30 лет и поражает не менее 3 зубов, не относящихся к резцам и первым молярам.

По разным современным классификациям, кроме описанных выше типичных форм заболеваний пародонта, стоматологи выделяют следующие агрессивные формы:

- препубертатный пародонтит (возраст до 12 лет) - локализованный и генерализованный;
- юношеский (ювенильный) пародонтит (возраст 13-17 лет) - локализованный и генерализованный;
- быстро прогрессирующий пародонтит (18-35 лет);
- пародонтит взрослых (старше 35 лет).

В большинстве классификаций отдельно выделяют также:

- язвенно-некротический пародонтит;

- пародонтит, ассоциированный с системными заболеваниями;
- рефрактерный пародонтит.

Однако, по мнению большинства отечественных исследователей, выделение последних двух групп нецелесообразно. Описанное деление соответствует международной классификации, основной классификации национальных академий стоматологии США, Германии, других стран Западной Европы и России (принята президиумом секции пародонтологии Стоматологической ассоциации России, 2001).

Еще одна форма заболеваний пародонта, очевидно, связанная с инфекцией, нарушением иммунных процессов и эндокринной регуляции, - пародонтоз, который отличается минимальными проявлениями воспалительной реакции и преобладанием дистрофических и атрофических процессов в десне. Однако при этом заболевании также происходит оголение шейки зуба, развивается остеопороз альвеолярной кости, и в конечном счете это приводит к утрате зубов.

По гистопатологическим характеристикам пародонтит представляет стадию далеко зашедшего воспаления, но она во многом сходна со стадией стойкого поражения при гингивите: доминируют плазмциты, усугубляется потеря соединительнотканых элементов и подключается утрата костной ткани под действием остеокластов.

Несмотря на схожесть картины стойкого поражения при гингивите с далеко зашедшим поражением (когда отмечается потеря зубодесневого прикрепления), нельзя утверждать, что последнее является неизбежным следствием стойкого поражения. На самом деле стойкое поражение у некоторых больных сохраняется в течение многих лет без клинических признаков прогрессирования.

В соответствии с современными представлениями, индивидуальная восприимчивость к пародонтиту обусловлена комбинацией факторов риска, включая поведенческие или образа жизни (курение, алкоголь, питание, гиподинамию и др.); биологические (наследственность, возраст, пол, гиперхолестеринемия, артериальную гипертензию и т.д.); социально-психологические; экономические; физико-химические (экологически неблагоприятную среду обитания).

Подчеркивая значение генетических факторов риска, все другие относят к факторам среды, эндо- и экзогенным. Необходимо принимать во внимание то, что эндогенные факторы формируются в результате взаимодействия генетических и экзогенных факторов в онтогенезе.

Для лечения агрессивного и хронического пародонтита необходимо сочетание мероприятий профессиональной гигиены, системного применения антибиотиков и местных антисептических лекарственных форм, предпочтительно пролонгированного действия. Рекомендуемые схемы системной антибактериальной терапии пародонтита приведены в табл. 24-3, однако следует учитывать, что данные схемы направлены на купирование острого воспалительного процесса (т.е. применимы в период обострения). Для обеспечения стойкой ремиссии и полной эрадикации пародонтопатогенных видов, являющихся внутриклеточными паразитами, необходимо применение антибиотиков, которые создают высокие концентрации внутриклеточно. Соответственно, основными препаратами выбора следует считать макролиды (спиромицин, рокситромицин, кларитромицин, азитромицин), фторхинолоны IV поколения (моксифлоксацин, гемифлоксацин), а также тетрациклины (доксикалин) и амфениколы (левомецетин).

Таблица 24-3. Препараты выбора и резерва, рекомендуемые для лечения пародонтита, на основании оценки чувствительности пародонтопатогенных микроорганизмов к антибиотикам (все препараты для приема внутрь)

Препараты выбора	Альтернативные (резерва)
Линкомицин по 1000 мг 2 раза в сутки	Клиндамицин по 150 мг 4 раза в сутки
Ампициллин в дозе 500 мг 4 раза в сутки в сочетании с метронидазолом по 200-250 мг 3 раза в сутки	Как альтернатива метронидазолу - тинидазол в 1-й день в дозе 1000 мг 1 раз в сутки, в последующие - по 500 мг 1 раз в сутки. Орнидазол по 500 мг 2 раза в сутки
Рокситромицин в дозе 150 мг 2 раза в сутки в сочетании с метронидазолом по 200-250 мг 3 раза в сутки	Ципрофлоксацин по 250 мг 2 раза в сутки в сочетании с метронидазолом по 200-250 мг 3 раза в сутки
Амоксициллин в дозе 500 мг 2 раза в сутки в сочетании с метронидазолом по 200-250 мг 3 раза в сутки	Доксициклин в дозе 100 мг 2 раза в сутки в 1-й день и далее по 100 мг 1 раз в день
Спирамицин в дозе 3 млн МЕ 2 раза в сутки	Доксициклин в дозе 250 мг 2 раза в сутки в сочетании с метронидазолом по 200-250 мг 3 раза в сутки
Азитромицин в 1-й день в дозе 500 мг, в последующие - по 250 мг	Хлорамфеникол в дозе 250 мг 4 раза в сутки
Кларитромицин в дозе 500 мг 2 раза в сутки	Рифампицин в дозе 300 мг 2 раза в сутки
Джозамицин в дозе 500 мг 2 раза в сутки	Моксифлоксацин в дозе 450 мг 1 раз в сутки

ГЛАВА 25. ИММУННЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПАРОДОНТА

В развитии пародонтита важное место занимают иммунопатологические процессы.

Имунопатологическими процессами называют механизмы развития заболевания с участием иммунной системы, приводящие к поражению собственных тканей (в данном случае - микроциркуляторного русла и пародонта).

Иммунное повреждение тканей при пародонтите не означает, что этот процесс проходит без прямого участия факторов вирулентности микроорганизма: токсинов, ферментов и других вредных для макроорганизма веществ. Вероятно, на разных стадиях действуют различные комбинации факторов микро- и макроорганизма.

25.1. ВИРУЛЕНТНЫЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИЙ И ИХ СПОСОБНОСТЬ УКЛОНЯТЬСЯ ОТ ИММУННОЙ ЗАЩИТЫ

Отметим некоторые особенности вирулентных свойств бактерий полости рта, имеющих отношение к иммунопатогенезу воспалительных заболеваний пародонта.

Деструкция тканей пародонта может быть обусловлена способностью вирулентных бактерий полости рта вызывать гипериммунный ответ организма хозяина и ослаблять иммунную защиту. Для этого бактериям достаточно иметь простое численное превосходство, которого они достигают благодаря своей способности к активному росту и накоплению в биопленке (рис. 25-1).

С этих позиций описанные выше свойства *P. gingivalis* (индукция воспаления и кровотока с последующим использованием гемагглютининов и протеаз для лизиса эритроцитов и получения из них необходимых питательных веществ) являются весьма полезными для микроорганизма. Стимулируя собственный рост и получая численное превосходство над нейтрофилами (защитным барьером), а также выделяя субстанции, поражающие ткани, микроорганизмы способствуют развитию заболевания (рис. 25-2).

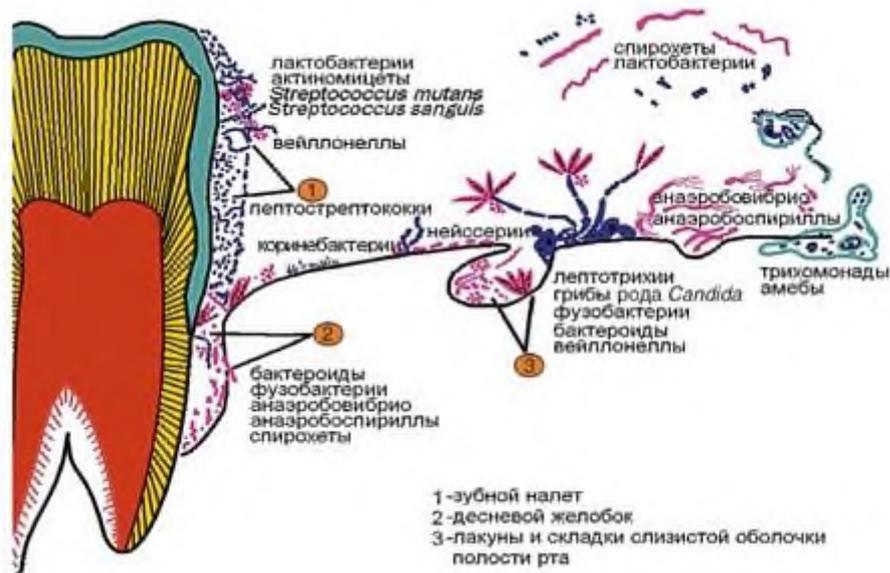


Рис. 25-1. Микрофлора зубов, пародонта, слизистой оболочки полости рта и ротовой жидкости (Царев В.Н., Ушаков Р.В., 1999)

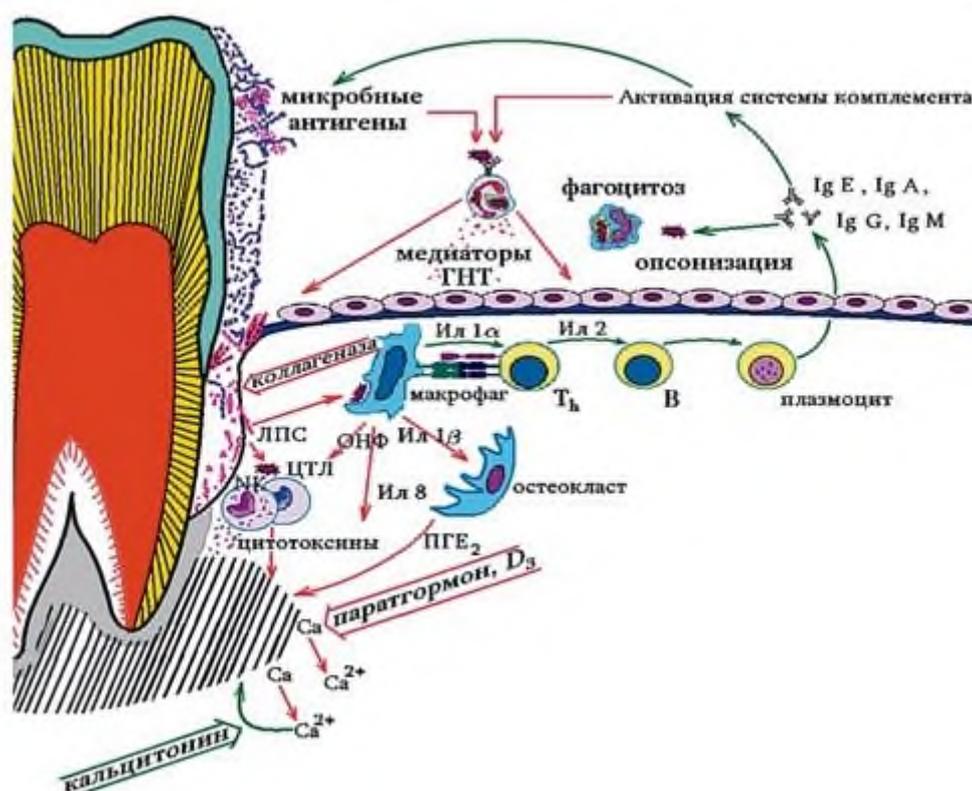


Рис. 25-2. Основные иммунные механизмы при развитии хронического пародонтита (Царев В.Н., 2009)

Показательный пример - *A. actinomycetemcomitans*, которые являются этиологическим фактором как пародонтита, так и системной патологии. Характерное свойство этих

микроорганизмов - способность вырабатывать белок лейкотоксин, воздействующий на такие клетки иммунной системы, как нейтрофилы и моноциты. Развитие лейкотоксин-ассоциированной патологии тесно связано с токсигенными штаммами. Кроме того, штаммы *A. actinomycetemcomitans* могут продуцировать факторы подавления иммунного ответа (ISF), что также гарантирует им выживание. Наконец, *A. actinomycetemcomitans*, проникая внутрь эпителиальных и эндотелиальных клеток, находят временную защиту, например, при лечебных мероприятиях, и плацдарм для диссеминации через кровотоки в другие ткани.

Следовательно, уклонение патогенных микроорганизмов пародонта от иммунной защиты позволяет им довести свою численность до таких уровней, когда появляется возможность инициации деструктивных процессов в ответ на инфицирование.

25.2. РОЛЬ ОТДЕЛЬНЫХ ФАКТОРОВ ИММУННОЙ ЗАЩИТЫ: НЕЙТРОФИЛЫ И АНТИТЕЛА

Как при гингивите, так и при пародонтите нейтрофилы создают барьер вдоль соединительного эпителия и внутри десневой борозды или пародонтального кармана. Они выполняют функцию первой линии защиты от микроорганизмов зубной биопленки. У лиц с редко встречаемыми дефицитами функции нейтрофилов наблюдаются ранние и тяжело протекающие формы пародонтита. Тяжелый пародонтит, наряду с инфекциями другой локализации, часто обнаруживают у детей раннего возраста, страдающих хронической нейтропенией, циклической нейтропенией и дефицитом адгезии лейкоцитов. Опыт этих редких состояний показывает, насколько важно правильное функционирование нейтрофилов для сдерживания патологических изменений в пародонте и как бактерии зубной бляшки могут преодолевать этот барьер в случае функциональной недостаточности нейтрофилов.

Существуют и менее выраженные дефекты нейтрофилов, часть из которых связана с ранней и быстрой деструкцией тканей пародонта. В этом плане наиболее изучена агрессивная форма пародонтита, которая начинается обычно в пубертатном или молодом возрасте. Давно известно, что у значительной части больных с локализованным агрессивным пародонтитом нарушена функция нейтрофилов (чаще выявляют дефектный хемотаксис). Следует отметить, что это даже неполный дефект - нейтрофилы отвечают на хемотаксические градиенты, но медленнее и с меньшим количеством клеток, чем у здоровых. У таких индивидуумов агрессивный пародонтит может быть единственным проявлением дефекта хемотаксиса нейтрофилов.

Хотя отсутствие нейтрофилов или дефекты их функций могут способствовать развитию заболевания, избыточное присутствие этих клеток в очагах воспаления может приводить к деструкции тканей пародонта. При взаимодействии с бактериями (в том числе и при воспалительных заболеваниях тканей пародонта) нейтрофилы синтезируют и выделяют ряд биологически активных веществ, которые могут поражать и клеточные компоненты пародонта: эндотелиоциты, кератиноциты, фибробласты. В пародонтальном кармане, где множеству различных микроорганизмов биопленки противостоит армия нейтрофилов, сосредоточенная у соединительного эпителия, постоянно выделяются ферменты, синтезируются и выделяются такие метаболиты, как простагландины. Подобные факторы нейтрофилов могут способствовать ферментативному повреждению тканей и резорбции кости.

С другой стороны, ясно, что защита нейтрофилами соединительного эпителия не всегда эффективна: бактерии или антигены, покрытые антителами, вероятно, индуцируют выброс из них гидролитических ферментов, окислительных метаболитов и простаноидов в окружающие ткани.

В сыворотках и десневой жидкости больных пародонтитом обычно выявляют антитела к пародонтопатогенным микроорганизмам. Так, при хроническом пародонтите образуются местные и циркулирующие антитела к *P. gingivalis*, а при агрессивном - к *A. actinomycetemcomitans*. Их обычно считают защитными, поскольку *in vitro* они способствуют фагоцитозу, и их высокий уровень коррелирует со снижением тяжести заболевания.

25.3. НЕСОСТОЯТЕЛЬНОСТЬ ФАКТОРОВ ЗАЩИТЫ ДЕСНЕВОЙ БОРОЗДЫ

Напомним, что отличительные гистопатологические признаки пародонтита - деструкция пародонтальной связки, резорбция альвеолярной кости и миграция прилегающего эпителиально-коллагенового аппарата в апикальном направлении. При отсутствии массивной инфильтрации или бактериальной инвазии этих тканей (по крайней мере, частичной), по-видимому, участвуют иммунопатологические механизмы.

По мере созревания зубной биопленки увеличивается видовой и количественный состав грамотрицательных бактерий. Возросшая численность и множество факторов вирулентности микроорганизмов могут способствовать преодолению местных механизмов защиты хозяина. Например, *P. gingivalis* секретируют протеолитические ферменты, деградирующие белки хозяина - компоненты системы комплемента и антитела. Это может уменьшать опсонизацию бактерий в десневой борозде или пародонтальном кармане. *A. actinomycetemcomitans* секретируют лейкотоксин, вызывающий гибель нейтрофилов и моноцитов. Эти и другие вирулентные факторы повышают выживаемость патогенных бактерий в биопленке и способствуют поражающему действию бактериальных компонентов на близлежащие ткани хозяина.

Прямые и косвенные данные свидетельствуют о том, что бактерии, их компоненты или метаболиты могут и не проникать глубоко в ткани пародонта. Известные инвазивные бактерии полости рта - *P. gingivalis* и *A. actinomycetemcomitans* - обнаруживаются лишь в поверхностных слоях поврежденных тканей пародонта. Некоторые вирулентные бактерии и/или их компоненты (например, описанные ранее в данной главе бактерии первого порядка) способны вызывать локальный (в десневых тканях) и системный иммунный ответ. Это выражается, в частности, в продукции специфических IgG. Их специфичность указывает на то, что факторы вирулентности микроорганизма (например, ЛПС) в достаточном количестве и довольно долго контактировали с компонентами врожденного и приобретенного иммунитета.

25.4. НЕСОСТОЯТЕЛЬНОСТЬ ФАКТОРОВ ДОИММУННОЙ ЗАЩИТЫ (ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА)

Грамотрицательные пародонтопатогенные бактерии, по-видимому, взаимодействуют с мононуклеарными фагоцитами пародонта. В инфекционный очаг они привлекают еще большее количество лейкоцитов непосредственно (своими пептидами - хемоаттрактантами) или опосредованно (за счет индукции выброса соответствующих цитокинов и простаноидов клетками хозяина). ЛПС бактерий взаимодействует с моноцитами/макрофагами через CD14- и TLR-рецепторы макрофагов и дендритных клеток, что индуцирует выработку цитокинов и медиаторов воспаления. Главный из них, по-видимому, IL-1, поскольку он связан с механизмами деструкции костной ткани и лизисом коллагена. Об этом также свидетельствуют данные о наследственной гиперпродукции IL-1, стимулируемой ЛПС пародонтопатогенов, у восприимчивых к пародонтиту лиц. Кроме этого ЛПС индуцирует синтез и секрецию простаноидов, особенно простагландина E₂ (ПГЕ₂). ПГЕ₂ в высоких концентрациях обнаруживают в десневой жидкости из участков поражения тканей пародонта. По-видимому, ПГЕ₂ при пародонтите играет важную роль в процессах

резорбции костной ткани: в эксперименте на животных и у людей подавление продукции ПГЕ₂ нестероидными противовоспалительными средствами приводило к торможению резорбции альвеолярной кости.

25.5. НЕСОСТОЯТЕЛЬНОСТЬ ФАКТОРОВ ПРИОБРЕТЕННОГО ИММУНИТЕТА

Хотя известно, что формирование иммунного ответа важно для предотвращения деструкции тканей пародонта, подобный ответ, вероятно, имеет место и при иммунопатологических реакциях, усугубляющих заболевание.

Как упоминалось выше, гистологические признаки раннего поражения пародонта характеризуются присутствием Т-лимфоцитов и макрофагов, для стойкого и далеко зашедшего - возросшим количеством В-лимфоцитов и плазматических клеток. Эти изменения, вероятно, контролируются цитокинами.

Выработка цитокинов, их типы, локализация и количество регулируются индивидуальными особенностями хозяина (наследственность + образ жизни) и взаимодействием бактерий с клетками хозяина. При различных сочетаниях этих факторов - условий среды, физиологических особенностей индивидуума, характера инфекции - результирующая выработка цитокинов направлена на иммунную защиту или, напротив, на деструктивный (патологический) ответ.

При заболеваниях пародонта раннее поражение клинически распознается как гингивит и гистологически соответствует иммунному ответу, опосредованному Т-хелперами 1-го типа (Th1). При этом стимулируется выработка ИЛ-12, который, в свою очередь, индуцирует выработку ИФН- γ , что ведет к активации макрофагов, стимуляции фагоцитоза и формированию иммунной защиты. Напротив, стойкое или далеко зашедшее поражение гистологически соответствует Th2-опосредованному ответу (с продукцией ИЛ-4, ИЛ-10 и ИЛ-13, ведущей к антителообразованию). Хорошо известно, что пародонтит может прогрессировать, несмотря на высокие титры антител в крови и десневой жидкости. Это отражает не столько процесс заживления, сколько продолжение неадекватной выработки цитокинов, в частности, сверхпродукции провоспалительного цитокина ИЛ-1.

Изучение процессов регуляции иммунного ответа на микрофлору пародонта привело к несогласующимся результатам. При исследовании взаимодействий между бактериями и лейкоцитами в тканях десны часто обнаруживали и Th1-, и Th2-зависимые цитокины (или мРНК) либо преобладание одних над другими. Такие несовпадения связаны не только с технической сложностью исследований и разными источниками материала, но и сложностью разграничения активных и неактивных очагов поражения, а также дифференциации форм заболевания. В целом в настоящее время превалирует мнение, что с хроническим пародонтитом скорее связан Th2-ответ.

25.6. ТН1-ЗАВИСИМАЯ ВЫРАБОТКА АНТИТЕЛ ПРИ АГРЕССИВНОМ ПАРОДОНТИТЕ

Особенностью иммунного реагирования больных агрессивным пародонтитом является наличие чрезвычайно высоких титров антител IgG2, реагирующих с углеводными антигенами бактерий-возбудителей. По сравнению со здоровыми, у больных ЛАП в сыворотке крови также повышено содержание фракции IgG2. Продукция этого уникального подкласса антител у человека в большей степени связана с цитокинами Th1, чем Th2. Причины доминирования Th1-ответа у больных агрессивным пародонтитом до конца не ясны. Вместе с тем известно, что сывороточные уровни IgG2 контролируются генетически. В этой связи больные ЛАП могут представлять генетически обособленную

группу лиц, у которых иммунное реагирование на антигены основного возбудителя направляется по пути продукции Th1-цитокинов.

25.7. РОЛЬ КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В РЕЗОРБЦИИ КОСТИ

Между клетками иммунной системы и клетками кости существуют функциональные связи, которыми можно объяснить резорбцию кости, наблюдаемую при пародонтите. В процессах резорбции и перестройки костной ткани участвуют белки суперсемейства TNFTNFR - RANK-L (от англ. *Receptor Activator of NF- κ B Ligand*), RANK и ингибиторный белок остеопротегерин (OPG). Рецептором RANK-L является белок RANK на поверхности предшественников остеокластов. В костной ткани RANK-L экспрессируется остеобластами и может активироваться соответствующими гормонами, а также IL-1, IL-6, IL-11, IL-17, TNF- α и простагландина E₂. Активация RANK-L ведет к продукции и активации остеокластов. Перестройка и резорбция кости зависят от баланса между RANK-L/RANK и OPG - растворимым рецептором RANK-L. Т-лимфоциты экспрессируют RANK-L также в ответ на антигенную стимуляцию, причем такие лимфоциты могут непосредственно индуцировать остеокласты. Предполагается, что Т-лимфоциты, экспрессирующие RANK-L, участвуют в резорбции костной ткани при различных инфекционно-воспалительных состояниях. При заболеваниях, сопровождаемых активацией Т-лимфоцитов и выработкой цитокинов воспаления (IL-1, TNF- α), резорбцию кости может усиливать повышенная экспрессия RANK-L Т-лимфоцитами и индукция цитокинами воспаления RANK-L на других клетках в очаге воспаления. Далеко зашедшее поражение при пародонтите характеризуется присутствием провоспалительных цитокинов и активированных Т-лимфоцитов, что создает условия для костной резорбции с участием RANK/RANK-L. RANK-L и OPG обнаружены в эпителии и соединительной ткани десны. Установлено, что такие бактерии, как *A. actinomycetemcomitans*, могут индуцировать RANK-L. По-видимому, инфекционно-воспалительный характер очага пародонтита способствует иммунной регуляции костной резорбции с помощью RANK-L и его ингибитора OPG.

ГЛАВА 26. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ПАТОГЕНЕЗА ПАРОДОНТИТА

Для воспроизведения естественного патогенеза пародонтита человека модельных систем на животных не существует. Тем не менее экспериментальных животных с успехом используют для выяснения отдельных аспектов взаимодействия бактерий с организмом хозяина. Кроме того, животных используют для изучения фундаментальных вопросов патогенеза, что позволяет решить, какая из моделей больше соответствует изучаемому заболеванию человека. В данной главе представлены некоторые из моделей на животных, используемых в стоматологии.

26.1. МОДЕЛИ НА ПРИМАТАХ И ГРЫЗУНАХ

Вследствие анатомического сходства зубных рядов и пародонтальных структур человека исследователи используют модели пародонтита на приматах. У некоторых приматов микрофлора по составу близка к пародонтопатогенной микрофлоре человека. Известно, что у приматов некоторых видов с возрастом спонтанно развивается пародонтит. Гисто-патологические признаки гингивита и пародонтита у большинства видов приматов сходны, но не идентичны заболеванию человека.

В большинстве случаев при изучении патогенеза пародонтита изучают события, сопровождающие разрушение тканей пародонта. В связи с тем что у экспериментальных животных при наличии зрелой пародонтальной микрофлоры проявления пародонтита

минимальны, их индуцируют, накладывая вокруг зубов шелковые лигатуры или ортодонтические резинки (инфицированные бактериями или без них). Это может приводить к быстрому бляшкообразованию и поражению тканей пародонта через несколько недель. Гистологические характеристики очага, вероятно, зависят от вида примата. Так, у белых обезьян первичный воспалительный инфильтрат состоит из нейтрофилов и макрофагов, а у циномольтусов - из лимфоцитов и плазматических клеток, поэтому циномольтусов считают более подходящими для изучения патогенеза воспалительных заболеваний пародонта человека.

Иммунопатологические реакции у больных пародонтитом проявляются на уровне высоких титров антител к возбудителям. Именно поэтому существует мнение, что в патогенезе заболевания могут участвовать иммунные комплексы антител с локальными антигенами. На самом деле индукция реакции гиперчувствительности типа II (феномен Артюса) у сенсибилизированных к овалбумину обезьян приводила к развитию воспаления и резорбции альвеолярной кости. Хотя эта модель позволяет предположить участие в патогенезе реакций типа феномена Артюса, существование этого механизма поражения тканей при пародонтите человека пока не доказано.

Модели на приматах используют для изучения влияния иммуномодулирующих препаратов на течение инфекционных процессов в пародонте, в частности, при оценке эффективности вакцин. Известно, что обезьяны *Macaca fascicularis* естественно инфицированы *A. actinomycet-emcomitans*, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *C. rectus*, *P. intermedia* и *F. nucleatum*. В сыворотке крови у них выявляют антитела к *P. gingivalis*. Иммунизация убитыми *P. gingivalis* защищает *Macaca fascicularis* от лигатурного пародонтита. Хотя подобный пародонтит носит скорее полибактериальный характер, такой результат можно объяснить перекрестным реагированием с ЛПС возбудителей пародонтита. Это также может отражать важную роль *P. gingivalis* в сохранении биопленки и поддержании ее составных частей. Обнадеживающие результаты получены при использовании для иммунизации приматов цистеиновых протеаз *P. gingivalis*.

Модель экспериментального пародонтита у приматов также используют для изучения патогенеза резорбции костной ткани. Введение животным с индуцированным экспериментальным пародонтитом растворимых рецепторов IL-1 и TNF- α существенно уменьшает потерю соединительной ткани и альвеолярной кости. Эти исследования подтверждают ведущую роль провоспалительных цитокинов IL-1 и TNF- α в патогенезе экспериментального пародонтита и указывают на направления иммунотерапии.

Несмотря на существенные различия зубных рядов человека и грызунов, их часто используют для изучения патогенеза пародонтита. Модели на грызунах более экономичны и позволяют использовать животных определенных генетических линий.

26.2. МОДЕЛИ НА МЫШАХ

Для изучения относительной тканевой инвазивности или патогенности штаммы бактерий вводят мышам чистых линий под кожу спины. Для некоторых штаммов, в частности *P. gingivalis*, такое исследование весьма показательно - у животных развивается выраженный воспалительный процесс (от местного изъязвления до генерализованной инфекции и гибели животного). Так определяют исходную вирулентность штаммов *P. gingivalis*, а затем оценивают на этой модели эффективность иммунизации животных различными антигенами *P. gingivalis*. Таким же образом можно определять патогенный потенциал мутантных штаммов микроорганизмов, утративших важнейшие факторы вирулентности.

В одном из вариантов этой модели под кожу имплантируют спираль, вокруг которой после заживления формируется фиброзная капсула. Введенные в нее бактерии остаются в

пределах камеры, но из нее можно легко получить для анализа элементы воспалительного или иммунного ответа. Это позволяет определить природу местного ответа при экспериментальной инфекции. Нанесение тампоном некоторых патогенных бактерий, особенно *P. gingivalis*, приводит у мышей некоторых линий к резорбции кости.

Доступность инбредных конгенных животных с определенными генными дефектами иммунных факторов, имеющих значение в патологии пародонта, позволяет проводить целенаправленное изучение дефектов генотипа. Трансгенные линии мышей с недостаточной или избыточной экспрессией различных факторов защиты организма хозяина также используют для изучения патогенеза пародонтита.

Для оценки эффективности вакцин на основе разных бактериальных антигенов применяют мышьиные модели резорбции альвеолярной кости. Так, после иммунизации целыми клетками *P. gingivalis* или RgpA, но не RgpB, резорбция кости, стимулированная *P. gingivalis*, не происходила. Специфичные для *P. gingivalis* антитела индуцировали все 3 антигена, что указывает на важную роль в этом процессе RgpA или его ассоциации с гемагглютинином. Предотвращать резорбцию костной ткани у мышей могли и другие иммуногены *P. gingivalis*. Например, пероральная иммунизация капсульным полисахаридом способствовала продукции IgG и IgM, реагирующих с *P. gingivalis*, и подавлению вызываемой этим микроорганизмом резорбции костной ткани.

При изучении иммунного ответа на антигены микроорганизмов полости рта и роли иммунных факторов в утрате костной ткани при пародонтите полезны генетически детерминированные линии мышей. Так, при иммунизации антигенами *P. gingivalis* линий, отличающихся по H-2 гаплотипу, выявлены существенно различающиеся профили цитокинов (отражающие баланс Th1- и Th2-зависимых цитокинов). Это свидетельствует о генетическом контроле ответа на микрофлору пародонта и может отражать особенности патогенеза заболевания. Еще больше информации могут дать исследования по блокированию определенных генов мышей. Например, у мышей, дефицитных по функции CD4⁺-Т-лимфоцитов, а также с дефицитом IFN- γ и IL-6, резорбции альвеолярной кости не происходит. В других исследованиях показано, что на этот процесс влияют полиморфные гены, контролирующие продукцию IFN- γ наиболее чувствительными к пародонтиту оказались животные с высокими уровнями IFN- γ . Подобные исследования могут способствовать изучению отдельных звеньев патогенеза пародонтита у человека.

26.3. МОДЕЛИ НА КРЫСАХ

Преимущество этих животных перед мышами состоит в том, что ввиду более крупных зубов с помощью лигатур у них можно индуцировать локальные участки поражения пародонта вокруг отдельных зубов. Использование гнотобиотических животных позволяет изучать моноинфекции, вызываемые определенными возбудителями в том или ином участке полости рта. Очаги поражения пародонта индуцируют с помощью тампонов или импрегнированных бактериями лигатур. На крысах также изучают влияние иммунизации различными антигенами бактерий на потерю костной ткани. Так, например, показано, что выраженный защитный эффект дает пероральная иммунизация крыс целыми клетками *P. gingivalis* или их гингипаиновыми протеиназами (RgpA и Kgp). Защиту дают и другие иммуногены - гемоглобинсвязывающий домен HA2 и фимбриальный белок *P. gingivalis* массой 43 кДа. Получаемые к этим антигенам антитела могут действовать различными способами: путем усиления опсонизации, подавления колонизации или нарушения питания бактерий.

ГЛАВА 27. ЗНАЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ДЛЯ ВОСПРИИМЧИВОСТИ К ИНФЕКЦИЯМ ПАРОДОНТА

27.1. РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ИНФЕКЦИИ

Ответ на присутствие микроорганизмов - естественная реакция макроорганизма, которая зависит от пути поступления микроорганизма и чувствительности хозяина к инфекции. Последняя, в свою очередь, зависит от предыдущих контактов с данным микроорганизмом, генетической индивидуальности хозяина, определяющей варианты ответа на возбудитель, и факторов среды, влияющих на восприимчивость к инфекции. Эти факторы не столько дополняют, сколько взаимодействуют друг с другом. Генетические факторы могут определять реакцию макроорганизма на возбудитель и другие неблагоприятные факторы внешней среды, формируя сложный комплекс взаимодействий.

Основным парадоксом в патогенезе пародонтита является отсутствие выраженных различий клинической картины, связанных с повреждением (альтерацией) тканей пародонта и принципиально разными механизмами этого повреждения, которые определяются типом реактивности организма человека (рис. 27-1).

Как известно, гены иммунного ответа, наряду с нормальной отвечаемостью иммунной системы на антигены микроорганизмов, также могут кодировать низкую или высокую отвечаемость у разных лиц. Однако в обоих случаях итогом патогенетических процессов является прогрессирующая альтерация тканей пародонта.

В большинстве случаев генетическая предрасположенность к инфекции обусловлена не единичной детерминантой, а множеством генов. Именно поэтому необходимо определять степень участия тех или иных факторов в проявлении заболевания. Понимание роли отдельных генов в восприимчивости к инфекции важно по ряду причин.



Рис. 27-1. Варианты развития пародонтита при разных типах реактивности организма человека

Подобная информация может объяснить молекулярные основы иммунной регуляции хронических инфекций, к которым относится и пародонтит. Классическим примером подобной регуляции является полиморфизм генов, кодирующих синтез IL-1 α (норма) или IL-1 β (пародонтит), что показано на рис. 27-2.

Нет сомнения, что существует наследуемый компонент риска развития инфекционных процессов в пародонте. Лучшее подтверждение этому - результаты изучения хронического пародонтита у близнецов. При наличии генетического компонента фенотипы заболевания у монозиготных близнецов (с идентичным генотипом) должны иметь большую конкордантность по сравнению с дизиготными. Различия в проявлении пародонтита у них могут быть обусловлены лишь воздействием внешних факторов. Показано, что клинические проявления пародонтита менее вариабельны у монозиготных близнецов, хотя предполагалось, что близнецы растут в семьях с одинаковыми внешними условиями. Фенотипические различия заболевания, наблюдаемые в парах с полным совпадением генотипа и совпадением лишь наполовину, свидетельствуют о существовании наследственных факторов. Развитие воспалительных заболеваний пародонта на 50% определяется генетическими детерминантами.

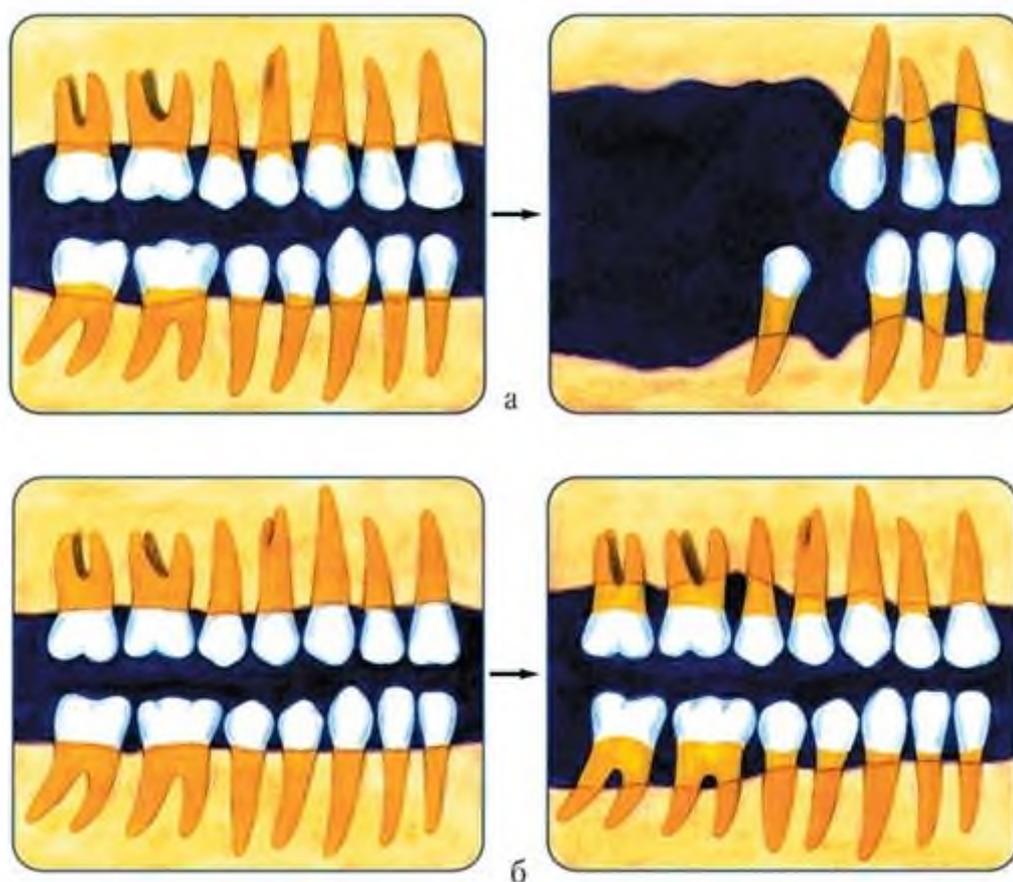


Рис. 27-2. Клинические последствия полиморфизма генов, кодирующих продукцию ИЛ-1, в разных возрастных группах пациентов: а - положительный генотип по ИЛ-1 α/β (доминанта β) после 40 и 60 лет; б - отрицательный генотип по ИЛ-1 α/β (доминанта α)

Основными методами изучения генетических факторов риска пародонтита являются исследования наследственных заболеваний и генетических синдромов (семейные, популяционные исследования, близнецовый метод, изучение моногенных синдромов и др.). Довольно редкое заболевание - семейный агрессивный пародонтит имеет признаки наследуемой патологии. Для ряда нечастых наследственных заболеваний, сопровождаемых нарушениями воспаления и иммунной функции (дефекта адгезии лейкоцитов, хронической, циклической нейтропении и других подобных синдромов), характерно раннее инфицирование пародонта с выпадением зубов в молодом возрасте.

27.2. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРАХ РИСКА РАЗРУШЕНИЯ ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА

О специфических факторах риска разрушения тканей пародонта известно немного. Тем не менее предполагается, что риск развития пародонтита обусловлен многими полиморфными генами, связанными с заменой единичных нуклеотидов.

Наиболее хорошо изучены ассоциации полиморфизма генов IL-1 с тяжестью пародонтита.

K.S. Kornman et al. описали специфический полиморфизм кластера генов IL-1, ассоциированный с тяжестью течения пародонтита. Полиморфизм гена IL-1 α определяется наличием цитозина (C) в позиции -899, а гена IL-1 β - в позиции +3954. В обоих случаях аллель 1 содержит цитозин (C), тогда как аллель 2 - тимин (T) в соответствующих позициях. Аллель 2 в позиции +3954 гена IL-1 β обуславливает изменение функций белков, которое проявляется избыточной продукцией IL-1 β . Увеличенная секреция IL-1 β нарушает механизмы обратной связи, ограничивающие воспаление. Это приводит к формированию массивных карманов в области зубодесневой борозды и деградациии тканей пародонта. Повышенный уровень IL-1 в тканях пародонта может приводить к иммунному воспалительному ответу на пародонтопатогенные бактерии, превышающему необходимый защитный уровень, и к более агрессивному разрушению как костной, так и соединительной ткани.

У людей, обладающих, по крайней мере, одной копией аллеля 2 в обоих локусах (положительный генотип), риск потери зубов увеличен в 2,7 раза, чем у пациентов, имеющих только одну копию аллеля 2 (отрицательный генотип). Фактор курения увеличивает этот риск почти в 8 раз. Вместе с тем связь между полиморфизмом генов IL-1 и хроническим пародонтитом не прослеживается в некоторых популяциях ввиду расовой или географической неравномерности в распространении данных аллелей. Любопытно, что между полиморфными генами IL-1 и агрессивным пародонтитом в различных популяциях ассоциативная связь либо отсутствует, либо обнаруживаются аллели, обеспечивающие более низкие уровни IL-1. Это может указывать на различия в патогенезе хронической и агрессивной форм пародонтита, обусловленных ролью IL-1 в антителообразовании.

Связь полиморфизма генов TNF- α с тяжестью пародонтита подтверждается не во всех исследованиях. Причина таких расхождений - изучение разных популяций и клинических форм заболевания.

В большинстве исследований роль полиморфизма генов IL-10 в патогенезе пародонтита подтвердить не удалось.

Известен ряд полиморфизмов генов, кодирующих Fc-рецепторы лейкоцитов и связанных с тяжестью или рецидивами заболевания. Некоторые функциональные полиморфизмы Fc связаны с аффинитетом иммуноглобулина к Fc-рецепторам, который, в свою очередь, определяет способность к фагоцитозу и, следовательно, антибактериальную защиту. Например, у японцев тяжесть пародонтита связана с полиморфизмом гена рецептора FC- γ -RIII. Аллели, кодирующие низкоаффинные рецепторы, обычно встречаются у лиц с тяжелыми или быстро прогрессирующими формами заболевания.

Подобные связи установлены и в отношении ряда других генов. Особый интерес представляют гены, контролирующие метаболизм соединительной ткани или гомеостаз - полиморфизмы генов VDR (рецептора витамина D) и MMP-1 (матриксной металлопротеиназы 1).

Имеются данные о существовании ассоциативных связей между пародонтитом и генами MHC, что особенно важно в связи с участием иммунных механизмов в патогенезе воспалительных заболеваний пародонта. Выявлены ассоциации антигенов MHC классов I и

П с хроническим пародонтитом, агрессивным пародонтитом и невосприимчивостью к заболеванию, в частности, HLA DRB1 (рис. 27-3), HLA DQA1 (рис. 27-4).

Однако пока трудно конкретизировать эти связи ввиду небольших по численности изучаемых групп сравнения.

Множественно подтверждено, что курение - фактор риска пародонтита. У курильщиков обнаруживают ряд иммунных дисфункций, включая дефекты полиморфноядерных лейкоцитов и сниженные уровни иммуноглобулинов. Полиморфизм гена NAT2 (N-ацетилтрансферазы), контролирующего скорость ацетилирования и детоксикации компонентов сигаретного дыма (и других веществ), может отражать сложные взаимоотношения генов, внешней среды и восприимчивости к заболеванию.

Возможно, сочетание неблагоприятного генотипа NAT2 с курением пациента может повлиять на иммунное реагирование и воспаление при контакте с бактериями полости рта. Впоследствии все это будет способствовать более тяжелому течению заболеваний у данного индивидуума.

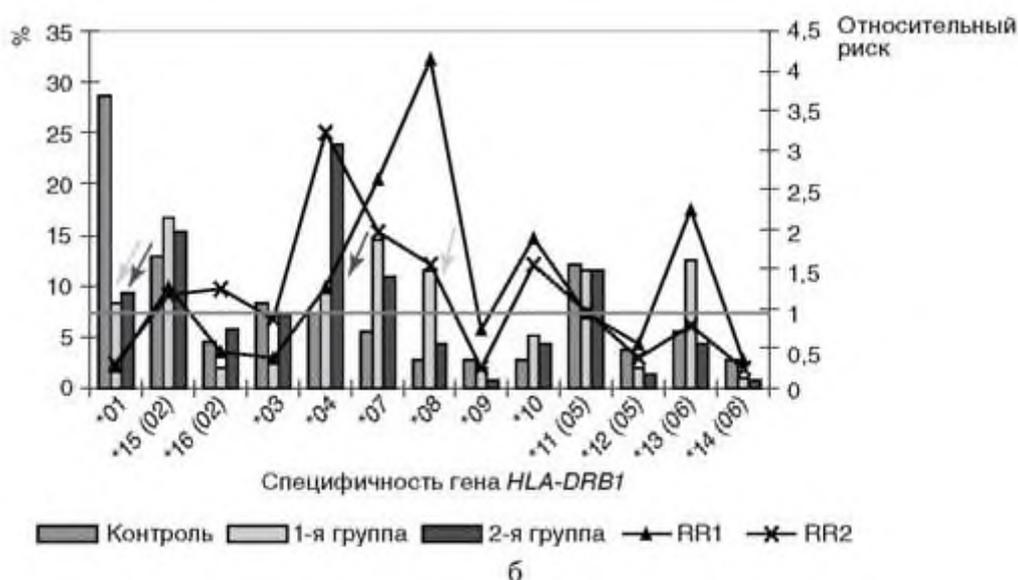
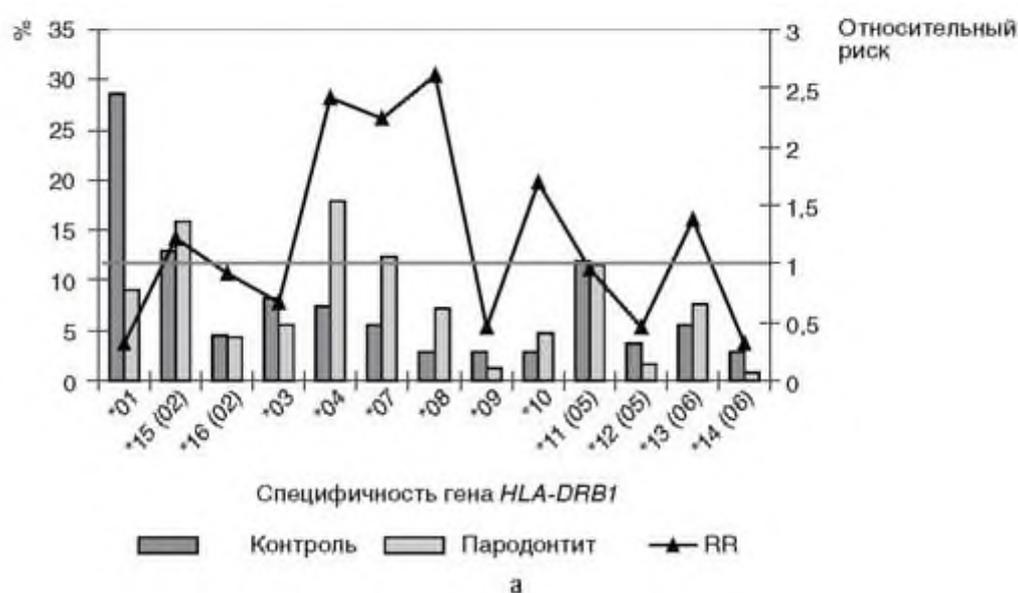


Рис. 27-3. Распределение частоты специфичностей гена DRB1 и показателей относительного риска: а - у здоровых и пациентов с ХГП (RR); б - у здоровых и больных агрессивной формой пародонтита (RR1) и ХГП (RR2)

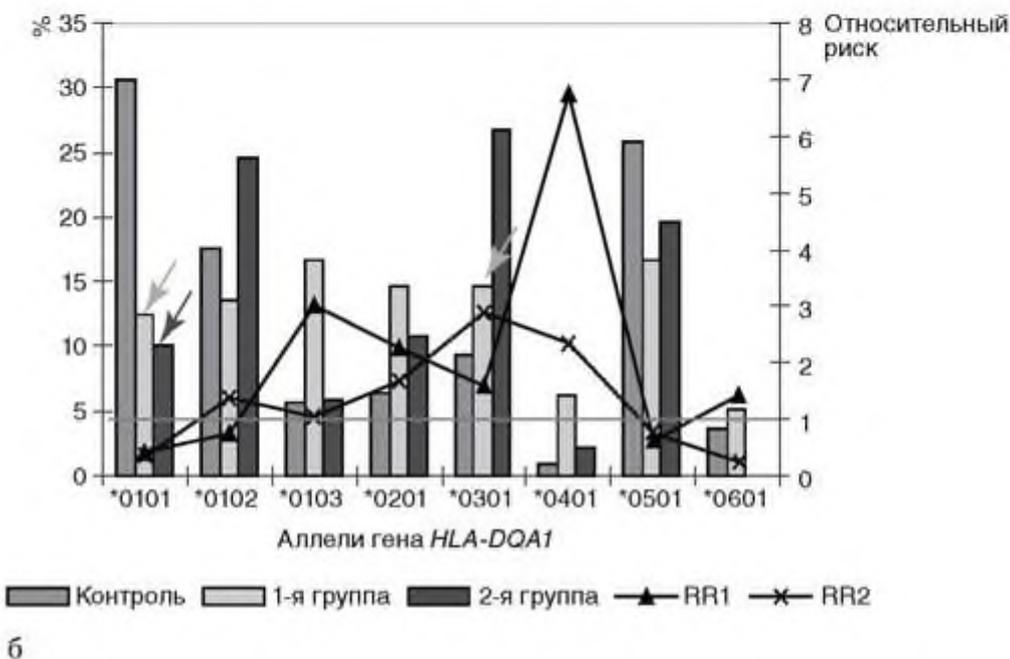
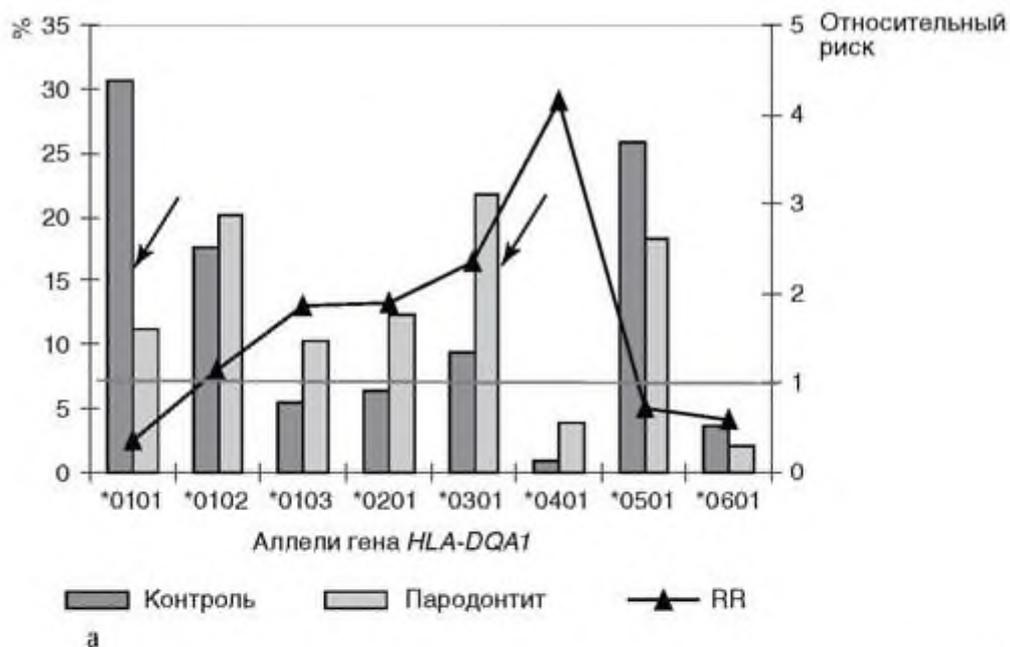


Рис. 27-4. Распределение частоты специфичностей гена *DQA1* и показателей относительного риска: а - у здоровых и пациентов с ХГП (RR); б - у здоровых и больных агрессивной формой пародонтита (RR1) и ХГП (RR2)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

К заболеваниям пародонта относят широкий круг патологических изменений тканей пародонта.

Гингивит - обратимые воспалительные изменения тканей пародонта, обусловленные микрофлорой зубной бляшки.

Пародонтит - инфекционно-воспалительное поражение всего комплекса поддерживающих структур зубов (пародонта) с прогрессирующей деструкцией десны, пародонтальной связки и альвеолярной кости, ведущее к выпадению зубов.

При бактериологическом исследовании материала от больных пародонтитом установлено преобладание грамотрицательных анаэробных палочек, в основном подвидов несакхаролитических *Porphyromonas gin-givalis*, *gr/ Prevotella melaninogenica*, *Fusobacterium nucleatum*, *Selenomonas spputigena* и др. Однако у некоторых больных наблюдали превалирование актиномицетов.

Развитие заболеваний пародонта связано с появлением в области десневой борозды и сублингвальной зоне пародонтопатогенных микроорганизмов, преимущественно грамотрицательных анаэробных бактерий, которые являются представителями трех основных видов: *Aggregati-bacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*. По выражению А. Mombelli, они являются «ключевым блоком и маркером начинающейся деструкции тканей пародонта». Особую роль при этом отводят актинобациллам, обладающим, в отличие от двух других видов, естественной резистентностью к метронидазолу. Между деструкцией тканей пародонта и наличием определенного вида микроорганизмов отмечена наиболее выраженная связь для грамотрицательных облигатно-анаэробных бактерий группы бактероидов: *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rcctus* и спирохет. Это определяет ряд проблем этиологической диагностики пародонтита.

Несмотря на усовершенствование методов микробиологической диагностики - использование анаэробной техники культивирования, газовой хроматографии, иммунохимического анализа, что позволило получить новые данные о происхождении воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области, состоянии механизмов гомеостаза и иммунитета, проблема этиологической диагностики и лечения пародонтита остаются одними из основных в стоматологии. Классическое микробиологическое исследование является наиболее достоверным и на сегодняшний день обязательным этапом в комплексной диагностике генерализованного пародонтита, обеспечивающим диагностическую точность до 90% среди лабораторных методов. Этот метод необходим для изучения этиологической структуры и патогенетических механизмов развития пародонтита.

Множественные иммунологические обследования больных с различной степенью пародонтита позволили выявить у них значительные изменения иммунологического статуса. Косвенным доказательством иммунодефицита у этих больных является высеваемость грибов рода *Candida*(23,3%), а также обнаружение псевдомицелия, прорастающего в эпителий десны (у 10,9% обследованных больных). У пациентов с *Candida* -ассоциированным пародонтитом частота выявления пародонтопатогенных видов бактерий, а также актиномицетов и анаэробных стрептококков были примерно в 2 раза ниже по сравнению с результатами определения представителей пародонтопатогенных бактерий у больных с типичным хроническим генерализованным пародонтитом в стадии обострения.

Следовательно, бактериальный состав патологических десневых карманов у больных с хроническим генерализованным пародонтитом может быть весьма индивидуален, что зависит от целого ряда причин и требует особого подхода при лечении пародонтита.

В заключение необходимо подчеркнуть, что для всех микроорганизмов пародонтопатогенной группы характерны широкий набор факторов вирулентности, выраженная реакция иммунной системы в виде высоких титров антител и четкая связь между устранением данных видов из пародонтального кармана и снижением интенсивности деструктивных процессов.

Еще более многочисленные данные получены за последнее десятилетие об адгезии пародонтопатогенных микроорганизмов к глубоким субстратам пародонта - базальной мембране и различным типам коллагеновых волокон.

Наряду с прямой инвазией пародонтопатогенных видов в ткани десны, несомненно значение механизма токсического и токсико-аллергического воздействия этих микроорганизмов на ткани, которое подробно изложено во многих обзорах за последние два десятилетия.

В настоящее время предметом дискуссии исследователей является не факт наличия или отсутствия этих процессов, а возможность влияния на них с помощью новых препаратов типа метаболических корректоров и иммуномодуляторов. Назрел новый подход к стратегии диагностики и лечения пародонтита.

К сожалению, традиционная диагностика пародонтита в настоящее время ограничивается констатацией очага уже необратимой инфекционной деструкции ткани. Именно поэтому актуальной задачей современной пародонтологии является ранняя идентификация и устранение пародонтопатогенных микроорганизмов из сублингвальной зубной бляшки - восстановление баланса физиологических процессов в тканях пародонта.

Однако только присутствие пародонтопатогенных бактерий и анатомические признаки не объясняют прогрессию периодонтального заболевания. Эти наблюдения привели к предположению, что важным звеном является также и генетический фон индивидуума.

Итак, у больных с хроническим генерализованным пародонтитом в стадии обострения в выделяемых из патологического кармана в бактериальной ассоциации доминируют представители пародонтопатогенных видов: *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Fusobacterium nucleatum*, *A. actinomycetemcomitans*, *Eikenella corrodens*, *Treponema denticola*, *Actinomyces israelii*, *Streptococcus intermedius*, *Peptostreptococcus micros*. Наиболее частые возбудители хронического пародонтита - грамотрицательные анаэробы *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *P. intermedia*. ЛАП обычно связан с *A. actinomycetemcomitans*.

Вирулентность возбудителей как интегральная составляющая, определяющая развитие заболеваний пародонта, обусловлена комплексом факторов, которые можно объединить в две группы - факторы микроорганизма и факторы организма человека.

Наиболее важными являются следующие факторы симбиоза и патогенности, свойственные самим микроорганизмам.

- Инфективность. В десневой борозде бактерии адгезируют к эпителиальным клеткам и другим бактериям поддесневой зубной бляшки. Адгезины часто связаны с фимбриями на поверхности бактерий. Последующее распространение бактерий или их потомства может сопровождаться адгезией к тканям за пределами десневой борозды. Спирохеты под влиянием хемотаксиса могут достигать десневой борозды благодаря подвижности - функции их аксиальных нитей.

- Инвазивность. *P. gingivalis* и *A. actinomycetemcomitans* могут инициировать собственный захват десневыми эпителиоцитами (не относимыми к фагоцитирующим клеткам). Интернализированные бактерии защищены от иммунной системы и могут влиять на ее эффекторные механизмы, например на выработку цитокинов. Спирохеты и другие микроорганизмы проникают в ткани десны, вызывая их воспаление и поражение.

- Токсичность. *A. actinomycetemcomitans* вырабатывают сильный лейкотоксин, убивающий нейтрофилы и моноциты человека (в результате порообразования и/или индукции апоптоза). Бактерии могут «упаковывать» лейкотоксин в мембранные пузырьки, легко проникающие в ткани.

- Ферменты и токсические метаболиты. Для получения питательных веществ - пептидов - *P. gingivalis* секретируют ряд протеолитических ферментов. Три протеазы разрушают также эффекторные молекулы иммунной системы, структурные компоненты

тканей и железоили геминсодержащие молекулы. Образуемые бактериями жирные кислоты могут подавлять деление клеток и хемотаксис нейтрофилов.

- Клеточные компоненты. ЛПС, взаимодействуя с CD14 и TLR моноцитов, внутримышечных макрофагов и дендритных клеток, стимулирует продукцию цитокинов и медиаторов воспаления, в частности IL-1. Подобное взаимодействие ведет также к синтезу и секреции простаноидов, особенно E₂. В целом это способствует деструкции коллагена и костной ткани. Капсула и другие внешние структуры бактерий могут препятствовать фагоцитозу.

- Устойчивость к уничтожению нейтрофилами. Одни микроорганизмы могут предотвращать слияние фагосомы с лизосомами, другие проявляют устойчивость к токсическим компонентам нейтрофилов.

- Факторы иммуносупрессии. *A. actinomycetemcomitans* образуют токсин летального набухания клетки, который подавляет важнейшие функции лимфоидных клеток, например деление, а также образование антител и цитокинов. По характеру патологических изменений и появлению различных иммунных клеток поражения пародонта можно разделить на 4 стадии.

Начальная стадия гистологически соответствует острому воспалению и характеризуется изменениями сосудов, внешнего вида эпителиоцитов, разрушением коллагена и нейтрофильной инфильтрацией тканей. Для раннего поражения характерны появление лимфоидной инфильтрации с преобладанием Т-лимфоцитов, усиление потери коллагена и миграция эпителия в апикальном направлении. Эти изменения согласуются с представлениями о Th1-опосредованном иммунном ответе. Постепенное накопление В-лимфоцитов ведет к переходу в стадию стойкого поражения, когда доминируют В-лимфоциты, плазматические клетки и мононуклеарные фагоциты, а эпителий инфильтрирован большим количеством нейтрофилов. При пародонтите в стадии далеко зашедшего поражения преобладают плазматические клетки. Идет дальнейшая утрата соединительнотканых элементов и кости (под влиянием активности остеокластов). Картина стойкого и далеко зашедшего поражения соответствует Th2-опосредованному ответу.

Вдоль соединительного эпителия в десневой борозде или пародонтальном кармане нейтрофилы создают барьер, который считается первой линией защиты от микроорганизмов зубной бляшки. Действительно, дефициты функции нейтрофилов клинически проявляются ранним и тяжелым пародонтитом. При менее выраженных дефектах нейтрофилов также иногда отмечается ранняя и быстрая деструкция тканей пародонта. Однако функция нейтрофилов может быть не только защитной: при взаимодействии нейтрофилов с бактериями в тканях пародонта могут выделяться токсические вещества, способные повреждать клеточные компоненты пародонта. В деструкции ткани могут участвовать образующиеся иммунные комплексы. При агрессивном пародонтите выявляют высокие уровни специфических IgG2, взаимодействующих с углеводными антигенами. Их продукция зависит скорее от цитокинов Th1, чем от цитокинов Th2. Таким образом, у больных ЛАП доминирует Th1-зависимая форма иммунного ответа. Для деструкции ткани и костной резорбции, по-видимому, необходимы IL-1 и TNF- α . В регуляции костной резорбции участвует также RANK-L и его ингибитор OPG.

На восприимчивость к пародонтальной инфекции могут влиять некоторые генетические факторы. К ним относятся полиморфизмы генов, контролирующих хемотаксис нейтрофилов, образование цитокинов IL-1 и TNF- α , а также Fc-рецептора фагоцитов.

Изучение генетической предрасположенности к пародонтиту - сложная задача, решение которой находится на начальном этапе. Не последнюю роль в этом играет отсутствие четкого определения форм заболевания. Это обусловлено гетерогенностью поражений пародонта (клинических проявлений и диагностики), разнообразием микроорганизмов, способных индуцировать болезненные состояния различными путями, противоречивыми данными о биологических факторах риска для различных популяций людей, а также изменением характера течения заболевания при лечении, применении антибиотиков или гигиенических процедур в полости рта. Если известно влияние тех или иных генов на механизмы возникновения и развития инфекции, появляется перспектива разработки эффективных лекарственных средств и вакцин.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Укажите один или несколько правильных ответов.

1. Группа бактерий, с активизацией которых связывают развитие пародонтита, относится к родам:

- а) лактобактерий;
- б) превотелл;
- в) стафилококков;
- г) актиномицетов.

2. Возбудителями ювенильного пародонтита являются:

- а) лептотрихии;
- б) стрептококки;
- в) актинобациллы;
- г) бифидобактерии.

3. Из гнойного экссудата пародонтальных абсцессов наиболее часто выделяются:

- а) превотеллы *P. intermedia*;
- б) порфиромонады *P. gingivalis*;
- в) пептострептококки *P. micros*;
- г) стафилококки *S. aureus*.

4. Актиномицеты являются группой бактерий, с активизацией которых связывают развитие следующих заболеваний:

- а) флегмон и абсцессов челюстно-лицевой области;
- б) хронических воспалительных заболеваний мягких и костных тканей;
- в) возвратного афтозного стоматита;
- г) пародонтиты.

5. Антибиотики группы макролидов применяют для лечения:

- а) кандидоза полости рта;
- б) лептотрихиоза слизистой оболочки;
- в) пародонтита;
- г) возвратного афтозного стоматита.

6. Эндотоксины пародонтопатогенных грамотрицательных бактерий вызывают:

- а) парез капилляров слизистой оболочки десны;
- б) разрушение компонентов соединительной ткани;
- в) активацию макрофагов и остеокластов с последующей резорбцией кости;
- г) блокаду функции парацитовидных желез и дефицит кальция.

7. Резорбция костной ткани при пародонтите происходит за счет:

- а) активации остеокластов IL-1 (β);
- б) активации Т-киллеров компонентом;
- в) стимуляции выработки IgE;
- г) стимуляции выработки sIgA.

8. По существующим рекомендациям к пародонтопатогенным бактериям первого порядка относят:

- а) *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus milleri*;
- б) *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*;
- в) *Wolinella recta*, *Treponema denticola*;
- г) *Eikenella corrodens*, *Prevotella intermedia*.

9. По существующим рекомендациям к пародонтопатогенным бактериям второго порядка относят:

- а) *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus milleri*;
- б) *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*;
- в) *Wolinella recta*, *Treponema denticola*;
- г) *Eikenella corrodens*, *Prevotella intermedia*;
- д) *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus micros*.

10. К пародонтопатогенным бактериям, способным передаваться от человека к человеку и внутриклеточному паразитизму, относят:

- а) *Staphylococcus epidermidis*;
- б) *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*;
- в) *Streptococcus milleri*;
- г) *Porphyromonas gingivalis*;
- д) *Fusobacterium nucleatum*.

11. Препараты для местного лечения пародонтита, содержащие левоми-цетин:

- а) диоксиколь[▲];
- б) левомеколь[▲];
- в) ируксол[Ⓢ];
- г) метрогил[▲].

12. Препараты для местного лечения пародонтита, содержащие докси-циклин:

- а) диоксиколь[▲];
- б) левомеколь[▲];
- в) атридокс[Ⓢ];
- г) метрогил[▲].

13. Препараты для местного лечения пародонтита, содержащие метро-нидазол:

- а) элизол[®];
- б) левомеколь[▲];
- в) диплен-дента М[®];
- г) метрогил[▲].

14. Препараты для местного лечения пародонтита, содержащие хлор-гексидин:

- а) диоксиколь[▲];
- б) пародиум[®]
- в) элюгел[®];
- г) метрогил[▲].

15. Лекарственные формы, используемые для местного лечения пародонтита, должны отвечать следующим требованиям:

- а) включать в спектр активности пародонтопатогенные виды микроорганизмов;
- б) действовать на кариесогенную микрофлору;
- в) обладать противовирусной активностью;
- г) создавать депо действующего препарата в пародонтальном кармане.

16. Препараты выбора для лечения ювенильного пародонтита:

- а) амоксициллин + метронидазол;
- б) азитромицин;
- в) гентамицин;
- г) доксициклин.

17. Препараты выбора и их дозы для лечения хронического генерализованного пародонтита:

- а) спирамицин по 3 млн МЕ 2 раза в сутки;
- б) кларитромицин по 500 мг 2 раза в сутки;
- в) амоксициллин по 500 мг 2 раза в сутки;
- г) канамицин по 500 мг 3 раза в сутки.

18. Препараты резерва, дополнительно включаемые в схемы лечения при торпидных пародонтитах:

- а) ципрофлоксацин по 250 мг 2 раза в сутки внутрь;
- б) хлорамфеникол по 250 мг 4 раза в сутки внутрь;
- в) ампициллин по 250 мг 4 раза в сутки внутримышечно;
- г) рифампицин по 300 мг 2 раза в сутки внутрь.

19. Для лечения воспалительных заболеваний пародонта не рекомендуется применять:

- а) макролиды (эритромицин, олеандомицин, азитромицин, рокситромицин, кларитромицин, мидекамицин, джозамицин);
- б) линкозамиды (линкомицин, клиндамицин, далацин);
- в) аминогликозиды (гентамицин, канамицин, тобрамицин, амикацин);
- г) тетрациклины (тетрациклин, доксициклин).

20. При консервативном лечении пародонтита эффективно сочетание препаратов:

- а) антибактериальных и иммунодепрессивных;
- б) антибактериальных и иммуномодулирующих;
- в) антибактериальных и фунгицидных;
- г) антибактериальных и цитостатиков.

21. Признаки развития пародонтита на фоне высокой реактивности организма:

- а) увеличение количества NK-лимфоцитов, экспрессии рецепторов CD25, CD71, CD95 на лимфоцитах и фагоцитах, увеличение титра IgG, IgM;
- б) снижение количества Т-хелперов, иммунорегуляторного индекса, показателей фагоцитарной активности;
- в) резкое увеличение количества Т- и В-лимфоцитов;
- г) снижение активности провоспалительных цитокинов и повышение - противовоспалительных.

22. Признаки развития пародонтита на фоне низкой реактивности организма:

- а) увеличение количества NK-лимфоцитов, экспрессии рецепторов CD25, CD71, CD95 на лимфоцитах и фагоцитах, увеличение титра IgG, IgM;
- б) снижение количества Т-хелперов, иммунорегуляторного индекса, показателей фагоцитарной активности;
- в) резкое увеличение количества Т- и В-лимфоцитов;
- г) снижение активности провоспалительных цитокинов и повышение - противовоспалительных.

Ответы к тестовым заданиям

- 1 - б, г; 2 - в; 3 - а, б, в; 4 - б, г; 5 - в; 6 - а, б, в; 7 - а, б; 8 - б; 9 - в, г, д; 10 - б, г; 11 - б, в; 12 - в; 13 - в, г; 14 - б, в, г; 15 - а, г; 16 - а, б, г; 17 - а, б, в; 18 - а, б, г; 19 - в; 20 - б, в; 21 - а; 22 - б.

ЧАСТЬ 7. МИКРОФЛОРА И ИММУННЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ ОДОНТОГЕННОЙ ИНФЕКЦИИ.

ГЛАВА 28. ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИИ ПУЛЬПЫ И КОРНЕВЫХ КАНАЛОВ ЗУБА

28.1. ВОЗБУДИТЕЛИ ИНФЕКЦИИ ПУЛЬПЫ И КОРНЕВЫХ КАНАЛОВ ЗУБА

В нашей стране для определения бактериального состава инфицированных пульпы и корневых каналов зубов проведено немало исследований. Несмотря на применение разных методик, нерешенной остается задача чистого взятия материала, без контаминации ротовой жидкостью или секретами кожи. Именно поэтому на результаты может влиять техника отбора материала, а также выбор питательных сред для выделения бактерий из разных очагов поражения.

В ранних исследованиях, до 80-х гг. XX в., большинство применяемых сред не поддерживали рост облигатных анаэробов, поэтому на них вырастали преимущественно микроорганизмы, толерантные к кислороду. Другой источник ошибок - нерепрезентативность проб, связанная со сложностью получения образцов, не контаминированных бактериями слюны (несмотря на применение коффердама или других изолирующих средств).

Возможно, более важным являлось то, что перед посевом на плотной среде для получения колоний материал инкубировали в бульонной среде. Это способствует выживанию (селекции) более неприхотливых микроорганизмов и искажает данные о первоначальном составе материала.

В этой связи неудивительно, что из грамположительных видов чаще обнаруживались стрептококки, а из грамотрицательных - наиболее стойкие виды (*Neisseria*, *Bacteroides*, фузобактерии и энтеробактерии). Спирохеты часто обнаруживали в мазках, но в то время эти строго анаэробные прихотливые бактерии еще не могли культивировать в лабораторных условиях. Позже стали применять более совершенную технику взятия материала, культивирования или методы геноидентификации (например, ПЦР), что позволило с большей чувствительностью и точностью определять бактериальный состав материала.

В табл. 28-1 представлены наиболее часто выделяемые бактерии. Поиски связи между определенными клиническими состояниями и конкретными микроорганизмами не привели к такому результату, как при заболеваниях пародонта. Микрофлора инфицированных корневых каналов отражает бактериальный состав экологических ниш ротовой полости. Это подчеркивает справедливость утверждения, что по своей природе эндодонтическая инфекция - эндогенная.

Однако специфическая пародонтопатогенная микрофлора нередко является возбудителем эндодонтической и одонтогенной инфекции в целом, очевидно, в силу своей вирулентности, высоких конкурентоспособных свойств и значительной частоты носительства или распространения пародонтита среди человеческой популяции.

Указанные в таблице значения представляют приблизительную частоту обнаружения тех или иных бактерий в корневых каналах по результатам разных исследований и не должны восприниматься буквально. Эти результаты существенно варьируют как по спектру, так и по частоте обнаружения. К тому же другие, нечасто выявляемые микроорганизмы могут иметь большее значение для инфекций корневых каналов у конкретного индивидуума. Подобно другим исследованиям микрофлоры полости рта, далеко не все наблюдаемые при микроскопии мазков микроорганизмы можно вырастить на

питательных средах. Действительно, в проведенных недавно молекулярно-биологических исследованиях показано, что в инфицированных корневых каналах относительно много спирохет, особенно *Treponema denticola*.

Важнейший микроорганизм, по-видимому, связанный с инфекцией корневых каналов, - *Porphyromonas endodontalis* (ранее его относили к бактероидам с черным пигментом). Полагают, что у них такой же патогенный потенциал, как у описанных выше *Porphyromonas gingivalis*. После выделения из корневого канала *P. endodontalis* обнаружили и в других участках полости рта. Возможно, их появление в корневом канале отражает селективный механизм, позволяющий расти этому оппортунисту.

Некоторые исследователи полагают, что от присутствия этих микроорганизмов зависит характер воспаления, но этот факт остается недоказанным. Достаточно упомянуть, что их часто обнаруживают и при острых нагноительных апикальных инфекциях.

В недолеченных каналах недавно стали обнаруживать новый вид актиномицетов - *Actinomyces radidentis*.

Таблица 28-1. Характеристика микрофлоры системы корневых каналов при хроническом апикальном периодонтите до начала лечения, в процессе лечения 0,5% раствором метронидазола и перед окончательной obturацией корневых каналов после обработки 0,5% раствором гипохлорита натрия

Микроорганизмы	До лечения		В процессе лечения		Перед obturацией	
	Количество выделенных штаммов	Индекс частоты, %	Количество выделенных штаммов	Индекс частоты, %	Количество выделенных штаммов	Индекс частоты, %
<i>Streptococcus sanguis</i>	9	31,0	5	17,2	-	-
<i>Streptococcus mutans</i>	6	20,6	2	6,2	-	-
<i>Streptococcus intermedius</i>	10	34,5	6	20,6	-	-
<i>Streptococcus milleri</i>	4	13,8	1	3,4	-	-
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	20	69,0	11	37,9	2	6,9
<i>Peptococcus niger</i>	16	55,1	9	31,0	-	-
<i>Corynebacterium spp.</i>	12	41,4	4	13,8	-	-
<i>Propionibacterium spp.</i>	9	31,0	8	27,6	-	-
<i>Actinomyces spp.</i>	13	44,8	5	17,2	1	3,4
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	15	51,7	4	13,8	-	-
<i>Veillonella spp.</i>	6	20,6	4	13,8	-	-

<i>Tannerellaforsythia</i>	17	58,6	4	13,8	-	-
----------------------------	----	------	---	------	---	---

Окончание табл. 28-1

Микроорганизмы	До лечения		В процессе лечения		Перед obturацией	
	Количество выделенных штаммов	Индекс частоты, %	Количество выделенных штаммов	Индекс частоты, %	Количество выделенных штаммов	Индекс частоты, %
<i>Prevotella oralis</i>	21	72,4	10	34,5	2	6,9
<i>Prevotella endodontis</i>	25	86,2	14	48,3	4	13,8
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	12	41,3	7	24,1	-	-
<i>Fusobacterium spp.</i>	22	75,9	18	62,1	8	27,6
<i>Eikenella corrodens</i>	9	31,0	-	-	-	-
<i>Eubacterium spp.</i>	9	31,0	-	-	-	-
<i>Enterococcus spp.</i>	7	24,1	2	6,9	-	-
<i>Staphylococcus spp.</i>	2	6,2	-	-	-	-
<i>Treponema denticola</i>	10	34,5	3	10,3	-	-
<i>Candida albicans</i>	4	13,8	-	-	-	-

Хроническое воспаление в апикальной зоне характеризуется присутствием также и факультативно-анаэробных грамположительных кокков вида *Enterococcus faecalis* (обычно их в небольшом количестве обнаруживают в некоторых участках полости рта). Неясно, почему их обнаруживают так часто при этих нагноительных заболеваниях, причем нередко в чистой культуре. Возможно, причина состоит в их неприхотливости: эти кокки растут в аэробных и анаэробных условиях, при высоких концентрациях солей, в широком диапазоне рН, при высоких температурах (45 °С) и даже в присутствии некоторых тяжелых металлов. Кроме того, бактерии этого вида часто обладают множеством плазмид, придающих им устойчивость к антибиотикам, что затрудняет лечение. Недавние исследования подтвердили способность *E. faecalis* выживать в дентинных трубочках. Они могут связываться с коллагеном и даже после пломбирования канала представлять угрозу распространения инфекции. Их часто обнаруживают в неэффективно обработанных каналах. В этих случаях перед повторной обработкой рекомендуют проводить выделение культуры возбудителя с определением его чувствительности к антибиотикам. *E. faecalis* часто обнаруживают у лиц с инфекционным эндокардитом, а выявление этих бактерий в гнойном экссудате (особенно при хронических апикальных инфекциях) ставит под вопрос успешность лечения.

За всеми этими наблюдениями неизбежно следует вывод, что успешность эндодонтической обработки зависит от создания безбактериальной среды в корневом канале. При этом возникают два вопроса, которые уже упоминались в начале главы и продолжают беспокоить клиницистов:

- как подтвердить отсутствие жизнеспособных микроорганизмов;
- указывает ли на стерильность канала отрицательный результат их определения.

28.2. ПАТОГЕНЕЗ ИНФЕКЦИИ ПУЛЬПЫ И КОРНЕВЫХ КАНАЛОВ ЗУБА

Оказывая воздействие на пульпу и апикальные ткани, возбудители одонтогенной инфекции проявляют те же вирулентные свойства, что и при других заболеваниях полости рта. Они могут использовать эндотоксины и другие поверхностные токсические компоненты, а также факторы распространения, например, коллагеназы, гиалуронидазу и другие ферменты, не только разрушая соединительную ткань, но и проявляя цитотоксические свойства. Кроме того, микроорганизмы и их продукты могут индуцировать иммунные реакции, усиливающие воспаление.

Обусловленные разными причинами воспалительные реакции протекают однотипно. Как указано выше, после возникновения в пульпе эндодонтическая инфекция распространяется на корневой канал. Воспалительный процесс, как и в других случаях, заканчивается некрозом пульпы. Некротизированные ткани канала при этом остаются резервуаром инфекции. При отсутствии лечения (которое состоит в хирургической обработке канала с применением соответствующих инструментов и орошающих растворов) бактерии достигают апикальной зоны, где могут вызвать острое или хроническое воспаление.

Показано присутствие в апикальной зоне бактерий и их факторов вирулентности. Часто воспаление в этой зоне сопровождается мучительной болью, что обусловлено давлением на нервные окончания скапливающегося в узком месте экссудата и газов. Экссудаты чаще носят гнойный характер и состоят из продуктов разрушения клеток хозяина, соединительнотканых, кровяных элементов и бактерий. Боль стихает после уменьшения сдавливания нервов посредством дренажа через пульпу или в результате надреза в апикальной зоне.

Иногда при хронической инфекции верхушки зуба формируется свищевой ход в полость рта, который также ослабляет давление.

28.3. СТРАТЕГИЯ ЛЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИИ ПУЛЬПЫ И КОРНЕВЫХ КАНАЛОВ ЗУБА

28.3.1. Обеспечение стерильности пульпы и корневых каналов как важнейшее условие эндодонтического лечения

С осознанием важности присутствия бактерий появилась идея высева содержимого канала перед его obturацией как своеобразного теста на стерильность. Эту идею поддерживал, в частности, Луи Гроссман (*Grossman L.*) из университета Пенсильвании - пионер эндодонтического лечения, а по мнению некоторых, отец современной эндодонтической практики. Он разработал также полиантибиотическую пасту с пенициллином, которая широко применялась до того, как было установлено, что подобные аппликации ведут к аллергическим осложнениям и селекции резистентных штаммов (особенно при местном применении антибиотиков). Стандартом считалась хирургическая обработка канала с растворами хлорного отбеливателя и перекиси водорода (для очистки и смазывания) с последующей аппликацией пасты с антибиотиками. При продолжении лечения канал отмывали от антибиотиков и вставляли в него на определенное время

бумажный фильтр для взятия пробы бактерий. Затем фильтр переносили в бульонную среду, обычно с небольшим количеством агара для создания микроаэрофильных условий, необходимых для выращивания анаэробов. Такая стандартизация, несомненно, вела к повышению качества эндодонтической практики. Однако по мере роста мастерства эндодонтистов, появления стандартных инструментов и расширения знаний о микрофлоре полости рта стали возникать вопросы как об основе такого подхода, так и о возможности гарантировать успешность лечения результатом посева.

В первую очередь встает вопрос, можно ли добиться стерильности корневого канала. Микробиологи подсказывают, что стерильность, как и беременность, - понятия абсолютные (объект бывает стерильным или нестерильным). Отрицательный результат посева - это не стерильность, а отсутствие бактериального роста. Причинами могут быть недостаточное количество посевного материала (небольшое количество бактерий не может дать рост в бульоне) и перенос в среду антибактериального средства, которое также может подавлять рост. Недавно показана жизнеспособность некультивируемых клеток *E. faecalis*. Однако наиболее вероятно, что в обозначенных выше условиях не могут расти анаэробы, составляющие большинство микроорганизмов корневого канала. Следовательно, получить отрицательный результат посева недостаточно. Многие эндодонтисты поняли, что в большинстве случаев они вынуждены запечатывать бактерии в канале. Ввиду того что эффективность современного эндодонтического лечения составляет около 90%, они сделали вывод, что культивирование - лишь контроль за хирургической обработкой, но не гарантия эффективности терапии. Действительно, в нескольких крупных исследованиях установлена одинаковая эффективность лечения там, где проводили посева, и там, где их не проводили, а ориентировались на отсутствие признаков активной инфекции перед obturацией (серозного или гнойного экссудата, боли, припухлости и/или лихорадки). Таким образом, в эндодонтическом лечении важнее достичь полной хирургической обработки канала в асептических условиях, нежели пытаться стерилизовать каналы.

28.3.2. Одновизитное лечение в практике эндодонтии

При лечении жизнеспособных зубов и отсутствии признаков активной инфекции, обусловленной обсеменением пульпы микрофлорой полости рта, применяют тактику «эндодонтия одного визита». Часто в этих случаях врач удаляет пульпу, расширяет канал и пломбирует его за один визит. Такой подход отличается от обработки ран только локализацией. Свежие раны промывают, удаляют нежизнеспособные участки и по возможности ушивают (закрывают) одномоментно. Тактика «одного визита» лежит в основе эндодонтии даже в случаях некроза пульпы или хронического пульпита.

При таком подходе главное - тщательная очистка корневого канала. Если больной молод, а зуб имеет минимальный объем реставрации, существует возможность полного очищения каналов с их последующим пломбированием. Тем не менее возможность пломбирования за один визит зависит от ряда дополнительных факторов: анатомии зуба, наличия кальцификации, доступа к зубу и его каналам, особенностей ведения больного, степени дискомфорта.

28.3.3. Микробиологические аспекты obturации корневых каналов

Никакое лечение не дает такого выраженного эффекта, как снятие боли при одонтогенном абсцессе после вскрытия зуба для дренирования. В 1970-х гг. стандартным считалось вскрыть зуб, выписать антибиотики и оставить зуб открытым на несколько дней перед продолжением чистки. При этом всегда оставался риск суперинфекции, обусловленной бактериями полости рта. Однако когда выяснилось, что достичь стерильности канала нереально, клиницисты стали сомневаться, надо ли оставлять зуб открытым (с последующей обработкой и расширением канала), назначать системные антибиотики, вносить в канал антибактериальные составы и ставить временную цементную пломбу во время 1-го визита. В основном врачи хотели избежать бактериальной

контаминации канала, открытого для дренирования. Учитывая, что в 1 мл слюны содержится более 10^8 бактерий, а жевание может способствовать проникновению их в канал, это представлялось серьезной проблемой. При минимальной выраженности боли, отсутствии дальнейшего нагноения или припухания к следующему визиту можно ставить постоянную пломбу. Если же боль остается, клиницист должен решить, что будет более эффективным: оставлять дренирование зуба или ставить временную пломбу с антибактериальным средством. Когда боль стихает и нет явных признаков инфекции, можно вновь поставить временную пломбу с антибактериальным средством в канале. Чем раньше канал полностью очищен, тем раньше инфекция попадает под контроль врача. По утверждению Лонгмана и соавт., «первичная терапия эндодонтической инфекции - хирургический дренаж и удаление причины инфекции».

Безусловно, если боль не проходит, лучше оставить дренаж в комбинации с антибиотиками. Имеются сообщения об абсцессах мозга с летальным исходом вследствие неадекватного местного дренажа при нагноительных эндодонтических инфекциях. Напомним, что при лечении абсцессов другой локализации, включая абдоминальные, антибиотики рассматривают как дополнение к дренажу - важному фактору успешности лечения.

В предпринятых попытках оценить, ускоряет или замедляет дренаж корневых каналов заживление, исследователи на самом деле использовали не самые лучшие критерии заживления. Конечно, постоянная боль указывает на необходимость дренажа, но подлинную успешность эндодонтического лечения можно оценить лишь после заживления апикальной зоны при рентгенологическом исследовании (рис. 28-1). Некоторым больным для этого требуются месяцы, другим - значительно больше времени. Следовательно, решение вопроса о дренировании и его сроках у конкретного больного почти полностью зависит от выработанной практикой проницательности врача и в полной мере отражает то, что принято называть искусством дантиста.



Рис. 28-1. Рентгенограмма больного В. (35 лет). Диагноз «хронический апикальный периодонтит». Зуб 1|3 на этапах эндодонтического лечения: а - начало лечения; б - obturация каналов; в - через год после лечения

28.3.4. Антибактериальные средства, применяемые в эндодонтии

Уже отмечено, что Гроссман (*Grossman*) одним из первых стал использовать при чистке каналов комбинацию перекиси водорода и гипохлорита натрия (от 0,1 до 5%). Эти растворы смывали водой. После чистки Гроссман помещал в каналы полиантибиотическую пасту с пенициллином. Однако, несмотря на эффективность такого подхода, клиницисты стали искать антибактериальное средство более общего действия (этому способствовало накопление данных о свойствах антибиотиков и вреде их местного применения).

Для чистки каналов применяли также феноловые дезинфектанты, причем подобные средства использовали задолго до появления антибиотиков. Менее токсичными считались производные камфары. Тем не менее ввиду выраженной токсичности для тканей человека

эти препараты сегодня мало кто использует для лечения корневых каналов. Это относится и к препаратам формальдегида, ранее используемого для стерилизации каналов. Вместе с тем часть практиков придерживается тактики мумификации пульпы формальдегидом (метод *Sargenti*) - по сути, консервирования остатков пульпы или некротической ткани подобно тому, как это делают перед гистологическими исследованиями. По ряду причин, обсуждение которых выходит за рамки нашей тематики, данный метод не рекомендован к применению в США.

Антибактериальным средством выбора при временном пломбировании стал гидроксид кальция. Ввиду плохой растворимости в воде и, соответственно, низких концентраций гидроксильных ионов из него готовят водную пасту. У нее высокая щелочность, но без едкости. Пока сохраняется щелочная реакция, паста проявляет токсичность по отношению к большинству бактерий, включая *E. faecalis*. Гидроксид кальция хорошо переносится тканями. Его долго использовали в качестве средства, стимулирующего образование вторичного дентина поверх открытой пульпы (рис. 28-2). У экспериментальных животных в инфицированных каналах обнаружены эндотоксины, которые стимулируют реакции воспаления в окружающих тканях. Гидроксид кальция, вероятно, обеспечивает также инактивацию бактериальных эндотоксинов, хотя пока неясно, какими путями. В последние годы создано новое поколение кальцийсодержащих препаратов («АпексДент» и т.п.), показана также эффективность эндодонтического применения препаратов гидроокисей меди, цинка и серебра.

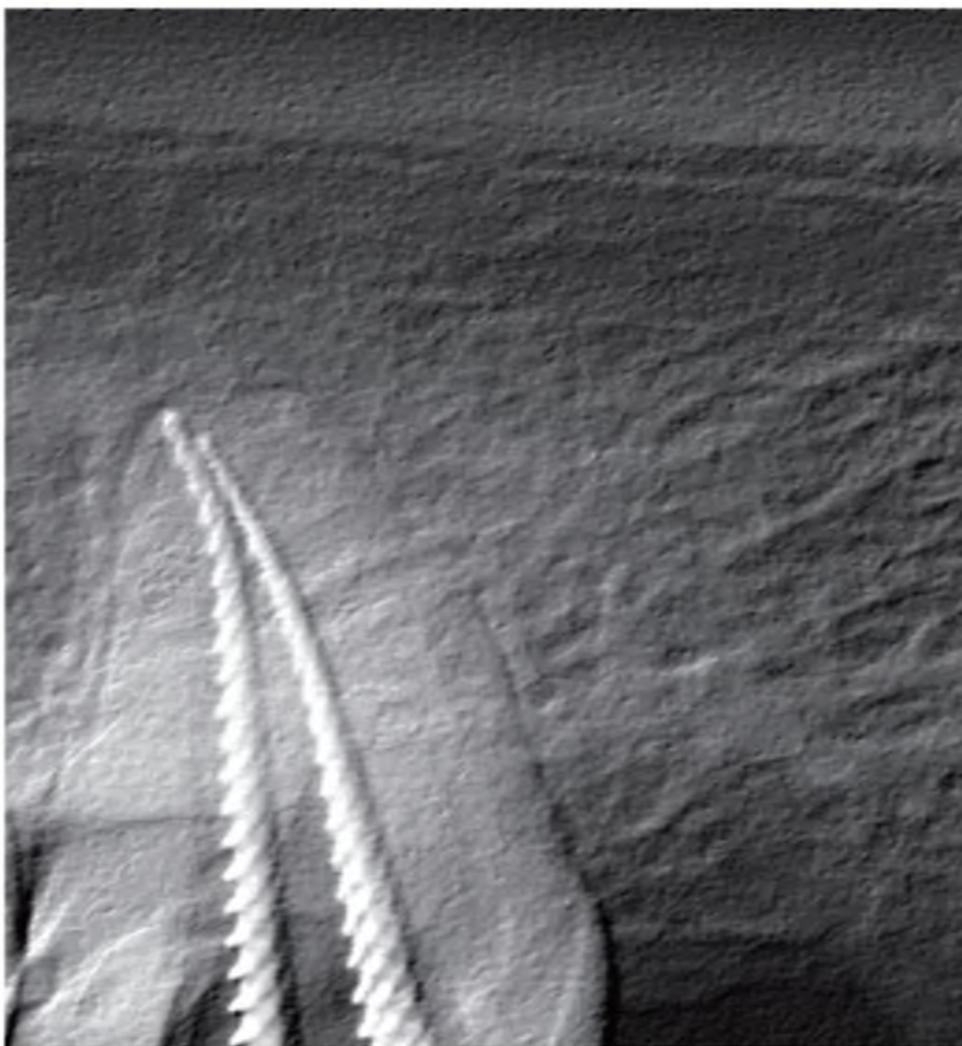


Рис. 28-2. Рентгенограмма после полного завершения эндодонтического лечения при периодонтите

ГЛАВА 29. ЭТИОЛОГИЯ И ПАТОГЕНЕЗ ОДОНТОГЕННОЙ ИНФЕКЦИИ

29.1. ВОЗБУДИТЕЛИ ОДОНТОГЕННОЙ ИНФЕКЦИИ

Одонтогенная инфекция - распространенный воспалительный процесс мягких и/или костных тканей, а также внутренних органов, которые непосредственно прилегают к причинному зубу или поражаются лимфо- и гематогенным путями.

Точный механизм, обуславливающий причинную роль оппортунистической микрофлоры при воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области, до настоящего времени неизвестен. Основным постулатом является положение о детерминирующей роли регуляторных (иммунных и неиммунных) механизмов в балансе всех компонентов микробиоценоза, нарушение которых ведет к развитию инфекционного процесса. Подтверждением этого является полиэтиологичность оппортунистических инфекций - из воспалительного очага, как правило, выделяют ассоциации нескольких видов, что подтверждается динамикой уровня антител к их антигенам.

Вместе с тем нельзя игнорировать возможность качественного изменения свойств самих микроорганизмов, т.е. регуляторных влияний внутри микробиоценоза - патогенизацию резидентов. Вероятнее всего, первый и второй факторы тесно связаны на молекулярном уровне биохимической регуляции микробиоценоза.

Нельзя исключить также и роль вирулентных видов пародонтопатогенной группы, носительство которых среди здорового населения молодого возраста составляет от 5 до 12%, а в старших возрастных группах, страдающих хроническим генерализованным пародонтитом, доходит до 90%. При пусковых провоцирующих факторах (утомлении, стрессе, переохлаждении, гиповитаминозе, иммунодефицитном состоянии и т.п.) даже незначительной интенсивности этого может быть достаточно для инвазии и быстрого размножения представителей вирулентных видов микроорганизмов. Подтверждением этого является высокая частота обнаружения при одонтогенных абсцессах, флегмонах и остеомиелитах таких типичных пародонтопатогенов, как *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *F. nucleatum*. Не исключено, что прочие виды, считающиеся оппортунистическими и обладающие меньшим патогенным потенциалом, присоединяются несколько позже.

Какими же характеристиками обладают оппортунистические микроорганизмы и что позволяет им проявлять свои патогенные свойства при определенных условиях?

По-видимому, эволюционируя вместе с человеком, многие представители резидентной микрофлоры все-таки сохранили гены, кодирующие образование важнейших фенотипических признаков патогенности. Однако реализация этой информации у них существенно снижена или блокирована благодаря постоянному воздействию регулирующих систем организма человека и других компонентов микробиоценоза в норме.

В преимущественно клональной популяции бактерий за счет горизонтального переноса могут распространяться комплексы генов вирулентности или целые острова патогенности, придающие другой эволюционной линии те же вирулентные свойства. Острова патогенности - крупные области генома (10-200 тыс. п. о.), часто имеющие отличное от остальной его части содержание Г+Ц-пар и тип кодирования, что свидетельствует об их чужеродном происхождении. В геноме они соседствуют с высококонсервативными последовательностями, что обеспечивает вставку в чужой геном посредством гомологичной рекомбинации. Обычно острова патогенности содержат ряд генов, кодирующих синтез адгезинов, токсинов, инвазинов, систем захвата ионов железа и других белков вирулентности. Структура этих генов указывает на их многоступенчатую эволюцию. Подобные мобильные кластеры генов, или геномные острова, придающие экологические преимущества, обнаружены и у непатогенных микроорганизмов.

Результаты генетического анализа популяций патогенных микроорганизмов полости рта *Actinobacillus actinomycetemcomitans* и *H. pylori* также свидетельствуют о существенных различиях микроорганизмов в зависимости от этнической принадлежности хозяина (и, следовательно, географического происхождения штамма). Например, детерминанты групп крови хозяина служат рецепторами для специфических адгезинов *H. pylori*, участие которых необходимо для эффективной колонизации макроорганизма.

Ранее это было показано для *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, *Haemophilus influenzae*, *Parahaemophilus spp.* и некоторых других видов.

29.2. ПАТОГЕНЕЗ ОДОНТОГЕННОЙ ИНФЕКЦИИ

В табл. 29-1 представлены основные фенотипические характеристики резидентных микроорганизмов, которые обеспечивают потенциальную возможность их участия в развитии воспалительного процесса.

Таблица 29-1. Факторы патогенности резидентной микрофлоры полости рта

Свойства микроорганизмов	Фенотипические признаки
Адгезия	Адгезины, пили (фимбрии), факторы коагрегации, гемагглютинины, капсула
Протекция	Капсула, плазмокоагулаза и другие ферменты протекции
Колонизация	Ферменты метаболизма
Инвазивность	Гиалуронидаза, лецитиназа, коллагеназа, фибринолизин и другие ферменты агрессии
Токсигенность	Экзотоксины, эндотоксины

Инфективность - способность бактерий заселять определенный биотоп или экологическую нишу организма. В свою очередь, это возможно только при наличии у них генетически детерминированных *факторов адгезии*, обеспечивающих прилипание к поверхности тканей или эмали зуба, а также ферментов метаболизма и репродукции, обеспечивающих *колонизацию*, т.е. заселение конкретной экологической ниши (биотопа) с определенным набором питательных субстратов, газовым составом, рН и т.п.

Изучение молекулярных механизмов адгезии у резидентных микроорганизмов полости рта показало, что существует несколько основных механизмов:

- через химически активные молекулы клеточной стенки типа галактозосвязывающих лектинов актиномицетов или липотейхоевых кислот стрептококков, взаимодействующих с фибронектином- белком плазмы крови и тканевой жидкости;
- посредством специфических ворсинок бактериальных клеток - пилей или фимбрий, а также поверхностных везикул, описанных у *Porphyromonas gingivalis*;
- за счет гемагглютининов и факторов коагрегации с другими бактериями, которые выявлены у оральных стрептококков, актиномицетов, фузобактерий и бактериоидов;
- за счет адгезивных свойств капсулы у стрептококков и бактериоидов.

С помощью радиоизотопных исследований сродства анаэробных бактерий к протеинам базальной мембраны слизистой оболочки Дж. Уинклер показал, что бактериоиды, фузобактерий и некоторые грамотрицательные бактерии обладают резко выраженной

способностью адгезии к слизистой оболочке, в то время как у грамположительных бактерий она значительно ниже.

В то же время многие грамположительные бактерии легко прилипают к твердой поверхности эмали и цемента зуба. Наименее выраженные адгезивные свойства отмечены у пропионибактерии, однако они обладают способностью прилипать к субстрату за счет коагрегации с другими бактериями, например с *S. sanguis*, у которых адгезивные свойства наиболее выражены.

Патогенность и вирулентность микроорганизма связаны с генетически детерминированными особенностями его структуры и метаболизма. Гены вирулентности образуют кластеры (островки патогенности) в хромосомах и плазмидах, способных к горизонтальному переносу. Сходные гены вирулентности обнаруживают у таксономически далеких видов. Патогенность и вирулентность определяются также способностью микроорганизма уклоняться от защитных механизмов своих хозяев, продуцировать инвазивные вещества (способные к распространению в организме) и проявлять агрессивные свойства. Эти факторы носят название факторов защиты (протекции) и агрессии (инвазии).

Существуют разнообразные способы избежать действия защитных механизмов хозяина - факторы протекции:

- синтез иммунодепрессантов - веществ, подавляющих синтез и активность антител, комплемента, лизоцима и активность иммунокомпетентных клеток;
- локализация паразита в клетках иммунной системы (макрофагах, лимфоцитах);
- изменение поверхностных антигенов инфекционного агента в сторону сближения с антигенами хозяина (молекулярная мимикрия);
- антигенная изменчивость паразита на протяжении инфекционного процесса, связанная с генетической рекомбинацией с участием фагов, плазмид, транспозонов, IS-элементов;
- особенности клеточной поверхности, обуславливающие защиту клетки (капсула, внешняя мембрана у грамотрицательных бактерий, Fc-рецепторные белки стафилококков и стрептококков и т.д.). Капсула защищает бактериальные клетки от фагоцитоза (*Bacteroides fragilis*, *Prevotella melaninogenica*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*), обеспечивает их прикрепление к тканям организма. ЛПС внешней мембраны блокируют антитела, обладают свойствами эндотоксинов (*P. gingivalis*, *B. fragilis*, *F. nucleatum*, *Veillonella parvula*). Fc-рецепторные белки, неспецифически связывающие иммуноглобулин, защищают клетку от действия специфических антител, подавляют фагоцитоз и иммунный ответ, инактивируют систему комплемента;
- включение генома некоторых вирусов в хромосому хозяина с последующей вертикальной передачей (наследованием).

Среди факторов протекции следует подчеркнуть роль полисахаридной капсулы, которая выражена у бактероидов, особенно *B. fragilis*, *Porphyromonas gingivalis*, некоторых других грамотрицательных анаэробных бактерий и стрептококков. Она определяет устойчивость этих бактерий к фагоцитозу, действию антител и некоторых антибактериальных препаратов. Определенную роль в протекции играют и ферментные системы бактерий, позволяющие расщеплять защитные факторы организма (иммуноглобулины G и M, C3 и C5), компоненты комплемента, трансферрин, гемопексин, гаптоглобин или же препятствовать их воздействию на скопление микроорганизмов (плазмокоагулаза).

Таким образом, важным условием колонизации является наличие факторов протекции, позволяющих особям многочисленных видов резидентных микроорганизмов полости рта защищаться и выживать в условиях данной экологической ниши, а также при

выходе за ее пределы, т.е. противостоять действию многочисленных защитных факторов организма человека и бактериоцинов, продуцируемых микроорганизмами-антагонистами.

Наконец, третьим необходимым условием инфективности является наличие факторов колонизации - соответствия ферментных систем бактерий реальной биохимической обстановке: источникам питания, влажности, редокс-потенциалу и тому подобному данного биотопа. В этом случае бактерии получают возможность успешно размножиться в этом биотопе или экологической нише и колонизировать ее.

Следует подчеркнуть, что факторы адгезии, протекции и колонизации являются как бы основой патогенного действия, но не тождественны ему. Для участия в развитии инфекционного процесса микроорганизм обязательно должен обладать также и другими фенотипическими признаками - факторами патогенности.

Инвазивность - способность бактерий к выходу за пределы биотопа в организме с последующим локальным распространением в тканях (контаминация) или разносом с током крови, лимфы (диссеминация). Процесс инвазии, бесспорно, является пусковым моментом патогенеза инфекционного заболевания. В ее реализации основную роль играют различные ферменты агрессии: гиалуронидаза, хондроитинсульфатаза, лецитиназа, гепариназа и др.

Гиалуронидаза, хондроитинсульфатаза и подобные ферменты с гистолитическим действием обнаружены у бактериоидов, фузобактерий, вейллонелл и пропионибактерий, оральные стрептококков и пептострептококков. Значительная протеолитическая активность, ДНКаза, нейраминидаза - у порфиромонад, превотелл и бактериоидов, микроаэрофильных стрептококков. Многие анаэробные и большинство аэробных бактерий полости рта образуют щелочную фосфатазу, каталазу и пероксидазу, а также β -лактамазу, обеспечивающую резистентность к β -лактамам антибиотикам.

Подвижность клетки бактерии существенно увеличивает ее инвазивность. Ворсинки (пили) обеспечивают адгезию клеток и образование микроколоний. Адгезия происходит за счет особых белков или гликопротеинов, названных адгезинами, которые расположены на клеточной поверхности, часто на пиллях, и взаимодействуют с эукариотической клеткой по типу лектинов, осуществляющих углеводно-белковое узнавание. Это взаимодействие является лигандорецепторным, где роль лиганда выполняет адгезин, а рецептора - соответствующая структура углеводного происхождения на поверхности клеточной мембраны хозяина.

Специфичность - стерическое соответствие молекул - лежит также и в основе процесса поражения ткани микроорганизмом (токсичности) и функционирования защитных сил организма, запуска иммунного ответа.

Токсигенность - способность бактерий образовывать экзо- и эндотоксины, а также токсические продукты метаболизма: индол, аммиак, муравьиную кислоту, сероводород и др. Реализация токсигенности приводит к нарушению жизненно важных функций организма человека, что в значительной степени (особенно при наличии у микроорганизма специфических экзотоксинов) определяет клиническую картину заболевания.

Токсигенность - важнейшая составляющая патогенности микроорганизма.

К токсическим веществам относятся ферменты, эндо- и экзотоксины.

Экзотоксины синтезируются некоторыми видами стафилококков, стрептококков, многими анаэробами. Это протеины, которые вырабатываются клеткой в виде неактивных предшественников, их активация происходит путем ограниченного протеолиза под действием ферментов бактериальной клетки или хозяина. В результате активации токсигены приобретают ферментативную активность АДФ-рибозилтрансферазы, которая запускает каскад реакций, ведущих к нарушению синтеза циклического аденозинмонофосфата (АМФ) и, следовательно, к нарушению регуляции синтеза белка в

клетке хозяина. Многие экзотоксины оказывают избирательное влияние на органы и ткани и действуют на восприимчивый организм в малых дозах.

Эндотоксины прочно связаны с клеткой и могут выделяться в среду только после ее разрушения. Обычно это гликоконъюгаты (ЛПС, гликопротеины, гликолипопротеины) клеточной стенки, чаще внешней мембраны грамотрицательных бактерий. Токсичность эндотоксинов проявляется в значительно более высоких концентрациях, чем экзотоксинов. Эндотоксины способны активировать системы комплемента, свертывания крови, влияют на ферментные системы организма и др. Рецепторы для связывания эндотоксинов имеются на мембранах тромбоцитов, макрофагов, лимфоцитов, эндотелия капилляров. Действие эндотоксинов зависит от их концентрации: в малых дозах они способны активировать фагоцитоз и другие защитные реакции организма.

Специфичность - стерическое соответствие молекул - лежит также и в основе процесса поражения ткани микроорганизмом (токсичности) и функционирования защитных сил организма, запуска иммунного ответа.

Токсигенность - способность бактерий образовывать экзо- и эндотоксины, а также токсические продукты метаболизма: индол, аммиак, муравьиную кислоту, сероводород и др. Реализация токсигенности приводит к нарушению жизненно важных функций организма человека, что в значительной степени (особенно при наличии у микроорганизма специфических экзотоксинов) определяет клиническую картину заболевания.

Токсигенность - важная составляющая патогенности микроорганизма.

К токсическим веществам относятся ферменты, эндо- и экзотоксины.

Экзотоксины синтезируются некоторыми видами стафилококков, стрептококков, многими анаэробами. Это протеины, которые вырабатываются клеткой в виде неактивных предшественников, их активация происходит путем ограниченного протеолиза под действием ферментов бактериальной клетки или хозяина. В результате активации токсигены приобретают ферментативную активность АДФ-рибозилтрансферазы, которая запускает каскад реакций, ведущих к нарушению синтеза циклического аденозинмонофосфата (АМФ) и, следовательно, к нарушению регуляции синтеза белка в клетке хозяина. Многие экзотоксины оказывают избирательное влияние на органы и ткани и действуют на восприимчивый организм в малых дозах.

Эндотоксины прочно связаны с клеткой и могут выделяться в среду только после ее разрушения. Обычно это гликоконъюгаты (ЛПС, гликопротеины, гликолипопротеины) клеточной стенки, чаще внешней мембраны грамотрицательных бактерий. Токсичность эндотоксинов проявляется в значительно более высоких концентрациях, чем экзотоксинов. Эндотоксины способны активировать системы комплемента, свертывания крови, влияют на ферментные системы организма и др. Рецепторы для связывания эндотоксинов имеются на мембранах тромбоцитов, макрофагов, лимфоцитов, эндотелия капилляров. Действие эндотоксинов зависит от их концентрации: в малых дозах они способны активировать фагоцитоз и другие защитные реакции организма.

Ферменты патогенности катализируют реакции, ведущие к образованию токсичных продуктов или разрушению клеток и тканей организма. Фибринолизин и гиалуронидаза являются факторами распространения, облегчая бактериальным клеткам проникновение в ткани организма. Фосфолипазы вызывают некроз тканей. Гемолизины и лейкоцидины стафилококков и стрептококков разрушают эритроциты и лейкоциты. Плазмокоагулаза стафилококков и других микроорганизмов - пептидаза, активирующая систему свертывания крови путем каталитического превращения протромбина в тромбин, обеспечивающая создание защитного фибринового чехла вокруг бактериальных клеток. Декарбоксилазы возбудителей анаэробной инфекции и других микроорганизмов катализируют реакции с образованием токсичных аминов.

Для отдельных представителей бактериоидов, фузобактерий и оральных стрептококков доказано существование эндо- и экзотоксинов. Гемолитические и гемотоксические свойства, в частности, выражены у *Streptococcus milleri*, *S. mitis*, *S. sanguis*, *Prevotella melaninogenica* и некоторых других бактериоидов, а также у грамположительных спорообразующих анаэробов рода *Clostridium*. *C. perfringens*, *C. septicum* и другие представители этой группы имеют различные виды экзотоксинов с некротическим, гистолитическим, нейротоксическим и прочими механизмами действия.

Необходимо подчеркнуть, что наличие у оральных бактерий целого ряда механизмов реализации болезнетворного действия подтверждено в опытах на животных, причем *I. Brook*(1985-1987), а затем и другие исследователи показали, что развитию прогрессирующего воспалительного процесса способствует использование для заражения ассоциаций нескольких оральных микроорганизмов.

Таким образом, согласно современным представлениям, основными механизмами реализации потенциально патогенного генотипа являются адгезия, протективные, инвазивные и токсические свойства микроорганизмов, что в конечном итоге обеспечивает выход резидентной микрофлоры за пределы экологической ниши обитания в организме и колонизацию подслизистого слоя, фасциально-клетчаточных пространств, внедрение в пародонт, мышечную ткань, периост и т.д.

Воспалительные заболевания, вызываемые микроорганизмами-оппортунистами, поражают любые ткани челюстно-лицевой области: слизистую оболочку, жировую клетчатку, мышцы и фасции, связочный аппарат и кости. Для развития заболевания необходимо, чтобы возникли условия для выхода микрофлоры за пределы свойственной ей в организме экологической ниши или биотопа.

Они могут быть местными, чисто механическими, или общими, связанными с нарушением регуляции и защиты во всем организме.

К местным условиям относят травму слизистой оболочки полости рта, удаление зуба, стаз крови в капиллярах, некроз ткани, снижение редокс-потенциала (парциального давления кислорода), дефицит различных местных систем и факторов защиты.

Общие условия: соматические заболевания и состояния, приводящие к недостаточности неспецифической резистентности или иммунологической реактивности организма в целом.

Как чаще всего выглядит последовательность событий (звеньев патогенеза) при развитии воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области, изображено на рис. 29-1.



Рис. 29-1. Патогенез оппортунистических инфекций челюстно-лицевой области

Таким образом, характерными чертами патогенеза заболевания являются:

- прогрессирование процесса от местного к общему (выраженная тенденция к генерализации процесса);
- полибактериальный характер процесса (микст-инфекция);
- последовательная смена доминирования аэробных, факультативно-анаэробных и облигатно-анаэробных видов.

В материале от больного могут определяться одновременно ассоциации 3-5 видов и более облигатно-анаэробных бактерий или их сочетания с факультативными анаэробами (чаще - стафилококком, стрептококком) и аэробами (синегнойной палочкой, нейссерией).

Симбионтные отношения, которые складываются между различными бактериями слизистой оболочки полости рта или зубной бляшки, при развитии инфекционного процесса обеспечивают синергизм их патогенного действия в очаге воспаления.

Из приведенных данных видно, что постановка правильного этиологического диагноза в клинической практике крайне затруднена из-за длительного срока исследования, высокой стоимости оборудования, материалов и питательных сред. Вместе с тем данные о составе микрофлоры гнойного очага необходимы для целенаправленной антибактериальной терапии.

Многочисленными исследованиями, проведенными как в нашей стране, так и за рубежом, доказано, что в подавляющем большинстве случаев гнойно-воспалительные процессы вызываются резидентной микрофлорой полости рта. Развитию этих заболеваний предшествует активизирование хронических одонтогенных очагов (хронический

периодонтит, пародонтит, перикоронит, лимфаденит и др.), острые процессы (острый периодонтит, лимфаденит и др.). Проникновение же инфекции в мягкие ткани и кость может происходить различными путями: лимфогенным, гематогенным, по протяжению, контактным и т.д.

29.3. СОСТАВ МИКРОФЛОРЫ ОДОНТОГЕННЫХ ОЧАГОВ

Рассмотрим состав микрофлоры гнойных очагов при различных формах одонтогенных гнойно-воспалительных заболеваний.

В 90-100% случаев в фокусе воспаления определяется от 2 до 7 видов различных микроорганизмов, при этом более чем у половины пациентов определяется сочетание облигатных и факультативных анаэробных видов, в 30% ассоциаций выявляются только анаэробы. Следует отметить, что именно такой процент так называемых стерильных посевов выявляется при использовании только аэробной микробиологической техники.

Около 65% штаммов представлены неспорообразующими анаэробными бактериями, преимущественно грамотрицательными палочками (бактероидами и фузобактериями) и грамположительными кокками (пептострептококками и пептококками), реже определялись актиномицеты, вейллонеллы. Факультативно-анаэробные и аэробные бактерии составляют в среднем 35% всех выделенных штаммов. Из них наиболее часто определяются стафилококки (17,4%), стрептококки, энтеробактерии и бациллы.

В большинстве микробиологических лабораторий выявляется большое количество стафилококков (до 50-60%). Вероятно, гипердиагностика стафилококковой инфекции связана с применением только аэробной техники культивирования бактерий, отказом от применения количественных методов исследования (при этом даже обнаружение единичных колоний расценивается как положительный результат). Это, в свою очередь, приводит к неполноценной антибактериальной терапии.

Безусловно, роль стафилококков и гемолитических стрептококков в развитии одонтогенной инфекции важна, но она не является определяющей, как это считали ранее. Основная их роль в одонтогенном воспалении, очевидно, связана с созданием определенных условий для жизнедеятельности строгих анаэробных микроорганизмов, в частности, снижение редокс-потенциала тканей, продуцирование β -лактамаз и др.

Особое место в развитии одонтогенного воспаления принадлежит анаэробным бактериям группы бактериоидов. В гнойных очагах встречается более 10 видов данных микроорганизмов, которые относятся к трем родам: *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*. Главным образом определяются виды: *P. melaninogenicus*, *P. assaccarolyticus*, *P. capillosus*, *P. oralis*, которые образуют пигмент и продуцируют разнообразные жирные кислоты.

Существует мнение, что присутствие в гнойном очаге челюстно-лицевой области анаэробных бактерий существенно утяжеляет клиническое течение заболевания. Вместе с тем они одинаково часто встречаются как при ограниченных процессах (абсцессе, лимфадените), так и при разлитых (флегмоне, остеомиелите). Следовательно, анаэробные микроорганизмы являются не столько особым видом одонтогенной инфекции, сколько банальной микрофлорой.

Учитывая ассоциативный характер бактериального пейзажа одонтогенных воспалительных очагов, закономерно возникает вопрос о роли отдельных представителей в развитии и течении заболевания. В этом может помочь изучение количественного соотношения отдельных представителей микрофлоры (разумеется, с учетом их патогенных свойств). Проанализируем частоту доминирования облигатно- и факультативно-анаэробных бактерий в бактериальных ассоциациях при локализации гнойного процесса в мягких

тканях лица. Бактероиды не только чаще прочих выделяются из гнойных очагов, но и у 1/3 пациентов преобладают в составе бактериальной ассоциации. В 20% превалируют бактерии рода *Peptostreptococcus*, стафилококки - в 15% ассоциаций.

Остальные микроорганизмы являются ведущими в 3-8% случаев. Необходимо отметить, что такая закономерность прослеживается независимо от распространенности гнойно-воспалительного процесса, но зависит от его длительности и проводимого лечения. Следует учитывать и то, что концентрация микроорганизмов в гнойном экссудате ниже при ограниченных очагах и выше при разлитых, захватывающих два клетчаточных пространства и более. Это, очевидно, связано с более глубокими нарушениями гомеостаза при прогрессирующих заболеваниях.

Таким образом, микрофлора при острых одонтогенных гнойно-воспалительных заболеваниях является смешанной, с четко выраженной анаэробной доминантой, что необходимо учитывать при антибактериальной терапии.

В табл. 29-2 представлена частота выделения основных микроорганизмов у больных одонтогенным абсцессом, флегмоной, лимфаденитом и остеомиелитом.

Таблица 29-2. Частота выделения отдельных представителей микрофлоры гнойных очагов больных одонтогенными заболеваниями челюстно-лицевой области

Род	Нозологическая форма			
	Абсцесс	Флегмона 1-2 пространств	Флегмона 3 пространств и более	Лимфаденит
<i>Staphylococcus</i>	17,1	17,4	12,3	18,2
<i>Streptococcus</i>	7,3	10,3	8,2	9,1
<i>Bacillus</i>	1,2	2,6	5,5	4,5
Другие факультативные анаэробы	11	5,2	9,6	4,6
Всего факультативных анаэробов	36,6	35,5	35,6	36,4
<i>Bacteroides</i>	26,7	25,2	30,1	18,2
<i>Fusobacterium</i>	8,5	7,1	4,1	9,1
<i>Peptococcus</i>	8,5	5,8	8,2	15,9
<i>Peptostreptococcus</i>	12,2	14,2	12,3	18,2
<i>Actinomyces</i>	7,2	3,2	2,7	-
Другие анаэробы	0,3	9	7	2,2
Всего облигатных анаэробов	63,4	64,5	64,4	63,6

29.4. ВАРИАНТЫ ИММУННОЙ РЕАКТИВНОСТИ ПАЦИЕНТОВ И ИММУНОБАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАЛЛЕЛИ В РАЗВИТИИ ОДОНТОГЕННОЙ ИНФЕКЦИИ

Результаты микробиологических исследований свидетельствуют о том, что ведущая роль в этиологии воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области принадлежит облигатным неспорообразующим анаэробным микроорганизмам. Среди них могут быть представители практически всех видов нормальной или резидентной микрофлоры полости рта: *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fuso-bacterium*, *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, *Actinomyces* и др.

Однако нередко выявляются связи между типом реактивности (гипоергией, нормергией, гиперергией), характером доминирующей микрофлоры и клиническими проявлениями заболевания.

Так, в зависимости от типа реактивности бактериальные ассоциации могут отличаться как участием нескольких видов облигатных анаэробных видов, так и их сочетанием с факультативными анаэробными и аэробными бактериями или грибами. Отмечено увеличение частоты выделения количества микроорганизмов с низкой вирулентностью (*Veillonella*, *Corynebacterium*) и микроорганизмов, не свойственных полости рта (*Pseudomonas aeruginosae*, *Enterobacter spp.*, *Bacillus spp.*), в воспалительных очагах у больных с наиболее выраженными признаками снижения реактивности иммунной системы (отклонением по основным параметрам иммунограммы на 30-40% и более).

Анализ результатов клиничко-лабораторных, микробиологических и иммунологических исследований у больных с острыми ограниченными и разлитыми одонтогенными воспалительными процессами челюстно-лицевой области в зависимости от типов реактивности позволил выделить варианты изменений иммунореактивности с учетом величин как неспецифических, так и иммунных показателей.

Характер и степень изменения данных показателей отражены в табл. 29-3, 29-4.

Так, клинически диагностируемому нормергическому типу течения воспалительной реакции соответствовали минимальные изменения величин большинства показателей неспецифической и иммунной реактивности, что может быть охарактеризовано как *нормореактивный иммуновариант*. Колебания этих величин в основном достоверно не отличаются от среднестатистических контрольных значений и укладываются в границы общепринятой нормы.

Таблица 29-3. Характеристика направленности и степени изменений основных клиничко-лабораторных показателей у больных с воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области в зависимости от типа течения воспалительной реакции

Показатели	Острое воспаление		
	Нормергия	Гипоергия	Гиперергия
Температура тела	↑-↑↑	↓↑-↑	↑↑↑
Симптомы интоксикации (общие)	↑↑	↓↑-↑	↑↑↑
Болевой синдром	↑↑-↑↑↑	↓↑-↑	↑↑↑
Степень нарушения функций	↑-↑↑	↑↑-↑↑↑	↑↑-↑↑↑
Общее количество лейкоцитов	↑-↑↑	N-↑	↑↑↑
СОЭ	↑-↑↑	↑↑	↑↑↑
ФАЛ	↑↑	↓↑-↑	↑↑↑
ПОЛ	↓↑-↑	↑↑-↑↑↑	↑↑↑
Общая антиоксидантная активность организма	N-↑	↓↓-↓↓↓	↓↓↓

Одна стрелка соответствует изменению величины показателя в пределах до 30%, соответственно ↑↑(↓↓) – от 31 до 60%, ↑↑↑(↓↓↓) – 60% и более.

N – отсутствие изменений; ↓↑ – вариательно; ↑ – незначительное увеличение; ↑↑ – умеренное увеличение; ↑↑↑ – выраженное увеличение; ↓ – незначительное уменьшение; ↓↓ – умеренное уменьшение; ↓↓↓ – выраженное уменьшение.

Обычно наблюдается достоверное изменение следующих показателей:

- содержания лимфоцитов и моноцитов, несущих маркеры ранней активации (повышалось); содержания лимфоцитов, несущих рецептор адгезии CD54 (повышалось);
- показателей гуморального иммунитета - умеренно повышаются, особенно количество сывороточного IgG;
- фагоцитарной активностью лейкоцитов - умеренно повышается.

Описанные изменения можно расценивать как адекватный иммунный ответ и реакцию защитных систем организма на развитие острого воспаления, так как в этом случае не выявляется признаков иммунодефицита или резко выраженной аллергической перестройки иммунных процессов.

При гиперергическом типе течения воспалительной реакции отмечается наибольшая степень отклонения величин большинства показателей, преимущественно в сторону их повышения. Характер изменений иммунологических параметров соответствует *гиперреактивному иммуноварианту* развития заболевания.

Таблица 29-4. Характеристика направленности и степени изменений основных иммунологических показателей у больных с воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области в зависимости от иммуноварианта развития процесса

Показатели	Нормо-реактивный	Гипо-реактивный	Гипер-реактивный
CD3 ⁺ -Лф	N-↓	↓↓	N-↑
CD4 ⁺ -Лф	N-↓	↓↓	N
CD8 ⁺ -Лф	N-↓	↑-↑↑	N
IgA	↓↑-↑	↓↑-↑	↓↑-↑
IgM	↓↑-↑	↓↑-↑	↑-↑↑
IgG	↑↑	↑↑-↑↑↑	↑↑↑
CD16 ⁺ -Лф (NK-клетки)	N	↓-↑	N-↑↑
CD11b ⁺ -Лф	N	↓	↑↑
CD25 ⁺ -Лф	N-↑	N-↓	↑↑-↑↑↑
CD71 ⁺ -Мн и -Лф	↑	N-↓	↑↑↑
CD95L ⁺ -Лф, -Мн и -Нф	↓↑	↓↑-↑	↑-↑↑
CD11b ⁺ -Нф	↑	N-↓	↑↑
CD25 ⁺ -Лф и -Мн	↑↑	↓-↑↑	↑↑↑
CD3/HLA-DR-Лф	N-↓	↑↑↑-↓↓↓	↑↑↑
CD3/HLA-DR-Мн	N-↓	↑↑-↓	↑↑↑
CD20 ⁺ -Лф	↑	N-↓↑	↑↑
CD72 ⁺ -Лф	↓↓	N	↓↓
CD23 ⁺ -Лф	↑↑	↑-↑↑	↑↑
CD54 ⁺ -Лф	↑↑	N-↓↑	↑↑

Одна стрелка соответствует изменению величины показателя в пределах до 30%, соответственно ↑↑(↓↓) – от 31 до 60%, ↑↑↑(↓↓↓) – 60% и более.

N – отсутствие изменений; ↓↑ – вариабельно; ↑ – незначительное увеличение; ↑↑ – умеренное увеличение; ↑↑↑ – выраженное увеличение; ↓ – незначительное уменьшение; ↓↓ – умеренное уменьшение; ↓↓↓ – выраженное уменьшение; Лф – лимфоциты; Мн – моноциты; Нф – нейтрофилы.

Характерные признаки:

- увеличение количества натуральных (естественных) киллеров;
- увеличение количества клеток (лимфо- и моноцитов, нейтрофилов), несущих маркеры ранней и поздней активации, пролиферации, адгезии и апоптоза;
- увеличение CD3/HLA-DR-субпопуляции лимфоцитов и моноцитов;
- увеличение общего количества лейкоцитов, нейтрофилов, скорость оседания эритроцитов, фагоцитарная активность лейкоцитов, перекисного окисления липидов;
- резкое повышение содержания сывороточного IgG;
- как правило, снижение экспрессии CD72⁺ на лимфоцитах и уровня общей антиоксидантной активности организма.

Клинически диагностируемому гиперергическому типу течения воспалительной реакции соответствовали наиболее достоверные изменения следующих иммунологических показателей, которые характеризовали *гипореактивный иммуновариант* развития заболевания:

- снижение содержания CD3⁺- и CD4⁺-лимфоцитов и иммунорегуляторного индекса при увеличении содержания CD8⁺-лимфоцитов;
- увеличение содержания IgM, а по истечении нескольких дней и при развитии вялотекущего процесса - также и IgA, IgG;

- некоторое повышение количества клеток, несущих ранние и поздние активационные маркеры;
- повышение количества клеток, несущих маркеры апоптоза;
- увеличение, а при длительном течении - резкое истощение CD3/ HLA-DR-субпопуляции лимфоцитов и моноцитов (гипореактивный иммуновариант).

Наиболее характерной тенденцией в характеристике иммунного статуса таких пациентов являлось снижение количества хелперов, иммуно-регуляторного индекса и фагоцитарной активности.

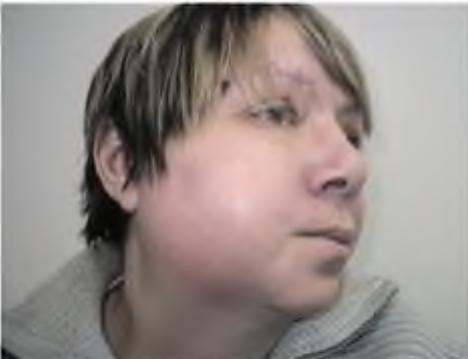
Из показателей общей реактивности умеренно повышаются скорость оседания эритроцитов и перекисное окисление липидов, но снижается общая антиоксидантная активность организма.

Однако не следует объяснять клинические варианты типов течения воспалительной реакции только с позиций эндогенных реактивных изменений в организме, так как воспалительная реакция формируется при взаимодействии эндогенных и экзогенных этиологических факторов, прежде всего, бактериальных агентов (бактерий, грибов, простейших, вирусов).

Ниже рассмотрены различные варианты соотношений высоко- и низковирулентных видов, выделяемых из воспалительного очага в больших или меньших количествах. Взаимодействия различных по силе эндогенных и бактериальных факторов сформировали различные варианты клинических проявлений заболевания. Эти данные представлены в табл. 29-5.

Таблица 29-5. Клинические проявления острой воспалительной реакции при разных вариантах взаимодействия эндогенных и бактериальных этиопатогенетических факторов (А-Г)

A

Реактив-ность	Микрофлора очага: свыше 4 видов микро-организмов, преимущественно с высокой вирулентностью	Клинические примеры
Низкая	<p><i>Гипоергия</i> Большой объем поражения, склонность к затяжному течению и хронизации</p>	
Нормальная	<p><i>Нормергия</i> С большей площадью поражения, часто переход в гиперергию, редко возможны хронизация, гипоергия</p>	
Повышенная	<p>1. <i>Гиперергия</i> С большой площадью поражения, склонность к тяжелым осложнениям</p> <p>2. Возможен переход в <i>анергию</i> при резком истощении защитных сил, генерализации инфекции</p>	

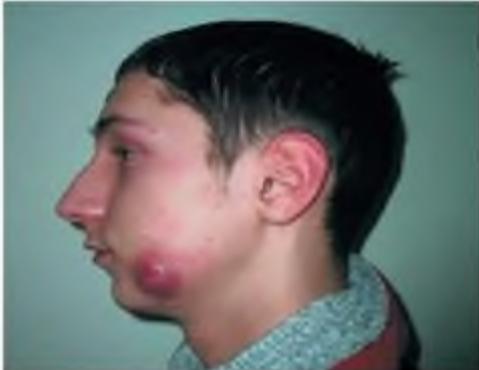
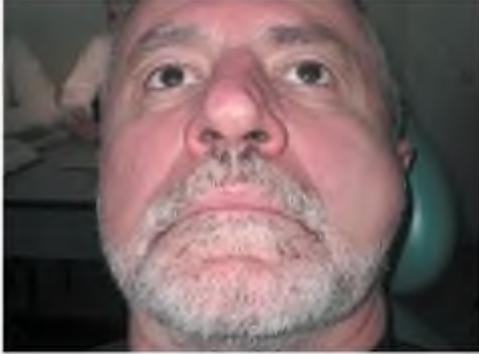
Б

Реактив- ность	Микрофлора очага: свыше 4 видов микро- организмов, преиму- щественно с высокой вирулентностью	Клинические примеры
Низкая	<p><i>Гипоергия</i> Клиническая картина характерна для вида вы- деляемого микроорга- низма, что обусловлено наличием тех или иных факторов его инвазив- ности (некроза, отека, газообразования, запаха и пр.)</p>	
Нормальная	<p><i>Нормергия</i>: чаще. <i>Гиперергия</i>: редко</p>	
Повышенная	<p><i>Гиперергия</i>. Клинические проявления зависят от того или иного вида микроорганизма, фак- торов его инвазивности (некроза, отека, крени- тации, запаха и пр.) При правильном ин- тенсивном лечении переходит в <i>нормергию</i>, осложнения — редко</p>	

В

Реактив- ность	Микрофлора очага: свыше 4 видов микро- организмов, преиму- щественно с высокой вирулентностью	Клинические примеры
Низкая	<i>Нормергия</i> или <i>гипоергия</i> Чаще небольшой объем поражения, склонность к затяжному течению и хронизации	
Нормальная	<i>Нормергия</i> Наиболее благоприятные условия для быстрого послеоперационного заживления	
Повышенная	<i>Нормергия</i> Быстрое послеопера- ционное заживление, воспаление может завершиться на стадии инфильтрации	

Г

Реактив- ность	Микрофлора очага: свыше 4 видов микро- организмов, преиму- щественно с высокой вирулентностью	Клинические примеры
Низкая	По типу <i>нормергии</i> : локальные поражения	
Нормальная	<i>Нормергия</i> инфильтрация незначи- тельная, как правило, без нагноения	
Повышенная	Клинических проявлений обычно не бывает, т.к. микроорганизмы со слабой вирулентностью быстро инактивируются при попадании в ткани. Редко возможны аллергические реакции с развитием гиперергического воспаления	

Так, при гипореактивном иммуноварианте (наличии иммунодефицита по многим показателям) попадание в ткани большого количества видов высоковирулентных микроорганизмов при обострении воспаления клинически соответствует гиперергической воспалительной реакции со склонностью к затяжному течению и хронизации (рис. 295, А). Если на фоне пониженной реактивности организма в ткани попадает небольшое количество видов микроорганизмов, а их суммарная вирулентность высока, формируется гиперергическая воспалительная реакция. Но особенности клинических проявлений могут быть обусловлены присутствием в преобладающем количестве того или иного микроорганизма: внешний вид экссудата, наличие и характер некротических изменений в тканях, наличие признаков газообразования (крепитации) при клостридиальной инфекции и т.д. Напротив, взаимодействие большого количества микроорганизмов в очаге, суммарная степень вирулентности которых невысока, на фоне низкой реактивности организма

клинически может проявляться как нормергической, так и гипоергической воспалительной реакцией с небольшим объемом поражения (абсцессом либо флегмоной в пределах одного клетчаточного пространства) (рис. 29-5, Б). Если при нормальной реактивности макроорганизма в ткани попадает большое количество микроорганизмов с высокой суммарной вирулентностью, то возможно формирование нормергического типа течения воспалительной реакции, но также возможно развитие гиперергического типа ответа (рис. 29-5, В). Все другие варианты взаимодействия неизменной реактивности организма и бактериальных агентов преимущественно выражаются в нормергической воспалительной реакции. При небольшом количестве маловирулентных микроорганизмов и нормальной реактивности, как правило, нагноения не происходит, и воспаление самопроизвольно ликвидируется на стадии инфильтрации. При повышенной реактивности организма (усилении многих параметров реактивности) попадание в ткани большого количества микроорганизмов с высокой суммарной степенью вирулентности способствует формированию гиперергической воспалительной реакции с большой площадью распространения и склонностью к развитию тяжелых осложнений. При этом может наступить быстрое истощение иммунной системы, что приводит к анергии вплоть до паралича отдельных звеньев защиты. В таких случаях может также развиваться септическое состояние, обусловленное генерализацией инфекции. Сочетание гиперреактивного иммуноварианта с поступлением в ткани двух видов и более высоковирулентных микроорганизмов может приводить к формированию гиперергической воспалительной реакции.

При этом в клинической картине могут проявляться признаки, характерные для той или иной группы возбудителей (запах ароматический - энтеробактерии, черемухи - синегнойная палочка, гнилостный - клостридиальная микрофлора, мускусный - бактероидная группа и т.д.). На фоне адекватного лечения воспалительная реакция быстро принимает характер нормергической. Возможно также и изначальное формирование нормергического воспаления. Если же у лиц с повышенной реактивностью организма в ткани попадает незначительное количество низковирулентных микроорганизмов, то воспаление может либо быстро завершиться на стадии инфильтрации, либо вовсе не проявиться клинически, так как микроорганизмы быстро инактивируются и элиминируются (рис. 29-5, Г).

29.5. СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ЭТИОЛОГИЮ АКТИНОМИКОЗА

Анаэробные актиномицеты (*A. israelii*, *A. naeslundii*, R-вариант и др.) выделяются у 8-10% больных хроническими формами одонтогенных процессов, т.е. несколько чаще, чем при острых процессах. Кроме этого выделяются аэробные актиномицеты, которые по классификации *S. Waksman* относятся к грибам рода *Streptomyces*. Особенно эта тенденция прослеживается у больных с костной формой актиномикоза. Как известно, именно анаэробным и аэробным актиномицетам отводится место возбудителя актиномикоза (рис. 29-3).

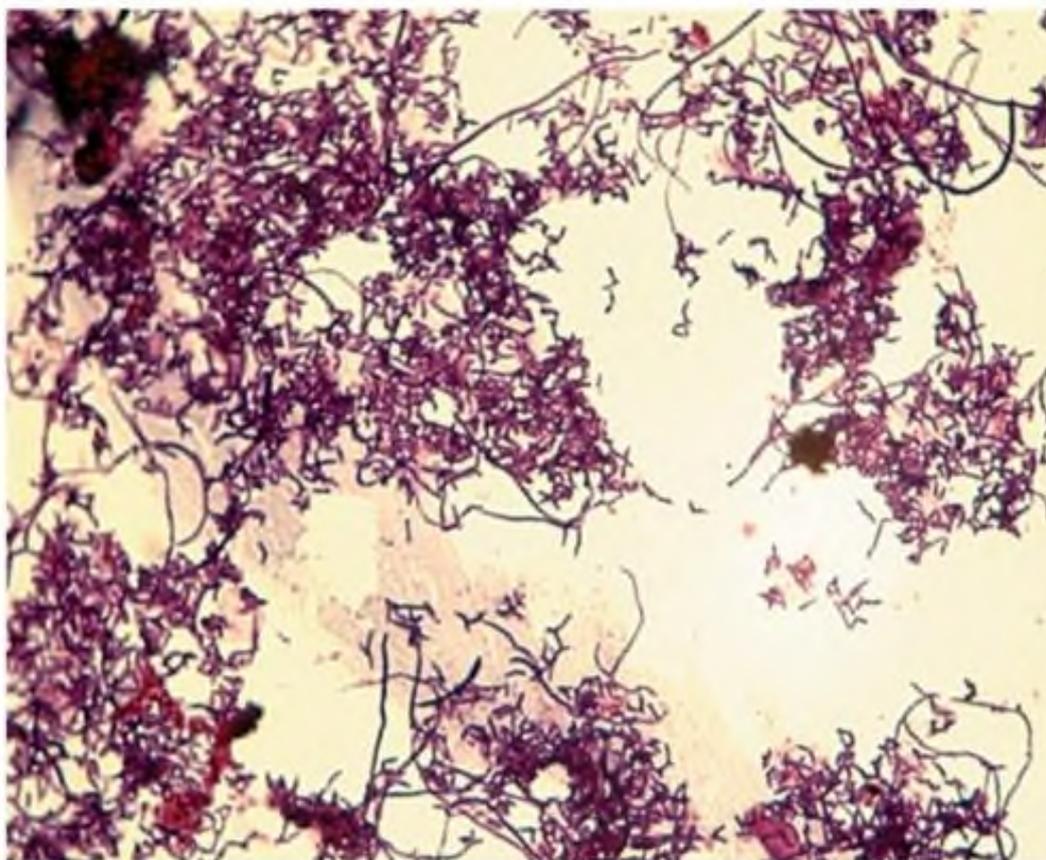


Рис. 29-3. Мазок чистой культуры *Actinomyces israelii*. Окрасивание по Граму. Объектив x90, иммерсия

Вместе с тем в последних работах не меньшее внимание уделяется находкам облигатно-анаэробных микроорганизмов родов *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus* и др., частота выделения которых (15-30%) в 1,5-2 раза превышает таковую актиномицетов.

При хронических воспалительных заболеваниях, как неспецифических (хронический лимфаденит, хронический остеомиелит и др.), так и специфических (актиномикоз), микрофлора воспалительного очага мало отличается: облигатные анаэробы составляют около 60%, микроаэрофильные стрептококки - до 6%, в остальных случаях выделяются факультативные и аэробные микроорганизмы. Доминирующей микрофлорой у данных больных, так же как и при острых воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области, являются облигатно-анаэробные бактерии группы бактериоидов (24-26%) и *Peptostreptococcus* (18-20%), а также стафилококки (20%).

Определенной особенностью бактериального пейзажа хронических гнойно-воспалительных заболеваний лица и челюстей является высокая частота обнаружения бацилл. Это наряду с выделением актиномицетов и стрептомицетов объясняется более глубокими, чем при острых процессах, нарушениями иммунологических механизмов, в частности, истощением резервов макрофагально-гранулоцитарной системы.

Полученные данные позволяют говорить о хронических воспалительных процессах челюстно-лицевой области (включая актиномикоз) как о полиэтиологических заболеваниях, развивающихся по типу оппортунистического заболевания.

29.6. МИКРОФЛОРА ПРИ НЕОДОНТОГЕННЫХ ПРОЦЕССАХ И ТРАВМАХ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ

Гораздо менее разнообразна микрофлора при неодонтогенных гнойно-воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области (фурункуле, нагноившейся атероме, гнойных ранах травматического происхождения, нагноении после операционных непроникающих ран и др.). Характерна более высокая доля факультативно-анаэробных и аэробных микроорганизмов, составляющая от 67 до 69%. Наиболее часто определяются стафилококки (21-50%) и стрептококки (12-21%), из последних преимущественно выделяются *Streptococcus pyogenes*. Нередко процесс вызывают бациллы (около 10%). облигатные анаэробы составляют около 30% выделенных штаммов. Следует отметить, что у 1/3 больных микрофлора определяется в виде моноинфекции.

Бактериальный пейзаж травматического остеомиелита челюсти и флегмоны, осложнившейся перелом челюсти, в целом не отличается от показателей при флегмоне и остеомиелите одонтогенного происхождения. Это обусловлено источником инфицирования поврежденных тканей из околозубных воспалительных очагов через пораженную слизистую оболочку из полости рта, гигиеническое состояние которой существенно ухудшается после травмы.

Однако в отличие от одонтогенных воспалительных процессов при травматическом остеомиелите не прослеживается последовательного изменения в доминировании факультативно- и облигатно-анаэробной микрофлоры. Кроме этого в патогенезе определенную роль играет наличие тканей, заведомо нежизнеспособных и имеющих низкий окислительно-восстановительный потенциал, что создает благоприятные условия для развития анаэробов.

ГЛАВА 30. МИКРОФЛОРА ПОЛОСТИ РТА КАК ЭТИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКТОР ПРИ СИСТЕМНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ОРГАНИЗМА

30.1. ЗНАЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКИХ ОЧАГОВ ИНФЕКЦИИ В ПОЛОСТИ РТА В РАЗВИТИИ ОБЩЕЙ СОМАТИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ

В последние годы возрождается представление об очаговой инфекции полости рта, хотя и в новом свете. Эпидемиологические исследования подтверждают, что у больных пародонтитом чаще отмечается атеросклероз коронарных артерий. Бактериологические исследования указывают на присутствие в атеросклеротических бляшках бактерий полости рта.

Попадая в кровь из очага в полости рта, они могут при бактериемии откладываться непосредственно в коронарных сосудах или в уже существующих бляшках. Показано, что некоторые из микроорганизмов полости рта проявляют адгезию и инвазию в отношении эндотелиоцитов. В других исследованиях установлено, что с заболеванием пародонта могут быть связаны преждевременные роды и низкая масса тела новорожденного. Эпидемиологические исследования недавно позволили установить, что источником подобного депонирования микроорганизмов может быть также и эндодонтический очаг инфекции.

Несмотря на эпидемиологические данные, многие исследователи и кардиологи считают имеющиеся свидетельства недостаточными для признания важной роли инфекций полости рта в патогенезе коронарной болезни и других указанных состояний. Если такие доказательства в конечном счете будут представлены, врачам придется обратить более пристальное внимание на состояние зубов как возможную причину серьезного сердечно-сосудистого заболевания.

30.2. РОЛЬ МИКРОФЛОРЫ ПОЛОСТИ РТА В РАЗВИТИИ ИНФЕКЦИОННОГО ЭНДОКАРДИТА

Наиболее известной системной инфекцией с участием бактерий полости рта является инфекционный эндокардит. Это заболевание поврежденных или аномальных клапанов сердца протекает бессимптомно, пока не происходит их инфицирование (обычно стрептококками полости рта). При таких инфекциях, как периодонтит или периапикальный абсцесс, возможна диссеминация с попаданием в кровь смеси патогенных и комменсальных бактерий полости рта. Подобную бактериемию может спровоцировать простая гигиеническая обработка полости рта или хирургическая процедура. Попадая в кровь и инфицируя чувствительные клапаны сердца, даже безвредные представители микрофлоры полости рта могут проявлять свойства возбудителя.

Инфицированию подвержены клапаны и ткани эндокарда с предшествующим заболеванием, повреждением или аномалией развития. К факторам риска инфекционного эндокардита относят: ревматизм с повреждением клапанов сердца, предшествующие операции на сердце, порок митрального клапана, внутривенная наркомания, употребление в пищу средств типа «fen-phen» (биодобавка для похудения). При этих состояниях эндотелий клапанов может отслаиваться, обнажая подлежащую соединительную ткань, которая активирует тромбоциты к репарации. Последние прилипают к соединительной ткани и распространяются по ней.

В период бактериемии микроорганизмы (обычно комменсальные стрептококки полости рта) связываются с незащищенной соединительной тканью и прилипшими к ней тромбоцитами. Под влиянием некоторых стрептококков тромбоциты связывают фибриноген, агрегируют и формируют сгустки или тромбы (рис. 30-1). При этом стрептококки экспрессируют РААР. Вблизи формирующегося тромба поврежденные эндотелиоциты и активированные мононуклеары под влиянием ЛПС грамотрицательных бактерий, присутствующих в крови при полибактериальной бактериемии, образуют тканевый фактор. Он «запускает» процесс коагуляции, ведущий к полимеризации фибрина в сгустке. Для инфекционного эндокардита характерны вегетации на поврежденных клапанах и других поверхностях эндокарда, состоящие из бактериальной массы, тромбоцитов и фибрина. По мере роста бактерий, защищенных от факторов врожденного иммунитета, размер вегетаций увеличивается. В этой необычной среде стрептококки изменяют экспрессию своих генов, переходя от комменсального к патогенному «поведению».

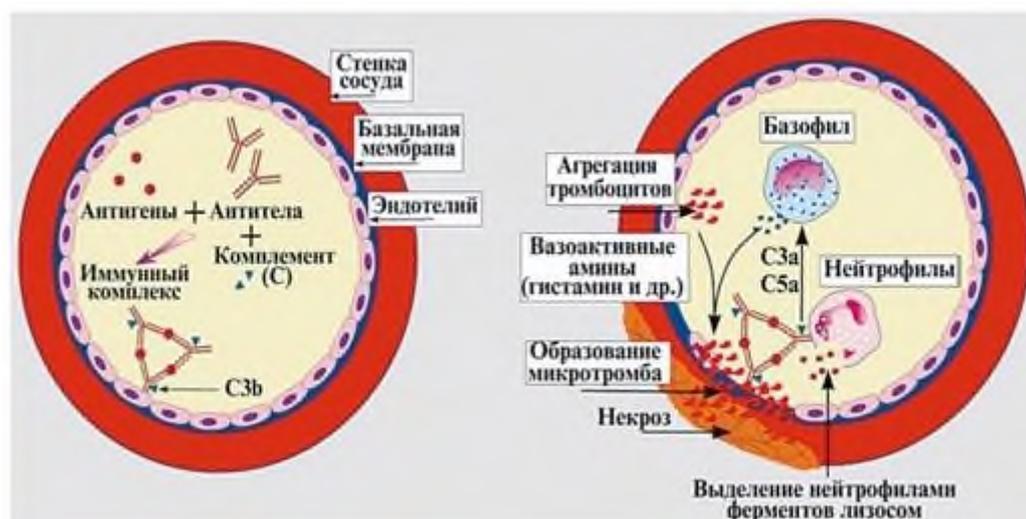


Рис. 30-1. Повреждающее действие на сосуды иммунных комплексов и комплемента

Характером вегетации во многом определяется исход заболевания. Внутри сгустка из тромбоцитов и фибрина колонизирующие бактерии защищены от факторов приобретенного иммунитета и антибиотиков. Если бактерии чувствительны к антибактериальному белку активированных тромбоцитов (фактору врожденного иммунитета), инфекция может пройти самостоятельно. В противном случае заболевание приобретает затяжной характер. Без лечения инфекционный эндокардит может привести к клапанной недостаточности, а в случаях септической эмболии, инфекции и инфарктов других органов летальность может достигать 100%. В связи с этим Американская ассоциация кардиологов и другие организации в мире для снижения риска инфекционного эндокардита у стоматологических больных рекомендуют перед проведением процедур, способных индуцировать бактериемию, назначать специальный курс антибиотикопрофилактики.

30.1. ЗНАЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКИХ ОЧАГОВ ИНФЕКЦИИ В ПОЛОСТИ РТА В РАЗВИТИИ ОБЩЕЙ СОМАТИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ

В последние годы возрождается представление об очаговой инфекции полости рта, хотя и в новом свете. Эпидемиологические исследования подтверждают, что у больных пародонтитом чаще отмечается атеросклероз коронарных артерий. Бактериологические исследования указывают на присутствие в атеросклеротических бляшках бактерий полости рта.

Попадая в кровь из очага в полости рта, они могут при бактериемии откладываться непосредственно в коронарных сосудах или в уже существующих бляшках. Показано, что некоторые из микроорганизмов полости рта проявляют адгезию и инвазию в отношении эндотелиоцитов. В других исследованиях установлено, что с заболеванием пародонта могут быть связаны преждевременные роды и низкая масса тела новорожденного. Эпидемиологические исследования недавно позволили установить, что источником подобного депонирования микроорганизмов может быть также и эндодонтический очаг инфекции.

Несмотря на эпидемиологические данные, многие исследователи и кардиологи считают имеющиеся свидетельства недостаточными для признания важной роли инфекций полости рта в патогенезе коронарной болезни и других указанных состояний. Если такие доказательства в конечном счете будут представлены, врачам придется обратить более пристальное внимание на состояние зубов как возможную причину серьезного сердечно-сосудистого заболевания.

30.2. РОЛЬ МИКРОФЛОРЫ ПОЛОСТИ РТА В РАЗВИТИИ ИНФЕКЦИОННОГО ЭНДОКАРДИТА

Наиболее известной системной инфекцией с участием бактерий полости рта является инфекционный эндокардит. Это заболевание поврежденных или аномальных клапанов сердца протекает бессимптомно, пока не происходит их инфицирование (обычно стрептококками полости рта). При таких инфекциях, как периодонтит или периапикальный абсцесс, возможна диссеминация с попаданием в кровь смеси патогенных и комменсальных бактерий полости рта. Подобную бактериемию может спровоцировать простая гигиеническая обработка полости рта или хирургическая процедура. Попадая в кровь и инфицируя чувствительные клапаны сердца, даже безвредные представители микрофлоры полости рта могут проявлять свойства возбудителя.

Инфицированию подвержены клапаны и ткани эндокарда с предшествующим заболеванием, повреждением или аномалией развития. К факторам риска инфекционного эндокардита относят: ревматизм с повреждением клапанов сердца, предшествующие операции на сердце, порок митрального клапана, внутривенная наркомания, употребление в

пищу средств типа «fen-phen» (биодобавка для похудения). При этих состояниях эндотелий клапанов может отслаиваться, обнажая подлежащую соединительную ткань, которая активирует тромбоциты к репарации. Последние прилипают к соединительной ткани и распространяются по ней.

В период бактериемии микроорганизмы (обычно комменсальные стрептококки полости рта) связываются с незащищенной соединительной тканью и прилипшими к ней тромбоцитами. Под влиянием некоторых стрептококков тромбоциты связывают фибриноген, агрегируют и формируют сгустки или тромбы (рис. 30-1). При этом стрептококки экспрессируют РААР. Вблизи формирующегося тромба поврежденные эндотелиоциты и активированные мононуклеары под влиянием ЛПС грамотрицательных бактерий, присутствующих в крови при полибактериальной бактериемии, образуют тканевый фактор. Он «запускает» процесс коагуляции, ведущий к полимеризации фибрина в сгустке. Для инфекционного эндокардита характерны вегетации на поврежденных клапанах и других поверхностях эндокарда, состоящие из бактериальной массы, тромбоцитов и фибрина. По мере роста бактерий, защищенных от факторов врожденного иммунитета, размер вегетаций увеличивается. В этой необычной среде стрептококки изменяют экспрессию своих генов, переходя от комменсального к патогенному «поведению».

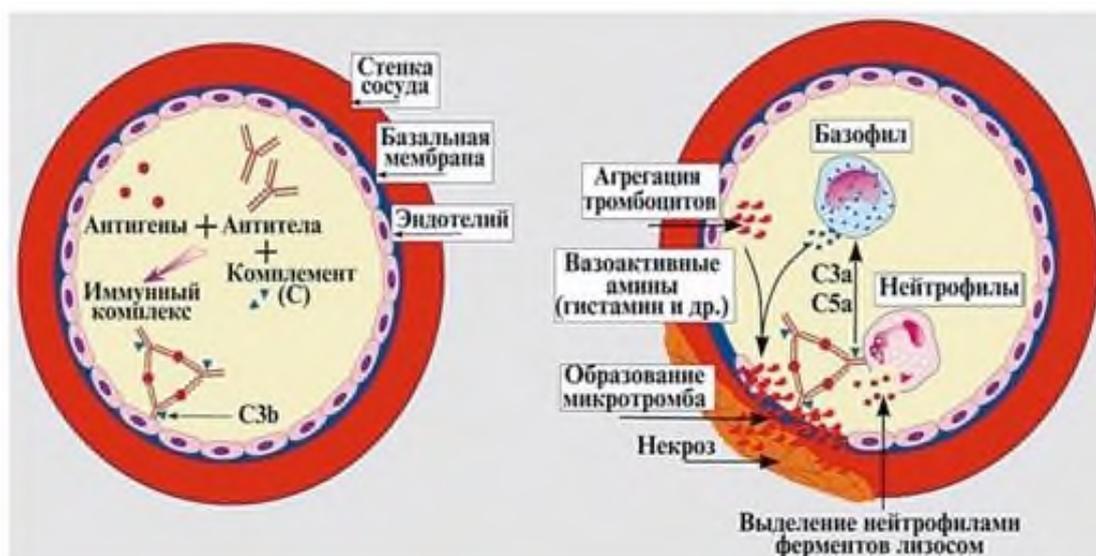


Рис. 30-1. Повреждающее действие на сосуды иммунных комплексов и комплемента

Характером вегетации во многом определяется исход заболевания. Внутри сгустка из тромбоцитов и фибрина колонизирующие бактерии защищены от факторов приобретенного иммунитета и антибиотиков. Если бактерии чувствительны к антибактериальному белку активированных тромбоцитов (фактору врожденного иммунитета), инфекция может пройти самостоятельно. В противном случае заболевание приобретает затяжной характер. Без лечения инфекционный эндокардит может привести к клапанной недостаточности, а в случаях септической эмболии, инфекции и инфарктов других органов летальность может достигать 100%. В связи с этим Американская ассоциация кардиологов и другие организации в мире для снижения риска инфекционного эндокардита у стоматологических больных рекомендуют перед проведением процедур, способных индуцировать бактериемию, назначать специальный курс антибиотикопрофилактики.

30.3. СИНДРОМ ДИССЕМИНИРОВАННОГО ВНУТРИСОСУДИСТОГО СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

У иммунокомпрометированных лиц α -гемолитические стрептококки полости рта вызывают синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови, или ДВС-синдром. Это главная причина смерти фармакологически иммуносупрессированных больных, ожидающих пересадки органа. Подобно инфекционному эндокардиту, для возникновения ДВС-синдрома стрептококки должны поступить в кровь. В случае иммунокомпрометированных лиц воротами инфекции чаще служат болезненные эрозии слизистой оболочки полости рта или орофарингеальной зоны (мукозит). С поступлением в кровь микроорганизмы вызывают диссеминированную активацию каскада свертывания. Отложения фибрина на стенках капилляров и мелких кровеносных сосудов препятствует доступу крови к основным органам и тканям. При длительной окклюзии возможно развитие ишемии и инфаркта. Обусловленный α -стрептококками ДВС-синдром обычно не сопровождается повышением температуры тела и часто заканчивается гибелью больного. Приведенные примеры показывают, как комменсальные стрептококки полости рта у восприимчивых лиц могут оказаться причиной опасных заболеваний.

30.4. ИММУНОКОМПЛЕКСНЫЕ СИНДРОМЫ

Молекулярная мимикрия - один из наиболее интересных механизмов, с помощью которых комменсалы могут способствовать развитию системной патологии. Бактерии, грибы и клетки млекопитающих экспрессируют семейство высококонсервативных белков теплового шока (HSP). Их первичные аминокислотные последовательности почти идентичны у разных биологических видов. У человека некоторые HSP недоступны для иммунологического надзора, например HSP60, расположенные в митохондриях. Соответственно, при контакте с иммунocyтами HSP60 распознается как чужеродная субстанция и вызывает иммунный ответ. Если инфекцию вызывают микроорганизмы, экспрессирующие гомолог HSP60, может развиваться аутоиммунная реакция.

В норме HSP обнаруживают в клетках микроорганизмов и хозяина, но их экспрессия возрастает в ответ на тепловой шок или другие стрессовые воздействия. Наиболее важные представители подобных белков - HSP60, HSP70 и HSP90. Вновь синтезируемые при стрессах белки часто не имеют третичной структуры, комплексируют и становятся нерастворимыми. После синтеза и транслокации внутри клетки HSP связывают или выполняют шаперонную функцию по отношению к новым неуложенным или частично уложенным белкам. После этого белки уже сохраняют свою естественную конфигурацию, защищены от комплексования в нежелательные нерастворимые агрегаты.

Молекулы шаперонов образуют воскоподобный слой, который гарантирует, что предназначенные для экспорта белки будут иметь полнофункциональную форму.

Примечательно структурное сходство HSP прокариот и эукариот. Действительно, система приобретенного иммунитета может не отличить по антигенным свойствам чужеродные и собственные HSP. Образующий в норме HSP60 человека высокомолекулярный бактериальный HSP (*Mycobacterium* HSP65, *S. sanguinis* HSP65, *Helicobacter pylori* HSP60). Антитела к ним перекрестно реагируют с нормальными тканями человека. При бактериемии возрастают концентрации HSP в крови. Присутствие небольших количеств бактериальных HSP индуцирует появление в невысоких титрах соответствующих антител. Антитела к HSP грамотрицательных бактерий можно выявить в сыворотке и десневой жидкости стоматологических больных. При доступе к HSP60 человека антитела к бактериальным HSP перекрестно реагируют с ними.

Антитела, выработанные к HSP-антигенам бактерий полости рта, реагируют с чужими или собственными HSP, образуя иммунные комплексы, которые активируют комплемент. С

наличием подобных антител в крови или десневой жидкости связано периодонтальное воспаление. Перекрестные реакции ведут к отложению иммунных комплексов в различных тканях и участках организма, способствуя системной воспалительной реакции. Активация комплемента при участии HSP, по-видимому, играет роль в патогенезе некоторых системных заболеваний, например, болезни Бехчета, которая сопровождается иммунным воспалением с язвами и сыпью на слизистых оболочках глаз, половых органов и полости рта у молодых мужчин.

Следовательно, в ответ на поступление HSP-бактерий полости рта в кровь образуются HSP-специфичные антитела, которые могут перекрестно реагировать с HSP-антигенами макроорганизма. Формирующиеся при этом иммунные комплексы откладываются в различных тканях и активируют комплемент. Так, мимикрия HSP может способствовать развитию системных заболеваний: атеросклероза (иммунного воспаления в стенке артерий), артрита (поражения суставов), болезни Бехчета (поражения слизистых оболочек).

30.5. АУТОИММУННЫЕ СИНДРОМЫ

В эпителии лимфоидных образований (например, миндалин) или соединительном эпителии микроорганизмы полости рта могут взаимодействовать с иммунными клетками и активировать антигенспецифичные Т-лимфоциты. Микроорганизмы могут экспрессировать антигены, схожие с белками хозяина (молекулярная мимикрия). При представлении системе местного или общего иммунитета эти молекулы-имитаторы стимулируют естественно анергичные Т-лимфоциты, специфичные к собственным белкам хозяина. Активированные Т-лимфоциты циркулируют не только между кровью и лимфоидными органами, но и попадают в периферические ткани, где они, встречаясь с собственными антигенами, инициируют аутоиммунный процесс.

Так, в результате нарушения целостности дентогингивального соединения или слизистой оболочки полости рта в кровь периодически могут поступать *S. sanguinis*. Некоторые штаммы этих стрептококков экспрессируют коллагеноподобный эпитоп в составе РААР (он частично гомологичен артриту-генному эпитопу коллагена типа II - предполагаемому аутоантигену у больных ревматоидным артритом, а также у грызунов и приматов). *S. sanguinis* не активирует нативные Т-лимфоциты, специфичные к коллагену типа II, но *in vitro* может стимулировать сенсibilизированные. Инфицирование *S. sanguinis* мышей, сенсibilизированных коллагеном II, вызывает у них обострение артрита. Следовательно, РААР⁺ *S. sanguinis* может *in vitro* активировать Т-лимфоциты памяти, специфичные к коллагену II, а у мышей вызывать обострение индуцированного этим белком аутоиммунного артрита.

С другой стороны, нанесение РААР⁺ *S. sanguinis* на слизистую оболочку чувствительных к артриту новорожденных мышей (линии DBA/1J) препятствует развитию артрита у взрослых животных. Следовательно, комменсальные бактерии могут в раннем возрасте индуцировать иммунную толерантность, а если аутореактивные клоны Т-лимфоцитов памяти уже имеются, те же микроорганизмы могут запускать аутоиммунную реакцию. Это означает, что ранняя колонизация новорожденных детей группы риска РААР⁺ штаммами *S. sanguinis* может защитить их от развития ревматоидного артрита. Напротив, поздняя колонизация или инфекция могут вызывать у них обострение артрита.

Микроорганизмы полости рта могут взаимодействовать с иммунной системой также путем активации большого количества Т-лимфоцитов независимо от их специфичности. Некоторые молекулы стрептококков могут действовать подобно суперантигенам, вызывая поликлональную активацию CD4⁺-Т-лимфоцитов. Суперантигены нарушают порядок Т-клеточного ответа, неспецифически активируя Т-лимфоциты. Лимфатические узлы переполняются пролиферирующими Т-лимфоцитами, у которых отсутствует

специфичность, необходимая для стимуляции В-лимфоцитов и, соответственно, выработки нужных антител. Крупные очаги изъязвления слизистой оболочки полости рта при болезни Бехчета, вероятно, обусловлены местной поликлональной активацией Т-лимфоцитов суперантигенными молекулами оральных стрептококков. Некоторые из неспецифически активированных Т-клеток активируют специфические В-лимфоциты. Когда суперантигены активируют Т-лимфоциты, специфичные для собственных местных антигенов или HSP, активированные Т-хелперы могут обеспечивать продукцию аутореактивных антител и цитотоксических Т-лимфоцитов. Если они направлены на HSP, будут разрушаться эпителиоциты, экспрессирующие HSP. В присутствии бактериальных суперантигенов иммунное разрушение эпителиального слоя может усиливаться, что сопровождается изъязвлением, характерным для болезни Бехчета.

30.6. СТОМАТОГЕННОЕ ВОСПАЛЕНИЕ И РАЗВИТИЕ АТЕРОСКЛЕРОЗА

Инфекции полости рта попали под пристальное внимание как возможные факторы риска для такой системной патологии, как заболевания сосудов сердца и мозга, преждевременные роды и низкая масса тела новорожденных. В некоторых исследованиях установлена эпидемиологическая связь между состоянием полости рта и атеросклерозом коронарных артерий. В исследованиях (ретроспективных и по типу «случай-контроль») показана несомненная связь между заболеванием сердца и периодонтальным заболеванием, но не кариесом.

Для периодонтального заболевания характерны повторные эпизоды воспаления. У его основных возбудителей (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*) в клеточных стенках находится ЛПС. Этот и другие бактериальные токсины диффундируют в изъязвленные ткани десневой борозды. На присутствие бактерий одними из первых иммунных клеток реагируют моноциты. Реагируя на ЛПС - мощный активатор - моноциты/макрофаги секретируют медиаторы воспаления (TNF- α и IL-1 β). Моноциты также выделяют простагландин E₂ - метаболит арахидоновой кислоты, который усугубляет воспалительную реакцию за счет местного расширения сосудов. Под влиянием TNF- α и IL-1 β местные эндотелиоциты экспрессируют молекулы клеточной адгезии, облегчающие связь нейтрофилов со стенкой сосуда и проникновение их в поврежденные ткани. При высоких местных концентрациях указанные медиаторы поступают в системный кровоток. В печени TNF- α и IL-1 β индуцируют выработку биологически активных веществ, включая СРБ.

Специфически связываясь с С-полисахаридом мембран бактерий и грибов, СРБ выполняет функцию опсонина (облегчает поглощение микроорганизмов макрофагами). СРБ связывается также с пораженными клетками и в таком состоянии может активировать комплемент. Стимулированные СРБ макрофаги вырабатывают тканевый фактор, инициирующий коагуляцию. Обычно при инфекции и воспалении сывороточные уровни СРБ повышаются, а при выздоровлении - понижаются (в связи с этим СРБ используют как маркер инфекции и воспаления). У лиц группы риска развития сердечно-сосудистой патологии высокие уровни сывороточного СРБ - неблагоприятный показатель. Обнаружено, что по сравнению со здоровыми лицами у больных периодонтальным заболеванием в сыворотке больше СРБ.

Все больше появляется данных о связи атеросклероза и сердечнососудистой патологии с воспалением. В формировании атеросклеротической бляшки решающее значение имеют моноциты, инфильтрирующие интиму сосудов и захватывающие липиды (холестерол). В присутствии IL-1 β и TNF- α индуцированные моноциты еще больше захватывают липиды и продолжают секретировать цитокины воспаления. IL-1 β может также вызывать пролиферацию гладкомышечных клеток, что, вероятно, обуславливает утолщение сосудистой стенки при атеросклерозе.

Пародонтопатогенные микроорганизмы могут прокладывать дорогу возбудителям других хронических инфекций - *Chlamydia pneumoniae* и цитомегаловирусам, которые часто ассоциированы с атеросклеротическими бляшками. Указанные виды широко распространены в человеческой популяции и могут отягощать системные инфекции. Из эндемичных представителей пародонтопатогенной микрофлоры в атеросклеротических бляшках человека выявлены *P. gingivalis*. Помимо инвазии эпителиоцитов и индукции у них провоспалительных цитокинов в условиях *in vitro*, *P. gingivalis* могут угрожать целостности эндотелия сосудов, модулируя экспрессию белков клеточной адгезии. Попадая в субэндотелиальную миоинтиму, они могут также индуцировать образование из макрофагов, наполненных липидами, пенистых клеток. Их образование - ключевой этап атерогенеза *in vitro*. Наконец, подобно *S. sanguinis* и некоторым другим микроорганизмам, обнаруженным в атеросклеротических бляшках, *P. gingivalis in vitro* вызывает агрегацию тромбоцитов. Следовательно, у микроорганизмов, хронически поступающих в кровь при мукозальных инфекциях, близкие патогенные свойства. Перед учеными стоит сложная задача - определить, как, в какой степени и какие инфекции или связанные с ними микроорганизмы влияют на патогенез сердечно-сосудистого заболевания. Вместе с тем постоянное одновременное или попеременное присутствие в кровотоке таких возбудителей, как *C. pneumoniae*, цитомегаловирусы, *S. sanguinis* и *P. gingivalis*, представляет совокупный риск развития атеросклероза.

Имеются также данные о связи заболеваний пародонта с преждевременным рождением и низкой массой тела новорожденных. Вероятно, эта связь обусловлена общим действием выработанных при периодонтите медиаторов воспаления типа простагландинов (ПГЕ₂). В норме по ходу беременности концентрации ПГЕ₂ в матке возрастают и при достижении порогового уровня запускают начало родов. Сложение концентраций ПГЕ₂ из ткани матки и дистального очага инфекции может вызвать преждевременные роды и обусловить низкую массу тела новорожденного.

Таким образом, возбудители заболеваний пародонта могут индуцировать выработку местными моноцитами медиаторов воспаления. Последние, поступая в кровоток, могут обострять имеющуюся патологию в дистальных участках (например, атеросклеротические бляшки) или вызывать нарушение функций сосудов в определенных тканях. Так, выработанный при периодонтите ПГЕ₂ может поступать в ткань матки и за счет превышения порогового уровня простагландина запускать преждевременные роды. В настоящее время связи между заболеваниями пародонта и сердечно-сосудистой патологией или недоношенностью тщательно изучаются.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Бактериальная инфекция - главная причина эндодонтической патологии. Остается открытым вопрос о существовании особых возбудителей или факторов патогенности, придающих эндодонтическим заболеваниям выраженную симптоматику. Иногда в инфицированных каналах обнаруживают специфические микроорганизмы, например *A. radidentis* и *P. endodontalis*.

Причиной инфекции пульпы и корневого канала обычно служит контаминация эндодонтических тканей бактериями ротовой полости (эндогенная инфекция).

Хотя такие бактерии обычно маловирулентны (неинвазивны), иногда канал инфицируется вирулентными микроорганизмами, например *E. faecalis*, которые часто обнаруживают в чистой и смешанных культурах при хроническом и остром одонтогенном абсцессе. От энтерококков трудно избавиться ввиду их устойчивости ко многим антибиотикам и способности выживать в щелочной среде и при высоких концентрациях солей. Однако, как упоминалось выше, это может быть обусловлено не факторами

вирулентности энтерококков, а их устойчивостью к внешним воздействиям, включая действие антибиотиков. Таким образом, как и для лечения инфицированных ран, для эффективного эндодонтического лечения необходимы тщательная очистка и подготовка каналов перед их пломбированием.

Однако добиться стерильности корневых каналов невозможно, поскольку при любой обработке в тканях остаются жизнеспособные микроорганизмы. В связи с этим полезно знать, особенно начинающим врачам, что отсутствие бактериального роста в посевах еще не гарантирует успешности лечения.

Лечение эндодонтических инфекций направлено на тщательную очистку канала перед его пломбированием подобно лечению инфицированных ран, которые перед ушиванием подвергаются первичной хирургической обработке.

Резидентные бактерии полости рта, попадая в несвойственные им ткани, могут приобретать патогенные свойства. Целостность барьера мягких тканей полости рта может нарушаться при стоматологических процедурах, травмах или инфекциях. Новые условия существования бактерий индуцируют системные изменения экспрессии генов, что может вести к повышению вирулентности.

Безвредные в ротовой полости стрептококки часто выступают в роли возбудителей инфекционного эндокардита. Они оседают на поврежденных или аномально развитых клапанах сердца. Эндотелий клапанов может отслаиваться, обнажая подлежащую соединительную ткань. К ней прилипают активированные для репарации дефекта тромбоциты. Стрептококки индуцируют связывание тромбоцитами фибриногена, агрегацию и образование тромба (сгустка). Вегетация на поврежденных клапанах и других поверхностях эндокарда, состоящая из бактериальной массы, тромбоцитов и фибрина, характерна для инфекционного эндокардита.

В патогенезе таких системных заболеваний, как болезнь Бехчета, могут участвовать антитела к бактериальным белкам теплового шока (HSP), перекрестно реагирующие с HSP хозяина. Бактериальная мимикрия (например, сходство эпитопа РААР *S. sanguinis* с фрагментом коллагена хозяина) может способствовать развитию аутоиммунной патологии, например, артрита.

Местное воспаление, вызываемое бактериями полости рта, может способствовать преждевременным родам и прогрессированию таких системных заболеваний, как атеросклероз. Возбудители периодонтального заболевания (например, *P. gingivalis*) способны непосредственно стимулировать развитие атеросклероза, проникая в эндотелиоциты артерий и вызывая воспаление. *P. gingivalis* также могут индуцировать образование из макрофагов пенистых клеток, наполненных липидами, - важнейшего этапа в развитии атеросклероза.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Выберите один или несколько правильных ответов.

1. При бактериологическом исследовании гнойного экссудата при одонтогенных флегмонах и абсцессах наиболее часто выделяют:

- а) *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*;
- б) *Lactobacillus brevis*, *Bifidobacterium spp.*, *Candida kefiri*;
- в) *Escherichia coli*, *Bacteroides fragilis*, *Pseudomonas aeruginosa*;
- г) *Prevotella melaninogenica*, *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus anaerobius*.

2. При микробиологической диагностике абсцессов и флегмон используют следующие методы забора материала:

- а) соскоб зубного налета;
- б) турунду на корневой игле;
- в) пункцию шприцем;
- г) сорбирующий тампон при разрезе.

3. При транспортировке материала от больного с подозрением на анаэробную инфекцию необходимо соблюдать следующие требования:

- а) поместить материал в транспортную среду и доставлять в охлажденном состоянии;
- б) поместить материал в питательную среду и доставлять при температуре 37 °С;
- в) поместить материал в сухой стерильный флакон без среды, закачать бескислородную газовую смесь и герметизировать;
- г) поместить материал в питательную среду со стимуляторами роста анаэробов и доставлять без учета температурного режима.

4. Формы одонтогенной инфекции могут иметь следующую последовательность развития:

- а) пульпит → периостит → периодонтит → абсцесс или флегмона;
- б) пародонтальный абсцесс → остеомиелит → сепсис;
- в) периодонтит → флегмона → лимфаденит → медиастинит;
- г) пульпит → периодонтит → флегмона или абсцесс → сепсис.

5. При острых одонтогенных воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области наиболее часто выделяют:

- а) стафилококки, пиогенные стрептококки;
- б) превотеллы, фузобактерии;
- в) синегнойную и кишечную палочки;
- г) пептострептококки и пропионибактерии.

6. Характерной микробиологической особенностью апикального периодонтита является преобладание:

- а) стафилококковой микрофлоры над стрептококковой;
- б) стрептококковой микрофлоры над стафилококковой;
- в) данные микроорганизмы не играют ведущей роли;
- г) все ответы неправильные.

7. Хронические очаги одонтогенной инфекции могут вызывать:

- а) дегенеративные изменения периферических нервных окончаний;
- б) субфебрилитет, боли в суставах, сердце, мышцах;
- в) снижение активности и токсические изменения лейкоцитов;
- г) сывороточную болезнь и анафилактические реакции.

8. Выбор антибиотиков для лечения одонтогенной инфекции определяется:

- а) видовым составом микрофлоры очага;
- б) особенностями фармакокинетики препарата;
- в) результатами определения чувствительности возбудителей;
- г) видом оперативного вмешательства.

9. Группы риска в отношении развития септического эндокардита при стоматологических вмешательствах:

- а) врожденные пороки сердца;
- б) искусственные клапаны сердца;
- в) пролапс митрального клапана с регургитацией;
- г) ревматическое поражение клапанов сердца.

10. Показаниями к антибиотикопрофилактике эндокардита в группах риска являются:

- а) дентальная имплантация;
- б) удаление зубов;
- в) местная анестезия;
- г) кюретаж пародонтальных карманов.

11. Для профилактики септического эндокардита до операции применяют:

- а) амоксициллин в дозе 2 г/ч;
- б) клиндамицин в дозе 600 мг/ч;
- в) тобрамицин в дозе 1 г за 30 мин;
- г) кларитромицин в дозе 500 мг/ч.

12. Компонентами развития одонтогенного воспаления являются:

- а) выход микроорганизмов за пределы их экологической ниши в полости рта;
- б) токсинемия;
- в) нарушение местной циркуляции;
- г) инвазия микроорганизмов в ткани из окружающей среды.

13. При микробиологической диагностике абсцессов и флегмон проводят:

- а) забор материала в транспортную систему;
- б) посев с обязательным использованием техники анаэробного культивирования;
- в) количественную оценку разных видов колоний;
- г) определение чувствительности к антибиотикам выделенных культур.

14. Этиологическими факторами одонтогенной инфекции являются:

- а) вытеснение нормальной анаэробной микрофлоры вирулентными аэробами, например, синегнойной палочкой;
- б) снижение редокс-потенциала тканей и активизация анаэробов;
- в) попадание спор анаэробных клостридий в рану из окружающей среды;
- г) нарушение микроциркуляции в тканях при травме.

15. Характерной особенностью одонтогенного остеомиелита является:

- а) преобладание стафилококковой микрофлоры над анаэробной;
- б) преобладание анаэробной микрофлоры над стафилококковой;
- в) данные микроорганизмы не имеют решающего значения;
- г) все ответы неправильные.

16. Характерной особенностью травматического остеомиелита является:

- а) преобладание стафилококковой микрофлоры над стрептококковой;

- б) преобладание анаэробной микрофлоры над стафилококковой;
- в) данные микроорганизмы не имеют решающего значения;
- г) все ответы неправильные.

17. Для лечения анаэробной инфекции челюстно-лицевой области не рекомендуют применять:

- а) макролиды (эритромицин, олеандомицин, азитромицин, рокситромицин, кларитромицин, мидекамицин, джозамицин);
- б) линкозамиды (линкомицин, клиндамицин);
- в) аминогликозиды (гентамицин, канамицин, тобрамицин, амикацин);
- г) тетрациклины (тетрациклин, доксициклин).

18. При хронических формах одонтогенной инфекции и актиномикозе наиболее часто выделяют:

- а) синегнойную палочку;
- б) бактероиды;
- в) стафилококки;
- г) пептострептококки.

19. Микробиологической особенностью современного течения актиномикоза является:

- а) преобладание актиномицетов над бактериодно-пептострептококковой микрофлорой;
- б) преобладание бактериодно-пептострептококковой микрофлоры над актиномицетами;
- в) данные микроорганизмы не имеют решающего значения;
- г) все ответы неправильные.

20. Применение антибиотиков группы тетрациклина и левомицетина при одонтогенной инфекции ограничено:

- а) их слабой эффективностью в отношении анаэробной микрофлоры;
- б) высокой вероятностью развития дисбактериоза;
- в) токсическим действием на лейкоциты, печень, гемопоэз;
- г) активизацией дрожжеподобных грибов рода *Candida*.

Ответы к тестовым заданиям

1 - г; 2 - в, г; 3 - а; 4 - в, г; 5 - б, г; 6 - в; 7 - а, б, в; 8 - а, б, в; 9 - а, б, в, г; 10 - а, б, г; 11 - а, б, г; 12 - а, б, в; 13 - а, б, в, г; 14 - б, г; 15 - б; 16 - а; 17 - в; 18 - б, г; 19 - б; 20 - б, в, г.

ЧАСТЬ 8. МИКРОФЛОРА И ИММУННЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА.

ГЛАВА 31. ЗАБОЛЕВАНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЭТИОЛОГИИ С ПОРАЖЕНИЕМ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА

Среди возбудителей бактериальных инфекций наиболее частой причиной инфицирования медицинского персонала и пациентов являются патогенные кокки. Примерно каждый второй пациент на стоматологическом приеме может быть носителем в полости рта патогенных кокков - *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis*. Они могут вызвать у врача различные респираторные заболевания, а также воспалительный процесс при травме рук бором или колотой ране. Учитывая, что многие из стафилококков и других кокков являются антибиотикорезистентными, попадание этих микроорганизмов может затруднить процесс лечения. Кроме того, ряд видов бактерий являются безусловными патогенами. К ним относятся возбудители скарлатины, гонококкового стоматита, дифтерии, листериоза, туберкулеза, лепры, сифилиса.

31.1. СТОМАТИТЫ

Стоматит - воспаление слизистой оболочки полости рта, которое может развиваться как первичное инфекционное заболевание или как вторичный оппортунистический процесс.

Соответственно, все стоматиты можно разделить на инфекционные, вызываемые патогенными микроорганизмами, и оппортунистические, поддерживаемые резидентной микрофлорой после первичного действия поражающих факторов экзогенной или эндогенной природы.

Согласно Международной классификации стоматологических болезней МКБ-С-3 на основе МКБ-10, стоматиты относятся к разделу «Болезни органов пищеварения», блоку - «Болезни полости рта, слюнных желез и челюстей», коду K12 «Стоматит и родственные поражения».

Этиология и патогенез

Возбудителями являются представители резидентной анаэробной и факультативно-анаэробной микрофлоры полости рта, реже - патогенные микроорганизмы разных таксономических групп. Это определяет полиморфизм клинических проявлений и течения стоматитов.

На слизистой оболочке полости рта при инфицировании часто развиваются вирусные заболевания, бактериальные инфекции, в том числе и тяжелые, такие как язвенно-некротический стоматит Венсана, микозы и локальные проявления венерических заболеваний.

У значительной части пациентов поражение слизистой оболочки полости рта может доминировать в клинической картине инфекционного заболевания, и поэтому такие пациенты обычно обращаются за медицинской помощью в стоматологические учреждения (например, герпетические поражения, язвенные и язвенно-некротические гингивостоматиты). При других же заболеваниях общесоматическое лечение является ведущим (например, при кори, скарлатине, сифилисе, туберкулезе, лепре и др.) и относится к компетенции врачей других специальностей (педиатров, терапевтов, инфекционистов).

Клиническая картина

Оппортунистические стоматиты (нередко в литературе используется не совсем точный термин - «неспецифические») являются следствием действия первичных

повреждающих факторов экзогенного или эндогенного характера. Обычно это острые или хронические травмы, результаты физических или химических повреждающих факторов либо осложнения инфекционных или соматических заболеваний, гормональные и обменные нарушения, различные дистрофические процессы в организме, которые сопровождаются активизацией представителей собственной резидентной микрофлоры.

При поверхностных катаральных стоматитах обычно обнаруживают грамположительные аэробные кокки и палочки, при глубоких стоматитах, характеризующихся преобладанием альтерации и язвенно-некротических процессов, определяется строго анаэробная грамотрицательная микрофлора (фузобактерии, бактероиды, извитые формы), а также пептострептококки. Оппортунистические стоматиты сочетаются с кожными поражениями или бывают изолированными.

Остается открытым вопрос об этиологии хронического рецидивирующего (возвратного) афтозного стоматита (код по МКБ-10 - K12.0 «Рецидивирующие афты полости рта»), характеризующегося длительным рецидивирующим течением воспалительного процесса на слизистой оболочке полости рта с периодическими ремиссиями и обострениями. Последние сопровождаются появлением характерных афт различного размера и формы. С одной точки зрения развитие хронического рецидивирующего афтозного стоматита связывают с действием экзогенных инфекционных факторов: вирусов, стрептококков полости рта, L-форм бактерий, с другой - с эндогенными факторами, в частности, с гормональными изменениями, сопровождаемыми стрессовыми ситуациями, аутоиммунными процессами, сенсibilизацией организма и т.п.

Ведущее место отводится инфекционно-аллергическим механизмам. Клинически процесс начинается с появления участка гиперемии, на котором возникает афта и покрывается сероватым налетом. Чаще всего афты локализуются в области переходной складки, боковой поверхности языка, слизистой оболочки губ и щек. Характерным является отсутствие поражений на нёбе и зеве. Многие авторы выделяют фибринозную, некротическую, glandулярную, рубцующую, деформирующую формы хронического рецидивирующего афтозного стоматита.

Рецидивы этого заболевания наблюдаются обычно в осенне-зимний период после перегрузок, переутомления, употребления алкоголя и интеркурентных вирусных заболеваний. Важным фактором в развитии обострений является хроническая травма, например, острым краем зуба или протеза.

Серьезным заболеванием слизистой оболочки полости рта, которое встречается довольно часто, является язвенно-некротический гингивостоматит Венсана. В литературе он описан под различными названиями: язвенный стоматит, язвенно-некротический стоматит, язвенно-мембранозный стоматит, фузоспирохетозный стоматит, «окопный рот», ангина Боткина-Симановского, ангина Плаута-Венсана и др.

В развитии данной формы стоматита важную роль играют снижение активности местных факторов резистентности, нарушение гигиены полости рта, стресс, курение, в результате чего нарушается равновесие в составе резидентной микрофлоры и происходит развитие дисбактериоза. Имеет склонность к сезонности (осенний и весенний периоды).

Язвы могут располагаться в любом месте слизистой оболочки полости рта, чаще всего в области десен, ретромолярной области (сопровождает затрудненное прорезывание нижних третьих моляров). Язвы болезненны, с неровными краями, дно покрыто грязно-серым налетом, сопровождаются неприятным запахом изо рта, регионарные лимфатические узлы увеличены. Могут распространяться на всю толщу тканей с развитием дефектов, характерных для номы.

При локализации фузоспирохетозного процесса в области миндалин развивается ангина Плаута-Венсана. Выделяют язвенную и дифтериеподобную формы такой ангины.

Быстро прогрессирующая гангрена мягких тканей челюстно-лицевой области (нома) чаще встречается у истощенных детей, особенно после вирусных инфекций (кори), а также на фоне резкого снижения реактивности организма у взрослых.

Язвенно-некротическим поражением невыясненной этиологии является злокачественная, или летальная, гранулема средней линии. Клинически заболевание выражается в появлении больших язв на нёбе. В процесс вовлекаются не только мягкие и костные ткани челюстно-лицевой области, но и носа с выходом поражений на поверхность лица и секвестрацией.

При всех перечисленных клинических формах заболеваний преобладают строгие анаэробы, особенно фузобактерии и извитые формы.

Диагностика и лечение

При микроскопическом исследовании мазков, приготовленных из соскоба эрозий и язв, в большом количестве выявляются веретенообразные палочки (фузобактерии) и извитые формы - спирохеты и анаэробспириллы. Именно поэтому заболевания данной группы получили этиологическое название - фузоспирохетоз, хотя при этом выявляются также и другие анаэробные бактерии - бактероиды, превотеллы, пептострептококки. Лечение определяется характером возбудителя и глубиной дефектов иммунной системы.

31.2. ГОНОРЕЯ

Гонококковый стоматит - высококонтагиозное острое венерическое заболевание, характеризующееся поражением слизистой оболочки полости рта, глотки и миндалин, развивающимся на фоне явных или стертых клинических признаков поражения урогенитальных путей.

Этиология

Возбудитель - *Neisseria gonorrhoeae* (гонококк).

Наиболее частой причиной возникновения гонококкового стоматита являются урогенитальные контакты. Обычно гонококковые стоматиты сочетаются с гонореей мочеполовой системы. Однако у 1-1,5% больных гонококковые тонзиллит и фарингит выявляются изолированно. Они могут быть следствием гонококковой септицемии. Однако гонореею полости рта диагностируют редко и с большими затруднениями.

Клинические проявления гонококкового стоматита не отличаются от таковых при воспалении слизистой оболочки полости рта другой этиологии. Инкубационный период очень короткий. Обычно первые признаки заболевания появляются через 2 дня после заражения. Вначале больные жалуются на сухость во рту, жжение губ, рта и языка, в дальнейшем - на усиленное отделение слюны, содержащей слизисто-гнойные примеси, иногда на неприятный запах изо рта.

При гонококковых тонзиллите и фарингите возможны незначительная боль в области зева, умеренная гиперемия, отечность слизистой оболочки полости рта, миндалин и гортанной части полости глотки, гортани. Чаще поражение локализуется на слизистой оболочке губ, рта, десен, языка, глотки. Нередко в процесс вовлекаются мягкое нёбо, нёбный язычок и миндалины.

Диагностика и лечение

Диагностируются гонококковые стоматиты только с помощью бактериологических методов исследования и ПЦР. Ориентировочное значение имеет определение антител с помощью ИФА. После лечения, которое обязательно должно включать антибактериальную терапию по разработанным схемам, необходимо проводить трехкратный контроль за излеченностью пациента несколькими методами.

31.3. ДИФТЕРИЯ

Дифтерия - острая бактериальная инфекция, характеризующаяся местным воспалительным процессом с появлением типичных фибринозных пленок с токсическим поражением сердечно-сосудистой и нервной систем.

Этиология

Возбудителем дифтерии являются токсигенные штаммы *Corynebacterium diphtheriae*.

Клиническая картина

Острое токсическое инфекционное заболевание, имеющие несколько форм. Дифтерия ротоглотки протекает в трех формах: катаральной, островчатой и пленчатой. Дифтерия ротоглотки - самая распространенная клиническая форма инфекции, которая наблюдается у 95-97% заболевших. При дифтерии отмечается умеренная гиперемия слизистой оболочки ротоглотки с цианотичным оттенком, небные миндалины отечны, увеличены в размерах вплоть до смыкания по средней линии, поверхность их сглажена. На миндалинах можно видеть фибринозные пленки, которые могут быть сплошными (пленчатая форма) или в виде островков (островчатая форма). При катаральной форме пленок нет.

При локализованной форме дифтерии налеты располагаются только на миндалинах, при распространенной - переходят с миндалин на соседние отделы ротоглотки, небную дужку, маленький язычок. Налеты имеют характерный грязно-серый цвет. Пленки с трудом снимаются шпателем (под ними обнаруживают кровоточащую поверхность) и не растираются между двумя предметными стеклами (однако свежие пленки, напротив, могут легко сниматься шпателем с поверхности миндалин, при этом кровоточивость не определяется).

При дифтерии, особенно при токсической форме, выражены симптомы интоксикации: сильная головная боль, слабость, вялость, отсутствие аппетита, бледность кожных покровов. Возможны также гнусавость голоса, приторный, сладковатый запах изо рта и сдавленное дыхание, напоминающее храпение. Лихорадка и боль в горле сохраняются не более 2-3 дней, налеты - до 7 дней. Регионарные лимфатические узлы уплотнены, увеличены, болезненны при пальпации. При токсической форме дифтерии наблюдается резко выраженный отек подкожной клетчатки в области шеи - так называемый симптом толстой шеи.

Диагностика и лечение

Для диагностики дифтерии особенно важным и обязательным во всех случаях, подозрительных на наличие этого грозного заболевания, является бактериологическое исследование. Больного необходимо срочно госпитализировать в боксированное отделение инфекционной больницы и ввести противодифтерийную антитоксическую сыворотку. Дальнейшее лечение проводят антитоксической сывороткой, дозу которой подбирают в зависимости от тяжести заболевания, а также антибиотиками (цефалоспорины, макролидами и др.).

31.4. ЛИСТЕРИОЗ

Листериоз - полиморфное инфекционное заболевание, протекающее в виде ангинозно-септической формы или с преобладающим поражением нервных тканей. Наиболее часто встречается во внутриутробном периоде (диссеминированный инфантильный листериоз), у новорожденных и пациентов с нарушениями резистентности организма.

Этиология и патогенез

Возбудители - *Listeria monocytogenes*, мелкие грамположительные палочки и коккобактерии. Они длительно сохраняются в испражнениях, почве, зерне, во льду, хорошо размножаются при температуре холодильника (от 4 до 6 °С).

Воротами инфекции является слизистая оболочка пищеварительной системы. Возможно проникновение возбудителя через миндалины, о чем свидетельствуют случаи развития специфического тонзиллита и поражения регионарных лимфатических узлов.

Инкубационный период продолжается 2-4 недели.

Клиническая картина

Клиническое течение листериоза отличается разнообразием (полиморфизмом). Различают следующие формы заболевания: ангинозно-септическую, глазожелезистую, железистую, нервные формы (менингиты, менингоэнцефалиты, энцефалиты, психозы), тифоподобную, листериоз беременных, листериоз новорожденных (септическое течение). Симптомы со стороны полости рта и зева наблюдаются преимущественно при ангинозно-септической форме, которая у больных с различными иммунодефицитами часто сочетается с инфекционным мононуклеозом (реактивацией вируса Эпштейна-Барр). Основными проявлениями заболевания при поражении лимфоузла являются гриппоподобные симптомы, боль при глотании и гиперемия зева, миндалин, лимфадениты и конъюнктивиты. Отмечают инъекцию склер и гиперемию лица. Патоморфологическая основа - продуктивное воспаление в виде множественного милиарного гранулематоза. Ангину сопровождают модулярные фокальные абсцессы, содержащие некротические аморфные базофильные продукты распада и короткие грамположительные палочки-листерии. Очаги окружены макрофагально-лимфоцитарным валом.

Заболевание обычно начинается остро, с ознобом, головной болью, тошнотой, рвотой. Начиная с 1-5-го дня заболевания может появиться полиморфная сыпь, исчезающая ко времени окончания лихорадочного периода.

Диагностика и лечение

Для диагностики используют культуральный, серологический (ИФА, реакция пассивной гемагглютинации) и молекулярно-биологический методы (ПЦР). Дифференциальную диагностику листериоза проводят в зависимости от клинической формы. Острые ангинозно-железистые формы дифференцируют от инфекционного мононуклеоза, инфекционной эритемы Розенберга, острого токсоплазмоза, заболеваний крови. Для лечения используют антибиотики широкого спектра действия.

31.5. СКАРЛАТИНА

Скарлатина - острое заболевание, характеризуемое развитием ангины и лихорадки с характерной мелкоточечной сыпью (мелкоточечной экзантемой), выраженной общей интоксикацией, гнойно-септическими и аллергическими осложнениями.

Этиология

Возбудитель - β -гемолитический стрептококк группы А, является вариантом вида *Streptococcus pyogenes*.

Клиническая картина

Инкубационный период продолжается 2-7 сут. Возбудитель передается с секретом слизистых оболочек и носоглотки воздушно-капельным, а также контактным путем. Входными воротами инфекции является слизистая оболочка зева и носоглотки. Особую опасность в эпидемиологическом плане представляют больные атипичной формой, протекающей в виде катаральной или лакунарной ангины. У больного скарлатиной выявляется яркая, с четкими границами гиперемия миндалин, слизистых оболочек дужек,

язычка, мягкого нёба и задней стенки глотки. На слизистой оболочке мягкого нёба определяется точечная энантема. Для тяжелой формы скарлатины (при несвоевременном назначении антибиотиков) типичны некрозы в области миндалин, которые обнаруживаются у некоторых больных на 3-4-е сутки. Некротическая ангина - характерный признак септической формы скарлатины.

На 2-3-е сутки заболевания на коже появляется ярко-розовая или красная мелкоточечная сыпь. Язык обложен белым налетом, через 3-4 сут очищается, принимает вид малинового, на фоне гиперемированной слизистой оболочки выступают гиперплазированные сосочки. Лимфаденит определяется с первого дня заболевания. Отличительными признаками скарлатины являются: ангина, типичная экзантема на сгибательных поверхностях верхних (особенно на предплечьях) и нижних конечностей, лихорадка. Через 10 сут изменения в полости рта проходят.

Диагностика и лечение

Диагноз обычно ставят на основе клинического обследования. Резко положительны пробы на С-реактивный белок, серологические реакции (микропреципитация, реакция пассивной гемагглютинации) на антитела - антистрептолизин-О, антистрептокиназу, антистрептогиалуронидазу. В качестве средств для антибактериальной терапии используют β-лактамы антибиотики (пенициллины, цефалоспорины). Следует учитывать рост количества устойчивых штаммов стрептококков к традиционно применяемым пенициллинам.

31.6. СИФИЛИС

Сифилис - хроническое венерическое заболевание с циклическим течением, вызываемое *T. pallidum pallidum*, характеризующееся разнообразными клиническими проявлениями на слизистой оболочке полости рта, постепенным развитием гуммозных очагов в мягких и костных тканях, поражением периферической нервной системы, сосудов и внутренних органов.

Этиология

Возбудитель сифилиса - *T. pallidum pallidum*, относится к роду *Treponema*. Возбудитель имеет 8-14 равномерных завитков, обусловленных двигательным и структурным аппаратами клетки: 3-6 наружных периплазматических фибрилл, отходящих от концевых блефаропластов и обвивающих клетку во встречном направлении, и внутренних фибрилл, расположенных внутри цитоплазматического цилиндра и прикрепляющихся к цитоплазматической мембране под углом (рис. 31-1).

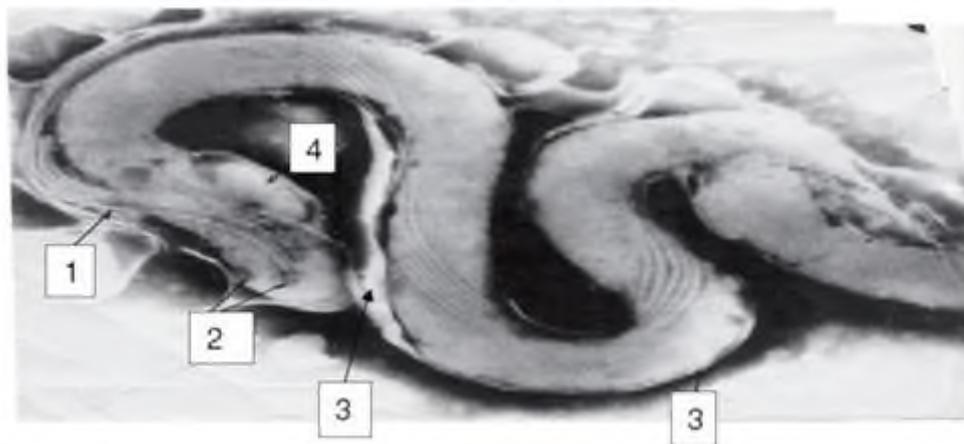


Рис. 31-1. Электронная микроскопия *T. pallidum pallidum* (штамм VII) - негативное контрастирование $\times 70\ 000$. 1 - фибриллы; 2 - блефаропласты; 3 - «чехол»; 4 - мезосома

T. pallidum слабо воспринимают красители (*pallidum* - бледная): по Граму и Романовскому-Гимзе они окрашиваются в бледно-розовый цвет, а при импрегнации серебром по Морозову - в коричневый.

Учитывая распространенность данной патологии в настоящее время и полиморфизм клинической картины, для стоматологов значительный интерес представляют манифестные формы поражения слизистой оболочки полости рта, которые существенно различаются в зависимости от стадии развития сифилитической инфекции.

Первичный сифилис

В местах первичного внедрения бледной трепонемы через 2-4 нед в полости рта появляется твердый шанкр. Он может определяться на красной кайме слизистой оболочки губ, в углах рта, на языке, деснах, слизистой оболочке щек и на миндалинах.

Развитие шанкра начинается с ограниченного покраснения слизистой оболочки, переходящего в уплотнение размером 2х3 см с инфильтрацией тканей. Зрелый шанкр представляет возвышающееся над слизистой оболочкой образование хрящевидной плотности, безболезненное при пальпации, с эрозией на поверхности, без корочек и налета. Позже на фоне травмирования шанкра присоединяется вторичная инфекция: эрозия шанкра углубляется, превращается в язву с разрушением большей части инфильтрата с грязно-серым некротическим налетом. На губах и языке шанкр, как правило, образуется округлой формы, с различной локализацией (рис. 31-2), в углу рта - чаще в виде кровоточащей инфильтрационной трещины, на деснах первичная сифилома всегда одиночная. Для миндалин характерно одностороннее поражение с эрозивной, язвенной или ангиноподобной формой (рис. 31-3). Возможно в этом случае также появление нескольких мелких язв без выраженного инфильтрата, сходного с травматическими эрозиями вставных челюстей. Важным признаком данного инфекционного поражения является увеличение регионарного лимфатического узла или группы лимфатических узлов (региональная лимфоаденопатия).

Лабораторные исследования

Диагноз в этот период заболевания ставят на основании исследования с помощью темнопольной микроскопии тканевого отделяемого со дна язвы или эрозии, а также пунктата из регионарного лимфатического узла на наличие в материале возбудителя *T. pallidum pallidum*. Кроме того, на этом этапе для диагностики заболевания применяют метод ПЦР с использованием отделяемого из шанкра. Положительными серологические реакции на сифилис становятся через 2-3 нед после клинических проявлений заболевания.



Рис. 31-2. Твердый шанкр нижней губы



Рис. 31-3. Первичная сифилитическая ангина

Вторичный сифилис

В полости рта вторичный свежий и рецидивный сифилис встречаются в 50-55% случаев заболеваний и клинически проявляются в виде папул и розеол. Более часто папулезные высыпания определяются на губах, деснах, дужках мягкого нёба, миндалинах и языке (рис. 31-4). Они возвышаются над слизистой оболочкой, имеют на поверхности

беловато-серый налет, а по периферии - плотный инфильтрат синюшно-красного цвета. По периферии папулы могут сливаться, образуя бляшки, значительно уплотняя при поражении мягкого нёба нёбную занавеску и язычок. На деснах папулы располагаются в форме дуги, инфильтрируя десны и межзубные сосочки, которые подвергаются эрозии и изъязвлению.



Рис. 31-4. Эрозированные папулы слизистой оболочки верхней губы



Рис. 31-5. Папулы языка

На губах появление папул сопровождается отеком и уплотнением, в углах губ образуются массивные, болезненные инфильтраты с глубокими трещинами. На языке поражения не возвышаются, сосочки языка в области папулы исчезают, образуя ярко-красную, блестящую гладкую поверхность, резко отличающуюся от неповрежденной поверхности языка - симптом скошенного лука, или географический язык (рис. 31-5). Сифилитические бляшки определяются в любой части слизистой оболочки полости рта (рис. 31-6). Их эрозивание и более глубокий распад приводят к появлению язвенно-папулезного сифилида, сочетающегося, как правило, с вторичной инфекцией с характерным гнойным налетом и выраженным воспалительным процессом. На миндалинах вторичные сифилиды называют сифилитической папулезной ангиной.

Среди возбудителей бактериальных инфекций наиболее частой причиной инфицирования медицинского персонала и пациентов являются патогенные кокки. Примерно каждый второй пациент на стоматологическом приеме может быть носителем в полости рта патогенных кокков - *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis*. Они могут вызвать у врача различные респираторные заболевания, а также воспалительный процесс при травме рук бором или колотой ране. Учитывая, что многие из стафилококков и других кокков являются антибиотикорезистентными, попадание этих микроорганизмов может затруднить процесс лечения. Кроме того, ряд видов бактерий являются безусловными патогенами. К ним относятся возбудители скарлатины, гонококкового стоматита, дифтерии, листериоза, туберкулеза, лепры, сифилиса.

31.1. СТОМАТИТЫ

Стоматит - воспаление слизистой оболочки полости рта, которое может развиваться как первичное инфекционное заболевание или как вторичный оппортунистический процесс.

Соответственно, все стоматиты можно разделить на инфекционные, вызываемые патогенными микроорганизмами, и оппортунистические, поддерживаемые резидентной микрофлорой после первичного действия поражающих факторов экзогенной или эндогенной природы.

Согласно Международной классификации стоматологических болезней МКБ-С-3 на основе МКБ-10, стоматиты относятся к разделу «Болезни органов пищеварения», блоку - «Болезни полости рта, слюнных желез и челюстей», коду K12 «Стоматит и родственные поражения».

Этиология и патогенез

Возбудителями являются представители резидентной анаэробной и факультативно-анаэробной микрофлоры полости рта, реже - патогенные микроорганизмы разных таксономических групп. Это определяет полиморфизм клинических проявлений и течения стоматитов.



Рис. 31-б. Сифилитические бляшки: а - на твердом нёбе; б - на языке

Сифилитические розеола встречаются в полости рта в виде четко выделяющихся ярко-красных пятен, которые могут сливаться в эритему. На миндалинах они проявляются как эритематозная сифилитическая ангина. Эритемы могут возникнуть также при рецидивном сифилисе, но с менее выраженными воспалительными процессами. Розеола не вызывают проявлений болезненности, температурной реакции, интоксикации, сохраняются в полости рта без лечения, не изменяясь в течение месяца и более. Вторичные сифилиды полости рта при сифилисе наиболее заразны. На них приходится значительный процент заражения данной инфекцией.

Лабораторные исследования

Для диагностики сифилиса в этот период заболевания могут использоваться темнопольная микроскопия и постановка ПЦР с материалом из отделяемого папул и розеол. Все неспецифические (реакции Вассермана, микропреципитации, Вассермана) и специфические (реакции связывания комплемента, иммунофлуоресценции, иммобилизации бледных трепонем, ИФА, реакция непрямой гемагглютинации) серологические реакции на сифилис резко положительны.

Третичный сифилис

Данная форма сифилиса проявляется в полости рта в виде бугорков и гумм. Бугорковый сифилис чаще всего наблюдается на губах, где бугорки располагаются группами, имеют синюшно-красный цвет, безболезненны. Бугорки быстро распадаются, образуя глубокие язвы с ровными краями, после их заживления остаются рубцы, сохраняющиеся на протяжении всей дальнейшей жизни больного.

Гуммозные поражения в полости рта могут быть одиночными и множественными, а по размерам - от ореха (3х3 см) до голубиного яйца (5х4 см). На данной стадии заболевания поражаются плоские кости нёба, что без лечения может приводить к секвестрации твердого нёба. Распад гумм приводит к образованию фистул и язв, имеющих инфильтрированные гладкие края с грануляциями синюшно-красного цвета. Разрушение твердого и мягкого нёба, поражение губ и языка изолированными гуммами с развитием инфильтрата и склерозного глоссита не сопровождается болезненными проявлениями. Завершается процесс распада гумм образованием рубцов.

Лабораторные исследования

Лабораторную диагностику третичного сифилиса проводят на основании гистологических исследований. Серологические реакции на сифилис на данном этапе заболевания в 40-60% случаев могут быть отрицательными.

Врожденный сифилис

При раннем врожденном сифилисе у детей грудного возраста проявления заболевания в полости рта могут составлять до 30% случаев. Сифилиды имеют папулы (как при вторичном сифилисе взрослых) с диффузной инфильтрацией кожи и слизистой оболочки. Наиболее часто поражениям с последующим образованием линейных рубцов подвергаются красная пойма губ, слизистая оболочка губ и щек, углы рта. При глубоких трещинах рубцы сохраняются на протяжении всей последующей жизни новорожденного.

Лабораторные исследования

Лабораторную диагностику врожденного сифилиса проводят теми же методами, что и при вторичном сифилисе у взрослых.

31.7. НЕВЕНЕРИЧЕСКИЕ ТРЕПОНЕМАТОЗЫ

31.7.1. Эндемический сифилис (беджель)

Возбудитель *T. pallidum endemicum* относится к хроническим спирохетозам, которые обнаружены в эндемичных очагах на Среднем Востоке, Балканах, в Африке, Юго-Восточной Азии и Австралии.

По морфологическим, тинкториальным и антигенным свойствам возбудитель сходен с бледной трепонемой. Источник заболевания - больной человек. Пути передачи: контактно-бытовой (через поврежденные кожные покровы), половой. При заражении первичные признаки отсутствуют, а клинически заболевание проявляется в виде высыпаний на коже и слизистых оболочках (как при вторичном сифилисе), которые в среднем в течение года исчезают. В дальнейшем на этих местах появляются гуммоподобные поражения (как при сифилисе). Трубочатые кости больных поражаются редко.

31.7.2. Фрамбезия

Фрамбезия относится к хроническим генерализованным спирохетозам, встречаемым в эндемических очагах тропических регионов различных стран.

Возбудитель *T. pallidum pertenue* по морфологическим, тинкториальным, культуральным и антигенным свойствам сходен с возбудителем сифилиса. Пути передачи: контактно-бытовой (имеют место семейные вспышки, чаще болеют дети), половой. В месте проникновения возбудителя развивается пустулезная бляшка - фрамбезиома. Через 1-3 мес после этого образуются генерализованные полиморфные высыпания на коже, переходящие в гуммоподобные узлы, которые распадаются с образованием язв. Позже развивается язвенно-гуммозное поражение костей.

31.7.3. Пинта (карате)

Пинта - хронический генерализованный спирохетоз, встречаемый в тропических регионах Центральной и Южной Америки.

Возбудитель заболевания - *T. carateum*, передается контактным путем. Известны случаи заражения через мух рода *Hipellates*. Микробиологические характеристики возбудителя соответствуют характеристикам бледной трепонемы. В месте проникновения *T. carateum* через 2-3 нед появляются красно-коричневые папулы, переходящие в шелушащееся пятно. При генерализации процесса (через несколько месяцев) на теле больных появляются гиперпигментированные и депигментированные участки кожи, а также гиперкератоз ладоней, подошв и выпадение волос.

По истечении 2-4 лет заболевание у людей приводит к поражению сердечно-сосудистой, нервной и костной систем.

При всех вышеперечисленных трепонематозах (эндемическом сифилисе, фрамбезии, пинте) используются те же методы и серологические реакции, что и при диагностике сифилиса.

Лечение указанных выше заболеваний проводят антибиотиками пенициллинового ряда, желателно пролонгированными формами.

31.8. БОРРЕЛИОЗЫ (ВОЗВРАТНЫЕ ТИФЫ И ЛИХОРАДКИ)

Этиология

Род *Borrelia* включает более 30 видов боррелий, большинство из которых при трансмиссивной передаче возбудителя (вши, клещи) патогенны для человека. Их представители не встречаются свободно живущими в окружающей среде. *B. biccalle* является непатогенным представителем данного рода, содержащимся в микрофлоре полости рта.

Установлено, что выделенные в природных очагах от различных хозяев (бессистемных носителей), переносчиков (клещей) и больных людей боррелии позволили установить, что они являются антигенными вариантами одного и того же вида боррелий и связаны с особенностями их генетического аппарата.

Патогенные боррелии вызывают как антропонозные (эпидемический возвратный тиф), так и зоонозные (эндемический возвратный тиф, болезнь Лайма) трансмиссивные инфекционные лихорадочные заболевания, переносчиками которых являются клещи и вши.

Возвратные тифы и лихорадки - боррелиозная трансмиссивная инфекция, сопровождаемая проявлением у больных рецидивирующих приступов лихорадки с высокой температурой и общей интоксикацией организма. Возбудители заболевания - *B. recurrentis*, *B. duttonii*, *B. persica* и др.

Все боррелиозы сопровождаются специфическими высыпаниями на слизистой оболочке полости рта и кожи, являющимися патогномичными признаками заболевания.

Боррелии - спиралевидные бактерии с 3-12 крупными завитками размером $0,3 \div 0,6 \times 5 \div 50$ мкм. Структурный и двигательный аппарат клеток состоит из 15-20 фибрилл, отходящих от концевых дисков навстречу друг другу, обеспечивая их высокую подвижность. Они окрашиваются по Граму отрицательно, а по Романовскому-Гимзе - в сине-фиолетовый цвет. Боррелии размножаются поперечным делением, а при неблагоприятных условиях могут переходить в зернистые и цистные формы жизни, которые способны реверсировать в исходные извитые формы. Генетический аппарат клеток представлен наличием в ЦЦ значительного количества (от 5 до 10) дополнительных внехромосомных ДНК-структур линейной и циркулярной форм.

Боррелии - строгие анаэробы, длительно растут на сложных питательных средах, содержащих сывороточные и тканевые белки животных, а также в куриных эмбрионах. При повторных пересевах культуры утрачивают патогенность. Клетки боррелий чувствительны к высушиванию, при 45-50 °С они гибнут в течение 30 мин, однако устойчивы к низким температурам и замораживанию.

31.8.1. Эпидемический возвратный тиф

Возбудитель *B. recurrentis* описал О. Обермейер в 1868 г. Г. Минх и И.И. Мечников на себе доказали заразность крови больных возвратным тифом. Источником заболевания является больной человек, а переносчиками - вши (головные, лобковые, платяные), реже

клопы. Заражение здоровых людей происходит боррелиями, находящимися в гемолимфе раздавленных вшей, втираемых в место укуса при расчесывании.

31.8.2. Эндемический (клещевой) возвратный тиф

Возбудители представлены более 20 видами боррелий, которые передаются от бессимптомных носителей возбудителя посредством укусов клещей здоровому человеку при его нахождении в очагах циркуляции клещей. Заболевание является зооантропонозной трансмиссивной природно-очаговой инфекцией субтропиков и тропиков различных стран. В Африке наиболее часто выделяют *B. duttonii*, в Азии - *B. persica*, на Кавказе, в Закавказье, на Украине - *B. caucasica* и др. Изучение биологии возбудителей показало, что они являются антигенными вариантами (за счет антигенной мозаичности) одного вида боррелий, что, скорее всего, связано с широко представленным бессимптомным носительством в организмах различных животных (диких грызунов, обезьян, шакалов, лисиц, свиней, ящериц, жаб и др.).

Переносчиками и хранителями боррелий в этих регионах являются клещи рода *Alectorobius* (*Ornithodoros*), способные передавать боррелий потомству трансвариально. Попадая в кишечник клеща, боррелии размножаются и разносятся по всему организму, а через 10-20 дней, попадая в полость рта, становятся источником заражения человека при укусе. Клещи сохраняют носительство всю жизнь (>10 лет). На месте укуса инфицированного клеща у человека образуется папула (первичный эффект).

Патогенез и клиническая картина возвратных тифов

Боррелии, попавшие в ткани, фагоцитируются клетками грануло-цитарно-макрофагальной системы и размножаются в них с одновременным распространением во все органы и ткани. Инкубационный период заболевания - 3-14 дней. Клинические проявления носят острый характер (озноб, повышение температуры тела до 39-40 °С, резкие головные боли и интоксикация организма) и совпадают по времени с массовым выходом возбудителя в кровь (спирохетемией) и дальнейшим распространением его в организме.

В органах и тканях возбудители вызывают кровоизлияния, эмболии и инфаркты из-за образования агрегатов, некрозы с соответствующими клиническими проявлениями, продолжающиеся 3-7 дней. Элементы высыпаний (энантемы) могут быть локализованы на слизистой оболочке полости рта, а при тяжелых формах развивается картина язвенно-некротического гингивостоматита. На кожных покровах, как правило, преобладает мелкая петехиальная сыпь.

Большая часть боррелий гибнет под действием антител с выделением эндотоксина, а остальные переходят в ткани. С окончанием приступа температура тела падает (в крови боррелии не обнаруживаются). Размножение возбудителя в тканях соответствует периоду ремиссии. За счет внутриклеточного паразитизма и антигенной мимикрии - активизации молчащих генов боррелий они «ускользают» от имеющихся в организме антител, и через 4-10 сут массовый выход возбудителя в кровь вызывает рецидив заболевания. Обычно такие приступы повторяются от 3 до 10 раз, их интенсивность и длительность уменьшаются, а продолжительность ремиссий увеличивается. В этот период иммунный ответ организма становится более полноценным к большему количеству антигенных вариантов боррелий и общим антигенным детерминантам возбудителя, что приводит к его полной элиминации из организма больных и выздоровлению.

Иммунитет

При возвратных тифах ведущим является непродолжительный гуморальный иммунитет. В эндемичных очагах у коренного населения установлено наличие устойчивости к циркулирующим в них видам боррелий.

Микробиологическая диагностика заболевания включает микроскопический метод, с помощью которого исследуют кровь больного на высоте приступа при окрашивании нативного препарата по Романовскому-Гимзе (боррелии приобретают сине-фиолетовый цвет) или изучают кровь больного (висячая капля), а также раздавленной капли крови с помощью темнопольной микроскопии.

Серологический метод диагностики заболеваний основан на выделении из клеток общих антигенных детерминант для исследования методом ИФА и непрямой реакции иммунофлуоресценции.

Разрабатывается ПЦР-диагностика для выявления генетического материала боррелий в период ремиссий.

Биологический метод используют для дифференцирования эндемического и эпидемического возвратного тифа (при введении крови больных морским свинкам последние не заболевают при заражении их *B. recurrentis*).

Лечение

Для лечения используют антибиотики пенициллинового, макролидного и тетрациклинового ряда. Специфическая профилактика отсутствует.

31.8.3. Болезнь Лайма (клещевой иксодовый боррелиоз лаймоборрелиоз)

Возбудителями данного заболевания являются *B. burgdorferi*, *B. garinii*, *B. afzelii* и другие - более 10 близких видов боррелий, циркулирующих в очагах разных стран и передающихся иксодовыми клещами.

Этиология

Данное заболевание относится к хронической рецидивирующей трансмиссивной природно-очаговой инфекции с локальными (блуждающие эритемы) и диссеминированными формами поражения органов и систем больного.

Возбудитель *B. burgdorferi* в 1975 г. был выделен от детей, больных артритом, в г. Лайма (США), а в 1981-1982 гг. выделил У. Бургдофер из иксодовых клещей, что позволило определить природу заболевания.

B. burgdorferi - самая крупная боррелия, достигает 0,2-0,3×20-30 мкм. Все возбудители по морфологическим, тинкториальным и культуральным свойствам соответствуют роду боррелий. Материал для исследований хорошо выделяется от клещей, редко из материала от больных людей (крови, лимфы).

Эпидемиология

Возбудителей клещевых иксодовых боррелиозов в природе находят у птиц, грызунов, оленей, собак, лошадей и других домашних и диких животных. Передается заболевание человеку через укусы клещей рода *Ixodes* в местах их циркулирования на территории Северной Америки, в Австралии, Евразии (в России зарегистрировано более 50 эндемичных очагов). Восприимчивость человека к боррелиозу данного вида высокая, случаев заражения от больного человека здоровых людей не отмечено.

Антигенная структура

Как и все боррелии, возбудители болезни Лайма имеют сложную антигенную структуру. Специфические антигены фибриллярного аппарата (41 кДа) и цитоплазматического цилиндра (93 кДа), а также антитела к распавшимся клеткам боррелий не защищают от развития заболевания.

В наружной оболочке боррелий обнаружены липидомодифицированные интегральные белки (Osp - *Outer surface protein*), представленные А-, В-, С-, D-, Е-, F- антигенными детерминантами и обладающие протективной активностью. Их синтез

обеспечивает генетический аппарат плазмид боррелий, причем антиген Osp A - видоспецифический, имеет 7 сероваров и преобладает у клещей и человека на поздних стадиях заболевания, а антиген Osp C определяется у тех же источников на ранних стадиях заболевания.

Факторы патогенности

A-, B-, C-, D-, E-, F-белки наружной оболочки («чехла») обеспечивают прикрепление, проникновение и размножение возбудителя в клетках хозяина. Поражение макрофагов индуцирует синтез белка - интерлейкина-1, вызывающего воспаление. Позднее Osp A-белки и белки теплового шока, синтезируемые при температуре 37 °С и выше, по структуре и молекулярной массе идентичны таковым у человека. Установлено, что именно им принадлежит ведущее место в иммунопатологических реакциях в организме больных.

Патогенез и клиническая картина

После укуса клеща возбудители находятся в месте внедрения. Затем с помощью лимфогенной и гематогенной диссеминации они попадают в органы и ткани с соответствующими клиническими проявлениями и сопровождаются иммунопатологическими и аутоиммунными процессами.

Инкубационный период составляет 3-32 сут с момента укуса клеща. На месте укуса образуется папула, появление которой совпадает по времени с началом заболевания, которая затем переходит в кольцевидную эритему. Развивается лимфаденит, и в различных участках кожи появляются блуждающие (мигрирующие) эритемы с проявлением гриппозоподобной симптоматики, а также высыпания на слизистой оболочке полости рта (энантема).

На второй стадии заболевания имеют место клинические проявления доброкачественных поражений в сердце (миокардит) и центральной нервной системе (асептический менингит, мононевриты).

На третьей стадии - через несколько месяцев развиваются артриты крупных суставов с аутоиммунными реакциями.

Течение заболевания чаще доброкачественное, прогноз - относительно благоприятный.

Иммунитет: гуморальный, видоспецифический.

Микробиологическая диагностика

Как и при всех боррелиозах, применяют бактериоскопический метод. Исследуют материал от больного из биоптатов кожи (на 1-й стадии заболевания), спинномозговую жидкость и пунктаты из пораженных суставов (на 2-й и 3-й стадии). Определение специфических антител серологическими методами проводят с 3-6-й недели заболевания, используя непрямую реакцию иммунофлуоресценции и ИФА со специфическими антигенами, а постановку ПЦР для определения наличия генетических детерминант боррелий - на 2-3-й стадии заболевания (по клиническим показаниям).

Лечение и профилактика

При терапии клещевых иксодовых боррелиозов используют антибиотики тетрациклинового и пенициллинового ряда. На поздних стадиях заболевания при неэффективности проводимой терапии увеличивают дозу или меняют вид используемого антибиотика. Специфической профилактики нет. Неспецифическая профилактика - предупреждение укуса клещей (средства для борьбы с клещами, спецодежда).

31.9. ЛЕПТОСПИРОЗЫ (РОД *LEPTOSPIRA*)

Лептоспиры (от греч. *leptos* - тонкий и *speira* - спираль) представлены большим количеством сапрофитических групп, свободно живущих в водоемах и влажной почве, морфологически не отличающихся от патогенных групп, объединенных в род *Leptospira*. Единственный вид *L. interrogans* (открыт японскими бактериологами *Inada R.*, и *Ido J.* в 1915 г.) включает более 200 сероваров, объединенных в 27 серогрупп, многие из которых являются причиной заболеваний у человека и животных.

Возбудитель *L. interrogans* вызывает острую природно-очаговую зооантропонозную инфекцию, характеризующуюся волнообразной лихорадкой, симптомами общей интоксикации, геморрагического синдрома, поражениями почек, печени, сердечно-сосудистой и нервной систем.

Этиология

Клетки лептоспир - спиралевидные микроорганизмы размером 0,07-0,15×6-24 мкм, представлены двумя осевыми нитями (фибриллами), отходящими по одной от субтерминальных гранул навстречу друг другу, обвивая цитоплазматический цилиндр клетки, как веревка, образуя при этом 18-30 первичных завитков. Вторичные завитки придают клеткам С- и S-образные формы.

Сокращение фибрилл обеспечивает сгибательные, вращательные и скользящие движения, наблюдаемые при темнопольной микроскопии.

Лептоспиры по Романовскому-Гимзе окрашиваются в бледно-розовый цвет.

Лептоспиры - факультативные анаэробы, хемоорганотрофы, требующие при выращивании добавления в питательную среду сыворотки крови животных. Оптимальный рост клеток лептоспир наблюдается при температуре 28-30 °С через 5-7 сут, размножаются клетки поперечным делением, способны образовывать зернистые (гранулярные) формы жизни. Культуры возбудителей на жидких питательных средах не вызывают помутнения среды.

Эпидемиология

Лептоспирозы относятся к природно-очаговым зоонозным инфекциям. Источниками заболевания являются более 100 видов диких и домашних животных. Хроническими формами лептоспироза наиболее часто болеют мыши, полевки, песчанки, крысы и хомяки, выделяющие с мочой в окружающую среду и водные источники возбудителей, что приводит к контакту с ними домашних животных и человека. Для человека источником заболевания могут стать инфицированная лептоспирами вода, почва, предметы быта, продукты питания, домашние животные, грызуны.

Лептоспиры чувствительны к нагреванию (температура 56 °С убивает их через 30 мин, а кипячение - мгновенно), повышенной кислотности среды, высыханию и дезинфицирующим веществам. В водоемах они сохраняются более 30 дней, во влажных щелочных почвах - до 3 мес, в увлажненных пищевых продуктах - до 5 сут, устойчивы к низким температурам и замораживанию.

Антигенная структура

Лептоспиры имеют общеродовые антигены белковой природы, таксоном в антигене составе являются серовары, объединенные в серогруппы (>27 серогрупп). Антигенные варианты клеток липополисахаридной природы выявляют в реакции лизис-агглютинации с помощью темнопольной микроскопии и прямой реакции иммунофлуоресценции с диагностическими сыворотками.

Патогенез и клинические формы заболевания. Из-за высокой инвазивности возбудители проникают в организм больного через кожу, слизистые оболочки,

пищеварительную систему и далее - в лимфатические сосуды и кровяное русло. Вследствие этого они разносятся во все органы и ткани, включая центральную нервную систему, поражая клетки эндотелия сосудов.

Инкубационный период составляет 7-10 сут. Острые клинические проявления совпадают с выходом возбудителей из тканей в кровь и характеризуются ознобом, высокой температурой тела, головными и мышечными болями, высыпаниями на коже и слизистой оболочке, диспепсическими явлениями, менингеальным синдромом с нарастающей почечной (при безжелтушной форме болезни) или печеночной (при желтушной форме заболевания) недостаточностью. Летальность при тяжелых формах лептоспироза составляет от 3 до 30%.

Иммунитет. С 8-10-го дня заболевания в сыворотке крови больных появляются специфические антитела: агглютинины, лизины, комплементсвязывающие антитела, сохраняющиеся долгие годы. Перенесенное заболевание сопровождается развитием стойкого типоспецифического, преимущественно гуморального иммунитета.

Микробиологическая диагностика. Работу с возбудителями лепто-спироза проводят в специальных лабораториях. Исследуемый материал включает мочу, цитратную кровь, сыворотку крови, спинномозговую жидкость, ткани трупов.

Микроскопический метод исследования используют для определения живых возбудителей в исследуемом материале с помощью темнопольного микроскопа и окрашивания мазков по Граму и Романовскому-Гимзе.

Бактериологический метод выявления лептоспир основан на посеве исследуемого материала на жидкие и полужидкие питательные среды с идентификацией выделенных чистых культур с типовыми сыворотками в микрореакции лизис-агглютинации с учетом результатов в темно-польном микроскопе.

При *биологическом методе* исследуемый материал вводят внутрибрюшинно кроликам-сосункам или хомячкам. Наличие лептоспир в крови и экссудате определяют на 2-4-й день после заражения животных, а во всех их органах (в геморрагических очагах) - после их гибели (на 10-14-е сутки).

Серологический метод включает исследование парных сывороток крови больных со стандартными культурами лептоспир в микрореакции лизис-агглютинации, а также в реакции пассивной гемагглютинации и ИФА с антигенами лептоспир.

Выделение возбудителей из жидких сред (водоемов, молока и др.) осуществляют с помощью диагностических антительных магниевых сорбентов, связывающих лептоспиры. Дальнейшее изучение обогащенного материала на наличие в нем возбудителя проводят вышеуказанными методами.

Лечение и профилактика

Для специфического лечения лептоспироза применяют антилепто-спирозный поливалентный γ -глобулин, получаемый из крови гипериммунизированных волов. Антибиотикотерапию проводят препаратами пенициллинового и тетрациклинового ряда.

В эпидемиологических очагах для специфической профилактики лептоспироза у людей и животных используют концентрированную поливалентную стандартизированную инактивированную вакцину. Общие меры профилактики: контроль за вакцинацией скота, водоемов на наличие лептоспир, борьба с грызунами.

31.10. ТУБЕРКУЛЕЗ

Туберкулез - хроническое инфекционное заболевание, характеризующееся наличием воспалительных и деструктивных изменений в тканях и органах с формированием специфических очагов продуктивного воспаления.

Этиология и патогенез

Основной возбудитель - *Mycobacterium tuberculosis*, гораздо реже - *M. bovis*, *M. africanum*.

В полости рта туберкулез развивается редко, так как слизистая оболочка мало восприимчива к микобактериям туберкулеза. Возбудитель может попадать в слизистую оболочку полости рта как эндогенным (гематогенным, лимфогенным), так и экзогенным (с мокротой) путем и, как правило, погибает. На слизистых оболочках полости рта, гортани образуются специфические очаги воспаления.

Первичный туберкулез (первичный туберкулезный комплекс) в полости рта взрослых людей практически не развивается. Вторичный туберкулез слизистой оболочки полости рта как следствие туберкулеза легких или кожи встречается главным образом в двух формах - туберкулезной волчанки и милиарно-язвенного туберкулеза. Чрезвычайно редко наблюдается колликувативный туберкулез (скрофулодерма).

Клиническая картина

Клиническая форма заболевания зависит от ряда факторов: общего течения туберкулезного процесса, иммунологического состояния организма, нервно-эндокринных расстройств, характера питания и др.

Первичным туберкулезом слизистой оболочки полости рта (первичным туберкулезным комплексом) чаще болеют маленькие дети. Такое поражение слизистой оболочки ротовой полости возможно только при условии ее повреждения. На месте внедрения инфекции возникает инфильтрат без острых воспалительных явлений, который через 8-10 дней изъязвляется. Появление язвы, чаще на языке, деснах, губах, сопровождается увеличением подчелюстных лимфатических узлов. Язвы увеличиваются до диаметра 1-1,5 см, дно и края их уплотнены, покрыты грязно-серым налетом. Реакция Манту становится положительной через 2-4 нед после начала заболевания.

Вторичный туберкулез слизистой оболочки полости рта возникает как следствие туберкулеза легких или кожи.

Туберкулезная волчанка (*lupus vulgaris*) - наиболее частое туберкулезное заболевание челюстно-лицевой области, возникающее у людей с хорошей реактивностью по отношению к возбудителю. Оно поражает преимущественно кожу лица. Нередко с кожи носа процесс переходит на кожу верхней губы, красную кайму губ и слизистую оболочку полости рта, где чаще поражаются верхняя губа, десна и альвеолярный отросток верхней челюсти в области фронтальных зубов, а также твердое и мягкое небо. Может возникать и ограниченное поражение красной каймы верхней губы.

Волчаночный процесс только на слизистой оболочке полости рта встречается реже. Наиболее частая локализация туберкулезной волчанки в полости рта - верхняя губа, десна и альвеолярный отросток верхней челюсти в области фронтальных зубов, твердое и мягкое небо. Первичный элемент поражения - специфический туберкулезный бугорок, мягкий, красного или желто-красного цвета, диаметром 1-3 мм. Бугорки располагаются группами. Они растут по периферии очага, а в его центре легко разрушаются, приводя к появлению язв с мягкими, малоболезненными отечными краями. Весь очаг поражения имеет вид поверхностной язвы, покрытой яркими или желто-красными чистыми или с желтоватым налетом, легко кровоточащими папилломатозными разрастаниями, напоминающими малину. Костная ткань межзубных перегородок разрушается, зубы становятся подвижными

и выпадают. Пораженная губа сильно отекает, увеличивается в размере, покрывается обильными кровянисто-гнойными корками, после удаления которых обнажаются язвы. Возникают болезненные трещины на губах.

Дифференциальную диагностику проводят с сифилитическим процессом III стадии, опухолью, красной волчанкой.

Милиарно-язвенный туберкулез развивается на слизистой оболочке рта в результате внедрения бацилл Коха из открытых очагов инфекции, чаще всего из легких, при тяжелом прогрессирующем течении процесса. Реактивность к возбудителю у таких лиц понижена. Микобактерии туберкулеза, выделяясь в значительном количестве с мокротой, внедряются в слизистую оболочку в местах травм, где развиваются типичные туберкулезные бугорки, после распада которых в центре очага образуется язва. Именно поэтому язвы локализуются чаще всего в местах наибольших травм: на слизистой оболочке щек по линии смыкания зубов, спинке и боковых поверхностях языка, мягком нёбе. Обычно формируются 1-3 язвы. Вначале образуется небольшая, очень болезненная язва, которая растет по периферии. Язва обычно неглубокая, с неровными, подрытыми краями. Дно имеет тернистое строение за счет нераспавшихся бугорков. Покрывается язва серовато-желтым налетом. Вокруг язвы можно обнаружить мелкие абсцессы - зерна Треля. При длительном существовании края и дно язвы уплотняются. На языке и на переходной складке язвы могут принимать щелевидную форму, когда дно язвы больше входного отверстия.

К сожалению, больные, страдающие даже тяжелыми формами туберкулеза легких, иногда не знают о своем заболевании. Именно поэтому только возникновение язв в полости рта приводит их к врачу-стоматологу. У всех больных туберкулезом, независимо от формы заболевания, полость рта, как правило, несанированная, отсутствует должный гигиенический уход. Развитие патологического процесса обусловлено снижением местного иммунитета слизистой оболочки полости рта под действием процессов, происходящих в организме.

Диагностика и лечение

Диагноз туберкулеза ставят с помощью микроскопического и бактериологического методов, иммунолюминесценции и внутрикожных аллергических проб с туберкулином. Лечение проводят длительно (месяцами и годами) в специализированных стационарах с применением противотуберкулезных химиопрепаратов. В России и на территории бывшего СССР циркулируют полирезистентные штаммы возбудителя, которые типифицируются с помощью ПЦР. Препаратами резерва являются фторхинолоны: ципрофлоксацин (II поколения), левофлоксацин, спарфлоксацин (III поколения), моксифлоксацин (IV поколения).

31.11. ЛЕПРА (ПРОКАЗА)

Лепра (проказа) - хроническое инфекционное заболевание, характеризующееся длительным инкубационным периодом и медленным развитием симптоматики в течение длительного периода времени с постепенным поражением кожи, слизистых оболочек, периферической нервной системы и внутренних органов.

Этиология и патогенез

Возбудителем этого хронического общего инфекционного заболевания является *Mycobacterium leprae*.

Основным путем передачи лепрозной инфекции считается воздушно-капельный, но признается возможность заражения и через кожу (при нарушении ее целостности). Единственным резервуаром и источником возбудителей инфекции является больной человек, который при кашле, чиханье и даже при разговоре выделяет в окружающее

пространство большое количество микобактерий лепры. Профессионального заражения медицинских работников практически не наблюдается. Инкубационный период продолжается от 3 до 10 лет и более.

Клиническая картина

По особенностям иммунной реактивности пациента, патогенезу и клиническим проявлениям выделяют несколько типов заболевания.

Лепроматозный тип - наиболее злокачественный, отличается наличием в очагах поражения большого количества микобактерий. Эти больные особенно контагиозны, так как выделяют огромное количество возбудителя. При тяжелом течении поражаются слизистые оболочки мягкого и твердого нёба, гортани, спинки языка. Поражение периферических нервов, обычно двустороннее и симметричное, развивается сравнительно поздно. Вначале в зонах поражения ослабевает, а затем исчезает температурная чувствительность, за ней болевая и тактильная. Постепенно развиваются трофические и двигательные нарушения (лагофтальм, парез жевательной и мимической мускулатуры, амиотрофии, контрактуры, трофические язвы).

Диагностика и лечение

Диагноз лепры ставят с помощью бактериологического метода, иммунолюминесценции и внутрикожных аллергических проб с лепромином. Лечение проводят в специализированных учреждениях при изоляции больных. Для химиотерапии используются некоторые противотуберкулезные антибиотики (рифампицин) и специально разработанные пролонгированные сульфаниламиды. Лечение длительное (годами).

31.12. ПИОДЕРМИЯ

Пиодермия - бактериальная инфекция кожных покровов экзоили эндогенного происхождения, вызываемая патогенными кокками.

Этиология и патогенез

Возбудителями обычно являются стрептококки, стафилококки и энтерококки, преимущественно факультативно-анаэробных видов, но нередко облигатные анаэробы - пропионибактерии и пептококки. Развитию гнойничковых поражений обычно способствуют нарушения механизмов неспецифической резистентности, обменных процессов, травмы, в том числе хронические.

Клиническая картина

Поверхностная форма пиодермии получила название импетиго (*impetigo vulgaris*). Импетиго встречается чаще у детей. Источник инфекции - больной импетиго кожи, слизистых оболочек или ангиной. Заболевание начинается остро. На коже лица (реже других участков), на красной кайме губ появляются элементы диаметром 3-6 мм с дряблой крышкой и ободком гиперемии. Они быстро вскрываются, обнажая влажную красную эрозию с выраженной экссудацией. Эрозии быстро увеличиваются, часто сливаются, покрываются обильными золотисто-желтыми «медовыми» корками. Губы отекают. В углах рта процесс особенно выражен, эрозия переходит в болезненную трещину.

Стрептостафилококковые заеды следует отличать от кандидозных заед, сифилитических папул, заед при авитаминозах, атопическом хейлите, снижении высоты прикуса у пожилых людей и от герпетических эрозий.

Импетиго нередко поражает углы рта, очень редко и изолированно - только слизистую оболочку полости рта. Стрептококковому стоматиту предшествует ангина, иногда поражение зева и полости рта наступает одновременно. Характерен острый катаральный гингивит с отеком, ярко-красной гиперемией. Слизистая оболочка местами покрыта

плотным желтоватым налетом, после соскабливания которого видна кровоточащая поверхность с мелкими эрозиями. Заболевание может сопровождаться повышением температуры тела. Возможно, особенно у детей, одновременное поражение слизистых оболочек носа и конъюнктивы.

Другим, относительно редким заболеванием слизистых оболочек, которое вызывается бактериальной микрофлорой (в основном стрептококками и стафилококками), является шанкриформная пиодермия (*pyodermia schancriformis*). Преимущественная локализация - красная кайма губ, половые органы, веки, в полости рта - язык и щеки.

Клинически заболевание начинается с пустулы, после вскрытия которой очаг поражения, обычно единичный, представляет поверхностную блюдцеобразную язву круглой или овальной формы с уплотненным основанием и ровными плотными краями. Дно ее красного цвета, иногда покрыто налетом. Вокруг язвы узкий ободок гиперемии или воспаления отсутствуют. Язва мало или безболезненна при пальпации. Регионарные лимфатические узлы могут не пальпироваться, но нередко они плотные, увеличенные, безболезненные, подвижные. Клиническое сходство шанкриформной пиодермии с сифилитическим твердым шанкром настолько велико, что требуется самая тщательная дифференциальная диагностика.

Пиогенная гранулема (*granuloma pyogenicum*) возникает после травматического повреждения и присоединения инфекции.

Клинически пиогенная гранулема проявляется в виде мягкого опухолевидного образования грибовидной формы на ножке. Очаг поражения, как правило, единичный. Цвет гранулемы синюшно-красный. Она легко кровоточит, изъязвляется, покрывается при этом фибринозным налетом, имеет диаметр до 2 см. Локализуется пиогенная гранулема, как правило, на красной кайме и слизистых оболочках губ, языка, щек, нёба, реже на других участках. Без лечения пиогенная гранулема растет медленно, может существовать неопределенно долгое время, не проявляя тенденции к обратному развитию. От прижигания и смазывания раздражающими веществами растет интенсивнее.

Диагностика и лечение

Применяют бактериологический метод диагностики с последующим определением чувствительности к антибиотикам. Следует учитывать, что рецидив процесса наблюдается при различных приобретенных иммунодефицитах, поэтому лечение включает антибактериальную и иммуномодулирующую терапию. При стафилококковой этиологии процесса хороший результат дает применение стафилококкового анатоксина и γ -глобулина.

ГЛАВА 32. ЗАБОЛЕВАНИЯ ГРИБКОВОЙ ЭТИОЛОГИИ С ПОРАЖЕНИЕМ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА

32.1. КАНДИДОЗ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА

Этиология и патогенез

Возбудители - дрожжеподобные грибы рода *Candida*, в небольшом количестве присутствующие на слизистых оболочках здорового человека. Активизации способствуют врожденные или приобретенные дефекты иммунной системы, гиповитаминозы, эндокринные нарушения, гормональная, лучевая или химиотерапия онкологических заболеваний, иногда - длительная (месяцы) антибактериальная терапия.

Клиническая картина

В последние годы отмечается рост заболеваемости кандидозом. Это связано с широким применением в лечебной практике антибиотиков и особенно

иммунодепрессантов -глюкокортикоидов и цитостатиков. Кандидоз - классический пример дисбиоза. Грибы рода *Candida* являются типичным резидентом слизистых оболочек полости рта, пищеварительной системы, дыхательных путей, влагалища, но в норме определяются в незначительном количестве. Длительное применение антибактериальных препаратов приводит к нарушению состава нормальной микрофлоры. Немаловажную роль в этом процессе играет снижение активности Т-системы и защитных механизмов макрофагально-гранулоцитарной системы организма. Именно поэтому кандидозный стоматит может быть первым проявлением СПИДа.

Классическими формами считают:

- острый псевдомембранозный кандидоз (характеризуется молочно-белым налетом - молочница (рис. 32-1);
- острый атрофический кандидоз;
- хронический гиперпластический кандидоз;



Рис. 32-1. Кандидоз слизистой оболочки полости рта и языка

- хронический атрофический кандидоз языка;
- кожно-слизистый (глубокий) кандидоз.

Клинические проявления кандидоза полости рта весьма разнообразны. В последние годы, помимо известных форм кандидозного стоматита, встречается *Candida*-ассоциированный пародонтит, язвенно-эрозивный стоматит, особенно при резком ослаблении защитных сил организма, иммунодефиците, СПИДе. Осложнением процесса является генерализация микоза с развитием *Candida*-сепсиса, нередко с летальным исходом.

Местное поражение полости рта грибами рода *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*) называется молочницей, более обширное поражение - кандидозом. Встречаются поражения языка, слизистой оболочки щек, губ, углов рта.

Кандидоз полости рта характеризуется появлением на фоне гиперемированной, сухой и болезненной слизистой оболочки молочно-белого, рыхлого, легко снимаемого налета, после удаления которого обычно обнаруживаются эрозированные участки слизистой оболочки.

Следует также отметить, что *Candida* часто играют роль участника бактериальных ассоциаций при различных бактериальных инфекциях (хроническом тонзиллите, дифтерии и носительстве дифтерийной палочки, дизентерии). В таких ассоциациях *Candida* способствуют проявлению патогенности других микроорганизмов, осложняют течение инфекционного заболевания.

Диагностика и лечение

Для лабораторной диагностики используют следующие методы:

- микроскопическое исследование (световое, люминесцентное) патологического материала (налета, кусочков органов и т.д.) и обнаружение псевдомицелия (рис. 32-2);
- бактериологическое исследование - посев материала на среды Сабуро, томатный или картофельный агар с последующей идентификацией выделенной культуры;
- серологический метод - постановку реакций агглютинации и связывания комплемента с кандидозным антигеном в целях обнаружения антител в сыворотке крови больного в возрастающем титре.

При кандидозах необходимо проводить как этиологическое, так и патогенетическое лечение. В настоящее время более 50% штаммов *Candida* устойчивы к нистатину и 70-75% - к леворину. Основными противокандидозными средствами являются производные азола - кетоконазол (низорал), флуконазол (дифлюкан, флюкостат), итраконазол (орунгал). При генерализованных процессах применяют амфотерицин В и итраконазол. В случае иммунодефицитов необходимо назначение иммуномодуляторов.

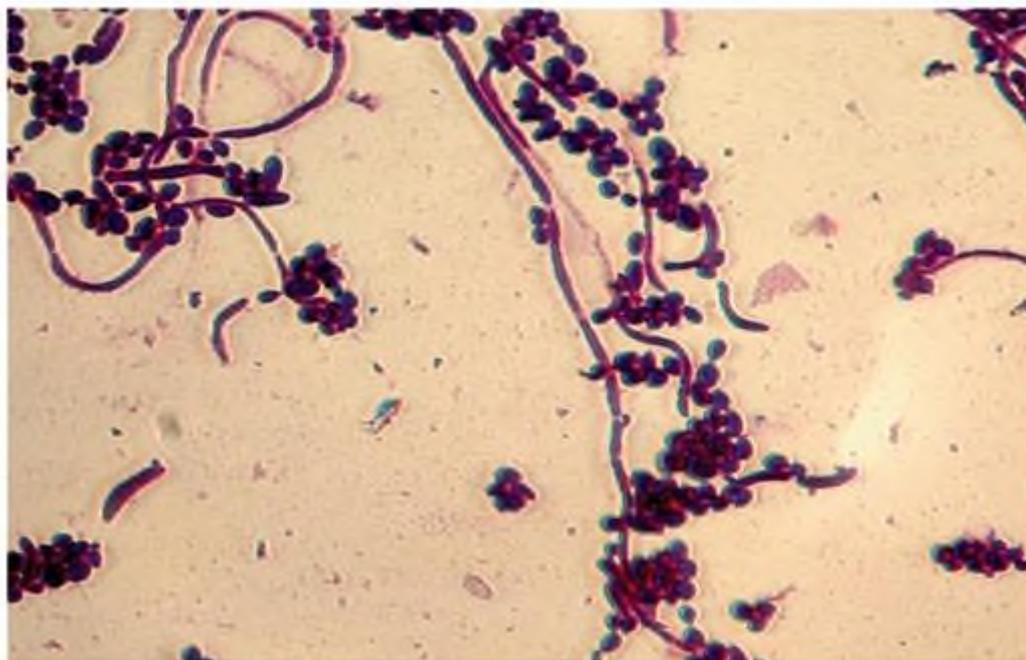


Рис. 32-2. Дрожжевые клетки (бластоспоры) и нити псевдомицелия рода *Candida* в мазке из материала от больного кандидозом

32.2. CANDIDA-АССОЦИИРОВАННЫЙ ПАРОДОНТИТ

Этиология

Видовой пейзаж дрожжеподобных грибов рода *Candida* в содержимом пародонтального кармана у больных хроническим генерализованным пародонтитом в стадии обострения отличается значительным разнообразием и включает как минимум 6 видов грибов данного рода. По некоторым данным, доминируют по частоте 2 вида - *C.*

albicans и *C. krusei*. На долю вида *C. albicans* приходится 70,6%, *C. krusei* - 11,8%, прочих видов - 17,6% всех выделенных штаммов (табл. 32-1).

Таблица 32-1. Видовой состав штаммов дрожжеподобных грибов рода *Candida*, выявленных у больных пародонтитом (всего 34 штамма у 30 больных)

Вид грибов	Больные, %	Штаммы, %
<i>C. albicans</i> ,	80,0	70,6
в том числе в ассоциации с:		
<i>C. krusei</i>	6,7	5,9
<i>C. guilliermondii</i>	3,3	2,9
<i>C. qlabrata</i>	3,3	2,9
<i>C. krusei</i> ,	13,3	11,8
в том числе в ассоциации с:		
<i>C. albicans</i>	6,7	5,9
<i>C. stellatoidea</i>	3,3	2,9
<i>C. tropicalis</i>	3,3	2,9

Частота выявления основных пародонтопатогенных видов бактерий, а также актиномицетов и анаэробных стрептококков была примерно в 2 раза ниже у больных *Candida*-ассоциированным пародонтитом по сравнению с типичным хроническим генерализованным пародонтитом в стадии обострения.

Патогенез и клиническая картина

Дрожжеподобные грибы рода *Candida* выявлены непосредственно в содержимом пародонтального кармана у 23,3%, а у значительной части больных (10,9%) - в виде псевдомицелия, прорастающего в десневой эпителий. Было проведено исследование частоты выделения грибов рода *Candida* у больных пародонтитом, получавших антибиотикотерапию и не получавших таковой. При этом было доказано отсутствие статистически достоверной разницы в сравниваемых группах. Следует признать, что возрастание обсемененности слизистой оболочки грибами рода *Candida* коррелирует не столько с приемом антибиотиков, сколько с дефицитом Т-системы иммунитета, развивающимся при той или иной патологии. Как известно, у значительной части больных пародонтитом выявляется гипореактивный иммунологический вариант развития патологии, что, по-видимому, и является непосредственной причиной кандидозного поражения. Клинические проявления *Candida*-ассоциированного пародонтита, как правило, отличаются стертой картиной при достаточно выраженных пародонтальных карманах и деструкции альвеолярной кости, но торпидностью к проводимой терапии и малой эффективностью профессиональной гигиены. Также наблюдаются бледность, иногда цианотичность десневого края и отсутствие выраженного бактериального запаха и гноетечения.

Больные нередко жалуются на чувство зуда, жжения десен и языка, хотя эти симптомы могут и отсутствовать.

Диагноз ставят по данным микроскопического и культурального исследований. В последние годы разработаны системы для ПЦР-диагностики с праймерами *C. albicans* и *C. krusei* (фирма «Литех», РФ).

Лечение

Особенность лечения *Candida*-ассоциированного пародонтита заключается в том, что после комплекса профессиональной гигиены назначают фунгицидные препараты (системно и местно) и проводят иммунотерапию.

Из фунгицидных препаратов наиболее эффективными являются производные кетоконазола - флуконазол (дифлюкан) и итраконазол (орунгал). Местно применяют также кетоконазол (низорал), клотримазол (кандид), взвесь нистатина (болтушку), сангвиритрин (спиртовой раствор).

32.3. ДРУГИЕ СИСТЕМНЫЕ МИКОЗЫ С ПРОЯВЛЕНИЯМИ В ПОЛОСТИ РТА

32.3.1. Аспергиллез

Оральный аспергиллез - довольно редкая инфекция, которая может протекать в трех формах: при сапрофитической форме отсутствует инвазия жизнеспособных тканей, при аллергической - наблюдается сенсibilизация к гифам гриба, а при инвазивной - гриб прорастает в ткани, вызывая тяжелый некроз. Первые две формы характерны для иммунокомпетентных лиц и характеризуются относительно низкими заболеваемостью и смертностью. Инвазивная форма часто встречается у иммунокомпрометированных больных и сопровождается высоким уровнем смертности. В полости рта поражаются мягкое нёбо, язык и десны. Поражения мягкого нёба обычно сочетаются с заболеваниями верхних дыхательных путей. Десны чаще поражаются у больных гемато-онкологическими заболеваниями. Очаги нёбных поражений - это изъязвления, окруженные каймой из почерневшей ткани. Десневые очаги болезненны, фиолетового цвета, с тенденцией к изъязвлению и некрозу.

Диагноз можно подтвердить культуральным методом, но это занимает около недели. Ввиду выраженности клинической картины часто проводят биопсию, результаты которой становятся известны на следующий день, что позволяет поставить предварительный диагноз. При подтверждении диагноза можно начать агрессивную системную противогрибковую терапию (например, амфотерицином В внутривенно).

32.3.2. Криптококкоз

Проявления в полости рта инфекции, обусловленной *C. neoformans*, бывают редко, но у иммунокомпрометированных больных имеется риск диссеминации возбудителя. Поражение тканей в виде изъязвления или узелков могут обнаруживаться на языке, нёбе, деснах, в лунке после экстракции зуба. Заболевание необходимо дифференцировать от плоскоклеточной карциномы, туберкулеза и травматической язвы. Диагноз подтверждают при исследовании биоптата. Показано лечение амфотерицином В, флуконазолом или итраконазолом.

32.3.3. Гистоплазмоз

Гистоплазмоз эндемичен в США в долинах рек Миссисипи и Огайо, где инфицированы 70-80% взрослого населения (обычно без клинических проявлений). Различают острый гистоплазмоз, хронический легочный и диссеминированный. Оральные проявления могут быть при легочной и диссеминированной формах или в качестве первичного очага у здоровых в других отношениях лиц. Оральный гистоплазмоз отмечают при ВИЧ/СПИДе, а иногда он бывает первым проявлением СПИДа. В полости рта могут отмечаться единичные или множественные очаги изъязвления или узелковые поражения (обычно на нёбе, языке, слизистой оболочке щек, деснах, губах). Диагноз можно подтвердить при исследовании биоптата, микроскопии мазков, культуральным или серологическим методом (в реакции связывания комплемента). Лечение эффективно при введении амфотерицина В, кетоконазола или итраконазола.

32.3.4. Бластомикоз

Эта хроническая инфекция, вызываемая *B. dermatitidis*, встречается в Северной Америке, реже в Африке. Обычно поражаются легкие, и многие симптомы заболевания напоминают туберкулез: субфебрилитет, потеря массы тела, кашель, гнойная мокрота. Из внелегочных поражений чаще встречаются кожные. Очаги в полости рта обычно обусловлены диссеминацией при легочном бластомикозе. Участки пролиферации или язвенные очаги встречаются на твердом нёбе, деснах, языке или губах. Иногда поражаются кости верхней или нижней челюсти. Чаще болеют мужчины. Диагноз основан на культуральном исследовании, хотя возбудитель можно обнаружить при морфологическом исследовании биоптата. Основу терапии составляет амфотерицин В. Может потребоваться хирургическое иссечение тканей.

ГЛАВА 33. ЗАБОЛЕВАНИЯ ВИРУСНОЙ ЭТИОЛОГИИ С ПОРАЖЕНИЕМ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА

33.1. ГЕРПЕС-ВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ

33.1.1. Герпетический стоматит

Герпетический стоматит - острое или рецидивирующее воспаление слизистой оболочки полости рта, проявляющееся быстроразвивающимися везикулезными элементами (пузырьками), сопровождающее общую герпетическую инфекцию организма. Особенностью герпетической инфекции является пожизненное носительство вируса после перенесенного заболевания.

Причиной заболевания являются *Herpes simplex virus* I или II типа, которые проявляют тропизм к ганглиям тройничного нерва и спинномозговым ганглиям области крестцово-подвздошного сочленения соответственно.

Клинически в полости рта герпетическая инфекция проявляется в двух формах.

Острый герпетический стоматит - заболевание вирусной этиологии, возникает как у взрослых, так и у детей. В последнее время острый герпетический стоматит рассматривают как проявление первичной герпетической инфекции вирусом простого герпеса в полости рта. Инкубационный период заболевания продолжается 1-4 сут. Для продромального периода характерно увеличение поднижнечелюстных (в тяжелых случаях - шейных) лимфатических узлов. Температура тела повышается до 37-41 °С, отмечаются слабость, бледность кожных покровов, головная боль и другие симптомы.

В начале заболевания поражения имеют вид пузырьков, которые могут локализоваться в любых участках слизистой оболочки полости рта. Пузырьки быстро вскрываются с образованием поверхностных эрозий, напоминающих афты, которые часто определяются на фоне отечной, гиперемированной, воспаленной слизистой оболочки полости рта. Заболевание контагиозно для лиц, ранее не инфицированных вирусом простого герпеса. Дети в возрасте от 1 года до 3 лет и взрослые в молодом возрасте болеют в основном стоматитом, а это составляет 70%. Слизистая оболочка полости рта, особенно десневого края, отечна, гиперемирована. Весь процесс формирования афт длится 4-5 дней. При этом пациент жалуется на боль при приеме пищи, жжение, зуд. Часто заболевание сопровождается увеличением регионарных лимфатических узлов. При недостаточном уходе за полостью рта возможно присоединение бактериальной микрофлоры с развитием более глубоких поражений слизистой оболочки. Если не провести нужного лечения острого герпетического стоматита, возникает рецидивирующая форма, которая сопровождается регулярными высыпаниями на слизистой оболочке полости рта пузырьков и афт.

По степени тяжести различают легкую, среднетяжелую и тяжелую формы.

При легкой форме заболевания симптомы интоксикации организма отсутствуют. Элементы поражения появляются в виде двух-трех небольших пузырьков. После самопроизвольного вскрытия эпителизация слизистой оболочки наступает быстро. Среднетяжелая форма сопровождается выраженной интоксикацией. Появляются множественные высыпания на слизистой оболочке полости рта. При тяжелой форме выражены все признаки острого инфекционного заболевания (высокая температура тела, симптомы интоксикации и др.).

Хронический рецидивирующий герпес является следствием пожизненного носительства вируса и проявляется в виде одиночных высыпаний или тесно расположенных групп мелких пузырьков на красной кайме губ, слизистой оболочке нёба, глаз, половых органов, коже губ, крыльев носа. Обычно появлению этих поражений предшествует чувство жжения, зуда, позже на фоне участков гиперемии возникают пузырьки, которые самопроизвольно вскрываются. Затем элементы сливаются и образуют эрозивные поверхности, и при приеме пищи, разговоре возникают болезненные ощущения.

Диагностика включает использование микроскопического, серологического и молекулярно-биологического (ПЦР) методов. Готовят мазки-отпечатки, окрашенные по Романовскому-Гимзе, в которых обнаруживают характерные многоядерные гигантские клетки. С помощью иммунофлуоресценции можно обнаружить в пораженных клетках вирусный антиген. Серологическим методом (реакцией связывания комплемента) и ИФА выявляют повышение титра антител к вирусу герпеса. Также можно провести выделение вируса, заражая куриный эмбрион или культуру клеток почек кролика (вирусологический метод).

Лечение и профилактика

Применяют противовирусные химиотерапевтические препараты (ацикловир, идоксуридин, изопринозин, теброфеновую и флореналевую мази местно). Для профилактики разработана инактивированная культуральная герпетическая вакцина ВПГ-1/2.

33.1.2. Опоясывающий лишай (ветряная оспа)

Опоясывающий лишай - рецидивирующее инфекционное заболевание, характеризующееся появлением на коже элементов поражения с резким болевым синдромом по ходу пораженных вирусом нервов. В процесс часто вовлекаются ветви тройничного нерва, могут быть межреберные и другие невралгии, связанные с поражением спинномозговых корешков.

Поражения, как правило, проявляются в виде ярко-красных папул, которые быстро превращаются в пузырьки, чаще с геморрагическим содержимым. Возможны сильные боли, общая слабость, повышение температуры тела. Заболевание вызывается реактивацией персистирующего вируса ветряной оспы - *Virus herpes zoster*. По современной классификации он относится к ВПГ 3-го типа.

Диагностика

Микроскопическим методом вирус выявляют в мазках-отпечатках из носоглотки, полости рта и содержимого пузырьков, окрашенных по Романовскому-Гимзе (тельца Липшютца). Культивирование осуществляют на культуре клеток эмбриона человека.

Идентификацию вируса и определение антител в сыворотке крови больных проводят с помощью реакции иммунофлуоресценции, ИФА и реакции нейтрализации.

Лечение и профилактика

Применяют противовирусные химиотерапевтические препараты (ацикловир, изопринозин), а также интерфероны, интерферогены. Для местного лечения используют

0,2% раствор бриллиантового зеленого, раствор Кастеллани или водный раствор перманганата калия.

33.1.3. Цитомегаловирусная инфекция

Цитомегаловирус вызывает очень распространенную латентную вирусную инфекцию; бессимптомными вирусоносителями являются около 70% человеческой популяции. Проявляется врожденными аномалиями у новорожденных при внутриутробном инфицировании и органными поражениями у взрослых с выраженным иммунодефицитом.

По современной классификации он относится к ВПГ 5-го типа. У большинства инфицируемых вирусом иммунокомпетентных лиц инфекция протекает бессимптомно. Клинически инфекция может проявляться у них неясной гриппоподобной симптоматикой с периодическим субфебрилитетом. Однако первичное инфицирование цитомегаловирусом на ранних сроках беременности может привести к серьезной патологии плода. Главная опасность состоит в реактивации цитомегаловируса при иммуносупрессии, что может привести к летальной инфекции. В этой связи за цитомегаловирусной инфекцией тщательно наблюдают у больных с пересадками органов и ВИЧ-инфицированных.

Вирус размножается в эпителии, слюнных железах, почечных канальцах, лимфоцитах нескольких типов; резервуаром при латентной инфекции, вероятно, служат макрофаги. Эти клетки обнаруживают в большинстве биологических жидкостей (включая слюну), поэтому инфекция может передаваться различными путями. Возможно, по этим причинам цитомегаловирус обнаруживают в местах скопления лимфоцитов (инфильтратах) при различных заболеваниях.

Например, цитомегаловирус встречают в пародонтальных карманах при различных формах пародонтита. Однако цитомегаловирус, скорее всего, не имеет к нему отношения, а выделяется из инфицированных лимфоцитов. Предполагают, что этот вирус иногда вызывает поражения слизистой оболочки полости рта, особенно при иммуносупрессии, вызванной другими вирусами или химиотерапией.

Диагностика

Включает цитологическое исследование эпителия полости рта, пародонтальных карманов, а также крови, слюны, грудного молока, отделяемого цервикального канала, цереброспинальной жидкости, мочи. Выявляют атипичные клетки (с внутриядерными включениями - «глаз совы»). В сыворотке крови с помощью ИФА, реакции связывания комплемента и реакции нейтрализации выявляют IgM-антитела (в острой стадии) и IgG-антитела.

Лечение и профилактика

В настоящее время для лечения цитомегаловирусной инфекции имеются противовирусные химиотерапевтические средства, например, ацикловир, ганцикловир, интерфероны, полудан и др. Для профилактики цитомегаловирусной инфекции при пересадке органов и тканей реципиентам назначают также антицитомегаловирусный иммуноглобулин.

33.1.4. Инфекционный мононуклеоз

Вирус Эпштейна-Барр - один из немногих вирусов, имеющих четкую связь с развитием рака. Большинство людей инфицируются им в детском возрасте. Первичная инфекция протекает бессимптомно. В дальнейшей жизни она может проявиться клинически: появляется лихорадка, отмечают припухание лимфатических узлов (такое состояние распознают как инфекционный мононуклеоз).

Инфекция передается в основном через слюну, реже - с кровью. Поражаются при ней главным образом В-лимфоциты, а также эпителий носоглотки. Трансформирующие и онкогенные свойства вируса Эпштейна-Барр доказаны в опытах *in vitro* (теперь этот вирус

широко используют для индукции неограниченной пролиферации В-клеток). Первым распознанным онкологическим заболеванием, обусловленным вирусом Эпштейна-Барр, была лимфома Беркитта (преимущественно встречается в Африке). В ряду подобных заболеваний - некоторые другие типы лимфом и назофарингеальный рак. Препараты для специфической противовирусной терапии инфекции вирусом Эпштейна-Барр пока не разработаны.

Предполагалось, что вирус Эпштейна-Барр этиологически связан с пародонтитом. Однако ввиду поражения этим вирусом В-лимфоцитов (а пародонтит характеризуется В-лимфоцитарной инфильтрацией) причинно-следственной связи между пародонтитом и вирусом Эпштейна-Барр, по-видимому, не существует.

Диагностика

Характерными лабораторными признаками являются наличие лимфоцитоза в периферической крови и появление атипичных лимфоцитов (до 25-30%). При острой инфекции нарастают титры IgM-антител к вирусному капсидному антигену, а затем и к нуклеопротеиду. При рецидивах увеличиваются титры IgG-антител.

Лечение и профилактика

Применяют противовирусные химиотерапевтические препараты (панцикловир, идоксуридин, изопринозин и др.). Специфическая профилактика не разработана.

33.1.5. Инфекция, вызываемая герпес-вирусами типов 6, 7 и 8

Герпес-вирусы человека типов 6, 7 и 8 (HHV-6, HHV-7 и HHV-8 соответственно) открыты недавно.

HHV-6 (*Human herpesvirus 6*) имеет тесное родство с цитомегаловирусом. Инфекция, обусловленная HHV-6, передается через слюну и широко распространена. У детей младшего возраста она распознается как внезапная экзантема (*exanthema subitum, roseola infantum* или шестая болезнь), но в большинстве случаев протекает бессимптомно. Тяжелые последствия первичной инфекции бывают редко. Клинически проявляется неярко выраженными папулезно-макулезными высыпаниями у новорожденных или детей до 3 лет.

У взрослых вызывает синдром хронической усталости, проявляющийся субфебрильной температурой тела, повышенной потливостью, артралгиями, слабостью и сонливостью. Возможны лимфаденопатия и неврологические нарушения.

Вирус HHV-7 идентифицирован в начале 1990-х гг. (Френкель) и имеет родство с HHV-6 и цитомегаловирусом, однако до сих пор не установлена достоверная связь его с каким-либо серьезным заболеванием человека. Чаще всего указывают на связь этого вируса с эпизодами лихорадки у детей, а также с синдромом хронической усталости у взрослых. Возможно, HHV-7 вызывает осложнения при трансплантациях (ввиду иммуносупрессии). HHV-7 обнаруживают в слюне; его клетками-мишенями, по-видимому, служат CD4⁺-Т-лимфоциты.

HHV-8 (*Rhadinovirus*) считается возможной причиной саркомы Капоши - мезенхимальной опухоли сосудов кожи. Имеет тропизм к дорсальным ганглиям спинного мозга. Определяется также в спинномозговой жидкости. Заболевание преимущественно встречается в Африке и у больных СПИДом. Вероятно, передается через слюну и половым путем.

33.2. ЭНТЕРОВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ

33.2.1. Коксаки-вирусный стоматит (герпетиформная ангина)

Коксаки-вирусный стоматит (герпетиформная ангина) - острая вирусная инфекция, вызываемая энтеровирусами, характеризуемая появлением в дистальных отделах полости

рта, особенно на мягком нёбе и миндалинах, папулезно-везикулярных элементов, которые затем изъязвляются, процесс сопровождается общей интоксикацией.

Вирусы Коксаки А не размножаются в культуре клеток тканей. Выделяют 24 серотипа. Вирусы Коксаки В размножаются в культуре клеток тканей и при заражении новорожденных мышей вызывают спастические параличи. Возбудителями у человека чаще являются энтеровирусы Коксаки А (серотипы 2, 3, 4, 6, 7 и 10) и Коксаки В-3.

Источниками инфекции служат больные люди и здоровые носители. Передача осуществляется воздушно-капельным и алиментарным путями. Чаще болеют дети. Отличается сезонностью (лето, ранняя осень). Заболевание начинается остро, быстро повышается температура тела до 39-40 °С, однако общее состояние больных остается относительно удовлетворительным. Лихорадка длится 2-5 дней. Боли в горле выражены умеренно или отсутствуют. Могут быть боли в животе и мышцах. Характерны изменения зева: на фоне умеренно гиперемированной слизистой оболочки мягкого нёба, нёбных дужек и зева появляются единичные (от 1 до 20), четко отграниченные элементы, которые иногда представлены в виде небольших папул диаметром 1-2 мм, затем они превращаются в пузырьки (до 5 мм), наполненные прозрачной жидкостью. Пузырьки быстро лопаются, и на их месте возникают афты, покрытые сероватым налетом и окруженные узким венчиком гиперемированной слизистой оболочки. Отдельные афты могут сливаться, образуя более обширные поражения (до 7 мм). Расположены они на нёбных дужках, реже на нёбе, язычке, нёбных миндалинах, иногда на слизистой оболочке языка. К 4-7-м суткам течения заболевания наступает заживление дефекта слизистой оболочки без каких-либо следов.

Диагноз ставят на основании вирусологического метода и ПЦР.

33.2.2. Везикулярный стоматит

Везикулярный стоматит - острая вирусная инфекция, вызываемая рабдовирусами, характеризующаяся появлением на нёбе и миндалинах везикулярных элементов, которые затем изъязвляются, сопровождается общей интоксикацией и эритематозными высыпаниями на коже.

Группа рабдовирусов насчитывает свыше 180 видов вирусов животных и растений, в том числе роды *Lyssavirus* (к которому относится вирус бешенства) и *Vesiculovirus* (вирус везикулярного стоматита).

Везикулярный стоматит вызывается одним из рабдовирусов, который передается человеку от домашних животных, больных этим заболеванием. Возбудители инфекции передаются алиментарным путем или аэрогенно. Везикулярным стоматитом чаще болеют дети 3-10 лет. Заболевание начинается с острого повышения температуры тела, точечной эритематозной сыпи на ладонях, пальцах, бедрах, ягодицах. В полости рта на гиперемированном фоне слизистой оболочки полости рта возникают везикулярные высыпания. Когда пузырьки лопаются, на их месте появляются эрозивные поверхности с желтоватым фибринозным налетом.

У взрослых течение везикулярного стоматита напоминает симптомы гриппозной инфекции. Инкубационный период длится 1-5 сут. Затем происходит внезапный подъем температуры тела, появляются боли в суставах, мышцах, невралгии, головная боль. Через 3 сут после начала заболевания на слизистой оболочке ротовой полости образуются пузырьки (везикулы), которые сохраняются 10-12 сут.

Диагноз ставят на основании характерной клинической картины, результатов лабораторного исследования (обнаружения вируса в смывах из носоглотки и в содержимом пузырьков и ПЦР).

33.3. КОРЬ

Корь - острая вирусная инфекция, характеризующаяся вирусемией с патогмоничными проявлениями на слизистой оболочке полости рта, лихорадкой, тяжелой интоксикацией с иммуносупрессией и развитием гнойно-воспалительных и токсико-аллергических осложнений.

Возбудитель - вирус кори, относящийся к семейству парамиксовирусов.

Инкубационный период продолжается 9-17 сут. У лиц, которым вводили с профилактической целью γ -глобулин, он может увеличиваться до 21 дня. Одними из первых признаков заболевания являются специфические мелкие (до 1 мм), серовато-белые папулы диаметром до 1 мм, окруженные красным венчиком (пятна Бельского-Филатова-Коплика), и коревая энантема, появляющиеся на слизистой оболочке рта в основном в области щек, напротив премоляров, реже в области слизистой оболочки губ и на деснах. Пятна имеют вид белесоватых папул, окруженных узкой каймой гиперемии. Пятна не сливаются между собой. Слизистые оболочки полости рта и ротоглотки диффузно гиперемированы. При геморрагической форме кори, встречающейся очень редко, отмечаются геморрагические высыпания и множественные кровоизлияния в кожу, слизистые оболочки.

Диагноз подтверждают с помощью ПЦР.

33.4. ПАПИЛЛОМАВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ

Папилломавирусная инфекция - хроническая или латентная вирусная инфекция, вызываемая представителями семейства паповавирусов, передающаяся контактно-слизистым (половым) путем и проявляющаяся поражением кожных покровов и слизистой оболочки, для некоторых типов вирусов - с отчетливой тенденцией к малигнизации.

Этиология и патогенез

Папилломавирусы человека (ВПЧ) относятся к семейству *Papovaviridae* и названы так по клинической картине часто вызываемых ими заболеваний - папиллом и бородавок. У них двуспиральный ДНК-геном, капсид в форме икосаэдра (диаметром 55 нм), а суперкапсид отсутствует. Насчитывают более 70 типов ВПЧ; часть из них входит в состав нормальной микрофлоры кожи. Первичными мишенями ВПЧ являются эпителиальные клетки дермы. ВПЧ также связывают с опухолями человека. Установлено, что два белка этого вируса проявляют онкогенные свойства - могут независимо друг от друга трансформировать клетки культуры ткани в условиях *in vitro*.

Клиническая картина

Многие типы ВПЧ не связаны с какими-либо заболеваниями и, вероятно, относятся к обычным обитателям кожи человека. Частое проявление ВПЧ-инфекции - бородавки на коже или дисплазии на слизистых оболочках полости рта или половых органов. Большинство из них неопасны, но некоторые типы связаны с развитием рака. В частности, вирусы ВПЧ-16 и ВПЧ-18 вызывают инвазивный рак шейки матки (до 50% этого заболевания связано с ВПЧ-16). Вместе с тем инфицирование ВПЧ-16 не всегда сопровождается развитием рака, что осложняет скрининговые мероприятия по профилактике рака шейки матки. С обнадеживающими результатами проведено испытание на людях вакцины против ВПЧ.

Связанное с ВПЧ заболевание половых органов называют кондиломой. Первичная инфекция относится к заболеваниям, передаваемым половым путем, и проявляется после начала половой жизни. Наиболее широко инфекция распространена у лиц, имеющих много половых партнеров. Диагноз обычно ставят по клинической картине и данным цитологического исследования.

Как уже отмечено, ВПЧ вызывает развитие бородавок в различных местах. Некоторые проявления ВПЧ-инфекции можно выявить при обследовании полости рта. С ротовой полостью связаны, по-видимому, два типа - ВПЧ-13 и ВПЧ-32 (вызывают локальную гиперплазию эпителия). Остальные формы дисплазии слизистой оболочки полости рта, подобно остроконечным кондиломам и обычным бородавкам, связаны с генитальными типами ВПЧ. Предполагают, что ВПЧ-16 и ВПЧ-18 связаны со злокачественными образованиями в носоглотке и ротовой полости, но роль ВПЧ при этих состояниях не столь ясна, как при раке шейки матки.

33.5. ПРОЯВЛЕНИЯ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ В ПОЛОСТИ РТА

ВИЧ-инфекция - хроническое (иногда латентное) вирусное заболевание человека, вызываемое РНК-содержащим лимфотропным ретровирусом, передающееся преимущественно парентеральным и контактно-слизистым (половым) путями, сопровождаемое тяжелым поражением иммунной системы с развитием СПИДа.

В настоящее время СПИД рассматривается как стадия клинических проявлений ВИЧ-инфекции, которая наступает после определенного латентного периода. СПИД характеризуется полиморфностью клинических симптомов, абсолютной летальностью и тенденцией к эпидемическому распространению.

Этиология и эпидемиология

Выделены ВИЧ 1-го и 2-го типа, отличающиеся по структурным, антигенным и эпидемиологическим характеристикам. Эпицентром эпидемии ВИЧ-1 является Восточная Африка, где в 1983 г. француз Люк Монтанье и американец Роберт Галло впервые выявили этот тип вируса у больного-гомосексуалиста. В том же году описана волосатая лейкоплакия языка, а в 1986 г. доказано, что сочетание волосатой лейкоплакии с кандидозом - симптом патогмоничного перехода инфекции ВИЧ в стадию СПИДа. Эпицентром эпидемии ВИЧ-2 является Западная Африка, где в 1985 г. был впервые описан данный тип вируса. В настоящее время можно говорить о пандемическом распространении ВИЧ-инфекции: в мире насчитывается более 40 млн зарегистрированных ВИЧ-инфицированных, 4 млн - умерших.

В нашей стране изучение СПИДа проводится с 1985 г., плановое обследование населения на антитела к ВИЧ начато в 1987 г. В 1988 г. описан первый случай СПИДа в СССР и начато проведение мероприятий по санэпиднадзору за клиническими проявлениями ВИЧ-инфекции в стоматологии. С этого момента изучение состояния полости рта начинают рассматривать как составную часть работы по борьбе с пандемией ВИЧ в России и в мире. С 1996 г. в России наблюдается стремительный рост количества инфицированных ВИЧ, что в определенной степени связано с ростом наркомании. В настоящее время в России зарегистрировано 0,5 млн инфицированных. Стало очевидным, что увеличение количества случаев ВИЧ-инфекции является своеобразным индикатором, который отражает уровень наркотизации населения. По данным НИИ наркологии количество лиц, страдающих наркоманией в России, составляет более 2 млн человек (если брать только тех, кто обращается за медицинской помощью, причем число таковых соотносится с истинным количеством больных наркоманией как 1:7). В настоящее время в России распространение ВИЧ-инфекции в основном регистрировали среди лиц, употребляющих наркотики, причем установлена прямая сильная корреляционная связь между численностью наркоманов и лицами, входящими в группы заболевания ВИЧ-инфекцией и парентеральными гепатитами В и С. Инфицирование молодых людей вирусами вышеуказанных инфекций приводит не только к количественному росту показателя заболеваемости ВИЧ-инфекцией, но и имеет важное медико-социальное значение, так как ВИЧ-инфицированные длительно остаются бессимптомными

источниками инфекции и погибают от СПИДа в детородном и трудоспособном возрасте. Этими клинико-эпидемиологическими особенностями объясняется исключительная социальная значимость ВИЧ-инфекции, так как под угрозой находится демографическая ситуация в России.

Патогенез

ВИЧ поражает в основном иммунную систему; вначале разрушает Т-, а затем В-клеточное звено иммунитета. По мере разрушения лимфоидных клеток организма вирус способствует развитию иммунодефицита и различных патологических процессов, которые получили название ВИЧ-ассоциированных: грибковых поражений, вирусных лимфоаденопатий, злокачественных новообразований, пиемических очагов и др.

Клиническая картина

Врачи-стоматологи должны уметь распознавать связанные с ВИЧ стоматологические заболевания и обеспечивать надлежащее лечение и направление пациентов к соответствующим специалистам. В настоящее время известно, что иммунодепрессивное действие вирусной инфекции проявляется изменениями на слизистой оболочке полости рта (61-67,1%), в пародонте, а возможно, и в твердых тканях зуба. Чаще всего дифференциальная диагностика подобной патологии может быть проведена на основании визуального осмотра и клинических особенностей течения заболевания.

Развитие патологии напрямую связано с уменьшением количества CD4⁺-клеток и увеличением вирусной нагрузки и является независимым индикатором прогрессирования ВИЧ-инфекции. У лиц с неизвестным статусом по ВИЧ подобные проявления в полости рта могут служить признаком возможного наличия ВИЧ-инфекции, хотя сами по себе они не являются диагностическим критерием. Связанная с ВИЧ патология полости рта присутствует у 30-80% ВИЧ-инфицированных лиц. У ВИЧ-положительных пациентов, не подвергаемых лечению, наличие определенных проявлений такого рода в полости рта может служить признаком прогрессирования заболевания. Следует также отметить, что у пациентов с ВИЧ-инфекцией, принимающих антиретровирусные препараты, наличие тех или иных проявлений такого рода в полости рта может означать повышение уровня ВИЧ в крови. Последовательность осмотра пациента врачом-стоматологом для обнаружения клинических симптомов ВИЧ-инфекции имеет большое значение, так как патологические изменения на слизистой оболочке полости рта возникают наиболее рано, и их выявление играет решающую роль в своевременной постановке диагноза.

Проявление определенной патологии в полости рта может не только указать на наличие ВИЧ-инфекции, ряд поражений также являются ранними клиническими маркерами инфекции, а некоторые могут предсказать переход от носительства ВИЧ к синдрому иммунодефицита (СПИДу). Поражения в полости рта являются самыми ранними и самыми важными индикаторами ВИЧ-инфекции. Поражения полости рта и слизистых оболочек у больных ВИЧ-инфекцией прежде всего связаны с развитием так называемых вторичных заболеваний - оппортунистических инфекций и опухолей, характерных для иммунодефицитных состояний.

Выделены 3 группы подобных поражений:

- поражения полости рта, часто связанные с ВИЧ-инфекцией: кандидоз, в том числе ангулярный хейлит, волосатая лейкоплакия, ВИЧ-гингивит, ВИЧ-периодонтит (генерализованный пародонтит), саркома Капоши, неходжкинская лимфома;
- поражения, реже связанные с ВИЧ-инфекцией (например, атипичные изъязвления, заболевания слюнных желез);
- поражения, которые могут быть связаны с ВИЧ-инфекцией, бактериальные инфекции (исключая гингивит/негенерализованные формы пародонтита).

33.6. ЯЩУР

Ящур - острое вирусное заболевание, характеризуемое афтозными поражениями слизистой оболочки полости рта и поражением кожи кистей рук, вирусемией, лихорадкой, общей интоксикацией.

Возбудитель - вирус ящура из группы пикорнавирусов. Относится к зоонозам. Пути передачи - контактный и пищевой. От человека к человеку заболевание не передается. Выделяют так называемую ротовую и кожную формы ящура. Инкубационный период - от 2 до 12 сут (чаще 3-8 сут). Вскоре после начала заболевания появляются симптомы поражения слизистых оболочек: жжение во рту, слюнотечение, покраснение глаз, болезненность при мочеиспускании. На резко гиперемированной слизистой оболочке полости рта появляется большое количество мелких пузырьков, заполненных мутной желтоватой жидкостью. Через сутки на месте пузырьков образуются язвочки. Речь и глотание затруднены. Афты располагаются на слизистой оболочке полости рта (языке, деснах, нёбе). Возможны новые высыпания, затягивающие выздоровление на несколько месяцев.

Для лабораторной диагностики применяют биологический метод - содержимое пустул вводят в скарифицированную кожу подошвы морской свинки, где появляются типичные афты, что позволяет дифференцировать ящур от герпетического гингивостоматита и язвенно-некротического стоматита. Возможна также и ПЦР-диагностика.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Инфекционный процесс - комплекс процессов взаимодействия макроорганизма с конкретным микроорганизмом или продуктами его жизнедеятельности. Рационально выделение трех форм инфекционного процесса: инфекционное заболевание, оппортунистическое заболевание, токсикоз.

Инфекционное заболевание - процесс, вызываемый патогенами. Для этого у патогенов существует комплекс генетически детерминированных факторов патогенности: ферментов агрессии и токсинов, а также способность к колонизации экологической ниши в организме больного (носителя).

Оппортунистическое заболевание - инфекционный процесс, непосредственной причиной которого является микроорганизм-резидент. Эти микроорганизмы, колонизируя экологическую нишу в организме, не способны в нормальных условиях здорового организма вызвать заболевание. У них либо нет, либо недостаточен уровень продукции ферментов агрессии и токсинов, поэтому в развитии заболевания главным является нарушение барьерной функции защитных систем организма.

Токсикоз - форма инфекционного процесса, при которой проявляется действие одномоментно попавших в организм токсинов микроорганизмов (с водой, пищей, при переливании контаминированных растворов), но их воспроизводства в организме не происходит.

Однако в широком смысле инфекционными называют все виды заболеваний, связанных с микроорганизмами.

Аксиомой современной медицины является тот факт, что все патологические процессы сопровождаются обязательной реакцией со стороны регуляторных систем организма, к числу которых относится иммунная система. Особенно это касается инфекционных заболеваний, патогенез которых, клиническое течение и исход заболевания очень тесно связаны с проявлениями естественного и адаптивного иммунитета. Иммунные реакции в этом случае, как и при неинфекционной патологии, носят защитный характер, но, в отличие от прочих патологических процессов, они направлены не только на элиминацию

патогена и выздоровление, но и в большинстве случаев на развитие невосприимчивости к последующему попаданию того же патогена в организм.

В случаях декомпенсации в реакциях иммунной защиты или при наличии изначального (генетического или приобретенного) дефекта в отдельных звеньях иммунной системы инфекционный процесс развивается независимо от выраженности патогенных свойств микроорганизма, принимает характер хронического, не заканчивается выздоровлением, неуклонно прогрессирует и серьезно угрожает жизни больного.

С этой точки зрения основная тактика лечения инфекционного больного должна предусматривать в качестве одного из основных направлений использование высокоэффективных антибактериальных средств, не оказывающих существенного влияния на иммунные процессы, если они не носят характера иммунопатологии. При признаках иммунного дефекта или, наоборот, гиперреактивности со стороны иммунной системы как причины или следствия инфекционного процесса нередко возникает необходимость в иммунокоррекции, при этом идеальным вариантом иммуномодулирующего воздействия является побочное иммуностропное действие самого антибактериального агента в случае его правильного выбора.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Укажите один или несколько правильных ответов.

1. С точки зрения этиологии и патогенеза стоматиты следует подразделять:

- а) на специфические и неспецифические;
- б) первичные и вторичные;
- в) инфекционные и оппортунистические;
- г) экзогенные и эндогенные.

2. К стоматитам бактериальной этиологии относят:

- а) кандидозный;
- б) стафилококковый;
- в) стрептококковый;
- г) везикулярный.

3. К стоматитам вирусной этиологии относят:

- а) герпетический;
- б) ящур;
- в) трепонемальный;
- г) гистоплазмоз.

4. Для местного лечения *Candida*-ассоциированного пародонтита применяют:

- а) 0,1% раствор сангвиритрина[®];
- б) 1% мазь клотримазола;
- в) миконазол-гель;
- г) нистатин в таблетках.

5. Для системного лечения кандидоза применяют:

- а) тербинафин;
- б) итраконазол;

в) флуконазол;

г) кетоконазол.

6. Для бактериологического метода диагностики анаэробной инфекции решающее значение имеет рост разных типов колоний:

а) на желточно-солевом агаре;

б) кровяном агаре в анаэроостате;

в) кровяном агаре;

г) среде Эндо.

7. Для серологического метода диагностики сифилиса решающее значение имеет постановка реакции:

а) микропреципитации и реакции пассивной гемагглютинации;

б) агглютинации;

в) преципитации в агаре;

г) ИФА.

8. Для серологического метода диагностики ВИЧ и парентеральных гепатитов решающее значение имеет постановка реакции:

а) бактериолиза;

б) агглютинации;

в) преципитации в агаре;

г) ИФА и ПЦР.

9. Возбудителями остеомиелита являются:

а) *Staphylococcus aureus*;

б) *Streptococcus pneumoniae*;

в) *Helicobacter pylori*;

г) *Fusobacterium nucleatum*.

10. Возбудителями абсцессов и флегмон челюстно-лицевой области могут быть:

а) *Prevotella melaninogenica*;

б) *Streptococcus pneumoniae*;

в) *Helicobacter pylori*;

г) *Fusobacterium nucleatum*.

11. Венерические заболевания с поражением слизистой оболочки полости рта вызывают бактерии, относящиеся к родам:

а) *Streptococcus*;

б) *Neisseria*;

в) *Staphylococcus*;

г) *Treponema*.

12. Парентеральный путь передачи характерен для следующих вирусных инфекций:

а) ВИЧ;

б) гриппа;

в) гепатита В;

г) гепатита С.

Ответы к тестовым заданиям

1 - б, в, г; 2 - б, в; 3 - а, б; 4 - а, б, в; 5 - б, в, г; 6 - б; 7 - а; 8 - г; 9 - а, г; 10- а, г; 11 - б, г; 12 - а, в, г.

ПРИЛОЖЕНИЯ

ПРИЛОЖЕНИЕ 1. ПЕРЕЧЕНЬ НОРМАТИВНО-ПРАВОВЫХ АКТОВ И ДОКУМЕНТОВ, ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ПРИ СОСТАВЛЕНИИ УЧЕБНИКА

- Основы законодательства РФ об охране здоровья граждан от 19.04.1991 г.
- Федеральный закон «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» № 52-ФЗ от 30 марта 1999 г.
- Федеральный закон «Об основах охраны труда в Российской Федерации» № 181-ФЗ от 17.07.1999 г.
- Федеральный закон «О радиационной безопасности населения» № 3-ФЗ от 9 января 1996 г.
- Федеральный закон «О защите прав юридических лиц и предпринимателей при проведении государственного контроля (надзора)» № 134-ФЗ от 08.08.2001 г.
- «Нормы радиационной безопасности (НРБ-99)». СП 2.6.1.758-99.
- «Основные санитарные правила обеспечения радиационной безопасности (ОСПОРБ-99)». СП 2.6.1.799-99.
- «Гигиенические требования к устройству и эксплуатации рентгеновских кабинетов, аппаратов и проведению рентгенологических исследований». СанПиН 2.6.1.802-99.
- «Санитарные правила устройства, оборудования, эксплуатации амбулаторно-поликлинических учреждений стоматологического профиля, охраны труда и личной гигиены персонала» № 295 0-а от 28.12.1983 г.
- СНиП 2.08.02-89 «Общественные здания и сооружения».
- СНиП 2.08.01-89 «Жилые здания».
- СНиП 2.04.05-91 «Отопление, вентиляция и конструирование».
- Методическое письмо ЦГСЭН г. Москвы от 21.03.1995 г. № 12/20208 «Организация санитарно-гигиенического и дезинфекционно-стерилизационного режимов в учреждениях стоматологического профиля».
- Приказ МЗ РФ от 14.03.1996 г. № 90 «О порядке проведения предварительных и периодических медицинских осмотров работников и медицинских регламентов допуска к профессии».
- Приказ МЗ РФ от 15.08.2001 г. № 325 «О санитарно-эпидемиологической экспертизе продукции».
- Пособие по применению средств дезинфекции и стерилизации в ЖГУ и организации режимов дезинфекции и стерилизации в отделениях эндоскопии и стоматологии. Москва, 1998.
- Постановление главного государственного санитарного врача РФ от 06.06.2003 г. № 124 «О введении в действие санитарно-эпидемиологических правил и нормативов». СанПиН 2.1.3.1375-03 (вместе с санитарно-эпидемиологическими правилами и

нормативами «Гигиенические требования к размещению, устройству, оборудованию и эксплуатации больниц, родильных домов и других лечебных стационаров»).

- Постановление главного государственного санитарного врача РФ от 30.04.2003 г. № 85 «О введении в действие санитарно-эпидемиологических правил». СП 1.2.1318-03 (вместе с санитарно-эпидемиологическими правилами «Порядок выдачи санитарно-эпидемиологического заключения о возможности проведения работ с возбудителями инфекционных заболеваний человека I-IV групп патогенности (опасности), генно-инженерно-модифицированными микроорганизмами, ядами биологического происхождения и гельминтами». СП 1.2.1318-03).

- «Профилактика вирусных гепатитов. Общие требования к эпидемиологическому надзору за вирусными гепатитами. Санитарно-эпидемиологические правила». СП 3.1.958-00.

- Постановление главного государственного санитарного врача РФ от 03.02.1999 г. № 4 «Об утверждении санитарных правил» (вместе с санитарными правилами «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности и гельминтами». СП 1.2.731-99).

- Правила сбора, хранения и удаления отходов лечебно-профилактических учреждений. СанПиН 2.1.7.728-99.

- Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения. МУ-287-113 (утв. Департаментом Госсанэпиднадзора Минздрава России 30.12.1998 г.).

- Методические рекомендации по проведению работ в диагностических лабораториях, использующих метод ПЦР. Основные положения (утв. заместителем председателя Государственного комитета эпиднадзора 22.06.1995 г.).

- Методические указания по применению бактерицидных ламп для обеззараживания воздуха и поверхностей в помещениях (утв. Минздравмедпромом России 28.02.1995 г. № 11-16/03-06).

- Методические указания по контролю за работой паровых и воздушных стерилизаторов.

- Инструкция по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений (утв. Минздравом СССР 17.01.1991 г.).

- Инструкция по противоэпидемическому режиму лаборатории диагностики СПИДа (утв. Минздравом СССР 05.06.1990 г. № 4228/38-90).

- Приказ Минздрава СССР от 10.06.1985 г. № 770 «О введении в действие отраслевого стандарта ОСТ 42-21-2-85 «Стерилизация и дезинфекция изделий медицинского назначения. Методы, средства и режимы» (вместе с ОСТ 42-21-2-85).

- Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР (утв. главным государственным санитарным врачом СССР 20.10.1981 г. № 2455-81, ЦК профсоюза медработников 02.10.1981 г., протокол № 58).

- Правила устройства, техники безопасности и производственной санитарии при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР (утв. Минздравом СССР 30.09.1970 г.).

ПРИЛОЖЕНИЕ 2. ПОРЯДОК ЛИКВИДАЦИИ АВАРИИ, СВЯЗАННОЙ С ПРОЛИВОМ ИЛИ РАЗБРЫЗГИВАНИЕМ КРОВИ (БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ)

Авария - нештатная ситуация, при которой создается реальная или потенциальная возможность попадания патогенного агента в воздух производственной зоны и окружающую среду или заражения персонала.

- Для дезинфекционной обработки на случай аварии при работе с потенциально заразными биоматериалами (кровью, сывороткой крови, мочой, бактериальными культурами и др.) на рабочих столах должны быть предусмотрены промаркированные емкости с рабочим дезинфицирующим раствором, а также запас марлевых салфеток.

- В каждом лабораторном помещении (группе функционально объединенных лабораторных комнат) должны быть специальные аптечки с соответствующей инструкцией для оказания первой медицинской помощи при аварийных ситуациях.

- При аварийных ситуациях, связанных с проливом крови и других биоматериалов, все участники немедленно должны прекратить работу и приступить к ликвидации аварии.

- О происшествии немедленно докладывают начальнику подразделения.

- Загрязненную одежду снимают и замачивают в дезинфицирующем растворе в специальной промаркированной емкости.

- Для уборки надевают соответствующую защитную одежду и резиновые перчатки.

- Все загрязненные кровью (биологическими жидкостями) или похожие на загрязненные кровью поверхности пола и предметов обстановки обрабатывают раствором дезинфектанта, а разбитую стеклянную и полимерную посуду обильно заливают дезинфицирующим раствором не менее чем на 1 ч. После этого последние убирают с помощью специально выделенного уборочного инвентаря, а поверхности очищают с помощью моющих средств; использованную при этом ветошь замачивают в специально выделенной емкости с дезинфицирующим раствором, маркированной надписью «Для дезинфекции использованной ветоши».

- Резиновые (латексные) перчатки после окончания работы обеззараживают погружением в дезинфицирующий раствор (6% раствор перекиси водорода на 1 ч или другие дезинфицирующие средства) или кипячением в течение 30 мин.

- По окончании уборки для обеззараживания воздуха включают на 60 мин ультрафиолетовый облучатель (облучатель-рециркулятор воздуха типа «Дезар»; установку обеззараживания воздуха «Поток»).

- При аварии в центрифуге после ее остановки, 30-40-минутной паузы (до полного оседания частиц образовавшегося аэрозоля) и отключения от электросети необходимо:

- неповрежденные объекты (центрифужные пробирки и т.п.) изъять, обработать дезинфицирующим раствором и передать для продолжения необходимых технологических манипуляций;

- гнездо ротора вместе с осколками пробирки (флакона) залить дезинфицирующим раствором, а после экспозиции не менее 1 ч последние удалить и поместить в емкость с дезинфицирующим раствором дополнительно на 1 ч;

- внутреннюю поверхность центрифуги, в том числе крышки, и ротор тщательно обработать дезинфицирующим раствором (экспозиция - 1 ч). Только после этого работа на центрифуге может быть продолжена.

- При повреждении кожных покровов необходимо немедленно обработать перчатки дезинфицирующим раствором и снять их. Затем выдавить каплю крови из ранки, последнюю обработать двукратно с интервалом 5 мин 70% спиртом (кожным антисептиком), смазать края ранки 5% спиртовой настойкой йода.

- При загрязнении кожи рук кровью следует немедленно обработать их в течение 1 мин тампоном, смоченным кожным антисептиком, разрешенным к применению, вымыть руки двукратно теплой проточной водой с мылом и насухо вытереть индивидуальным полотенцем (салфеткой).

- При попадании крови или других биологических жидкостей:

- на слизистые оболочки глаз - их следует сразу же промыть 0,01% раствором марганцовокислого калия, приготовленного *ex tempore* (навеску 0,05 г растворяют в 0,5 л дистиллированной воды);

- на слизистую оболочку носа - обработать 0,05% раствором марганцовокислого калия (навеску 0,25 г растворяют в 0,5 л дистиллированной воды);

- на слизистую оболочку полости рта - прополоскать 70% спиртом или 0,05% раствором марганцовокислого калия.

- В лаборатории должен быть журнал регистрации аварий, где отмечают: дату, время, место, характер аварии, фамилию, имя и отчество лиц, находившихся непосредственно в зоне ее воздействия, а также проведенные мероприятия.

- О происшедшей аварии и проведенных мероприятиях заведующий лабораторией докладывает главному врачу лечебно-профилактического учреждения и председателю комиссии по контролю за соблюдением требований биологической безопасности.

- За лицами, находившимися в помещении, где произошла авария, устанавливают медицинское наблюдение на срок инкубационного периода.

ПРИЛОЖЕНИЕ 3. СОСТАВ АПТЕЧКИ ЭКСТРЕННОЙ ПОМОЩИ («АНТИ-СПИД»)

- 70% этиловый спирт.

- 5% спиртовая настойка йода.

- Навески марганцовокислого калия по 0,05 и 0,25 г для получения 0,05 и 0,01% раствора.

- Стерильная дистиллированная вода, рабочий раствор одного из дезинфицирующих средств.

- Перевязочный материал.

- Простой и бактерицидный пластыри.

- Резиновый напальчник (3-5 шт.).

- Глазные пипетки (5 шт.) или шприц (10-20 мл) для промывания глаз, ножницы.

ПРИЛОЖЕНИЕ 4. ПЕРЕЧЕНЬ ДЕЗИНФЕКЦИОННЫХ СРЕДСТВ, РЕКОМЕНДУЕМЫХ К ПРИМЕНЕНИЮ В СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЯХ

- «Гротанат» (ванна для боров), фирма «Шульке и Майер ГмбХ», Германия, № 4032651047024.

- «Дюльбак ДТБ/Л» («Дюльбак макси»), фирма «Петтенс-Франс-Химия», Франция, № 0024-2 от 07.07.95.

- «Лизетол АФ», фирма «Шульке и Майер ГмбХ», Германия, 4032651839094.

- «ГШК», Россия, № 0025-7 от 26.03.98.

- «Секусепт-пудвер», фирма «Хенкель-Эколаб АБ», Финляндия, № 0045-99/14 от 05.10.99.

- «Септодор-Форте», фирма «Дорвет Лтд.», Израиль, № 0029-2 от 10.04.1996.

- «Деконекс денталь ББ», фирма «Борер Хеми АГ», Швейцария, № 0026-4 от 20.10.95.

- «ИД-212», фирма «Дюрер Денталь-Орахим», Германия, № 0030-22 от 02.07.1996.
- Перекись водорода 3% раствор, Россия, № 4605260000836.
- «Сайдекс», фирма «Серджикос Лтд.», Великобритания, компания «Джонсон и Джонсон», США, № 0037-97/16 от 02.03.1998.
- «Клорселт», фирма «Медентек Лтд.», Ирландия, № 007010 от 24.01.1996.
- Спирт этиловый синтетический ректифицированный, № 75/307/1.
- «ИД-220», фирма «Дюрер Денталь-Орахим», Германия, № 003023 от 02.07.1996.
- «Пресепт», фирма «Джонсон и Джонсон Медикал», США, № 003497/1 от 25.07.1997.
- «Хлорамин Б, ХБ, Д», № 0041-98/4 от 30.11.1998. Для предстерилизационной очистки используют:
- «Биолот», Россия, № 28-6/13 от 08.06.1982;
- «Биолот-1», Россия, № 01-19/40-11 от 25.11.1992;
- «Бланизол», Швейцария, № 0040-98/12 от 22,09.1998. Для дезинфекции отсасывающих установок используют:
- «Оротол Ультра», Германия, № 0031-3 от 22.10.1996;
- «Шюльке и МАЙР-МАТИК», Германия, № 0030-25 от 02.07.1996. Для дезинфекции оттисков применяют «МД-520», Германия, № 0030-18 от 02.07.1996.

Для гигиенической обработки рук медперсонала используют «НД-410», Германия, № 0030-29 от 02.07.1996.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная литература

Микробиология, вирусология и иммунология : учебник для стомат. факультетов мед. вузов / под ред. В.Н. Царева. - М.: Практическая медицина, 2010.

Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: учебник + CD: В 2 т. / под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010.

Микробиология, вирусология и иммунология: учебник / под ред. В.Н. Царева. - М.: Практическая медицина, 2010.

Руководство к практическим занятиям по микробиологии, иммунологии и вирусологии с иллюстрированными задачами / под ред. А.А. Воробьева и В.Н. Царева. - М.: МИА, 2007.

Дополнительная литература

Воробьев А.А., Быков А.С. Атлас по микробиологии, иммунологии и вирусологии / учебное пособие. - М.: МИА, 2006.

Тиллестри С.Т., Бамфорд К.Б. Наглядные инфекционные болезни и микробиология: учебное пособие / пер. с англ. под ред. С.Г. Пака, А.А. Еровиченкова. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009.

Иммунология и аллергология: учебник для медицинских вузов / под ред. А.А. Воробьева, А.С. Быкова, А.В. Караулова. - М.: Практическая медицина, 2006.

Клинические, бактериологические, лабораторные методы исследования и стратегия антибактериальной терапии генерализованного пародонтита: учебное пособие / под ред. В.Н. Царева, Л.Я. Плахтий - М., 2008.

Микробиология, вирусология и иммунология: Руководство к лабораторным занятиям / под ред. В.Б. Сбойчакова, М.М. Карапаца. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012.

Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: учебник / под ред. А.А. Воробьева - М.: МИА, 2006.

Санитарно-гигиенический режим, дезинфекция и стерилизация в стоматологических учреждениях /под ред. В.Н. Царева. - М., 2011.

Царев В.Н., Давыдова М.М. Микробиология полости рта: учебное пособие. - М., 2011.