

Универзитет "св.Кирил и Методиј"
Стоматолошки факултет Скопје

Соња М.Апостолска - Еленчевска
Клиника за дентална патологија

КОРЕЛАЦИЈА ПОМЕГУ БАКТЕРИОЛОШКИОТ НАОД
ВО КАРИОЗНИТЕ МАСИ, ПЛУНКАТА И ПРИМАРНАТА
БАКТЕРИСКА ИМПЛАНТАЦИЈА НА КЛИНИЧКИ ЗДРАВА
ЕМАЈЛОВА ПОВРШИНА

- магистерски труд -

Скопје, 1994 година

**Универзитет "св.Кирил и Методиј"
Стоматолошки факултет Скопје**

**Соња М.Апостолска - Еленчевска
Клиника за дентална патологија**

**КОРЕЛАЦИЈА ПОМЕЃУ БАКТЕРИОЛОШКИОТ НАОД
ВО КАРИОЗНИТЕ МАСИ, ПЛУНКАТА И ПРИМАРНАТА
БАКТЕРИСКА ИМПЛАНТАЦИЈА НА КЛИНИЧКИ ЗДРАВА
ЕМАЈЛОВА ПОВРШИНА**

- магистерски труд -

Скопје, 1994 година

ментор: Проф. Д-р. sci. Мирослава Т.Стевановиќ
СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ -СКОПЈЕ
Клиника за дентална патологија
Универзитет "св. Кирил и Методиј" -Скопје

Членови : Проф. Д-р. sci. Мирослава Т.Стевановиќ
на комисија Стоматолошки факултет - Скопје
Клиника за дентална патологија

Проф. Д-р. sci. Љупка И.Матовска
Стоматолошки факултет - Скопје
Клиника за дентална патологија

Доц. Д-р. sci. Никола П.Пановски
Медицински факултет - Скопје
Институт за микробиологија и
паразитологија

Скопје, 25.04.1994 година

За помошта и корисните совети во текот на истражувањето, срдечно и искрено се заблагодарувам на :

Менторот Проф. Д-р.scі. Мирослава Т. Стевановиќ - управник на Клиниката за дентална патологија на Стоматолошкиот факултет во Скопје.

На Институтот за микробиологија и паразитологија на Медицинскиот факултет во Скопје, а посебна благодарност за помошта и корисните совети во текот на истражувањето, сакам да му искажан на Доц. Д-р.scі .Никола П. Пановски, од истиот институт.

На Институтот за МЕР - физиологија на Медицинскиот факултет во Скопје.

На Министерството за наука на Република Македонија.

Сакам да се заблагодарам и на сите, кои на било кој начин допринесоа во изработката и реализирањето на мојот магистерски труд.

Помл.Асс. Д-р. Соња Апостолска - Еленчевска

на Виктор

Корелација помеѓу бактериолошкиот наод во кариозните маси, плунката и примарната бактериска имплантација на клинички здрава емајлова површина

АПСТРАКТ

Трудот има за цел, да ја испита и прикаже, примарната микробиолошка имплантација на клинички здрава емајлова површина на забите и да изврши идентификација на видовите на микроорганизмите (колонизатори), изолирани од примероците, земени од емајлова површина, кариозна содржина на соседните заби и плунката.

Испитувањето е вршено на 40 испитаници од обата пола на возраст од 20 до 30 години.

Испитаниците беа поделени во 2 групи:

- I - та, ја сочинуваа 30 испитаници, со изразито кариозно - несанирано забало ; а
- II - та, беше контролна од 10 испитаници, со здраво и санирано забало.

Од двете групи, за испитување земени се вкупно 276 примероци и тоа :

236 за микробиолошко испитување и 40 за одредување на рН на плунката.

Примероците се земени од Клиниката за дентална патологија на Стоматолошкиот факултет во Скопје.

Материјалот беше земен непосредно по темелното чистење и испирање на емајловата површина со 3 % H_2O_2 и 75 % алкохол, после 2., 4., и 24 часа.

Испитувањето беше вршено на Институтот за микробиологија и паразитологија и Институтот за МЕП - физиологија на Медицинскиот факултет во Скопје, по иста методологија на двете групи на испитаници. За време на испитувањето, оралната хигиена беше прекината.

Резултати:

Кај сите примероци (40), земани веднаш по механичкото чистење и испирање на емајловата површина, наодот беше негативен (немаше бактериски раст). Кај примероците, земени по 2., 4., и 24 часа, имаше појава на бактерии.

По 2 часа, кај примероците од I - та група, имаше појава на бактерии кај 28 од 30 примероци или 93.3 %, а кај II -та (контролната) група кај 6 од 10 или 60 %.

Колонизирањето кај I - та група, значително беше побрзо во однос на II - та (контролната). Оваа разлика статистички е сигнификантна - $p < 0.05$ ($p = 0.041$) (Fisher - ов егзактен тест). А кај примероците земени за 4., и 24 часа, разликата статистички не беше сигнификантна.

Бактериите од *Streptococcus viridans* групата, во однос на другите бактериски групи и видови, први ја колонизираат емајловата површина. Потоа грам позитивните анаеробни и микроаерофилни бацили, пред се од родот *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Propionbacterium* и *Eurobacterium*.

Од плунката на сите испитаници (30 + 10), изолирани се истите видови на бактерии како и на емајловата површина.

Во однос на квантитетот (густина на раст), исто така доминираат стрептококите од *viridans* групата (*S. sanguis*, *S. mutans*, *S. mitis*, *S. salivarius*).

Во кариозната содржина, покрај стрептококите од групата *viridans*, доминираат и анаеробните бактерии. И густината на раст е поголема во однос на оние од плунката.

Кај I - та група на испитаници, слабо кисела вредност на рН на плунката, најдена е кај 26 од 30 испитаници, а кај II - та (контролната) кај (2 од 10).

Оваа разлика статистички е сигнификантна - $p < 0.05$ ($p = 0.038$).

Сигнификантна разлика во растот на испитуваните бактерии од *Streptococcus Viridans* групата, кај експерименталното "in vitro" испитување на емајл од екстрахиран заб, не е најдена.

Клучни зборови:

- | | |
|------------------------|------------------|
| - бактерија | - емајл (глеѓ) |
| - адхезија на бактерии | - плунка |
| - забен кариес | - орална хигиена |
| - дентален плак | |

Younger Ass.Dr S. Apostolska - Elenčevska
Mastertheses, 1994 years
A Clinin for dental pathology
The Faculty of Stomathology

Correlation among bacteriological finding in the carious mass, the saliva and primary bacterial implantation on clinical healthy enamel surface

Summary

The aim of this study is to test and to show the primary microbiological implantation on clinical healthy enamel surface of the teeth, and to carry out an identification of the species of microorganisms (colonisers), isolated from the samples taken from the enamel surface, the carious content of the adjoining teeth, and the saliva.

The investigation was performed on 40 subjects, males and females, aged 20 - 30 years.

The subjects were divided into two groups:

- the I-st group comprised 30 subjects with highly carious - not treated teeth.
- the II-nd, was a control group of ten patients (subjects), with healthy and treated teeth.

From these two groups, 276 samples were taken for the investigation and these were, 236 for microbiological research and 40 to confirm the pH of the saliva.

The samples were taken at the Faculty of Stomatology - The Clinic for Dental Patology.

The material was taken immediately after complete cleaning and rinsing the enamel surface with 3% H₂O₂ and 75 % alcohol, after 2., 4., and 24 hours. The research was performed at the Institute for microbiology and MEP - Physiology at the Medical Faculty in Skopje, using the same methodology for the two groups at subjects. During the research the oral hygiene was stopped.

Results:

At all forty samples taken immediately after the mechanical cleaning and rinsing the enamel surface, the finding was negative (there was no increase of the bacteria). At samples taken after 2., 4., and 24 hours, bacteria were found. After two hours, bacteria were found at 28 from 30 samples or 93.3 %, but at the II-nd (control) group, at 6 from 10, or 60 %.

The colonization at the I-st group was importantly faster, compared with the II-nd (control). This difference is statistically significant - $p < 0.05$ ($p=0.041$) (Ficher's exact test). At samples taken after 4, and 24 hours the difference statistically was not significant.

The bacteria from Streptococcus viridans group, compared with the other bacterial groups and species, are the first that colonize the enamel surface. Then gram - positive anaerobic and microaerophilic bacilli (Actinomyces, Lactobacillus, Bifidobacterium, Propionbacterium, Eurobacterium).

From the saliva taken from all subjects (30 + 10), the same species of bacteria as the ones on the enamel surface, were isolated.

As for the quantity (the density of growth), the streptococci from viridans group also dominated.

In the carious content, besides streptococci from the viridans group, also the anaerobic bacteria dominated. And the density of growth is higher, compared with those from the saliva.

At the first group of subjects, the weak acid pH values of the saliva is found at 26 from 30 subjects, and at the II-nd (control) group at 2 from 10.

The difference is statistically significant - $p < 0.05$ (0..38).

Significant difference in the growth of the researched bacteria from Streptococcus Viridans group (S.mutans, S.sanguis and S.salivarius), was not found during the experimental "in vitro" research of the enamel from an extracted tooth.

Key words:

- | | |
|----------------------|----------------|
| - bacterium | - enamel |
| - bacterial adhesion | - saliva |
| - dental caries | - oral hygiene |
| - dental plaque | |

СОДРЖИНА

1. Куса содржина - Summary	4
2. Вовед	10
3. Преглед од литература	11
3.1. Орална микрофлора - екологија	11
3.2. Тропизам на оралните бактерии	13
3.3. Мислења - класификација на мутанс стрептококите	13
3.4. Адхезија на оралните бактерии	14
4. Цел на трудот - истражувањето	19
5. Материјал	20
6. Метода и техника	21
6.1. Земање и испраќање на примероци за микробиолошко испитување	21
6.1.1. Земање материјал од емајлова површина на витален интактен заб	21
6.1.2. Земање на материјал од кариозната содржина на соседните заби	22
6.1.3. Земање на материјал - плунка, за микробиолошко испитување и одредување на рН на плунката	22
6.1.4. Земање на материјал - емајл од екстрахиран заб за "in vitro" испитување	23
6.2. Микробиолошка обработка на примерокот	23
6.2.1. Обработка на примерокот за изолација на аеробни бактерии	24
6.2.2. Обработка на примерокот за изолација на анаеробни бактерии	24
6.2.3. Обработка на примерокот за изолација на фунги	24

6.2.4. Обработка на примерокот за "in vitro" испитување на емајл	24
6.2.5. Полуквалитативно одредување на густината на растот на изолираните колонии.	24
6.2.6. Идентификација на пораснатите колонии	27
6.3. Одредување на рН на плунката	27
7. Резултати	30
7.1. Одредување на времето на колонизацијата на здрава емајлова површина	31
7.1.1. Квалитативни испитувања	31
7.1.2. Полуквалитативни испитувања	36
7.2. Преглед на бактериските видови колонизатори на здрава емајлова површина	39
7.3. Бактериологија на кариозен заб	45
7.4. Добени рН вредности на мешана плунка	49
7.5. "In vitro" испитувања на емајл од екстрахиран заб	52
8. Дискусија	53
8.1. Одредување на времето на колонизацијата на здрава емајлова површина	53
8.2. Преглед на бактериските видови, колонизатори на здрава емајлова површина	55
8.3. Бактериологија на кариозен заб	56
8.4. Експериментални "in vitro" испитувања на емајл од екстрахиран заб	56
9. Заклучок	58
10. Прилог за статистичката обработка на резултатите	60
11. Библиографија - Литература	64

1. КУСА СОДРЖИНА - АПСТРАКТ

Трудот има за цел, да ја испита и прикаже, првичната микробиолошка имплантација на клинички здрава емајлова површина на забите и да изврши идентификација на видовите на микроорганизмите (колонизатори), изолирани од примероците, земени од емајлова површина, кариозна содржина на соседните заби и плунката. Преку споредба на добиените резултати, трудот има за цел, да ја утврди и прикаже корелацијата, помеѓу микробиолошкиот наод на кариозната содржина на соседните заби, плунката и клинички здравата емајлова површина на интактните заби.

Испитувањето е вршено на 40 пациенти (испитаници) од обата пола на возраст од 20 до 30 години.

Испитаниците беа поделени во 2 групи:

- I - та, ја сочинуваа 30 пациенти (испитаници), внимателно одбрани со изразито кариозно - несанирано забало ; а

- II - та, беше контролна од 10 пациенти(испитаници), исто така внимателно одбрани со здраво и санирано забало.

Од двете групи на испитаници, за испитување земени се вкупно 276 примероци и тоа :

- за микробиолошко испитување 236 примероци, од кои (160) од вестибуларна емалова површина, (30) од кариозна содржина на соседните заби, (40) од плунка, 6 за "in vitro" испитување на емајл од екстрахиран заб и 40 примероци за одредување на рН на плунката.

Примероците се земени од пациенти на Клиниката за дентална патологија на Стоматолошкиот факултет во Скопје и стоматолошката ординација на МУЦ "Д-р. Панче Караџов" - Скопје. Материјалот беше земен непосредно по темелното чистење и испирање на емајловата површина со 3 % H_2O_2 и 75 % алкохол, после 2., 4., и 24 часа. Испитувањето беше вршено на Институтот за МЕП - физиологија на Медицинскиот факултет во Скопје, по иста методологија на двете групи на испитаници. За време на испитувањето, оралната хигиена беше прекината.

Кај сите испитаници (40), каде примероците беа земани веднаш по механичкото чистење и испирање на емајловата површина, наодот беше негативен (немаше бактериски раст) што укажува дека употребената техника е адекватна за понатамошно следење на колонизацијата на емајловата површина. Кај примероците, земени по 2., 4., и 24 часа, имаше појава на бактерии. Кај испитаниците од I - та група, по 2 часа, појава на бактерии, имаше кај 28 од 30 примероци или 93.3 %, а кај втората (контролната) група кај 6 од 10 или 60 % од земените примероци.

Колонизирањето кај I - та група, значително беше побрзо во однос на II - та (контролна) група. Оваа разлика статистички е сигнификантна - $p < 0.05$ ($p = 0.041$) (Fisher - ов егзактен тест). А кај примероците земени за 4., и 24 часа, разликата статистички не е сигнификантна.

Изолираните родови и видови на бактерии, покажуваат соодветни интер-индивидуални варијации. Се забележува дека *Streptococcus viridans* групата, во однос на другите бактериски групи и видови, први ја колонизираат емајловата површина. И овде колонизирањето кај I - та група во однос на II - та е побрзо. Особено тоа е изразено кај *Streptococcus viridans* групата и кај грам позитивните анаеробни и микроаерофијните бацили (*Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Propionbacterium* и *Eubacterium*).

Оваа разлика статистички е сигнификантна по 2 часа кај стрептококите - $p < 0.05$ ($p = 0.041$), а по 4., и 24 часа кај анаеробните и микроаерофилните бацили - $p < 0.05$ ($p = 0.041$) и $p < 0.05$ ($p = 0.02$).

Кај најсерјите и анаеробните бактерии, не постои сигнификантна разлика во колонизирањето помеѓу двете групи на испитаници.

Од плунката на сите испитаници (30 + 10), изолирани се истите видови на бактерии кои се јавуваат како колонизатори на емајловата површина.

Во однос на квантитетот (густината на раст), при колонизирањето на емајловата површина, исто така доминираат стрептококите. Тоа особено е изразено кај испитаниците од I - та група, кај примероците земени по 2 часа.

Издначувањето на густината на раст кај нив, во однос на оние од плунката настанало кај 24 од 30 испитаници или 80 %, а кај испитаниците од II - та (контролна) група кај 2 од 8 или 20 % од вкупно изедначените за 24 часа.

Оваа разлика во првите 2 часа на колонизирањето, статистички е високо сигнификантна - $p < 0.01$ ($p = 0.002$).

Кај другите видови на бактерии, не се забележуваат сигнификантни разлики во нивниот квалитет помеѓу двете групи.

Од емајловата површина, диференцирани се 20 видови на микроорганизми.

Од двете групи, изолирани се идентични бактерии специеси кои вообичаено ја чинат нормалната орална микрофлора кај човекот.

Доминираат стрептококите од вириданс групата (*S. sanguis*, *S. mutans*, *S. mitis* и *S. salivarius*) и микроаерофилните и анаеробните грам позитивни бацили (*Actinomyces*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* и *Propionbacterium*).

Од кариозните заби на сите 30 испитаници, изолирани се идентични видови на микроорганизми, со оние на емајловата површина.

Карактеристично е дека во кариозната содржина, покрај стрептококите од групата вириданс, доминираат и анаеробните бактерии кои се најдени кај сите 30 испитаници.

Квантитетот (густината на раст) на бактериите изолирани од кариозната содржина во однос на оние од плунката, е поголем кај сите 30 испитаници, особено кај стрептококите, анаеробните и микроаерофилните бактерии.

Најдените рН вредности на плунката, кај испитаниците од I - та и II - та група, исто така имаат особено значење.

Кај I - та група на испитаници, слабо кисела рН вредност најдена е кај 26 од 30 испитаници, а кај II - та (контролната) кај (2 од 10).

Разликата на слабо киселата рН вредност на плунката, кај испитаниците од првата и втората група, статистички е сигнификантна - $p < 0.05$ ($p = 0.038$).

Сигнификантна разлика во растот на испитуваните бактерии од *Streptococcus Viridans* групата (*S. mutans*, *S. sanguis* и *S. salivarius*), кај експерименталното "in vitro" испитување на емајл од екстрахиран заб, не е најдена.

1. Summary

The aim of this study is to test and to show the primary microbiological implantation on clinical healthy enamel surface of the teeth, and to carry out an identification of the species of microorganisms (colonisers), isolated from the samples taken from the enamel surface, the carious content of the adjoining teeth, and the saliva. Comparing the results, this study tends to confirm and present the eventual correlation between the microbiological finding at the carious content of the adjoining teeth, the saliva and clinical healthy enamel surface of the intacted teeth.

The investigation was performed on 40 patients (subjects), males and females, aged 20 - 30 years.

The subjects were divided into two groups:

- the I-st group comprised 30 patients, subjects carefully chosen with highly carious - not treated teeth.

- the II-nd, was a control group of ten patients (subjects), also carefully chosen with healthy and treated teeth.

From these two groups, 276 samples were taken for our investigation and these were,

- for microbiological research 230 samples, and from these (160) taken from the vestibular enamel surface, (30) from the carious content of the adjoining teeth, (40) from the saliva, 6 for "in vitro" research of the enamel of a tooth which has been extracted, and 40 samples to confirm the pH of the saliva.

The samples were taken from patients at the Faculty of Stomatology - The Clinic for Dental Patology, and also from the patients of the dental surgery in the Secondary Medical School "D-r. Pance Karagjozov" - Skopje. The material was taken immediately after complete cleaning and rinsing the enamel surface with 3% H₂O₂ and 75 % alcohol, after 2., 4., and 24 hours. The research was performed at the Institute for MEP - Physiology at the Medical Faculty in Skopje, using the same methodology for the two groups at subjects. During the research the oral hygiene was stopped.

At all forty subjects, where samples were taken immediately after the mechanical cleaning and rinsing the enamel surface, the finding was negative (there was no increase of the bacteria), and that shows that the used technique is adequate for the further following

of the colonization on the enamel surface. At the samples taken after 2., 4., and 24 hours, bacteria were found. At the subjects from the first group, after two hours, bacteria were found at 28 from 30 samples or 93.3 %, but at the second (control) group, at 6 from 10, or 60 % from the taken samples.

The colonization of the first group was importantly faster, compared with the II-nd (control) group. This difference statistically is significant - $p < 0.05$ ($p=0.041$) (Fischer's exact test). At the samples taken for four, and 24 hours the difference is not significant.

The isolated strains and species of bacteria reveal appropriate inter - individual variations. It is obvious that *Streptococcus viridans* group, compared with the other bacterial groups and species, are the first that colonize the enamel surface. Also, the colonization at the I-st group is faster then at the II-nd group. That is especially vivid at *Streptococcus viridans* group and gram - positive anaerobic and microaerophilic bacilli (*Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Propionbacterium*, *Eurobacterium*).

This difference statistically is significant after 2 hours at streptococci - $p < 0.05$ ($p=0.041$), and after 4 and 24 hours at anaerobic and microaerophilic bacilli - $p < 0.05$ ($p=0.041$) i $p < 0.05$ ($p=0.02$).

At neisseriae and anaerobic bacteria, there is no significant difference in the colonization between the two groups of subjects.

From the saliva taken from all subjects (30 + 10), the same species of bacteria which appeared as colonisers as colonisers of the enamel surface, were isolated.

As for the quantity (the density of growth), during the colonization of the enamel surface, streptococci also dominated. It was vivid at subjects from the I-st group, at the samples taken after 2 hours (table 3 and 3a).

Equalizing the density of growth at streptococci compared to the ones from the saliva, occurred at 24 from 30 subjects, or 80 %, and at the subjects from the second (control) group, at 2 from 8, or 20 % from total equalized for 24 hours.

This difference in the first two hours of colonization statistically is very significant - $p < 0.01$ ($p = 0.002$).

At the other species of bacteria, significant differences in their quality between the two groups can not be noticed.

From the enamel surface, 20 species of microorganisms were differentiated.

From the two groups, identical species of bacteria were isolated, and these usually form the oral microflora at people.

From the viridans group dominant were streptococci (*S. sanguis*, *S. mitis* and *S. salivarius*) and also microaerophilic and anaerobic gram - positive bacilli. (*Actinomyces*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and *Propionibacterium*).

From the carious teeth of all 30 subjects, were isolated identical species of microorganisms with those on the enamel surface.

It is characteristic that in the carious content, not only streptococci from the viridans group, but also anaerobic bacteria were dominant at all 30 subjects.

The quantity (the density of growth) of the bacteria isolated from the carious content, compared with those in the saliva, is higher at all 30 subjects, especially at streptococci, anaerobic and microaerophilic bacteria.

The pH values at the saliva, at the subjects from the I-st and the II-nd group have particular importance.

At the first group of subjects, the weak acid pH values were found at 26 from 30 subjects, and at the II-nd (control) group at 2 from 10.

The difference of subjects from the first and the second group, statistically is significant - $p < 0.05$ (0..38).

Significant difference in the growth of the researched bacteria from *Streptococcus Viridans* group (*S. mutans*, *S. sanguis* and *S. salivarius*), was not found during the experimental "in vitro" research of the enamel from an extracted tooth.

2. В О В Е Д

Кариесот е заболување на тврдите забни ткива.

Иако одамна познато и во голем процент застапено, особено кај цивилизираниот човек, причината за неговото започнување сеуште доволно не е позната.

Етиологијата на кариесот е мулти каузална. Голем број на општи, локални, надворешни и внатрешни фактори доведувани се во врска со етиопатогенезата на кариесот.

Од општите фактори, најчесто се потенцирани: наследноста, расата, полот, возраста, климата, исхраната, функцијата на ендокрините жлезди и нивните хормони и некои општи заболувања. Од локалните: микроорганизмите, плунката, обликот и распоредот на забите, јатрогениот фактор и хигиената на устата и забите.

Во зависност од тоа, на кои од наведените фактори, му се придавало поголемо значење и улога во настанувањето на кариесот, поставени се и познати голем број на теории, тези и хипотези.

Една од најстарите теории, која се темели на улогата на егзогените фактори е Müller-овата хемиско-паразитарна теорија, која Müller ја поставил кон крајот на 19 век, 1882 година.

Fosdich и Hytshinson, подоцна ја дополниле Müller-овата теорија во тоа, што тие мислат дека за започнување и напредување на кариозниот процес, неопходна е ферментација на шеќерот во или под денталниот плак и стварањето на млечна киселина и други слаби киселини, кои преку глеѓните призми, интер призматичните простори и Retzius-овите линии, продираат во глеѓта и вршат деминерализација.

Према протеолитичката теорија, кариесот започнува и се развива во органскиот матрикс на глеѓта, а главна улога им се придава на протеолитичките ензими кои се активни во алкална средина. Нив ги лачат бактериите, а ги разлагаат протеините од кога ќе продрат во ткивото на забот. Тие прво создаваат дефекти на органската компонента на глеѓта, во кои накнадно можат да се задржат ацидогените бактерии.

Према протеолитичката теорија на комплекси или хелати, кариесот настанува преку истовремено разградување на минералите и органските компоненти на тврдите забни ткива и тоа на тој начин, што протеолитичките ензими на микроорганизмите, ги раградуваат органските супстанции на матриксот, а растварањето на апатитот е резултат на дејството на органските хелати, кои можат да бидат продукт на разградувањето на органскиот матрикс.

Према оваа теорија, кариес може да настане во алкална или неутрална средина, бидејќи протеолитичките ензими на микроорганизмите активни се во алкална средина.

Ендогените теории, како што се : Неутофичната теорија на Rousseau-Desselle; Трофобактериската теорија на Fargin-Fayolle ; Теоријата за разградба на калогените влакна на Charpal ; Хипотезата на фосфатаза на Csernye и Eggers Luga ; Теоријата на Egyedi за вишок на гликоген и гликопротеини во забните супстанции (глејта и дентинот) ; Органотропската теорија на Leinguber и Биофизичката теорија на Neumann и Di Salvo, поголемо значение му придаваат на ендогените - внатрешните фактори.

И покрај настојувањето, ниедна од споменатите теории, тези и хипотези не дава целосен одговор на многу прашања за етиопатогенезата на кариесот.

Кај поновите научни истражувања, вниманието се повеќе е свртено кон проучувањето на екологијата на комензалната микрофлора на оралната празнина и меѓусебната поврзаност на бактериолошкиот наод на кариозните маси, плунката и примарната бактериска инплантација на клинички здрава емајлова површина, што е и цел на овој магистерски труд.

3. ПРЕГЛЕД ОД ЛИТЕРАТУРА

3.1. Орална микрофлора - екологија

Иако стерилна при раѓањето, устата подоцна постојано е исполнета со голем број на микроорганизми кои исполуваат голем степен на физички, хемиски и биолошки својства.

Во почетокот таа е колонизирана со микроорганизми, за кои физичко-хемиските својства на непосредната средина се погодни за нивното задржување, растење и размножување.

Метаболитичките активности на оваа почетна микробна популација подоцна ја менуваат средината и влијаат на натамошниот пејзип состав и развиток.

Со појавата на забите, развитокот на болестите, губењето на забите и вметнувањето на протези, оралната микрофлора исто така се менува.

Првите проучувања, претпоставуваат дека саливарната микрофлора ја рефлектира бактериската популација на другите состојби во устата. Заблудата на оваа претпоставка е демантирана од Krasse (1954) и Gibbons et al. (1964), кои докажале дека дистрибуцијата на бактериите варира при различни состојби.

Иако составот и бактериската популација на плунката, влијаат на екологијата на оралната празнина, нејзината микрофлора се смета за преодна и потекнува воглавно од јазикот, букалната слузокожа и денталниот плак (Krasse 1954, a; Gibbons et al., 1964, a; и Carlsson 1967, a).

Раните настани се испитани со следење на промените што се случуваат во оралната микрофлора, од времето на раѓањето или со проучување на реколонизацијата на средината, по отстапувањето на претпоставката микрофлора.

Me Carthy et al. (1965), утврдиле дека преобладавните бактерии во устите на бебињата стари помалку од 24 часа, се стрептококите, а од нив *Streptococcus salivarius* бил изолиран во 50 % од примероците.

Carlsson et al. (1970), исто така успеале да го изолираат *Streptococcus salivarius* кај доенчињата кои биле стари 2-5 дена, но не и порано.

Стафилококи, најсерија, колиформни бацили, лактобацили, веилонели и фунги, се спорадично откриени и во мал број за време на првите неколку дена од животот на бебињата (Me Carthy et al. 1965), а додека *Candida albicans*, била застапена со 5,7 % во устите на бебињата стари еден ден (Скоро, Lay и Russele 1972).

Со појавата на забите, бројот на фузобактериите и *Actinomyces* нешто се зголемува, додека *Streptococcus sanguis* и *Streptococcus mutans*, не биле застапени пред изникнувањето на забите, туку три месеци по појавата на

забите и тоа *Streptococcus sanguis*, бил присутен во сите усти, а додека *Streptococcus mutans* не бил присутен во сите усти (Carlsson et al 1970,b).

3.2. Тропизам на оралните бактерии

Gibbons and Van Houte (1975;1980), утврдиле дека бактериите на оралната шуплина, покажуваат забележителен тропизам во населувањето на поедини орални површини. Така на пример: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Actinomyces viscosus* и *Bacterioides gingivales* (*Porphyromonas gingivalis*), во главно се населуваат на забите, *Strep. salivarius* на задниот дел од јазикот, а *Streptococcus mitis* на букалната слузокожа и на забите.

Интересен е заклучокот дека некои врсти на бактерии, не ги населуваат забите само формално, туку нив им е потребно постоењето на забите за да се одржат во живот како на пример: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Actinomyces viscosus* и *Bacterioides gingivales* (*Porphyromonas gingivalis*), кои не се сретнуваат во устата на бебињата, се додека не се појават забите, а *Streptococcus mutans* и *Streptococcus sanguis*, исчезнуваат веднаш по вадењето на сите заби (Carlsson et al., 1969; Ellen, 1976; 1978; Slots and Gibbons, 1978; Gibbons 1984; Slots and Geneo 1985; Mayrand and Holt 1988).

3.3 Мислења и класификација на мутанс стрептококите

Према извештаите од научните истражувања во последните 15 години, скоро во сите извештаи, мутанс стрептококите се истакнуваат како главен етиолошки фактор во настанувањето на денталниот кариес.

Истражувањата на Zickert et al (1982) и Krasse (1984) укажуваат дека присуството и бројот на мутанс стрептококите во слунката, претсавуваат ризик за развитокот на кариесот на забите.

Emilson и Krasse (1985) и Loesche (1986), мутанс стрептококите ги сметаат за главни кариогени агенси во етиопатогенезата на кариесот кај човекот и експерименталните животни.

Clark (1924), прв ги опишал мутанс стрептококите. Испитувајќи го бактериолошкиот статус на содржината на раните кариозни лезии на глюкозни агар, добил колонии на стрептококи кои ги опишал како необични со сиво беличаста боја и променливи физиолошки особини. За нив Clark го предложил името *Streptococcus mutans*.

Подолна, хуманите и анимирани соеви на *Streptococcus mutans*, биле класифицирани во пет подврсти: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus ratus*, *Streptococcus sabrinus*, *Streptococcus cricetus* и *Streptococcus terus*.

Bratthall (1969), извршил серолошка идентификација на истите и ги означил со мали букви од абecedата: a, b, c, d и e.

Perch ; Kjems и Ravn (1974), 5-те серолошки групи ги дополниле уште со две f и g.

Shklair (1974), врз основа на променливите биохемиски особини, *Streptococcus mutans* соевите ги сврстил во V биотипови. A Coykendall (1974), со техника на хибридизација, пристапил кон диференцијација на седумте серолошки групи према содржината на Guanin-citozinot во DNK и врз основа на Мол% во Guanin-citozinot, *Streptococcus mutans* го издиференцирал во V генотипски групи и 5 подврсти, за кои предложил и номенклатура.

B.Radosavljevic (1988), за прв пат во Југославија, успеала од денталниот плак да ги изолира мутанс стрептококите. Исто така таа успеала, постапката за изолирање и идентификување на истите, да се сведе на рутинска бактериолошка постапка. Таа ја усовршила и постапката за обработка на материјалот земен од денталниот плак.

3.4. Адхезија на оралните бактерии

Адхезијата на оралните бактерии и нивната корелација со колонизацијата на забните површини, предизвика голем интерес во натамошните истражувања.

Преку познавањето на начинот на прилепувањето за забната површина, се мислело дека ќе се обезбедат молекуларни објаснувања за тропизмот на бактериите и започнувањето на кариозниот процес.

Адхезијата на оралните бактерии, има големо значење и улога за формирањето на содржината на денталниот плак, кој претставува предуслов за започнувањето на кариозниот процес на забите.

Во формирањето на денталниот плак (Krasse et al, 1967; Gibbons et Banghart, 1967 и Parker et Creamer, 1971), проучувајќи ги некои од факторите вклучени во инцилтангацијата на кариогените стрептококи, тие значајна улога им придаваат на шеќерите, особено на декстранот. Практично тие утврдиле дека сите кариогени стрептококи во присуство на сахароза, продуцираат екстра целуларен декстран и помали количини на леван.

Отпорноста на декстранот да се хидролизира од оралните бактерии, укажува на фактот дека тој е идеално погоден за да функционира како срж при формирањето на денталниот плак.

Carlson , J. (1968), мисли дека на површината на забите, се формира филм од гликопротеини, така наречена "pelicula asiguis", која е претходник на забните плаки и во која се инкорпорираат бактерии и тоа најпрво стрептококи. Тој исто така мисли дека "pelicula asiguis", претставува нутритивен фактор за бактериите.

Скоро ; Hay et al ., (1971), значајна улога му придаваат на саливарниот гликопротеин, кој се адхерира на хидрокси апатитот.

И (Saxton 1971, 1972), мисли дека оваа саливарна компонента, може селективно да делува врз адсорпцијата на поедини микроорганизми или групи на бактерии на површината на забите. За да не бидат отстранети-испрани од оралните течности, оралните бактерии за прилепување - адхезијата на забите, користат електростатички и хидрофобични сили од ниска специфика. Сепак тоа понекогаш не е доволно за добра адхезија. Заради тоа некои бактерии на нивните површини поседуваат еден вид на протеини, таканаречени "адхезини" кои се поврзуваат - прилепуваат на површината на начин кои е стереохемиски специфичен се до комплементарни молекули - "рецептори", укажуваат (Gibbons, 1980; 1984 и Jones and Isacsson 1983).

Многу од "адхезините", се лецитини кои се врзуваат до сахаридни "рецептори" (Ellen , 1985; Ofek and Perty 1985).

Исто така докажано е, дека оралните бактерии поседуваат галактозил - сврзувачки "адхезини".

Бактерии кои поседуваат вакви "адхезини" се:

- *Leptotrichia buccalis*, мисли (Kondo et al., 1976).
- *Fusobacterium nucleatum*, (Folkler et al., 1979).
- *Eikenella coccodans*, (Yamazaki et al., 1981).
- *Actinomyces viscosus*, и *Actinomyces naeslundii*, (Ellen et al., 1980; Cisar, 1986).
- *Bacteroides intermedius*, (Prevotella, Okudo and Kato, 1987).

Испитувањата на (Ellen et al., 1980; Cisar et al., 1984 и Clark et al., 1986), покажаа дека бактериите *Actinomyces viscosus*, поседуваат два типа на фимбрии тип - 1 и тип - 2, кои им служат за адхезија.

Фимбриите од тип - 1, посредуваат во поврзувањето-прилепувањето на *Actinomyces viscosus* бактериите со плунковните пеликули на апатитните површини, а додека фимбриите од тип - 2, се поврзуваат со галактозилен - поврзувачки лецитин кои посредува во адхезијата на *Actinomyces viscosus* со одредени клетки и бактерии кај цидачите. Некои од оралните бактерии, во посебни услови при периодонтални заболувања со слаба хигиена на устата, продуцираат ензими кои се погодни за создавање на "криптопи"; - "Cryptic" (грчки "Kryptos")= скриено и "топо" = место.

Ензимите, особено неураминидазите и протеазите, делуваат така што ги уништуваат "рецепторите" на некои бактерии, додека создаваат "криптопи" за други (Watanabe et al., 1981).

Потенцијалот на неураминидазите и одредени протеази да создаваат "криптопи", може да влијае и на промената на оралната флора на бактериите, од бенигна во главно на стрептококи и други грам позитивни микроорганизми, до оние кои се доминантни - грам негативни, кои се поврзани со периодонтална декструкција (Kitawaki et al., 1983).

Концентрацијата на овие ензими во плунката и первикуларните течности може да ја условува адхезијата и колонизацијата на оралните бактерии.

Највисока концентрација, најчесто е условена со присуството на *Actinomyces* бактериите или *Bacteroides gingivalis* (*Porphyromonas gingivalis*).

Познато е дека *Actinomyces viscosus* и *Actinomyces naeslundii*, синтетизираат неураминидази, кои го овозможуваат пивното прилепување - адхезија за површината, а додека *Streptococcus mitis* и *Streptococcus sanguis*, поседуваат "адхезини" кои се сврзуваат за "рецепторите" на салик киселината (Murray et al., 1982 ; 1986).

Студиите на (Gibbons and Hay 1988 a, b.) имале за цел да ја разјаснат природата на компонентите на плунката, кои се адсорбираат во апатитните површини и се одговорни за адхезијата на бактериите што создаваат плака.

При постапката, биле користени хроматографски фракции на примероци на паротидна и субмандибуларна плунка и хидрокси - апатитни зрна, кои биле третираны со соодветни фракции за да се создадат експериментални пеликули, слични на оние што се формираат на површината на глеѓта со селективна адсорпција на компоненти од оралните течности и апатитните минерали на глеѓта.

Студиите покажале, дека различни врсти на орални бактерии, покажуваат забележително различни шаблони на поврзување со хидрокси-апатитните зрна, третираны со делови на субмандибуларната и паротидната плунка.

Поврзувањето на *Actinomyces viscosus* за хидроксиапатитот, било извршено од двете групи на делови на плунката, а додека *Streptococcus mutans* само од муцинозната плункова слуз со голема молекуларна тежина.

За разлика од нив *Bacteriodes gingivalis*, покажале сосема различен профил на адсорпција - поврзување, а додека *Streptococcus sabrinus*, не се адсорбирал доволно добро за хидроксиапатитот - третиран со било кои делови од плунката.

Со електрофорезна анализа на плунката, докажано е дека првата група на делови од плунката кои помагаат во адхезијата на *Actinomyces viscosus*, содржи фамилија на протеини богати со Acidic proline - rich (PRPs), додека втората група содржи протеински Stratherin, а тие се и единствени фосфопротеини кои се карактеристично присутни во плунката.

Досегашните сознанија од извршените истражувања, ја илустрираат забележителната специфичност на бактериските интеракции со компоненти на плунката адсорбирани на апатитни површини и докажуваат дека различни компоненти се одговорни за помагањето во прилепувањето - адхезијата на различни видови на орални бактерии на површината на забите.

За примарната имплантација на бактериите и формирањето на денталниот плак, значајна улога има и рН на плунката.

Извештаите од поновите истражувања, укажуваат дека стрептококите, а особено мутанс стрептококите (*Streptococcus mutans, sanguis i sabrinus*), најчесто се изолирани од денталниот плак и за пив (Hamada and Slade, 1980; Emilson and Krasse, 1985; и Loesche, 1986) мислат дека се главни предизвикувачи (агенси) на денталниот кариес.

Заедно со стрептококите, една од предоминантните групи на орални бактерии, кои ја колонизираат површината на глејта во првите 4 часа се и *Actinomyces naeslundii* и *Actinomyces viscosus*.

Бројот на мутанс стрептококите во плунката, може да биде искористен како индикатор за развој и ризик на забен кариес (Zickert et al., 1982 ; Krasse , 1984).

Заради едноставниот начин на земање и микробиолошкото испитување, плунката често се користи за прикажување на оралното оптоварување со кариогени бактерии, особено со мутанс стрептококите (Matee, 1985 ; Beighton, 1987).

Зголемениот број на мутанс стрептококите во плунката, е во директна врска со нивната колонизација на забите и со нивниот однос во денталниот плак (Togelius, 1984).

На клиниката за дентална патологија на Стоматолошкиот факултет во Скопје, во 1975 година, вршени се испитувања за "Микробиолошкиот наод на клинички здрава емајлова површина" (Н. Цветковиќ, И. Тавчиовски, М. Стефановиќ, М. Поп-Ацева, А. Ковачева) што за мене беше предизвик, а за менторот Проф. д-р sci М. Стефановиќ препорака, да се продолжи со започнатото истражување на Клиниката, со цел да се добијат нови сознанија за примарната бактериска имплантација на клинички здрава емајлова површина и корелацијата помеѓу бактерискиот наод во кариозните маси, плунката и примарната имплантација на клинички здрава емајлова површина.

Исто така, со цел да се утврди биолошката улога на емајлот, во иницијалното фиксирање на стрептококите, нивното одржување и развој, Н. Цветковиќ, М. Стефановиќ, И. Тавчиовски и А. Ковачева, (1976), извршиле "in vitro" испитувања на тврдите забни материји (емајл и дентин) од екстрахирани заби.

4. ЦЕЛ НА ТРУДОТ - ИСТРАЖУВАЊЕТО

Цел на трудот е да се испита и утврди:

- примарната микробиота на раната бактериска имплантација на клинички здрава емајлова површина;
- времето на колонизацијата на емајловата површина со микроорганизми;
- да се изврши идентификација на видовите на микроорганизми, изолирани од емајловата површина по одредено време - 2, 4, и 24 часа;
- да се изврши идентификација на видовите на микроорганизми, изолирани од кариозните лезии на соседните заби;
- да се испита и утврди бактериската содржина на плунката и нејзините рН вредности; и
- да се изврши споредба на добиените резултати, за да се види и утврди евентуалната корелација, помеѓу бактериолошкиот наод на кариозните маси на соседните заби, плунката и емајловата површина на преостанатите интактни заби.

Исто така ќе бидат извршени и "in vitro" испитувања на емајл од екстрахиран заб (нормален и со одстранети органски материи), за да се види неговата биолошка улога во иницијалното фиксирање, раст и развој на микроорганизмите.

5. МАТЕРИЈАЛ

Истражувањето е вршено на 40 пациенти (испитаници) од обата пола на возраст од 20 до 30 години.

Испитаниците беа поделени во две групи:

I-та група, ја сочинуваа 30 пациенти (испитаници), внимателно одбрани со изразито кариозно - несанирано забало; а

II-та група беше контролна од 10 пациенти (испитаници), исто така внимателно одбрани со интактно, здраво и санирано забало.

Од одбраните 40 пациенти, за испитување земени се вкупно 276 примероци и тоа:

- За микробиолошко испитување 230 примероци: (160) од вестибуларна емајлова површина на интактен заб, (30) од кариозни лезии на соседни заби и 40 примероци од пљунка и 6 примероци за "in vitro" испитување на емајл од екстрахиран заб.

- За одредување на рН на пљунката (40).

Изборот на пациентите и земањето на примероците, извршени се на Клиниката за дентална патологија и терапија на Стоматолошкиот факултет во Скопје и МУЦ "Папче Караџов" - Скопје.

Микробиолошкото испитување, извршено е на Институтот за микробиологија на Медицинскиот факултет во Скопје, а одредувањето на рН на пљунката на Институтот за МЕП - физиологија во Скопје.

6. МЕТОДА И ТЕХНИКА

Испитувањето беше вршено по иста методологија на двете групи на испитаници.

Материјалот беше земен, непосредно по темелното чистење на емајловата површина после 2, 4 и 24 часа.

За време на испитувањето, оралната хигиена кај пациентите (испитаници) беше прекината.

6.1. Земање и испраќање на примероци за микробиолошко испитување

6.1.1. Земање материјал од емајлова површина на витален интактен заб.

Пред да се отпочне со испитувањето, а со цел хронолошки да се следи и утврди времето на примарната бактериска имплантација; вестибуларните, оклузалните и оралните површини на избраните заби, (инцизиви, канини и премолари), беа темелно исчистени.

Чистењето беше извршено со четка и пуродент паста, а потоа површините беа испрани со 3 % хидроген и 75 % алкохол и осушени со топол воздух.

Непосредно по чистењето, со остар стерилен инструмент за забен камен, од вестибуларната емајлова површина на избраните заби, беше земен првиот примерок.

Земениот материјал количински приближно 2-5 mg., веднаш и непосредно со истиот инструмент, беше аплициран на еден крај на петриевата плоча со Schaedler-ов крвен агар и најдоцна во рок од 30 минути, беше испраќан на Институтот за микробиологија за микробиолошко испитување.

Материјал за вториот примерок, беше земен од истите површини после два часа, за третиот по 4 часа, а за четвртиот после 24 часа од времето на земањето на првиот примерок.

И овие примероци, беа земани и аплицирани во петриеви плочи со Schaedler-ов крвен агар и испраќани на Институтот за микробиологија, на ист начин како и при земањето на првиот примерок.

6.1.2. Земање на материјал од кариозната содржина на соседните заби

Материјал - примерок за микробиолошко испитување на содржината на кариозните маси од соседните заби, земен е непосредно по земањето на материјал за првиот примерок.

Материјалот е замен со стерилен инструмент - екскаватор од средна големина. При земањето, се внимаваше да биде опфатен и дел од размекватиот дентин.

Земената содржина, веднаш и непосредно (како и при земањето на претходните примероци), беше аплицирана на еден крај од петриевата плоча со Schaedler-ов крвен агар и испратена на Институтот за микробиологија.

6.1.3. Земање на материјал - плунка, за микробиолошко испитување и одредување на рН на плунката

Материјал - примерок за микробиолошко испитување и одредување на рН на плунката, земен е од испитаниците после 24 часа од земањето на првиот примерок.

Материјалот беше земен претпладне, во посебно наменети за таа цел стерилни шишенца, без претходно стимулирање на секрецијата (цваќање на парафин или некое друго стимулативно средство), по претходно плакнење на устата со дестилирана вода, за механички да се отстранат остатоците од храната (прекината орална хигиена).

По земањето, примероците за микробиолошко испитување, беа испраќани на Институтот за микробиологија, а за одредување на рН на плунката на Институтот за физиологија (заради поседување на посовремен и попрецизен апарат - BECKMAN - рН метар).

6.1.4. Земање на материјал - емајл од екстрахиран заб за "in vitro" испитување

Материјал - примерок за експериментално "in vitro" испитување на емајл, земен е од екстрахиран заб, непосредно по екстракцијата. Забот беше добро очистен со H_2O , а потоа и со H_2O_2 и дезинфициран со 5 % формалдехид и 75 % алкохол во време траење од по 15 минути. Потоа со стерилна клешта за сечење на коска и ракавици, беа откришени парчиња од емајлот на забот во петриева плоча. Дел од откришените парчиња на емајл, беа истолчени во прав со помош на аванче и толчник од порцелан, кои претходно исто така беа стерилизирани. Вака подготвениот материјал, со стерилна пинцета и еза, беше аплициран - засаден, на претходно подготвени селективни хранителни подлоги од крвен агар, за култивирање на стрептококи од *Streptococcus Viridans* групата (*S. Mutans*, *S. Sanguis* и *S. Salivarius*), а дел од емајловите парчиња и прав, пред да биде аплициран на подлогите, 1 час беше жарен на 300 °C, за да се отстранат органските материи од емајлот. По засадувањето, земените примероци (3+3) со нормален и претходно жарен емајл на 300 °C, беше испратен на Институтот за микробиологија за микробиолошко испитување.

Од 40 испитаници (пациенти), од обата пола, на возраст од 20 - 30 години, земено се вкупно 276 примероци, од кои (160) од вестибуларна емајлова површина на интактни заби, (30) од кариозни лезии на соседните заби, 80 примероци на плунката; (40) за микробиолошко испитување и (40) за одредување на рН на плунката и 6 примероци за "in vitro" испитување на емајл од екстрахиран заб.

6.2. Микробиолошка обработка на примерокот

Обработката на примероците за микробиолошко испитување, беше извршена на Институтот за микробиологија, а за одредувањето на рН на плунката на Институтот за физиологија на Медицинскиот факултет во Скопје.

Примероците за микробиолошко испитување (по нивното пристигнување на Институтот за микробиологија), беа соодветно обработени - засадувани на хранителни подлоги за изолација и идентификација на аеробни и анаеробни бактерии и фунги.

6.2.1. Обработка на примерокот за изолација на аеробни бактерии

За изолација на аеробните бактерии, од секој земен примерок, беше земав материјал и засадуван на хранителни подлоги од крвен агар за изолација на аеробни бактерии, кои потоа беа инкубирани во термостат 24 часа на 37° C.

6.2.2. Обработка на примерокот за изолација на анаеробни бактерии

За изолација на анаеробните бактерии, материјалот од примероците, беше засадуван на Schaedler-ов крвен агар, збогатен со витамини K₂, а потоа инкубиран анаеробно во Macintosh лонци, 48 часа на 37° C.

6.2.3. Обработка на примерокот за изолација на фунги

За изолација на фунги, материјалот беше засадуван на Sabouraud - хранителни подлоги, кои потоа беа инкубирани 72 часа на 37° C.

6.2.4. Обработка на примерокот за "in vitro" испитување на емајл

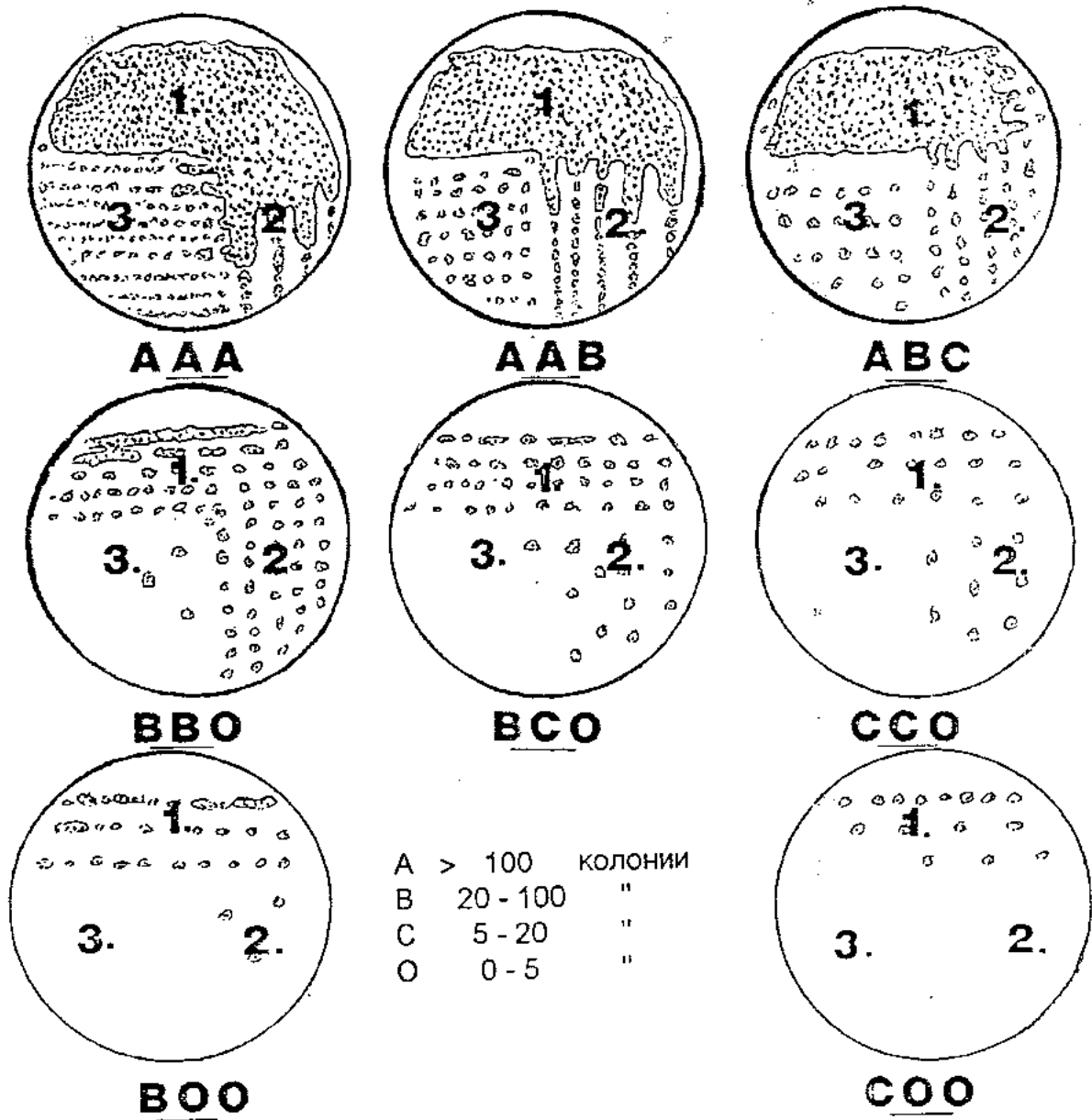
Земените примероци (парчиња од емајл и емајлов прав) од екстрахиран заб за "in vitro" испитувања, со неотстранети (нормален) и отстранети органски материји, беа засадувани на претходно подготвени хранителни подлоги од крвен агар за култивирање на стрептококи од групите на *Streptococcus Viridans* (*S. mutans*, *S. sanguis* и *S. salivarius*). Потоа истите беа инкубирани во термостат 24 часа на 37 °C, во атмосфера збогатена со CO₂.

Резултатите беа читани полуквантитативно 24 часа по инкубирањето.

6.2.5. Полуквантитативно одредување на густината на растот на изолираните колонии

За полуквантитативно одредување на густината на растот на изолираните колонии, засадувањето беше изведено на вообичаен начин (рутинска обработка) за добивање на изолирани колонии со разредување, на три сектори од петриевата плоча, од веќе аплицираниот материјал (околу 2-5 мг.), со помош на калибрирана

еза со пречник од 4мм, беше расадуван материјалот до половина на петриевата плочка (сектор 1). Потоа езата се стерилизираше со жарење и од последните две линии од сектор 1, материјалот се расадуваше на четвртината на долниот дел на петриевата плочка (сектор 2). И на крај, езата повторно беше стерилизирана и од последните две линии од сектор 2, материјалот беше расадуван на последната четвртина од петриевата плочка (сектор 3) сл. 1.



слика 1

На ист начин со помош на калибрирана еза со пречник од 4 мм, која може да зафати течност - плунка од 0.005 мл. беше засадувана приближно точно определена количина на плунка. И на тој начин полуквантитативно се споредуваше бројот на микроорганизмите помеѓу приближно еднакви количини на дентален материјал и плунка, преку одредување на густината на растот на бактериите.

Резултатите беа читани полуквантитативно, односно густината на растот беше означувана со големи букви од латиницата: А, В, и С. Првата буква ја означува густината на растот во првиот сектор, втората во вториот, а третата во третиот сектор. Секторот со буквата А претставува густ раст на колонии кој не може да се изброи (А > 100 колонии во секторот), В раст од 20 - 100 колонии, С од 5 - 20, а 0 од 0 - 5 колонии (Н.Пановски, 1990).

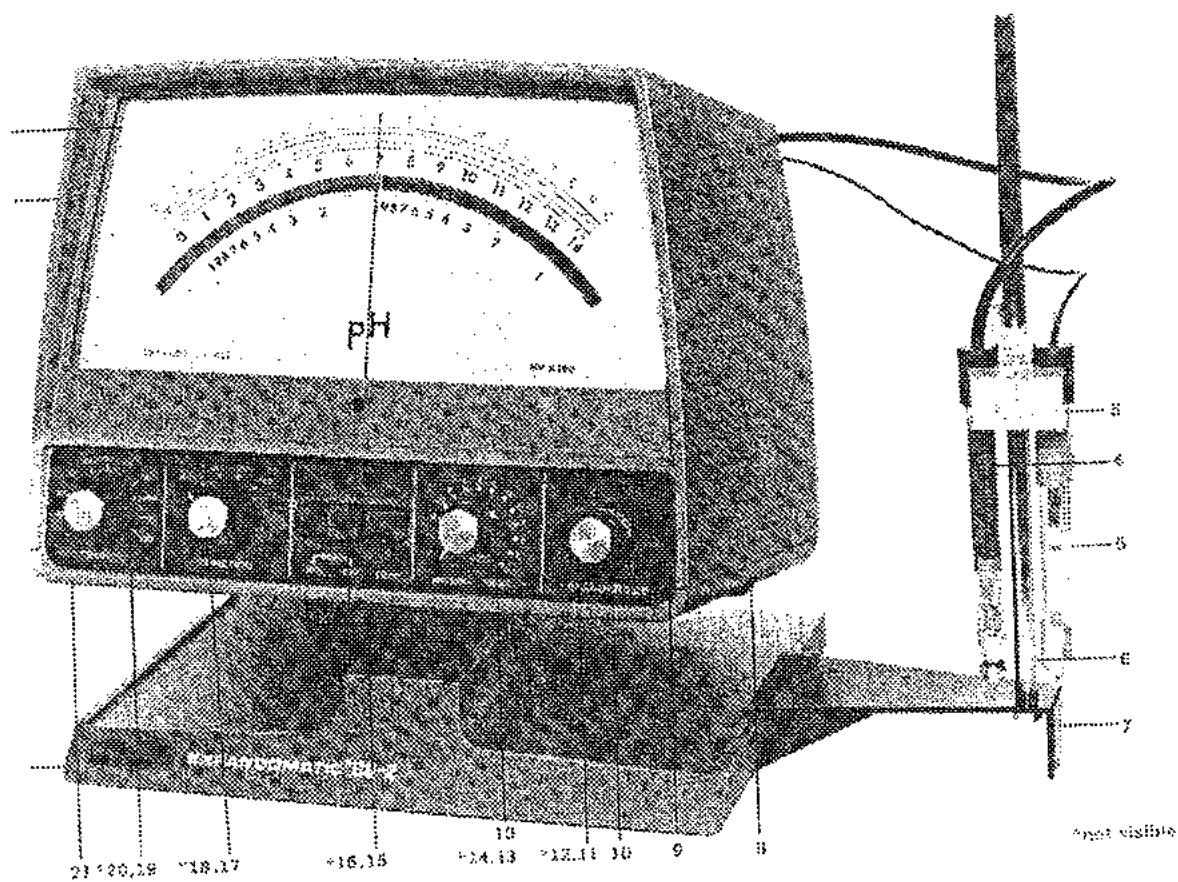
Критериум за адекватна количина - густина на микроорганизми во плунката на испитаникот, беше густината на раст означена како ВВО, АВС, ААВ или ААА. За изедначување на густината на растот на микроорганизмите засадени од емајловата површина, се сметаше онаа кога тие по одредено време, ќе има иста формула (три исти букви), како што ја има и плунката кај истиот пациент (испитаник).

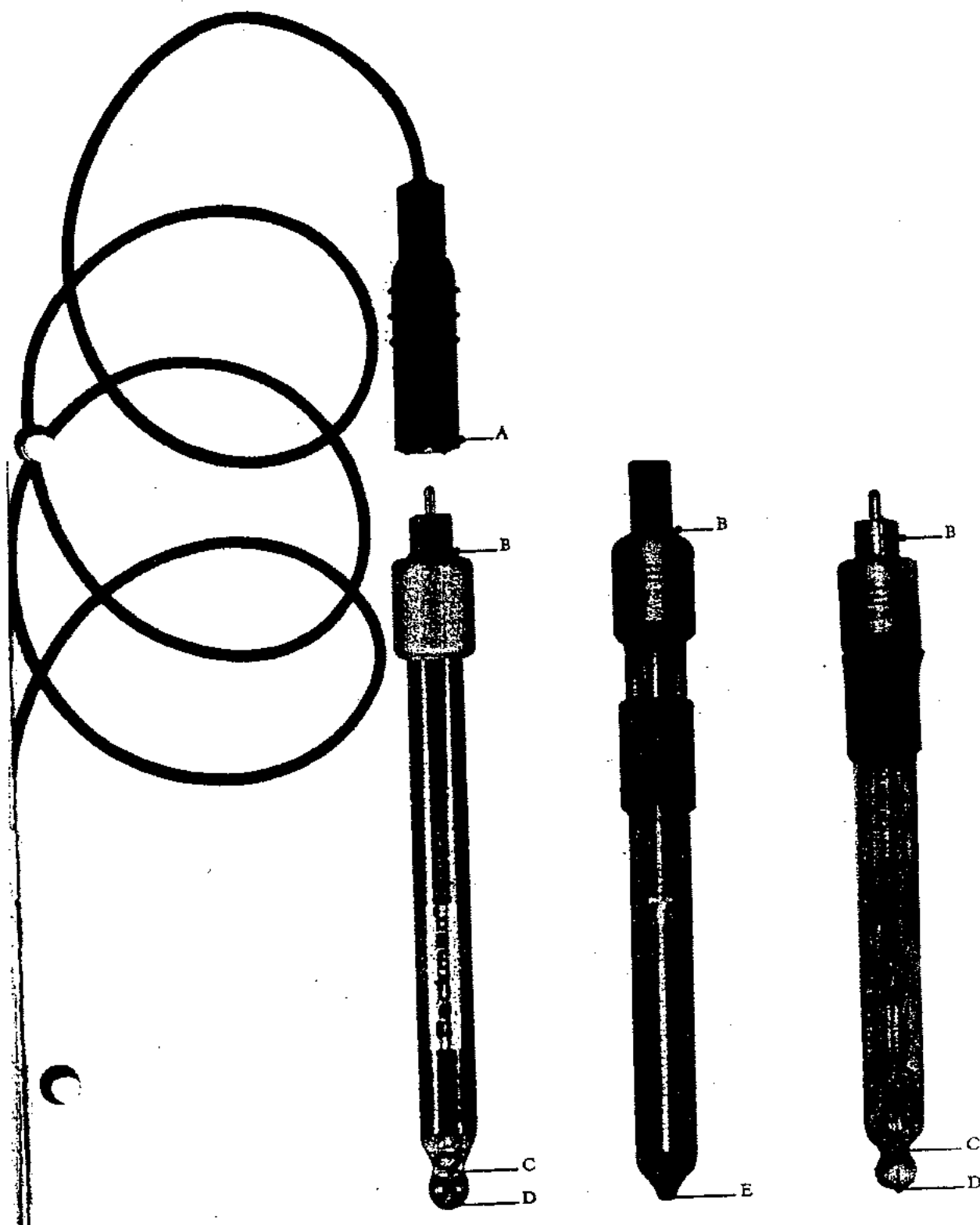
6.2.6. Идентификација на пораснатите колони

Идентификацијата на пораснатите колонии, беше извршена со стандардна бактериолошка техника за изолација на аеробни (Valley и соработници 1970) и анаеробни (Sutter и соработници 1985) бактерии.

6.3. Одредување на pH на плунката

Одредувањето на pH на плунката, беше извршено на Институтот за физиологија со помош на BECKMAN pH метар. Сл.2.





Електроди - БЕСКМАН рН метар слика 2

BECKMAN pH-метарот е сцен од најдобрите и најпрецизните pH-метри, кои мерните резултати директно ги покажува на мерната скала и истите веднаш може да се читаат.

Пред отпочнувањето на pH мерењето, беше извршено баждарење на pH метарот.

Баждарењето беше извршено со стандардни пуферни раствори, чија pH вредност беше блиска или (барем +2 pH) од pH вредноста на плунката што беше очекувана, односно која требаше да се измери.

Температурата на пуферниот раствор за баждарење и на плунката чија pH вредност требаше да биде мерена, беше еднаква и стална. Ова е важно, бидејќи при промена на температурата на стандардниот раствор или на мерниот раствор, доаѓа и до промена на pH вредноста.

Количински - плунка имаше доволно, така да двете електроди на pH - метарот, беа доволно длабоко заронети во садот со плунка, што е од голема важност при мерењето и одредувањето на pH вредноста.

При читањето на резултатите, садот - чашата со содржина на плунка, постојано беше вртеен, така да неговата содржина околу електродите, постојано беше во движење, не мируваше.

Резултатите при мерењето, беа читани со прецизност до втора децимала.

7. РЕЗУЛТАТИ

Резултатите од извршеното испитување на 40 пациенти (испитаници) од обата пола на возраст од 20 до 30 години, прикажани се на 12 табели.

Статистички обработени се вкупно 276 змени примероци, (160) од вестибуларна емајлова површина, (30) од кариозни лезии на соседните заби, 80 примероци на плунка, (40) за микробиолошко испитување и (40) за одредување на рН на плунката и 6 примероци за "in vitro" испитување на емајл од екстрахиран заб.

На табела 1., 1а., 2., и 2а., прикажани се резултатите од квалитативното микробиолошко испитување.

На табела 3 и 3а, резултатите од полуквалитативното микробиолошко испитување.

На табела 4 и 4а, даден е преглед на бактериските видови, колонизатори на здрава емајлова површина.

На табела 5, прикажана е бактериологијата на кариозен заб, со преглед на бактериските видови, изолирани од кариозните лезии на соседните заби.

На табела 6, направена е споредба на густината на раст на бактерните, изолирани од кариозна лезија во однос на оние од плунката.

А на табела 7 и 7а, прикажани се резултатите на рН вредности на плунката.

За статистичката обработка на податоците, користен е Fisher - овиот егзактен тест.

7.1. Одредување на времето на колонизација на здрава емајлова површина

7.1.1. Квалитативни испитувања

ГРУПА I

Примерок од здрав-интактен заб кај пациенти со изразито кариозно несанирано забало (30)

Таб. I (гр.I)

БРОЈ НА ПАЦИЕНТИ КОЛОНИЗИРАНИ СО БАКТЕРИИ ПО ОДРЕДЕНО ВРЕМЕ

Време на земање на примерокот	ПОЗИТИВНИ	НЕГАТИВНИ
Веднаш по чистењето и испирањето	0	30
По 2 часа	28	2
4 часа	30 (28+2)	0 (2-2)
24 часа	30	0
Плунка	30	0

ГРУПА II - Контролна

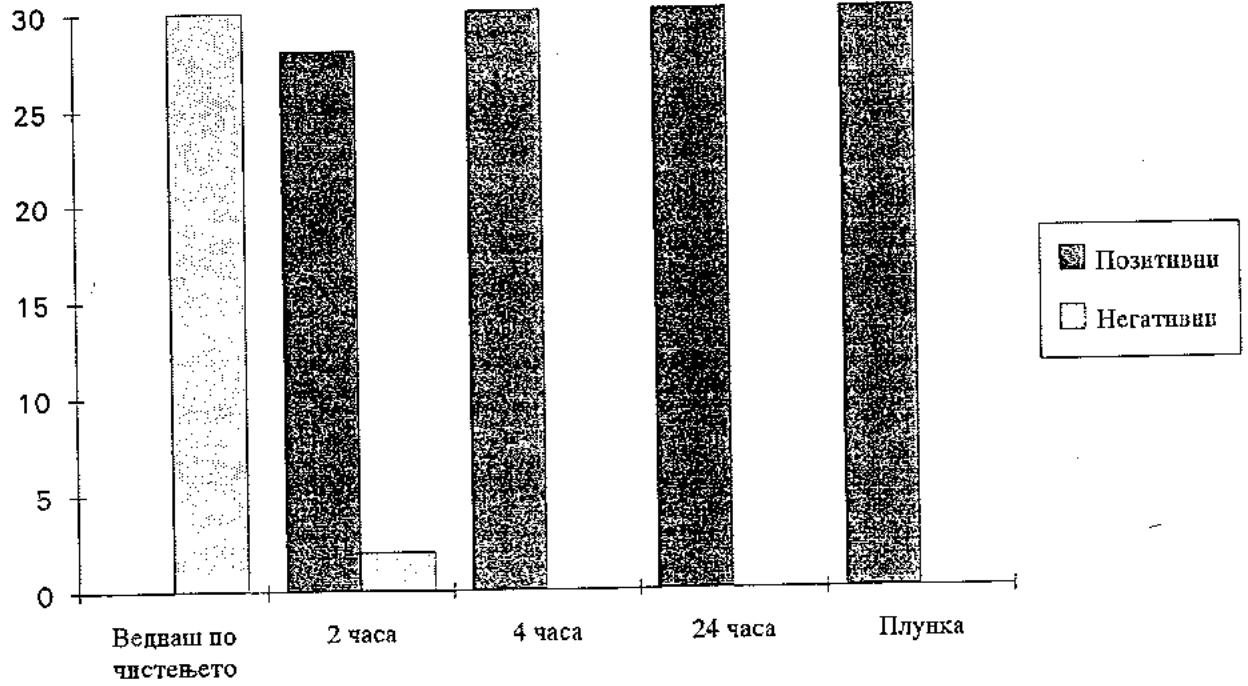
Примерок од здрав-интактен заб кај пациенти со здраво и санирано забало (10)

Таб. Ia (гр.II).

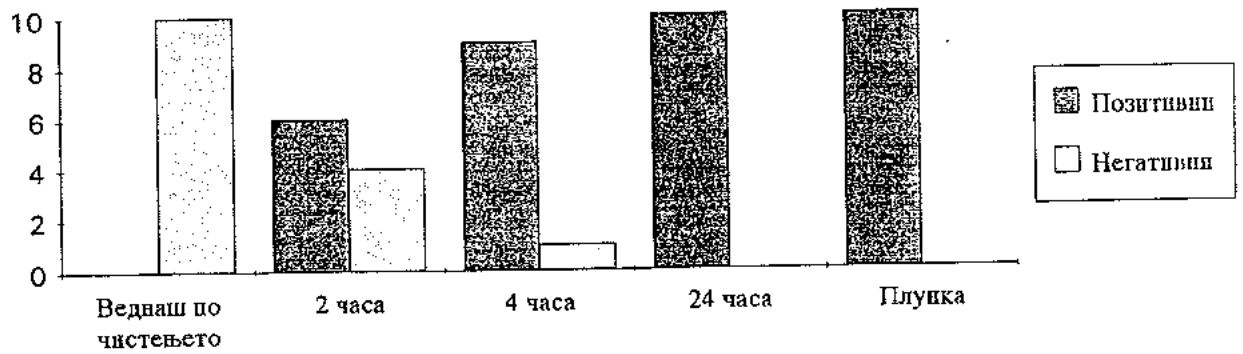
БРОЈ НА ПАЦИЕНТИ КОЛОНИЗИРАНИ СО БАКТЕРИИ ПО ОДРЕДЕНО ВРЕМЕ

Време на земање на примерокот	ПОЗИТИВНИ	НЕГАТИВНИ
Веднаш по чистењето и испирањето	0	10
По 2 часа	6	4
4 часа	9 (6+3)	1 (4-3)
24 часа	10	0
Плунка	10	0

Дијаграм 1 (gr.I)



Дијаграм 1 (gr.II)



На табела 1 (гр. I) и табела 1a (гр II), прикажана е колонизацијата на бактерии по одредено време.

Кај сите примероци (40), земен веднаш по механичкото чистење и испирање на емајловата површина, наодот е негативен (нема бактериски раст), што укажува дека употребената техника е адекватна за понатамошно следење на колонизацијата на емајловата површина.

Кај земените примероци по 2, 4, и 24 часа, имаше појава на бактерии.

Кај испитаниците од I - та група (со карнозно - несанирано забало) по 2 часа, имаше појава на бактерии кај (28 од 30) примероци или 93.3 %, а кај II - та (контролната) група кај (6 од 10) или 60 % од земените примероци.

Колонизацијата кај I - та група, значително беше побрза во однос на II - та (контролната).

Оваа разлика, статистички е сигнификантна - $p < 0.05$ ($p = 0.041$) (Fisher - екзактен тест). А додека кај примероците земен по 4 и 24 часа, разликата статистички не е сигнификантна.

Од плунката, кај сите примероци (30 + 10), изолирани се бактерии.

Табела 2 (гр.I)

БРОЈ НА ПАЦИЕНТИ КОЛОНИЗИРАНИ СО БАКТЕРИИ ПО ОДРЕДЕНО ВРЕМЕ ВО ОДНОС НА ВИДОТ НА БАКТЕРИИТЕ

Бактерии	Време на земање на примерок				Наод Во плунка
	0-1h	2h	4h	24h	
<i>Streptococcus viridans</i> група	0	28	30(28+2)	30	30
<i>Neisseria</i> (непатогени видови)	0	11	14(11+3)	20(14+6)	30
Анаеробни и микро-аероф.гр+ бацили*	0	10	19(10+9)	23(19+4)	30
Анаероби (останати)	0	3	10(3+7)	17(10+7)	30

* *Lactobacillus*, *Actinomyces*, *Bifidobacterium*, *Propionobacterium*, *Eubacterium*

Табела 2а (гр. II)

**БРОЈ НА ПАЦИЕНТИ КОЛОНИЗИРАНИ СО БАКТЕРИИ ПО ОДРЕДЕНО
ВРЕМЕ ВО ОДНОС НА ВИДОТ НА БАКТЕРИИТЕ**

Бактерии	Време на земање на примерок				Наод Во плунка
	0-1h	2h	4h	24h	
Streptococcus viridans група	0	6	9(6+3)	10(9+1)	10
Neisseria (непатогени видови)	0	2	4(2+2)	7(4+3)	10
Анаеробни и микро- аерофилни гр+ бацили	0	1	2(1+1)	3(2+1)	10
Анаероби (останати)	0	1	1(1+0)	3(1+2)	10

На табела 2 (гр I) и табела 2а (гр. II) се забележува дека *Streptococcus viridans* групата, во однос на другите бактериски групи и видови, први ја колонизираат емајловата површина.

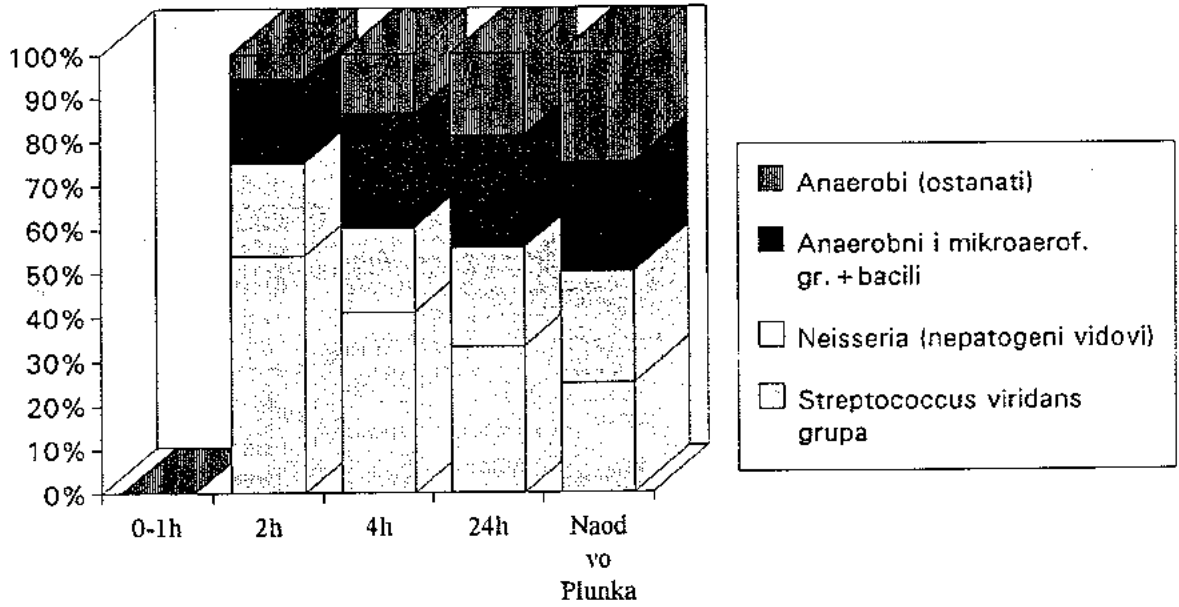
И овде колонизацијата кај I - та група во однос на II - та е побрза. Особено тоа е изразено кај *Streptococcus viridans* групата и кај грам позитивните анаеробни и микроаерофилните бацили.

Оваа разлика статистички е сигнификантна по 2 часа кај стрептококите - $p < 0.05$ ($p = 0.041$), а по 4 часа кај анаеробните и микроаерофилните бацили - $p < 0.05$ ($p = 0.044$) и по 24 часа кај истите - $p < 0.05$ ($p=0.02$).

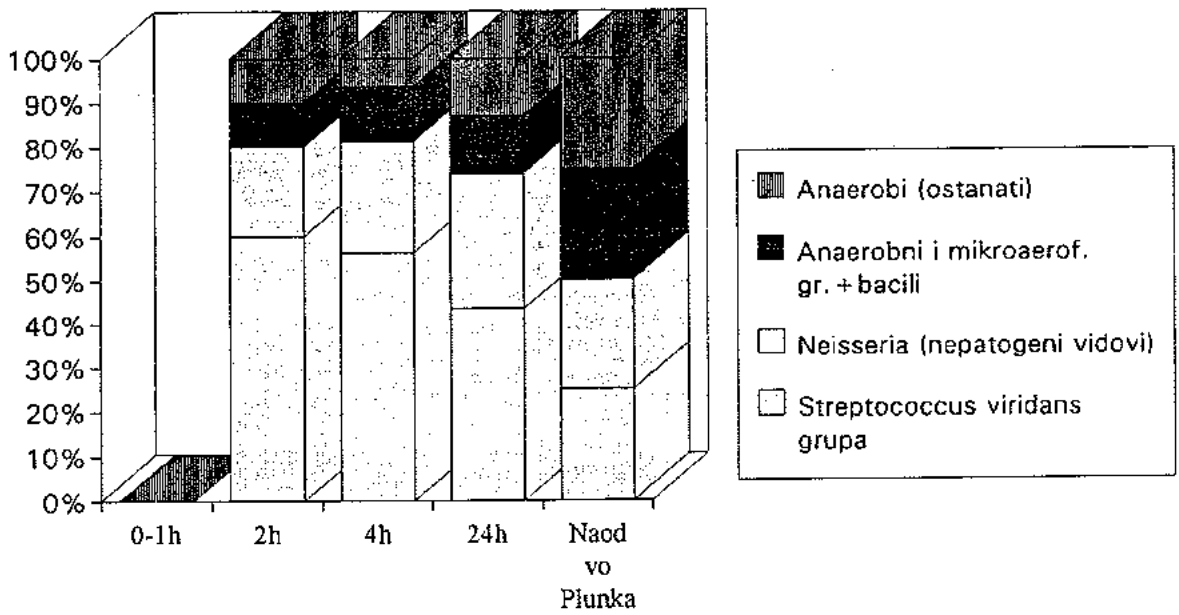
За најсериите и анаеробните бактерии, не постои сигнификантна разлика во колонизацијата помеѓу двете групи на испитаници.

Од плунката на сите испитаници (30 + 10), изолирани се истите видови на бактерии, кои се јавуваат како колонизатори на емајловата површина

Дијаграм 2 (gr.I)



Дијаграм 2 (gr.II)



7.1.2.Полуквантитативни испитувања

Табела 3 (гр. I)

ВРЕМЕ НА ИЗЕДНАЧУВАЊЕ НА ГУСТИНАТА НА РАСТ НА БАКТЕРИИ
НА ПОВРШИНАТА НА ЕМАЈЛОТ ВО ОДНОС НА ОНИЕ ВО ПЛУНКАТА

Бактерии	Број на испитаници кај кои се изедначила густината на раст				Вкупно (од 30)
	1h	2h	4h	24h	
Streptococcus viridans група	0	24	30(24+6)	30(30+0)	30
Neisseria (непатогени видови)	0	3	4(3+1)	13(4+9)	13
Анаеробни и микро- аерофилни гр+ бацили*	0	5	7(5+2)	14(7+7)	14
Анаероби (останати)	0	1	1(1+0)	9(1+8)	9

* Lactobacillus, Actinomyces, Bifidobacterium,
Propionobacterium, Eubacterium

Табела 3а (гр. II)

ВРЕМЕ НА ИЗЕДНАЧУВАЊЕ НА ГУСТИНАТА НА РАСТ НА БАКТЕРИИ НА ПОВРШИНАТА НА ЕМАЈЛОТ ВО ОДНОС НА ОНИЕ ВО ПЛУНКАТА

Бактерии	Број на испитаници кај кои се изедначила густината на раст				Вкупно (од 10)
	1h	2h	4h	24h	
Streptococcus viridans група	0	2	4(2+2)	8(4+4)	8
Neisseria (nepatogeni vidovi)	0	1	1(1+0)	4(1+3)	4
Anaerobni i mikro-aerofilni gr+ bacili	0	0	0	1	1
Anaerobi (ostanati)	0	0	0	0	0

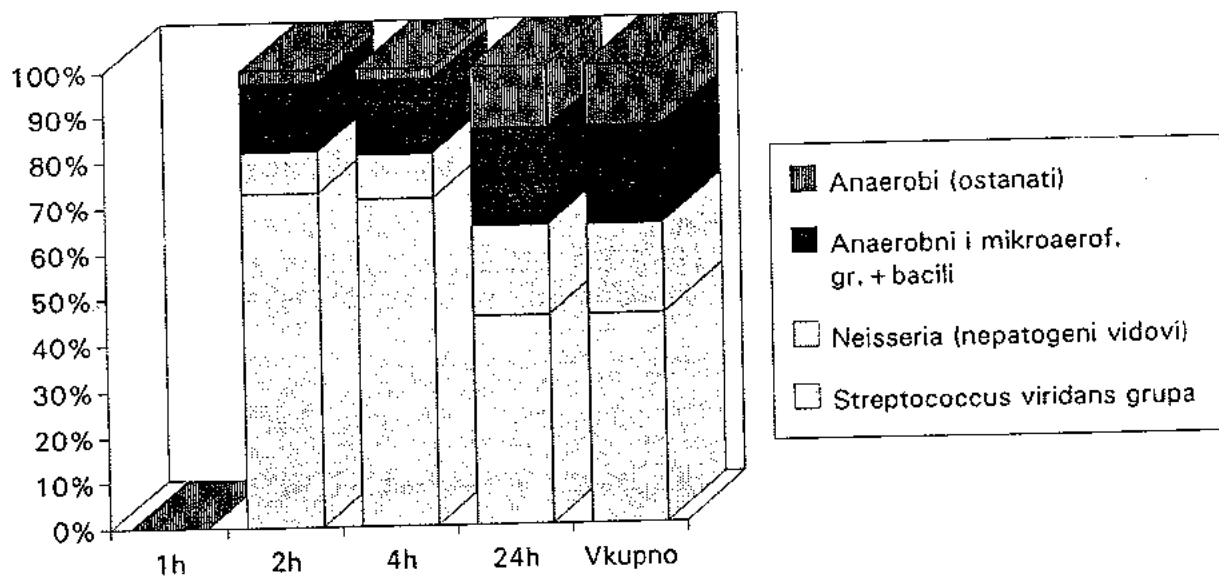
На табела 3 (гр. I) и табела 3а (гр. II), прикажано е времето на изедначување на густината на раст на бактериите изолирани од емајловата површина во однос на оние од плунката.

Во однос на квантитетот (густина на раст), при колонизацијата на емајловата површина, доминираат стрептококите. Особено тоа е изразено кај испитаниците од I - група, кај примероците земени по 2 часа. Изедначувањето на густината на раст кај нив, во однос на оние од плунката настанало кај 24 од 30 испитаници или 80%, а кај испитаниците од II - та (контролна) група кај 2 од 8 или 20 % од испитаниците.

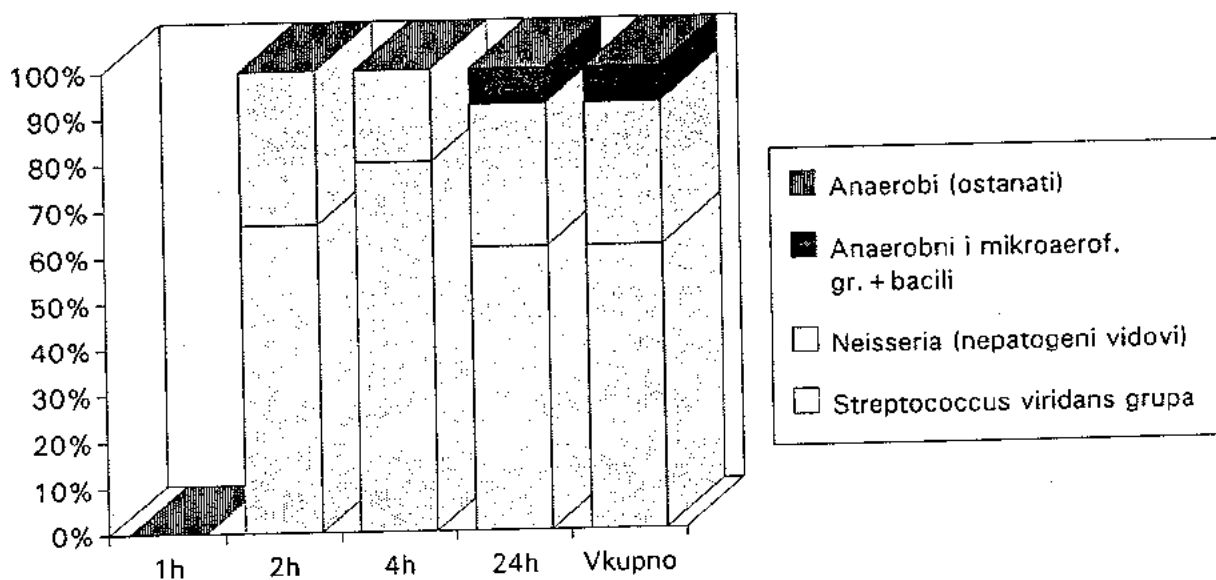
Оваа разлика во првите 2 часа на колонизацијата, статистички е високо сигнификантна - $p < 0.01$ ($p = 0.002$).

Кај другите видови не се забележуваат сигнификантни разлики во нивниот квантитет помеѓу двете групи.

Дијаграм 3 (gr.I)



Дијаграм 3 (gr.II)



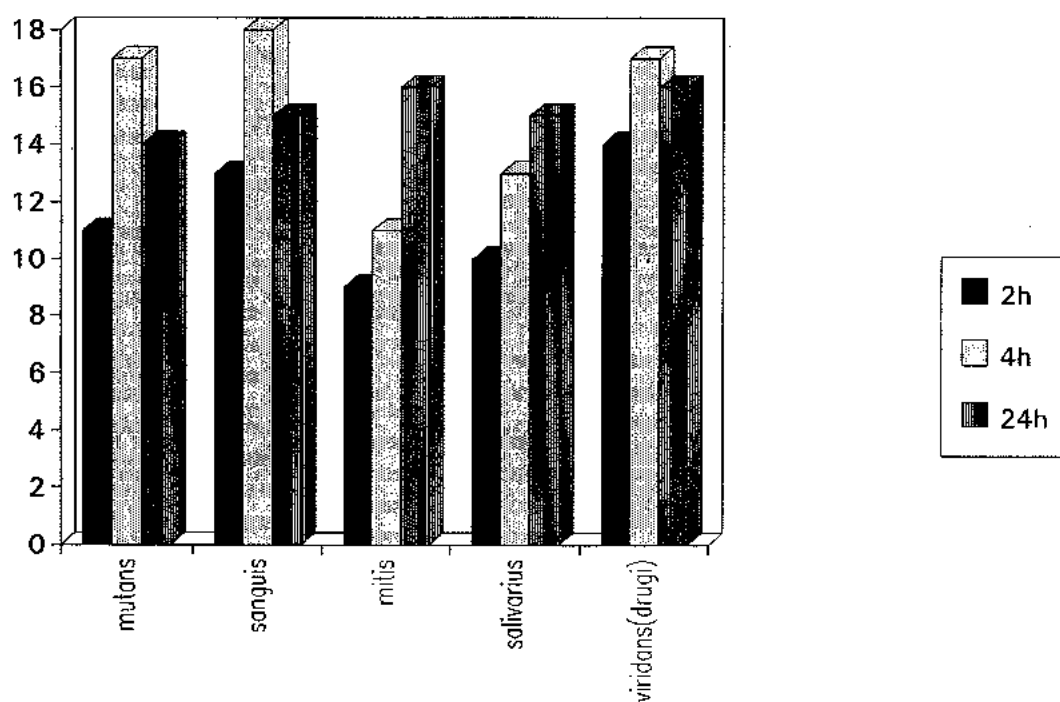
7.2.Преглед на бактериски видови колонизатори на здрава емајлова површина

Табела 4 (гр I).

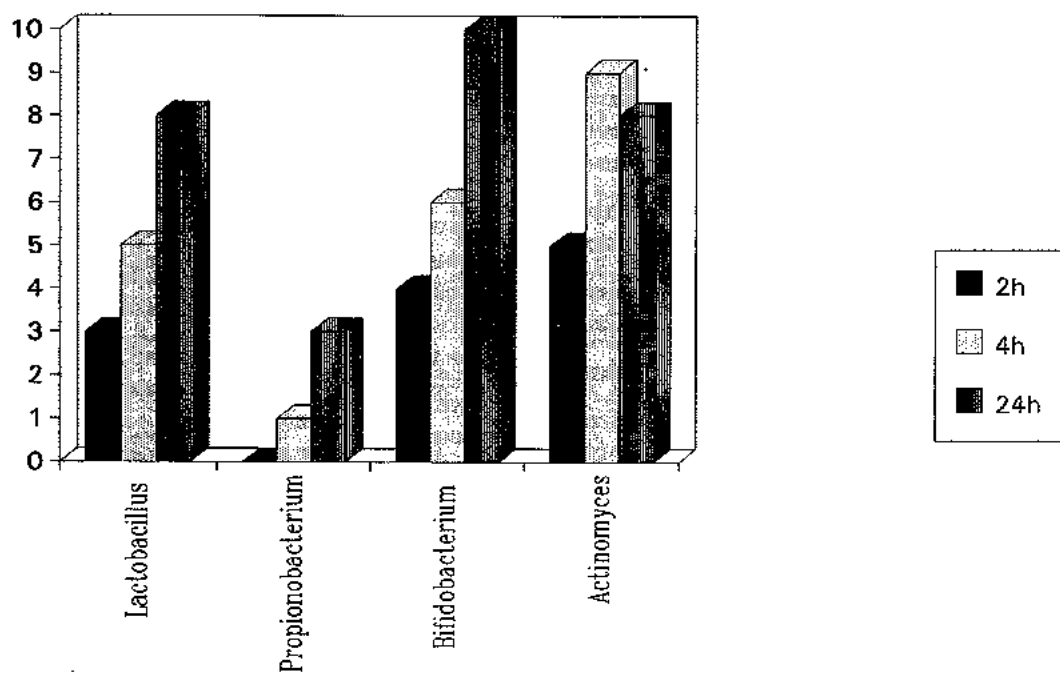
ВИДОВИ НА МИКРООРГАНИЗМИ ИЗОЛИРАНИ ОД ЕМАЈЛОВА ПОВРШИНА КАЈ 30 ПАЦИЕНТИ СО ИЗРАЗИТО КАРИОЗНО ЗАБАЛО,ОДРЕДЕНО ВРЕМЕ ПО ЧИСТЕЊЕТО

Микроорганизми	изолирани во	примероци по време од		
		2h	4h	24h
Факултативно анаеробни коки и бацили:				
Streptococcus viridans група:				
Streptococcus	mutans	11	17	14
"	sanguis	13	18	15
"	mitis	9	11	16
"	salivarius	10	13	15
"	viridans(други)	14	17	16
Streptococcus	pneumoniae	3	5	7
"	pyogenes	0	0	1
Staphylococcus	koagulaza(-)	2	1	3
Neisseria	(непатогени видови)	11	14	20
Corynebacterium	(непатогени)	4	6	7
Микроаерофилни и анаеробни грам + бацили:				
Lactobacillus		3	5	8
Propionobacterium		0	1	3
Bifidobacterium		4	6	10
Actinomyces		5	9	8
Анаеробни коки:				
Veillonella		2	5	7
Peptostreptococcus		1	3	8
Peptococcus		0	0	1
Анаеробни грам - бацили:				
Bacteroides		1	3	3
Fusobacterium		1	2	3
Фунги				
Candida albicans		0	0	1

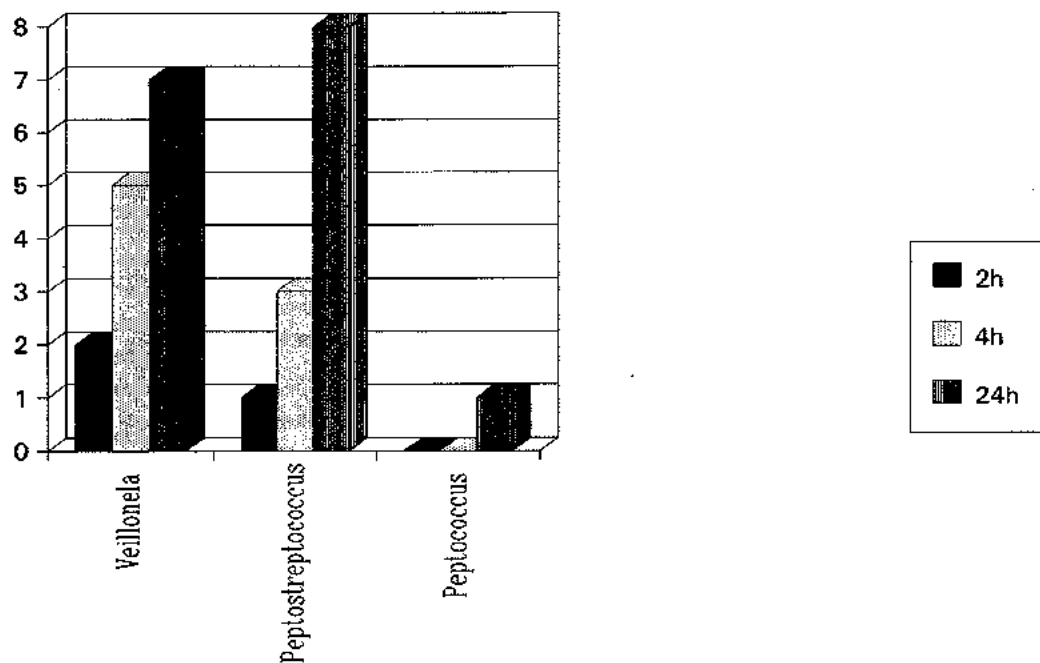
Streptococcus viridans група



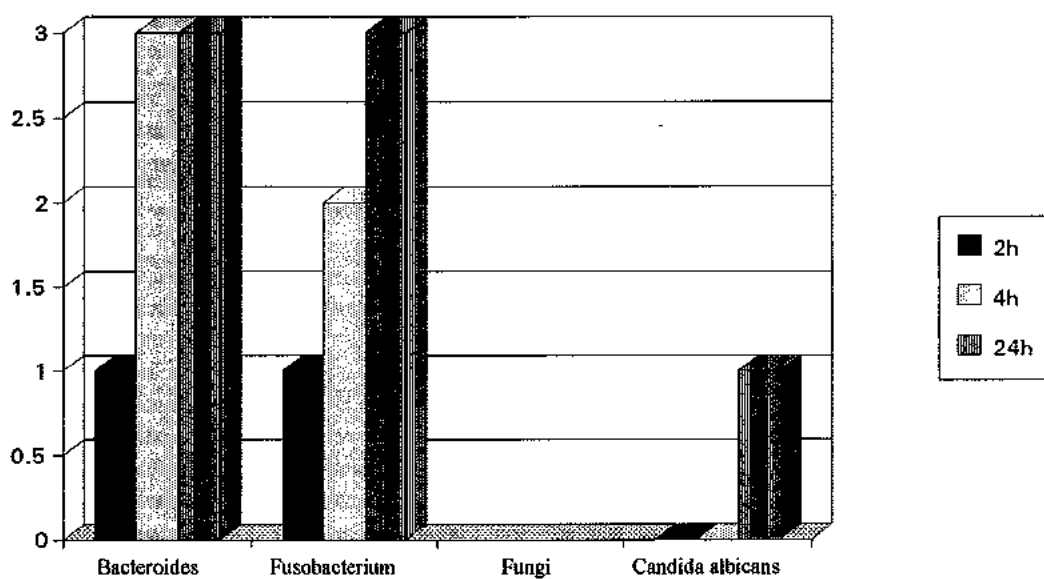
Микроаерофилни и анаеробни грам + бацили



Анаеробни коки



Анаеробни грам - бацили

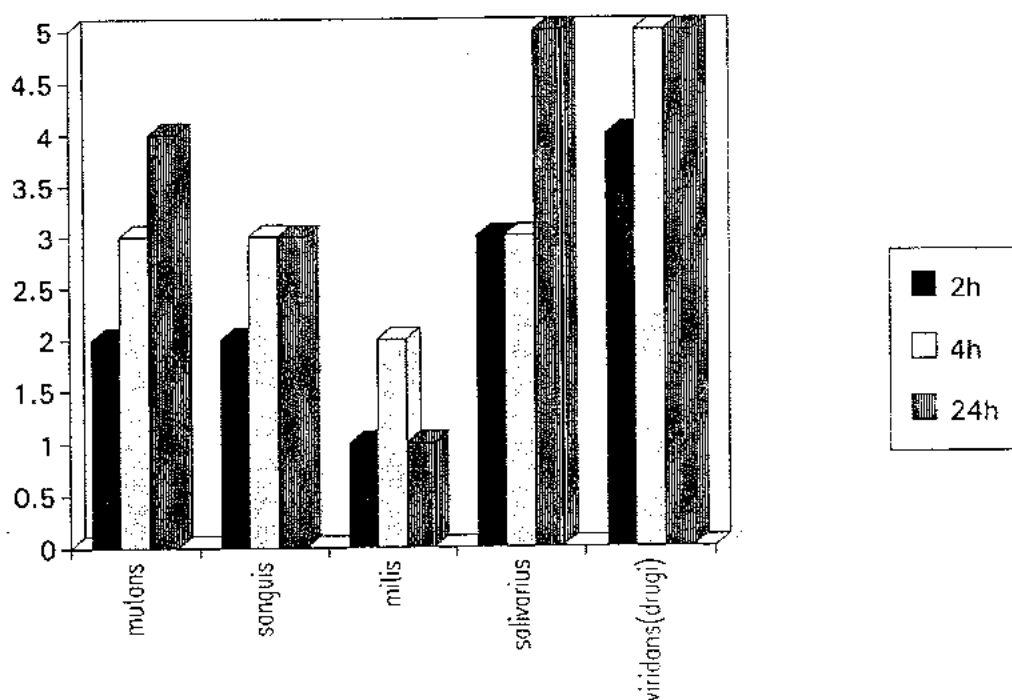


Табела 4а(гр II)

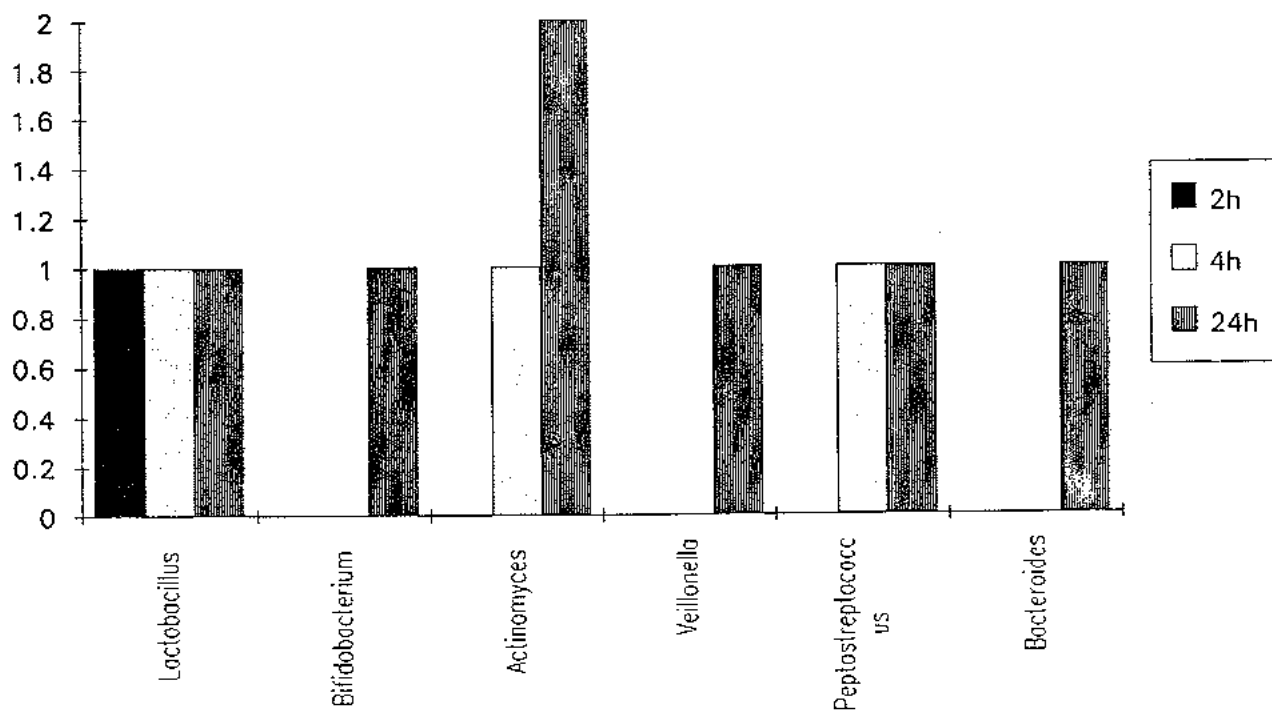
**ВИДОВИ НА МИКРООРГАНИЗМИ ИЗОЛИРАНИ ОД ЕМАЈЛОВА
ПОВРШИНА КАЈ 10 ПАЦИЕНТИ СО ЗДРАВО ЗАБАЛО,
ОДРЕДЕНО ВРЕМЕ ПО ЧИСТЕЊЕТО**

Микроорганизми	изолирани во	примероци		
		по време од	2h	4h
Факултативно анаеробни коки и бацили:				
Streptococcus viridans група:				
Streptococcus mutans		2	3	4
" sanguis		2	3	3
" mitis		1	2	1
" salivarius		3	3	5
" viridans(други)		4	5	5
Streptococcus pneumoniae		0	1	1
Staphylococcus коагулаза(-)		1	0	1
Neisseria (непатогени видови)		2	4	7
Corynebacterium (напатогени)		0	3	2
Микроаерофилни и анаеробни грам + бацили:				
Lactobacillus		1	1	1
Bifidobacterium		0	0	1
Actinomyces		0	1	2
Анаеробни коки:				
Veillonella		0	0	1
Peptostreptococcus		0	1	1
Анаеробни грам - бацили:				
Bacteroides		0	0	1

Streptococcus viridans група



Микроаерофилни и анаеробни грам+ бацили ; Анаеробни коки; Анаеробни грам- бацили



На табела 4 (гр. I) и табела 4а (гр. II) , прикажани се видовите на микроорганизми, изолирани од емајлова површина по одредено време.

Диференцирани се 20 видови на микроорганизми.

Од двете групи изолирани се идентични бактерии специеси, кои вообичаено ја чинат нормалната орална микрофлора кај човекот.

Доминираат стрептококите од вириданс групата и микроаерофилните и анаеробните грам позитивни бацили.

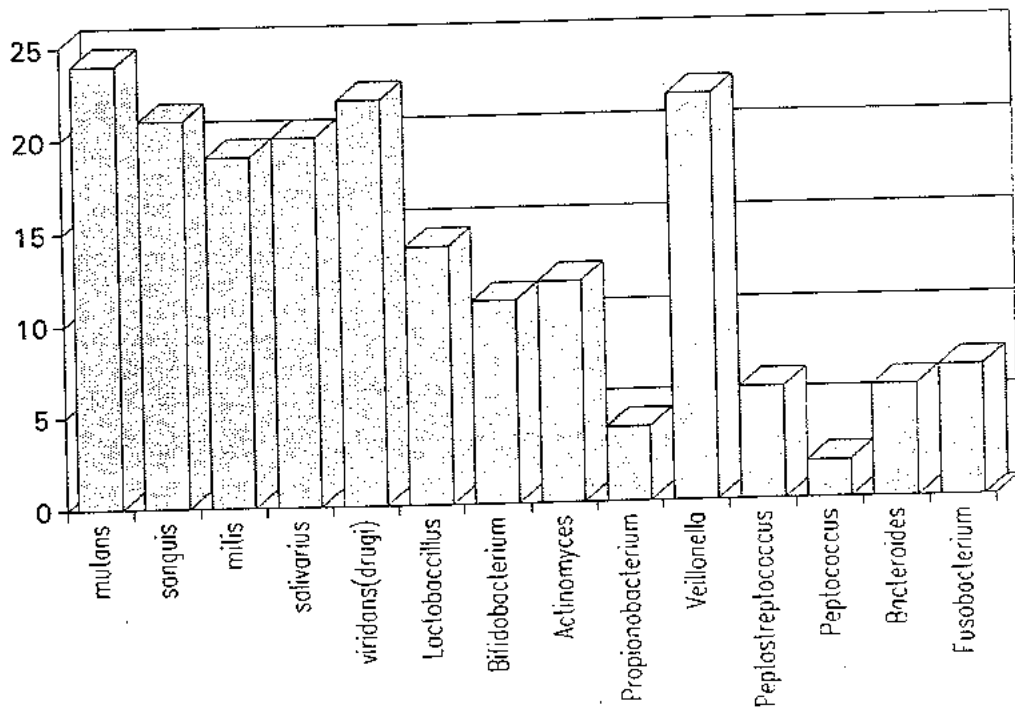
7.3. Бактериологија на кариозен заб

Табела 5 (гр I)

ПРЕГЛЕД НА БАКТЕРИСКИ ВИДОВИ ИЗОЛИРАНИ ОД КАРИОЗНИ ЛЕЗИИ НА 30 ПАЦИЕНТИ

Микроорганизми	Број
Факултативно анаеробни коки и бацили:	
Streptococcus viridans група:	
Streptococcus mutans	24
" sanguis	21
" mitis	19
" salivarius	20
" viridans(други)	22
Streptococcus pneumoniae	3
" pyogenes	4
Staphylococcus коагулаза(-)	6
Neisseria (непатогени видови)	11
Corynebacterium (непатогени)	3
Микроаерофилни и анаеробни грам + бацили:	
Lactobacillus	14
Bifidobacterium	11
Actinomyces	12
Propionobacterium	4
Анаеробни коки:	
Veillonella	22
Peptostreptococcus	6
Peptococcus	2
Анаеробни грам - бацили:	
Bacteroides	6
Fusobacterium	7

Дијаграм 5



На табела 5 (гр. I) , прикажана е бактериологијата на кариозен заб, со видовите на микроорганизми изолирани од кариозни лезии на 30 пациенти (испитаници).

Од кариозните заби на 30 пациенти, изолирани се идентични видови на микроорганизми, со оние на емајловата површина на здрав заб.

Карактеристично е дека во кариозната лезија, покрај стрептококите од групата вириданс, доминираат и анаеробните бактерии. Кај сите 30 испитаници, изолирани се по најмалку два соја на анаеробни бактерии.

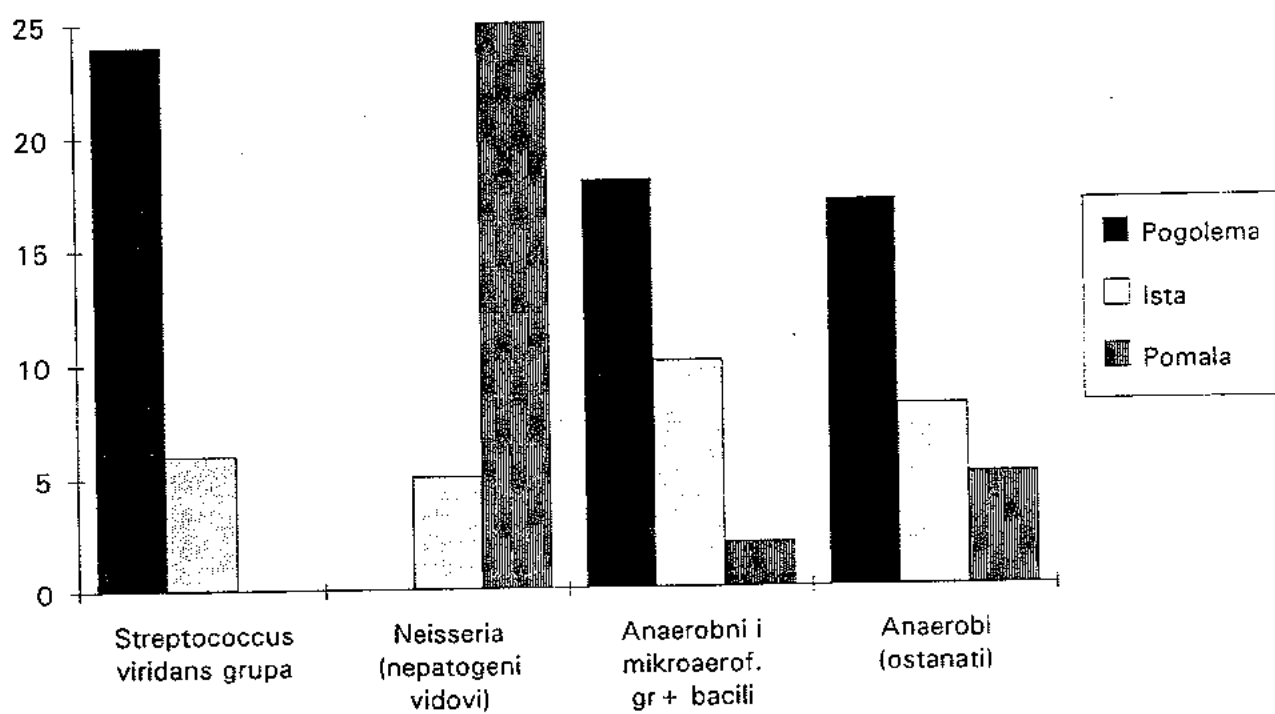
Табела 6 (гр. I)

СПОРЕДБА НА ГУСТИНАТА НА РАСТ НА БАКТЕРИИТЕ ИЗОЛИРАНИ ОД КАРИОЗНА ЛЕЗИЈА ВО ОДНОС НА ОНИЕ ОД ПЛУНКАТА НА 30 ПАЦИЕНТИ

Бактерии	Густина на раст во кариозна лезија во однос на онаа на плунката		
	Поголема	Иста	Помала
Streptococcus viridans група	24	6	0
Neisseria (непатогени видови)	0	5	25
Анаеробни i mikro-aerof.gr+ bacili*	18	10	2
Анаероби (останати)	17	8	5

* Lactobacillus, Actinomyces, Bifidobacterium, Proipionobacterium, Eubacterium

Дијаграм 6



На табела 6 (гр. I) , прикажана е споредбата на густината на раст на бактериите изолирани од кариозна содржина, во однос на оние од плунката на 30 пациенти (испитаници).

Квантитетот на бактериите во кариозната содржина е поголем во однос на опој на плунката, особено кај стрептококите, анаеробните и микроаерофилните бактерии.

7.4. Добиени рН вредности на мешана плунка

табела 7 (гр. I)

рН вредност на мешана плунка кај пациенти (испитаници), со изразито кариозно и несанирани забало (30)

Добиени рН вредности	Број на испитаници	од вкупно
рН 5.60	9	30
рН 5.72	6	30
рН 5.75	4	30
рН 5.80	5	30
рН 5.95	2	30
рН 6.05	3	30
рН 6.15	1	30

Неутрална рН вредност најдена е кај 4 испитаника, а слабо кисела кај 26 од (30).

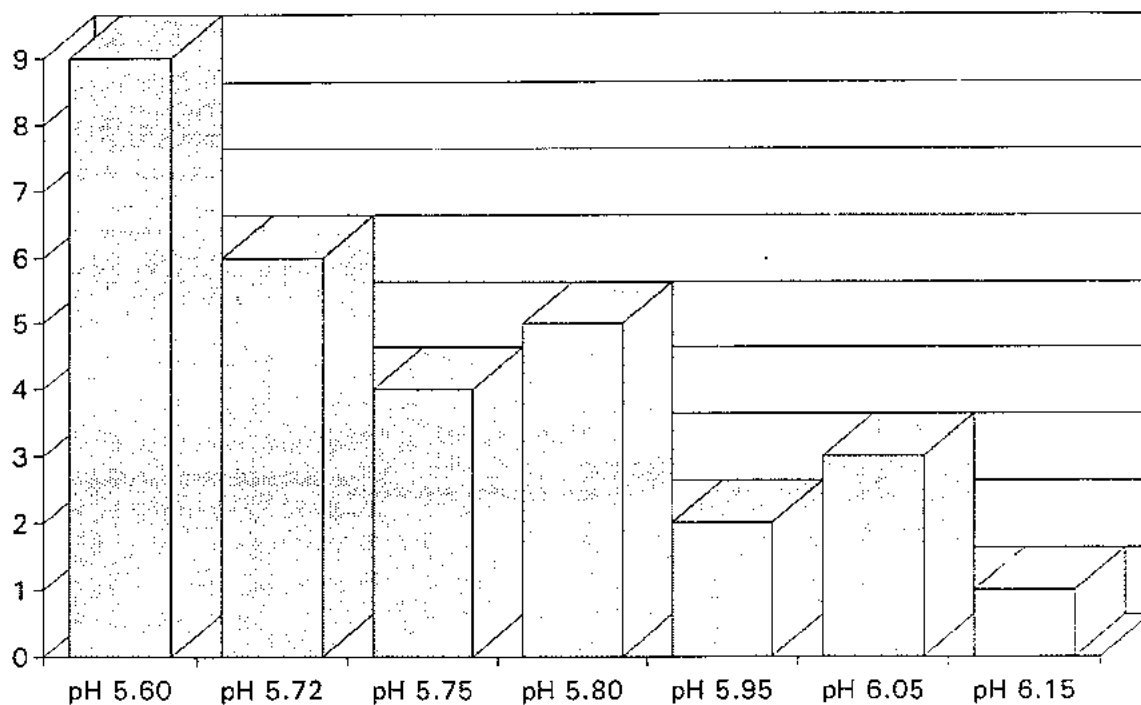
табела 7а (гр. II)

pH вредност на мешана плунка кај контролната група на испитаници (10), со здраво интактно забало.

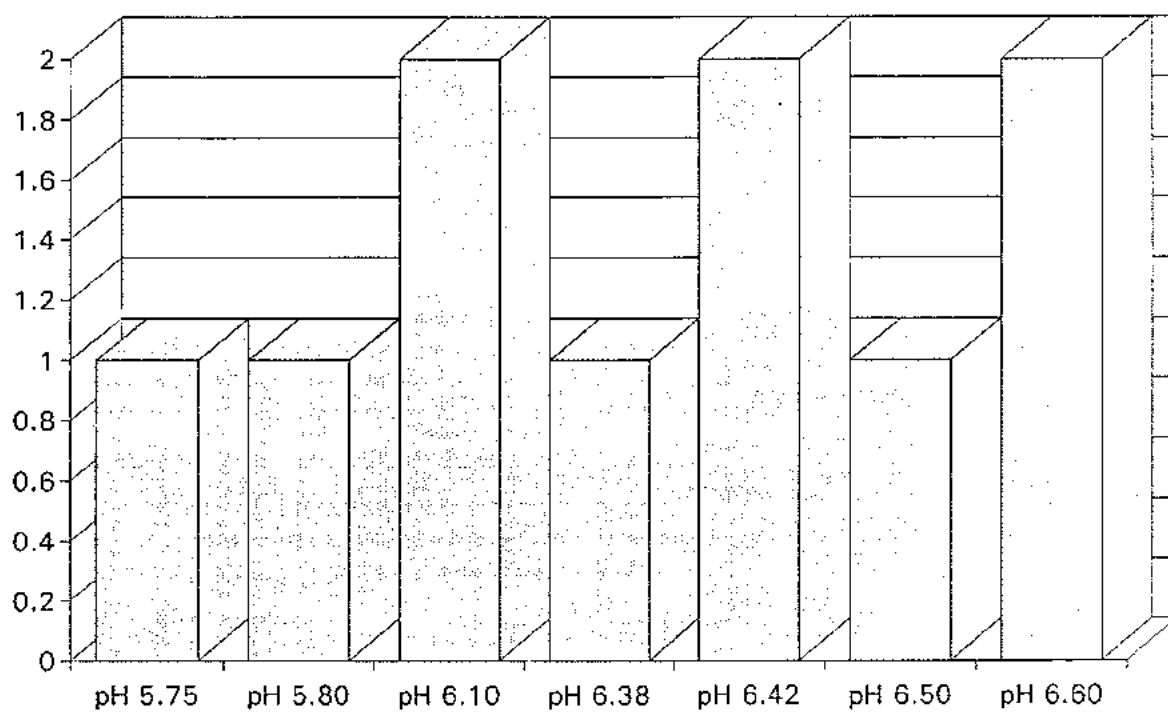
Добиени pH вредности	Број на испитаници	од вкупно
pH 5.75	1	10
pH 5.80	1	10
pH 6.10	2	10
pH 6.38	1	10
pH 6.42	2	10
pH 6.50	1	10
pH 6.60	2	10

Неутрална pH вредност најдена е кај 8 испитаника, а слабо кисела само кај 2 од (10).
Разликата на слабо киселата pH вредност на плунката кај испитаниците од I-та и II-та група, статистички е сигнификантна - $p < 0.05$ ($p = 0.038$)

Дијаграм 7 (gr.I)



Дијаграм 7 (gr.II)



7.5. "In vitro" испитувања на емајл од екстрахиран заб

Кај експерименталното "in vitro" испитување на емајл од екстрахиран заб (нормален и претходно жарен еден час на 300 °C, за да се отстранат органските материи), не е најдена сигнификантна разлика во растот на испитуваните бактерии од *Streptococcus Viridans* групата (*S. mutans*, *S. sanguis* и *S. salivarius*).

Резултатите беа читани полуквантитативно, 24 часа по инкубирањето на подлогите во термостат во атмосфера збогатена со CO₂.

8. ДИСКУСИЈА

Испитувањата во оваа студија се однесуваат на некои квалитативни и полуквантитативни аспекти на најраната микробиолошка колонизација на површината на интактниот емајл, односно континуирано е следено населувањето на микроорганизмите во првите 24 часа. Податоци за одредување на времето на колонизацијата, видот на микроорганизмите и нивниот број често се сретнуваат во литературата. Цел на студијата покрај другото беше да се добијат податоци на сопствен материјал и да се споредат со оние во литературата.

Акцент и новина во овој труд е, откривањето на разликите во колонизацијата на здрава емајлова површина, помеѓу пациенти со кариес во однос на оние со интактно забало, како во смисла на брзината на колонизација, така и во смисла на разлики во видот и бројот на микроорганизмите. Во испитувањето беа земени во обзир само оние пациенти, кај кои во плунката се изолирани адекватен број и вид на бактерии кои одговараат на нормалната усна микрофлора.

8.1. Одредување на времето на колонизацијата на здрава емајлова површина

Негативниот (стерилен) наод во примерокот, земен веднаш по чистењето, и наодот на адекватен број на бактерии во плунката беше предуслов за понатамошните испитувања кај сите пациенти. Значи имавме стерилна здрава емајлова површина во пултото време, која во следните неколку минути ќе биде обливена со плунка, во која се наоѓаат приближно од 10^7 - 10^9 бактерии на 1ml. Емајловата површина ќе биде населена со микроорганизми, но на неа ќе се задржат и ќе се мултиплицираат само оние бактерии од плунката, кои имаат фактори на колонизација како што се продукцијата на декстранот, саливарниот гликопротеин, адхезините, неурамидазите, протеазите и други електростатички и хидрофобички сили. (Krasse et al; 1967; Gibbons et Banghart, 1967; Parker et Creamer, 1971; Скопо, Hay et al 1971; Saxton, 1971; 1972; Gibbons, 1980; 1984; Jones and Isacsson, 1983; Watanabe et al, 1981; Kitawaki et al, 1983; Murray et al, 1982; 1986; Gibbons and Hay 1988 a,b).

По 2 часа само кај два пациенти од вкупно 30 испитувани, не се најдени никакви бактерии во денгалниот брыз. Кај останатите 28, изолирани се бактерии и тоа кај сите од *Streptococcus viridans* групата. Значајно е да се истакне дека останатите бактерии кои биле присутни во плунката од пациентите, многу поретко и во помал број беа изолирани од емајловата површина. Особено тоа се однесува на анаеробните бактерии (со исклучок на грам позитивните бацили) кои инаку доминираат во микрофлората на плунката. Сето ова зборува за посебниот тропизам на стрептококите спрема емајловата површина и за нивната улога како најрани колонизатори на здравиот емајл. Овој податок е во потполна согласност со податоците од други испитувања (Hamada and Slade, 1980; Emilson and Krasse, 1985; Loesche, 1986; Beighton, 1987).

Втора група која го населува здравиот емајл, но поспоро од стрептококите и кај која исто така е докажан тропизам спрема емајлот, се грам позитивните анаеробни и микроаерофилни бацили, пред се од родот *Actinomyces*, кои инаку не доминираат во плунката на здрави особи и обично се присутни во мали количини. За разлика од нив грам позитивните и грам негативните анаеробни и аеробни коки и грам негативните анаеробни бацили, секогаш се присутни во устата во големи количини (Sutter и сор. 1985). Овие бактерии во нашите испитувања подоцна се појавуваат, односно им се придружуваат на стрептококите по четвртиот час од почетокот на испитувањето. Според повеќе автори стрептококите се преобладајќи во првата фаза на колонизацијата и формирање на денгален плак, а подоцна доаѓа до пролиферација на актиномицетите и пропионобактериите (*A. israeli*, *A. viscosus*, *Propionobacterium asnes*), кои потоа стануваат преобладајќи флора (Hamada and Slade, 1980; Pine 1982; Emilson and Krsse 1985; Loescher, 1986). Преобладајќиноста на стрептококите во однос на актиномицетите може да се должи и на нивната порано започната мултипликација. Студиите за почетните фази на колонизација на гнотобиотични глумци, покажале дека времето на дуплирање на *A. viscosus* е значително подолго (2.7 часа) одколку на стрептококите, на пример *S. mutans* (1.4 часа), веројатно заради тоа што актиномицетите наместо делба развиваат разгранувачки форми (Beckers и сор. 1984).

Стрептококите од *viridans* групата и грам позитивните бактерии сигнификантно побрзо, а стрептококите во статистички значајно поголем број ја колонизираат здравата емајлова површина на пациентите (испитаниците) со кариозно забало во однос на оние со интактено забало. Такви разлики не се најдени кај

најсериите и анаеробните бактерии. Една претпоставка е дека овие разлики се должат на индивидуалните разлики на денталниот плак помеѓу двете групи на пациенти, односно до неговата поголема приемчивост за колонизација кај пациентите со кариес. Друга претпоставка е дека во усната празнина на пациентите со кариес постојат услови за размножување на микроорганизмите способни за колонизација, односно таканаречените ацидофилни бактерии. Статистички значајните разлики во поголемата киселост на плунката на пациентите со кариес во однос на контролната група најдени во нашето испитување, одат во прилог на оваа претпоставка.

Кај 93,3 % од пациентите (испитаници), како најкратко време за микробиолошка колонизација на клинички здрава емајлова површина на интактен заб, утврден е временски интервал од 0-2 часа, а како најкратко време за примоинплантација на бактериите на здрава емајлова површина (Цветковиќ, Н.; Тафчиовски, И.; Стефановиќ, М.; Ковачева, А.; Поп-Ацева, М., 1975) утврдиле интервал 2-4 часа (кај 2 случаи) од (20) по 2 часа и кај 9 случаи од (20) по 4 часа.

8.2. Преглед на бактериските видови, колонизатори на здрава емајлова површина

Доминацијата на вириданс стрептококите, пред се на *S. mutans*, *S. mitis* и *S. sanguis*, во нашите резултати се во согласност со овие од литературата. Познато е дека присуството и појавата на овие видови е тесно поврзана со појавата на забите.

S. salivarius е исто толку чест како и претходно споменатите видови, но за него е карактеристично што е еден од ретките стрептококи чие присуство не е условено со постоењето на забите (Carlsson et al, 1969; Ellen, 1976; 1978; Slots and Gibbons, 1978; Gibbons, 1984; Slots and Geneo, 1985; Mayrand and Holt, 1988).

Втората група на најчесто изолирани микроорганизми се *Lactobacillus*, *Propionobacterium* и *Actinomyces*. За *A. viscosus* исто како и за мутанс стрептококите е познато дека за нивното одржување во устата е поврзано со постоењето на забите. За жал во нашето испитување не се диференцирани видовите на овие родови од причини што за нивна идентификација е потребен гасен хроматограф и скапи реагенси.

Од облигатните анаероби најчесто се изолирани грам позитивните коки - *Peptostreptococcus* и грам негативните коки - *Veillonella*. Грам негативните анаеробни бацили - *Bacteroides* и *Fusobacterium* се изолирани само кај 10 % од пациентите, иако

доминираат во микрофлората на успата празнина на човекот заедно со анаеробните коки и стрептококите. За нив е познато дека имаат водечка улога во патогенезата на параденталната болест (B.Nyvad and M.Kilian, 1987).

Непатогените најсериј често се среќаваат на површината на денталниот плак, но во многу помала количина од онаа во плунката. Најсериите во ниту една студија не се спомнуваат како колонизатори на денталниот плак и се сметаат за транзиторно присутни, односно контаминанти од плунката. На ова укажуваат и податоците од нашите испитувања, дека кај овие бактерии не е најдена никаква разлика во однос на нивното присуство кај испитуваната и контролната група, а исто така и фактот што двојно поретко се изолираат од кариозните маси отколку од површината на здравиот емајл. Конечно и нивниот број кај повеќето пациенти е прилично мал во однос на нивниот голем број во плунката. Присуството на најсериите укажува на потребата спомната и од други автори (Nyvad и сор. 1987) за претходно испирање на забите пред земање на примерок за микробиолошко испитување. На тој начин би се отстраниле пасивно присутните (неврзаните) бактерии. Изолацијата на по некој непатоген стафилокок и дифтероиди (непатогени видови од родот *Corynebacterium*) може да се интерпретира на истиот начин како и присуството на непатогените најсериј.

8.3. Бактериологија на кариозен заб

Кариозните лезии ги содржат од квалитативен аспект истите бактериски видови изолирани на здравиот емајл. Квантитативно меѓутоа се карактеристични големи разлики. Сите видови со исклучок на најсериите се во многу поголем број, не само од оној најден на здравиот емајл, туку и од оној кои тие видови го претставуваат во плунката на истата особа. Поголемото присуство на *S.mutans*, а и на останатите стрептококи, на *Lactobacillus* и *Actinomyces* и особено на облигатните анаероби (особено *Veillonella*) се во согласност со познатите податоци за нивната улога во патогенезата на денталниот кариес (Jenzano и сор. 1984).

8.4. Експериментални "in vitro" испитувања на емајл од екстрахиран заб

Кај примероците, земени за експериментално "in vitro" испитување на емајл од екстрахиран заб (нормален и со отстранети органски материи), не е најдена сигнификантна разлика во растот и размножувањето на испитуваните бактерии од *Streptococcus Viridans* групата (*S.mutans*, *S.sanguis*, *S.salivarius*).

Биолошката улога на емајлот како нутритивен фактор, во "in vitro" услови кај нашето експериментално испитување не е докажана.

Испитувањата на Стоматолошкиот факултет во Скопје (Цветковиќ, Н.; Стефановиќ, М.; Тафчировски, И.; Ковачева, А., 1976), за биолошката улога на емајлот, во иницијалното фиксирање на стрептококите, нивното одржување и развој, исто така укажуваат, дека емајлот во "in vitro" услови, не го стимулира растот и размножувањето на бактериите (*Streptococcus & haemolyticus*), но може да му го продолжи животот "in vitro" за 4 дена кога е пресаен на буљон-тиоглуколат подлога.

9. Заклучок

1. Примарна микробиота на раната бактериска имплантација на клинички здрава емајлова површина се стрептококите од вириданс групата и грам позитивните бацили.

2. 93.3 % од пациентите по два часа, а сите по 4 часа од чистењето се колонизирани со стрептококи. Колонизацијата со грам позитивните бацили е поснора и во однос на бројот на колонизирани пациенти и во однос на количината на бактериите изолирани кај секој пациент посебно.

3. Најчесто изолирани видови на микроорганизми се *Streptococcus mutans*, *S. sanguis*, *S. mitis* и *S. salivarius* и други неидентифицирани видови кои припаѓаат на *S. viridans* групата. Секој од овие видови е докажан кај 30 - 47 % во вториот час, 37 - 60 % во четвртиот час и 47 - 53 %, 24 часа по чистењето на здравиот емајл кај пациенти со изразито кариозно забало. Следни по честота на изолација се грам позитивните микроаерофилни и анаеробни бацили: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Actinomyces*. Секој од овие видови е докажан кај 10 - 17 % од пациентите 2 часа по чистењето, 17 - 30 % по четири часа и 27 - 30 % од пациентите 24 часа од почетокот на испитувањето. Најчесто изолирани анаеробни видови се *Veillonella* и *Peptostreptococcus*, идентифицирани кај 3 - 7 % од пациентите по 2 часа, 10 - 17 % по 4 часа и 23 - 27 % 24 часа по чистењето.

4. Од кариозните заби се изолирани истите видови кои ја колонизираат здравата емајлова површина. Сите видови на вириданс стрептококите, на грам позитивните бацили и особено на анаеробните бактерии, пред се *Veillonella* и грам негативните бацили, докажани се кај поголем број на пациенти и во поголема количина во однос на испитувањата на нивното присуство на клинички здрава емајлова површина. Единствено најсериите двапати поретко се изолираат од кариозните маси во однос на нивното присуство на здравиот емајл.

5. Плуцката на пациентите со кариозно забало е сигнификантно со покисел рН во однос на рН на плуцката од пациентите со здраво забало (контролната група).

6. Микробната колонизација на здрава емајлова површина, на пациенти со изразито кариозно забало (I група) е сигнификантно побрза во однос на контролната група пациенти со здраво забало (II група). Стрептококите од вириданс групата и

грам позитивните бацили, сигнификантно побрзо го колонизираат емајлот на пациентите од I - та група, во однос на нивната колонизација на пациентите од II-та група и тоа уште во првите 2 часа по чистењето, во смисла на бројот на колонизирани пациенти, а исто така и во однос на количината на колонизираните бактерии кај секој пациент поодделно. Анаеробните и микроаерофилните грам позитивни бацили, сигнификантно побрзо го колонизираат емајлот на пациентите од првата група, во однос на нивната колонизација на пациентите од контролната група 4 часа по чистењето.

7. Во експериментални "in vitro" услови, емајлот на забот, не го стимулира растот и размножувањето на бактериите од Streptococcus Viridans групата (S.mutans, S.sanguis, S.salivarius).

Обработка на податоците - Статистика

Summary Statistics for Contingency Tables (page 1)

Chi - square	D.F.	Significante		
6.53595	1	0.0105716		
4.18301	1	<u>0.0408312</u> with Yates correction	Таб. 1 и 1а	
WARNING: Expected values in 2 cells < 5 and 1 cells < 2.			(1)	
Statistic	Symmetric	With row dependent	With columns dependent	
Lambda	0.12500	0.20000	0.00000	I
Uncertainty Coeff.	0.14367	0.12583	0.16739	p < 0.05
Somer's D	0.39683	0.49020	0.33333	

Summary Statistics for Contingency Tables (page 1)

Chi - square	D.F.	Significante		
0.949668	1	0.329804		
0.341880	1	<u>0.558746</u> with Yates correction	Таб. 2 и 2а	
WARNING: Expected values in 1 cells < 5 and 0 cells < 2.				
Statistic	Symmetric	With row dependent	With columns dependent	
Lambda	0.00000	0.00000	0.00000	II
Uncertainty Coeff.	0.02114	0.02243	0.02000	
Somer's D	0.15361	0.14245	0.16667	

Summary Statistics for Contingency Tables (page 1)

Chi - square	D.F.	Significante		
2.04807	1	0.152400		
1.04493	1	<u>0.306677</u> with Yates correction	N.S.	
WARNING: Expected values in 1 cells < 5 and 0 cells < 2.				
Statistic	Symmetric	With row dependent	With columns dependent	
Lambda	0.00000	0.00000	0.00000	III
Uncertainty Coeff.	0.05130	0.05248	0.05018	
Somer's D	0.22617	0.21944	0.23333	

Summary Statistics for Contingency Tables (page 1)

Chi - square	D.F.	Significante		
5.64745	1	0.0174808		
4.04344	1	0.0443433 with Yates correction		
WARNING: Expected values in 1 cells < 5 and 0 cells < 2.				
Statistic	Symmetric	With row dependent	With columns dependent	
Lambda	0.20690	0.00000	0.31579	IV
Uncertainty Coeff.	0.11789	0.13147	0.10685	p < 0.05
Somer's D	0.37196	0.32581	0.43333	

Summary Statistics for Contingency Tables (page 1)

Chi - square	D.F.	Significante		
7.17949	1	7.37418E-3		
5.27473	1	0.0216372 with Yates correction		
WARNING: Expected values in 1 cells < 5 and 0 cells < 2.				
Statistic	Symmetric	With row dependent	With columns dependent	
Lambda	0.16667	0.00000	0.28571	V
Uncertainty Coeff.	0.14428	0.15520	0.13480	p < 0.05
Somer's D	0.42169	0.38462	0.46667	p = 0.02

Summary Statistics for Contingency Tables (page 1)

Chi - square	D.F.	Significante		
2.04807	1	0.152400		
1.04493	1	0.306677 with Yates correction	N.S.	
WARNING: Expected values in 1 cells < 5 and 0 cells < 2.				
Statistic	Symmetric	With row dependent	With columns dependent	
Lambda	0.00000	0.00000	0.00000	VI
Uncertainty Coeff.	0.05130	0.05248	0.05018	
Somer's D	0.22617	0.21944	0.23333	

Summary Statistics for Contingency Tables (page 1)

Chi - square	D.F.	Significante		
2.13333	1	0.144127		
1.20000	1	0.273322 with Yates correction		
Statistic	Symmetric	With row dependent	With columns dependent	
Lambda	0.13333	0.00000	0.20000	N.S.
Uncertainty Coeff.	0.04342	0.04847	0.03932	VII
Somer's D	0.22857	0.20000	0.26667	

Summary Statistics for Contingency Tables (page 1)

Chi - square	D.F.	Significante		
11.8681	1	5.71028E-4		
9.37729	1	2.19690E-3 with Yates correction		
WARNING: Expected values in 1 cells < 5 and 0 cells < 2.				
Statistic	Symmetric	With row dependent	With columns dependent	
Lambda	0.33333	0.20000	0.42857	VIII
Uncertainty Coeff.	0.24309	0.26149	0.22711	p = 0.002
Somer's D	0.54217	0.49451	0.60000	p < 0.01

Summary Statistics for Contingency Tables (page 1)

Chi - square	D.F.	Significante		
1.90476	1	0.167546		
0.685714	1	0.407626 with Yates correction	N.S.	
WARNING: Expected values in 2 cells < 5 and 1 cells < 2.				
Statistic	Symmetric	With row dependent	With columns dependent	
Lambda	0.00000	0.00000	0.00000	IX
Uncertainty Coeff.	0.08274	0.06909	0.10311	
Somer's D	0.21053	0.28571	0.16667	

Summary Statistics for Contingency Tables (page 1)

Chi - square	D.F.	Significante
2.82828	1	0.0926173
1.44300	1	0.229654 with Yates correction

WARNING: Expected values in 1 cells < 5 and 1 cells < 2.

Statistic	Symmetric	With row dependent	With columns dependent	
Lambda	0.00000	0.00000	0.00000	N.S.
Uncertainty Coeff.	0.10969	0.10007	0.12135	X
Somer's D	0.26365	0.30303	0.23333	

Summary Statistics for Contingency Tables (page 1)

Chi - square	D.F.	Significante
4.30222	1	0.0380626
2.88000	1	0.0896860 with Yates correction

WARNING: Expected values in 1 cells < 5 and 0 cells < 2.

Statistic	Symmetric	With row dependent	With columns dependent	
Lambda	0.00000	0.00000	0.00000	N.S.
Uncertainty Coeff.	0.10148	0.11043	0.09387	XI
Somer's D	0.32593	0.29333	0.36667	

Summary Statistics for Contingency Tables (page 1)

Chi - square	D.F.	Significante
3.87097	1	0.0491282
2.34170	1	0.125952 with Yates correction

WARNING: Expected values in 1 cells < 5 and 0 cells < 2.

Statistic	Symmetric	With row dependent	With columns dependent	
Lambda	0.00000	0.00000	0.00000	XII
Uncertainty Coeff.	0.13695	0.13340	0.14070	
Somer's D	0.31088	0.32258	0.30000	

Литература

1. BAILEY, W.R., SKOTT, E.G.: Diagnostic microbiology, Mosby Company, Saint Luis, 1970.
2. BEIGHTON, D., RUSSEL, R.R.B.; and HAYDAY, H (1981): The isolation and characterisation of *Streptococcus mutans* serotype h form Dental Plaque of Monkeys (*Macaca fascicularis*), *J.Gen.Microbiol.*; 123:271 -279.
3. BEIGHTON, D.; HAYDAY, H.; and WALKER, J. (1982): The Acquisition of *Streptococcus mutans* by infant Monkeys (*Macaca fascicularis*) and its Relationship to the initiation of Dental caries. *J.Gen. Microbiol.*; 128:1881-1892.
4. BEIGHTON, D.; HAYDAY, H.; RUSSEL, R.R.B.; and WHILEY, R.A. (1984): *Streptococcus acaciae* Sp.form Dental Plaque of Monkeys (*Macaca fascicularis*), *Int J. System Bactrial*, 34:332-335.
5. BEIGHTON, D. (1985): *Streptococcus mutans* and other streptococci from the Oral cavity, *Soc. ppl. Bacterial Tech series* 21:177-190.
6. BEIGHTON, D. (1986): A Simplified Procedure for Estimating the Level of *Streptococcus mutans* in the Mouth, *Br.Dent.J.* 160:329-330.
7. BEIGHTON, D.; RIPPON, H.R.; and THOMAS, H.E.C (1987): The distribution of *Streptococcus mutans* Serotypes and Dental caries Experience in a Group of 5-8-year-old English Schoolchildren. *Br.Dent.J.* 162:103-106.
8. БРАЈОВИЌ, М.: Прилог изучавању утицаја неких фактора плувачке на појаву зубног кариеса. - Докторска дисертација, Београд 1984.
9. BRATTHALL, D. (1969) :Imunodiffusion studies on the serological specificity of Streptococci resembling *Streptococcus mutans*. *Odontal Revy* 20:231-244.
10. BRATTHALL, D. (1970) :Demonstration of five serological groups of Streptococcal strains resembling *Streptococcus mutans*. *Odontal Revy*, 21:143-152.
11. BRATTHALL, D. (1972) :Immunofluorescent identification of *Streptococcus Mutans*. *Odontal Revy* 23:181-196.
12. CARLSSON, J. (1967a) :Presence of various types of non-haemolytic *Streptococcus* in dental plaque and in other sites of the Oral cavity in man. *Odont.Revy*, 18:55-71.
13. CARLSSON, J. (1968) :Dental plaque as a Source of salivary streptococci, *Odont.* 1968; 13- 19

14. CARLSSON,J.;SODERHOLM,G.;and ALMFELDT,I. (1969) : Prevalence of *Streptococcus sanguis* and *Streptococcus mutans* in the Mouth of Persons Wearing Full Dentures, *Arch Oral Biol.* 14:243-249.
15. CARLSSON,J.;GRAHNEN,H.;JOHNSSON,G. (1975) : Lactobacilli and Streptococci in the mouth of Children. *Caries Res* 9:333-339.
16. CARLSSON,P. (1988) :On the Epidemiology of mutans Streptococci, Thesis, LundUniversity, 1-104.
17. CARLSSON,PETER (1989) :Distribution of mutans Streptococci in populations with different levels of sugar consumption *N 2*:vol. 97-120.
18. CLARK,J.K. (1924) :On the bacterial factor in the Aetiology of dental caries, *Brit.J.Exp. Patol.* 5:141-147.
19. CLARK,W.B.;BAMMAN,L.L.;GIBBONS,R.J. (1978) : Comparative estimates of bacterial affinities and adsorption sites on Hydroxyapatite surfaces. *Infect Immun*, 19:846-853.
20. CLARK,W.B.;WHEELER,T.T.;LANE,D.D.;and CISAR,J.O. (1986) : Actinomyces Adsorption Mediated by Type - 1 Fimbriae, *J.Dent Res* 65:1166-1168.
21. CISAR,J.O.;SANDBERG,A.L. and MERGENHAGEN,S.E. (1984) : The Function and Distribution of Different Fimbriae on Strains of *Actinomyces viscosus* and *Actinomyces naeslundii*, *J.Dent Res*, 63:393-396.
22. CISAR,J.O. (1986) : Fimbrial Lectins of the Oral Actinomyces. In :*Microbial Lectins and Agglutinins :Properties and Biological Activity*, D.Mirelman, Ed.,New York,NY : John Wiley & Sons.p.p. 183-196.
23. COYKENDALL,A.L. (1974) : Four Types of *Streptococcus mutans* Based on their Genetic, Antigenic and Biochemical Characteristics *Journal of General Microbiol.* 1-83.
24. COYKENDALL,A.L. (1977) : Proposal to Elevate the subspecies of *Streptococcus mutans* to species status, Based on Their Molecular composition, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1-27.
25. CVETKOVIĆ,N.; TAVČIOVSKI,I.; STEVANOVIĆ,M.; KOVAČEVA,A.; POP-ACEVA, M.: Mikrobiološki naod na klinički zdrava emajlova površina; Zbornik na iznesenite trudovi na V Kongres na stomatoložite na Jugoslavija, 1972 - Skopje (1975).

26. CVETKOVIC,N.;STEVANOVIC,M.;TAVČIOVSKI,I.; KOVAČEVA, A.; Uloga tvrdih zubnih supstancija u održavanju i razvoju bakterija.; VI Kongres stomatologa Jugoslavije - Budva 1976; Zbornik radova I, 355 - 357.
27. CVETKOVIC,N.;ODJAKLIEVA,S.;STEVANOVIC,M.: Ispitivanje sadržine nekih mikroelemenata u gledji i zubni karies; IX Kongres stomatologa Jugoslavije, 10; 1988 - Ljubljana.
28. ELLEN,R.P. and GIBBONS,R.J. (1972) : M-protein Associated Adherence of Streptococcus pyogenes to Epithelial Surfaces; Prerequisite for Virulence, Infect Immun 5:826-830.
29. ELLEN,R.P. (1976) : Establishment and Distribution of Actinomyces viscosus and Actinomyces naeslundii in the Human Oral Cavity, Infect immun 14:1119-1124.
30. ELLEN,R.P.;SEGAL,D.N.; and GROVE,D.A. (1978) : Relative Proportions of Actinomyces viscosus and Actinomyces naeslundii in Dental Plaques Collected from Single Sites;J.Dent Res 57:550
31. ELLEN,R.P.;FILLERY,E.D.;CHAN,K.H.; and GROVE,D.A. (1980) : Sialidase - enhanced Lectin - like Mechanism for Actinomyces viscosus and Actinomyces naeslundii Hemagglutination, Infect immun 27:336-343.
32. ELLEN,R.P. (1985) : Specificity of Attachment as a Tissue-Tropic influence on Oral Bacteria. In: Molecular Basis of Oral Microbial Adhesion, S.E.Mergenhagen and B.Rosan, Eds., Washington, DC: Am.Soc.Microbial.,p.p. 33-39.
33. ELLEN,R.P.;BANTING,D.W.;FILLERY,E.D. Streptococcus mutans and Lactobacillus detection in the assessment of dental root surface caries risk . J Dent Res (1985), 64-1245-9.
34. EMILSON,C.G. (1983) : Prevalence of Streptococcus mutans with Different colonial Morphologies in Human Plaque and Saliva Scand J Dent Res 91:26-32.
35. EMILSON,C.G. and KRASSE.B. (1985) : Support for an Implications of the Specific Plaque Hypothesis, Scand J Dent Res 93:96-104.
36. FALKER,W.A.;MONGIELLO,J.R.; and BURGER,R.W. (1979) : Haemagglutination inhibition and Aggregation of Fusobacterium nucleatum by Human Salivary Mucinosus,Arch Oral Biol. 24:483-486
37. GIBBONS,R.J.;BANGHART,S.B. : Synthesis of extracellular dextran by cariogenic bacteria and 1st presence in human dental plaque. Arch Oral Biol. (1967) ; 12:11-24.

38. GIBBONS,R.J. and VAN HOUTE,J. (1971) : Selective Bacterial Adherence to Oral Epithelial Surfaces and 1st Role as an Ecological Determinant, *Infect Immun* 3:567-573.
39. GIBBONS,R.J. and VAN HOUTE,J. (1975) : Bacterial Adherence in Oral Microbial Ecology, *Ann Revs Microbiol* 29:19-44.
40. GIBBONS,R.J. (1977) : Adherence of Bacteria to Host Tissue, In: *Microbiology 1977*, D.Schlessinger, Ed., Washington, DC: Am. Soc. Microbiol. p.p. 395-406.
41. GIBBONS,R.J. and VAN HOUTE,J. (1980) : Bacterial adherence, and the Formation of Dental Plaques, In : *Bacterial Adherence*, E.H. Beachey, Ed. London : Champman and Hall, p.p. 61-104.
42. GIBBONS,R.J. (1980) : Adhesion of Bacteria to Surfaces of the Mouth In : *Microbial Adhesion to Surfaces*, R.C.W.Berkeley, J.M.Lynch, J.Melling, P.R.Rutter, and B.Vincent, Eds., Chichester, England : Ellis Horwood Lid.,p.p. 351-388.
43. GIBBONS,R.J. and ETHERDEN,I. (1982) : Enzymatic Modification of Bacterial Receptors on Saliva-treated Hydroxyapatite Surfaces, *Infect Immun* 36:52-58.
44. GIBBONS,R.J.,ETHERDEN,I.; and MORENO,E.C. (1983) : Association of Neuraminidase - sensitive Receptors and Putative Hydrophobic Interactions With High Affinity Binding Sites for *Streptococcus sanguis* CS in Salivary Pellicles, *Infect Immun* 42:1006-1012.
45. GIBBONS,R.J. (1984) : Adherent Interactions Which May Affect Microbial Ecology in the Mouth, *J Dent Res* 63:378-385.
46. GIBBONS,R.J.;COHEN,L; and HAY,D.I. (1986) : Strains of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*, Attach to Different Pellicle Receptors, *Infect Immun* 52:555-567.
47. GIBBONS,R.J. and HAY,D.I. (1988a) : Human Salivary Acidic Proline - rich Proteins and Statherin Promote the Attachment of *Actinomyces viscosus* LY 7 to Apatitic Surfaces, *Infect Immun* 56:439-445.
48. GIBBONS,R.J. and HAY,D.I. (1988b) : Adsorbed Salivary Proline - rich Proteins as Bacterial Receptors on Apatitic Surfaces. In : *Molecular Mechanisms of Microbial Adhesion*, L.M. Switalski, M.Hook, and E.Beachey, Eds., New York, NY : Springer - Verlag, p.p. 143-169.

49. GIBBONS,R.J.;HAY,D.I.;CISAR,J.O.; and CLARK,W.F. (1988) : Adsorbed Salivary Proline - rich Protein - 1 and Statherin are Receptors for Type - 1 Fimbriae of *Actinomyces viscosus* T-1 HV-J-1 on Apatitic Surfaces, *Infect Immun* 56:2990-2993.
50. HAY,D.I. (1967) : The Adsorption of Salivary by Hydroxyapatite and Enamel,*Arch Oral Biol.* 12:937-946.
51. HAY,D.I. (1983) : Human Glandular Salivary Proteins In : *CRC Handbook of Experimental Aspects of Oral Biochemistry*, E.P.Lazzari, Ed.;Boca Raton, FL:CRC Press Inc,p.p. 319-335.
52. HAY,D.I.; BENNICK,A.; SCHLESINGER, D.H.;MINAGUCHI, K.; MADAPALLIMATTAMG.; and SCHLUCKEBIER,S.K. (1988) : The Primary of Sixs Human Salvary Acidic Prolinerich Proteins (PRP-1, PRP-2, PRP-3, PRP-4, PIF-S and PIF-t), *Boichem J* 255:15-21.
53. JENSEN,B.;BRATTHALL,D. (1989) : A new method for the estimation of mutans streptococci in Human saliva. *J Dent Res* 1989; 68:468-471
54. JONES,G.W.; and ISACSSON,R.E. (1983) : Proteinaceous Bacterial Adhesion and Their Receptors, *Crit Revs Microbiol* 10:229-260.
55. KARAKASEVIC I SARADNICI :*Medicinska knjiga*, Beograd-Zagred;1967.
56. KARADJOV,O;KEZELE,D.;KUBUROVIC,D.;MARKOVIC,D.; : *Preparacija kaviteta III izdanje*, Decje Novine, Gornji Milanovac, 1986.
57. KITAWAKI,M.;IIJIMA,K.;NAKASHIZUKA,T.; and HAYAKAWA,T. (1983) : Neuraminidase Activity in Human Crevicular Fluid, *J Periodont Res* 18:318-320.
58. KONDO,W.;SATO,M.; and AZAWA,H. (1976) : Haemagglutinativ Activity of *Leptotrichia buccalis* cells and Their Adherence to Saliva - coated Enamel Powder, *Arch Oral Biol.* 21:363-369.
59. KRASSE,B. (1954) : Relationship between caries activity and the number of lactobacilli in the oral cavity. *Acta Odontol. Scand* 1954; 12:157-172.
60. KRASSE,B. (1984) : Can Mikrobiological Knowlende be Applied in Dental Practica for the Treatment and Prevention of Dental Caries, *J. Can Dent Assoe.* 50:221-223.
61. KRASSE,B. (1985) : *Caries risk, a practical guide for assessment and control.* Chicago:Quinysence Publishing bo.,1985

62. LOESCHE, W.J. (1986) : The Role of *Streptococcus mutans* in Human Dental Decau, *Mikrobiol Rev* 50:353-380.
63. MANDEL, I.D. and WOTMAN, S. (1976) : The Salivary Secretions in Health and Disease, *Oral Sci Revs* 8:25-47.
64. MAYRAND, D. and HOLD, S.C. (1988) : Biology of Asaccharolytic Black-pigmented *Bacteroides* Species, *Microbiol.Revs* 52:134-152.
65. MURRAY, P.A.; LEVINE, M.J.; TABAK, L.A. and REDDY, M.S. (1982) : Specificity of Salivary Bacterial Interactions : II. Evidence for a Lectin on *Streptococcus sanguis* with Specificity for a Neu Ac 2,3 Gal Beta 1,3 Gal Nac Sequence, *Biochem Biophys Res Commun* 106:390-396.
66. MURRAY, P.A.; LEVINE, M.J.; REDDY, M.S.; TABAK, L.A.; and BERGEY, E.J. (1986) : Preparation of a Sialic Acid-binding Protein from *Streptococcus mitis* KS 32 AR, *Infect Immun* 53:359-365.
67. OFEK, I. and PERRY, A. (1985) : Molecular Basis of Bacterial Adherence to Tissues. In : *Molecular Basis of Oral Microbial Adhesion*. S.E.Mergenhagen and B.Rosan, Eds., Washington, DC : AM Soc. Microbiol., p.p. 7-13.
68. OKUDA, K. and KATO, T. (1987) : Hemagglutinating Activiti of Lipopolysaccharides from Subgingival Plaque Bacteria, *Infect Immun* 55:3192-3196.
69. ПАНОВСКИ, Н. (1990) : Испитување на факторите одговорни за опстанокот на медицински значајните соеви на неспорогените анаеробни бактерии "in vitro" - докторска дисертација. Универзитет "Св. Кирил и Методиј", Медицински факултет Скопје 1990.
70. PERCH, B.KJEMS, E. and RAVAN, D. (1974) : Biochemical and serological properties of *Streptococcus mutans* from varios human and animal soureses, *Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. 13,82:357-370*.
71. RADOSAVLJEVIC, B. (1988) : Postupak izbiranja i identifikovanja *Streptococcus mutans* sojeva iz materijala dentalnog plaka. *Stomatol. Glas. Srbije*, 5., 351-356; Beograd, 1988.
72. SHKLAIR, I.L. (1974) : A biochemical seleme for the separation of the varieties of *Streptococcus mutans*. *Ares Oral Biol.*, 19:1079-1081.
73. SLOTS, J.R. and GIBBONS, R.J. (1978) : Attachment of *Bacteroides melaninogenicus* Supsp. *asaccharotycticus* to Oral Sufaces and 1st Possible Role in Colonisation of the Mouth and of Periodontal Pockets, *Infect Immun* 19:256-264.

74. SLOTS, J.R. and GENCO, R.J. (1985) : Black-pigmented *Bacteroides* Species, Capnocytophaga Species and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in Human Periodontal Disease : Virulence Factors in Colonisation, Survival, and Tissue Destruction, *J Dent Res* 63:412-421.
75. SUTTER, V.L.; CITRON, D.M.; EDELSTEIN, M.A.C.; FINEGOLD, S.M. : Wadsworth anaerobic bacteriology manual, 4th edition, 1985.
76. TOGELIUS, J.; KRISTOFFERSSON, K.; ANDERSSON, H. and BRATTHALL, D. (1984) : *Streptococcus mutans* in saliva : intraindividual variations and reaction to the number of colonised sites. *Acta Odontol. Scand* 42:157-163.
77. WATANABE, T.; OKATA, N.; MORISHITA, M.; and IWAMOTO, Y. (1981) : Correlation Between the Protease Activities and the Number of Epithelial Cells in Human Saliva, *J Dent Res* 60:1039-1044.
78. WATANABE, S. and DAWES, C. (1988) : The Effects of Different Foods and Concentrations of Citric Acid on the Flow Rate of Whole Saliva in Man, *Arch Oral Biol.* 33:1-5.
79. YAMAZAKI, Y.; EBISU, S. and OKADA, H. (1981) : *Eikenella corrodens* Adherence to Human Buccal Epithelial Cells, *Infect Immun* 31:21-27.
80. ZICKERT, I.; EMILSON, C.G. and KRASSE, B. (1982) : Effect of Caries Preventive Measures in Children Highly Infected with the Bacterium *Streptococcus mutans*, *Arch Oral Biol.*, 27:861-868.
81. ZICKERT, I.; EMILSON, C.G. and KRASSE, B. (1982) : *Streptococcus mutans*, *Lactobacilli* and Dental Health in 13-14-year-old Swedish children, *Community Dent Oral Epidemiology* 10:77-81.