

Универзитет св. "Кирил и Методиј"  
Стоматолошки факултет  
Скопје

УЛОГАТА НА STREPTOCOCCUS MUTANS И  
LACTOBACILLUS, ВО ЕТИО - ПАТОГЕНЕЗАТА НА  
ДЕНТАЛНИОТ КАРИЕС

(ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА)

Д-р. Соња Япостолека  
Клиника за болести на забите и стомонтот

Скопје, 2001 година

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

**УЛОГАТА НА STREPTOCOCCUS MUTANS И  
LACTOBACILLUS, ВО ЕТИО - ПАТОГЕНЕЗАТА НА  
ДЕНТАЛНИОТ КАРИЕС**

**(ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА)**

**Ass. М-р. Д-р. Соња Јакостолска  
Клиника за болести на забите и ендодонтот**

*Скопје, 2001 година*

**Ментор:**

**Проф. д-р Љутка Матовска dr. sci.**  
**Клиника за болести на забите и ендоонтот**  
**Стоматолошки факултет - Скопје**

**Членови на колисијата:**

**Претседател**   **Проф. д-р Славјанка Оцаклиевска dr. sci.**  
**Клиника за болести на забите и ендоонтот**  
**Стоматолошки факултет - Скопје**

**Проф. д-р Никола Пановски dr. sci.**  
**Институт за Микробиологија и Паразитологија**  
**Медицински факултет - Скопје**

**Проф. д-р Мирослава Стевановиќ dr. sci.**  
**Клиника за болести на забите и ендоонтот**  
**Медицински факултет - Скопје**

**Проф. д-р Миле Царчев dr. sci.**  
**Клиника за детска и превентивна стоматологија**  
**Медицински факултет - Скопје**

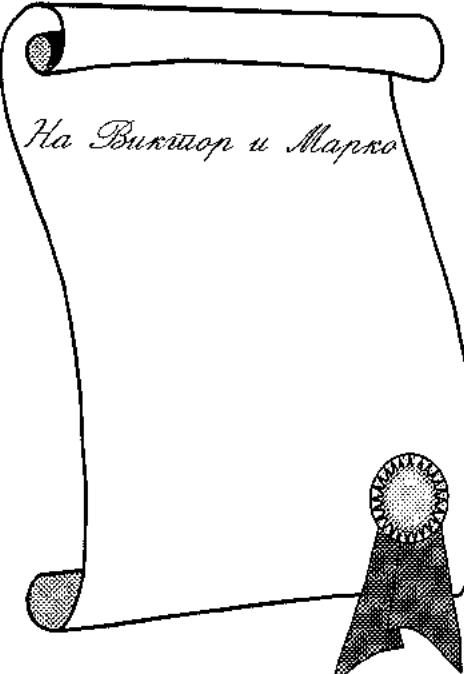
*Голема благодарност за корисните совети во текот на истражувањето и изразувам на мојата менторка  
Проф. д-р Љупка Матовска*

*Посебна благодарност му изразувам на Проф д-р Никола Пановски за помошта и корисните совети во текот на истражувањето, како и на  
Институтот за микробиологија и паразитологија при  
Медицинскиот факултет во Скопје*

*Се заблагодарувам на Институтот за медицинска биохемија на Медицинскиот факултет во Скопје*

*Сакам да се заблагодарам и на сите кои на било кој начин допринесоа во изработката и реализацијата на дисертационен труд*

*Авторот*



На Виктор и Марко

# **Содржина**

<b>1.Кратка содржина - Апстракт .....</b>	<b>1</b>
<b>2. Вовед .....</b>	<b>6</b>
<b>2.1. Преглед од литературата .....</b>	<b>6</b>
<b>2.1.1. Орална микрофлора - Екологија .....</b>	<b>6</b>
<b>2.1.2. Адхезија на оралните бактерии .....</b>	<b>11</b>
<b>3. Цел на истражувањето .....</b>	<b>16</b>
<b>4. Материјал.....</b>	<b>17</b>
<b>5. Метод и техника .....</b>	<b>19</b>
<b>5.1. Земање примероци за микробиолошко испитување .....</b>	<b>19</b>
<b>5.1.1. Земање примерок за одредување на квантитативната застапеност на <i>Streptococcus mutans</i> и <i>Lactobacillus</i> во плунката. ....</b>	<b>19</b>
<b>5.1.2. Земање материјал - примерок од емајлова површина на витални заби, за одредување на квалитативната застапеност на <i>Streptococcus mutans</i> и <i>Lactobacillus</i> .....</b>	<b>23</b>
<b>5.1.3. Земање материјал - примерок од кариозната содржина на соседните заби .....</b>	<b>24</b>
<b>5.1.4. Земање материјал - примерок за одредување на бројот и видот на останатите бактерии, присутни во плунката и одредување на pH на плунката.....</b>	<b>25</b>

<b>5.2. Микробиолошка обработка на примероците.....</b>	<b>25</b>
<b>5.2.1. Обработка на примероците за одредување на квантитативната застапеност на Streptococcus mutans и Lactobacillus во плунката .....</b>	<b>25</b>
<b>5.2.2. Обработка на примероците за одредување на квалитативната застапеност на Streptococcus mutans и Lactobacillus на емајловата површина на забите (модифициран метод на CRT bacteria) .....</b>	<b>27</b>
<b>5.2.3. Обработка на примерокот за изолација на аеробни бактерии .....</b>	<b>27</b>
<b>5.2.4. Обработка на примерокот за изолација на анаеробни бактерии .....</b>	<b>27</b>
<b>5.2.5. Полуквантитативно одредување на густината на растот на изолираните колонии .....</b>	<b>28</b>
<b>5.2.6. Идентификација на пораснатите колонии .....</b>	<b>29</b>
<b>5.2.7 Одредување на pH на плунката .....</b>	<b>30</b>
<b>5.2.8. Одредување на капацитетот на плунката .....</b>	<b>30</b>
<b>6. Резултати .....</b>	<b>32</b>
<b>6.1. Резултати од извршените микробиолошки испитувања на дентален плак кај I-та и II-та група испитаници (60 + 20).....</b>	<b>33</b>
<b>6.1.1. Полуквантитативни испитувања .....</b>	<b>33</b>
<b>6.2. Резултати од извршеното микробиолошко испитување на плунка кај испитаници од I-та и II-та група .....</b>	<b>69</b>

<b>6.3. Резултати од микробиолошкото испитување на кариозната содржина.....</b>	<b>77</b>
<b>6.3.1. Бактериологија на кариозен заб .....</b>	<b>77</b>
<b>6.4. Резултати од испитуваните pH вредности на мешана плунка .....</b>	<b>80</b>
<b>7. Дискусија .....</b>	<b>92</b>
<b>8. Заклучок .....</b>	<b>103</b>
<b>9. Литература .....</b>	<b>114</b>

---

## **Кратка содржина - Апстракт**

Трудот - докторската дисертација има за цел да ја испита и прикаже улогата на *Strptococcus mutans* и *Lactobacillus*, во етио - патогенезата на денталниот кариес, како и да се добијат нови сознанија (податоци) за: оралната микрофлора, pH на плунката и CRT - buffer капацитетот на плунката, кај испитаници со кариозно - несанирано забало, во однос на оние со здраво - интактно забало (контролна група).

Истражувањето беше извршено на 80 испитаници, од двата пола (машки и женски) на возраст од 18 до 30 години.

Испитаниците беа поделени во две групи:

- I-та група ја сочинуваа 60 испитаници внимателно одбрани со изразено кариозно забало; а
- II-та група (контролна) ја сочинуваа 20 испитаници исто така внимателно одбрани, со здраво - интактно забало.

За испитување, беа одбрани и земени само оние испитаници, кои во последниот месец пред почнување на испитувањето, не биле на антимикробен третман, ниту системски, ниту локално (усна празнина).

Од 80-те испитаници беа земени вкупно 1.020 примероци, за испитување на: дентален плак, плунка и кариозна содржина.

Примероците беа земени на Клиниката за болести на забите и ендодонтот на Стомалошкиот клинички центар во Скопје, непосредно по темелното чистење и испирање на емајловата површина со 3%  $H_2O_2$  и 75% алкохол (0 - време), по 4 и по 24 часа.

Микробиолошкото испитување беше извршено на Институтот за микробиологија и паразитологија, а одредувањето на pH на плунката на Институтот за медицинска биохемија на Медицинскиот факултет во Скопје.

CRT - buffer капацитетот на плунката, беше одредуван веднаш, по самото земање на примерокот.

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

#### Преглед на добиените резултати:

Кај сите 80 испитаници, земени непосредно по темелното чистење и испирање на емајловата површина, микробиолошкиот наод беше негативен (немаше бактериски раст). По 4 и по 24 часа, емајловата површина беше колонизирана со: аеробни и анаеробни грам + бактерии и анаеробни грам - бацили.

Во колонизирањето доминираа факултативно аеробните грам + коки од групата *Viridans*. Оваа група побрзо и во значително поголем број ја колонизира емајловата површина на забите во однос на другите видови микроорганизми, особено кај испитаниците со кариозно - несанирано забало.

По 4 и по 24 часа, пред и по испирање, мутанс стрептококите, сигнификантно побрзо и во статистички значајно, многу поголем број, ја колонизираат здравата емајлова површина, во однос на лактобацилите, особено кај испитаниците со кариозно забало,  $p < 0,01$ .

По 4 часа беа изолирани колонии на мутанс стрептококи со конфлуентен раст  $CFU > 10^7$ ,  $10^6-10^7$  и  $10^5-10^6$  кај 100% од испитаниците, а на лактобацили кај 88.3%. Кај испитаниците од контролната група не беа изолирани споменатите колонии ( $CFU > 10^7$ ;  $10^6-10^7$  и  $10^5-10^6$ ), туку поединечни колонии и колонии со конфлуентен раст, но со значително помал број:  $CFU < 10^2$ ,  $10^2-10^3$ ,  $10^3-10^4$  и  $10^4-10^5$ .

Во изолираните колонии на мутанс стрептококи, *Streptococcus mutans* беше застапен со 23%, *S. sanguis*, со 15%, а *S. mitis*, со 11%.

Грам позитивните бацили (освен *Actinomyces*, 10%), беа изолирани во многу помал процент: *Lactobacillus species*, со 4%, *L. casei*, со 3%, *L. fermenti*, со 2% и *L. brevis*, со 1%.

Кај испитаниците од контролната група (со здраво-интактно забало), со најголем процент, 7%, беше застапен *Streptococcus oralis intermedius* (*Viridans* и други) и *Neisseria*, со 3%. Мутанс стрептококите, беа застапени во

многу мал процент: *S. mutans*, со 2%, а *S. sanguis* и *S. mitis*, со 1%. Исто така, и лактобацилите беа застапени во помал процент, само 1%.

Облигателните грам позитивни коки и грам негативни бацили беа застапени само кај испитаниците со кариозно забало, но во значително помал процент.

По 24 часа, процентот беше зголемен за 1-2%, а испирањето на емајловата површина немаше влијание врз колонизирањето.

Во ml. плунка, *S. mutans*, исто така, беша застапен во значително поголем процент од *Lactobacillus species*, особено кај испитаниците со кариозно забало,  $p < 0,05$ .

Кај I-та група испитаници (со кариозно забало), беа изолирани колонии на *S. mutans* со конфлуентен раст и тоа: CFU  $> 10^6$ ,  $10^5\text{-}10^6$  и  $10^4\text{-}10^5$ , кај 100% од испитаниците, а на *L. species*, кај 78.3%.

Колонии со конфлуентен раст (CFU  $> 10^6$  и  $10^5\text{-}10^6$ ), кај испитаниците од контролната група (со здраво-интактно забало) не беа изолирани. Изолирани беа поединечни колонии и колонии со конфлуентен раст, но со многу помал број: CFU  $< 10^2$ ;  $10^2\text{-}10^3$ ;  $10^3\text{-}10^4$  и  $10^4\text{-}10^5$ .

Во плунката на пациентите (испитаници) со кариозно забало, доминираше кисела и слабо кисела pH вредност и тоа: кисела (pH 5.90-6.50), кај 51.6%, а слабо кисела (pH 6.55-6.99), кај 33.3% од испитаниците. Кај II-та (контролната) група испитаници (со здраво забало), пак, доминираше слабо базична и неутрална pH вредност. Конкретно, слабо базична (pH 7.01-7.51), кај 60%, а неутрална (pH 7.00), кај 30% од испитаниците.

Кај испитаниците од II-та (контролната) група не беше најдена, кисела pH вредност, а слабо кисела (pH 6.55-6.99), беше најдена само кај 2 испитаници или кај 10% од испитаниците,  $p < 0,01$ .

CRT-buffer капацитетот на плунката (ml. плунка во минута), и кај двете групи испитаници (60+20) беше во корелација со најдената pH вредност на плунката.

Кај испитаниците со кариозно забало, кај кои беше најден многу низок pH на плунката - pH 5.90-6.50 (кисела средина), CRT-buffer капацитетот на плунката беше многу низок (под 0.7 ml. плунка во минута). А кај испитаниците со здраво забало (контролна група), кај кои беше најден висок pH на плунката

- pH 7.01-7.51 (слабо базична средина), најден беше и висок CRT-buffer капацитет на плунката (над 1 ml. плунка во минута).

Кај испитаниците со кариозно забало доминираше низок и многу низок CRT-buffer капацитет на плунката. Низок (до 0.7 ml. плунка во минута) кај 41.6%, а многу низок (под 0.7 ml. плунка во минута), кај 33.3% од испитаниците. Додека, пак, кај II-та (контролната) група испитаници доминираше висок и среден CRT-buffer капацитет и тоа: висок (над 1 ml. плунка во минута), кај 65%, а среден (1 ml. плунка во минута), кај 25% од испитаниците.

Многу низок CRT-buffer капацитет на плунката, не беше најден кај испитаниците од II-та (контролната) група, а низок (до 0.7 ml. плунка во минута), беше најден кај 2 испитаници или кај 10% од испитаниците,  $p < 0,01$ .

Во примероците земени од кариозната содржина, беа најдени идентични видови микроорганизми-специеси, како и оние кои беа најдени во денталниот плак, земен од здрава емајлова површина на испитаникот.

Сите видови (освен непатогени најсерии), беа изолирани во многу поголем процент и тоа не само од оној најден на здравата емајлова површина, туку и од оној во плунката на испитаникот.

Ова особено беше изразено кај лактобацилите (*Lactobacillus species* и *L. casei*), кои во денталниот плак на здравата емајлова површина беа застапени во многу мал процент (4%, односно 3%), а во кариозната содржина, во многу голем процент (*L. species*, со 46%, а *L. casei*, со 15%).

Во значително поголем процент, беа застапени и мутанси стрептококите (*S. mutans*, со 37%; *S. sanguis*, 21% и *S. mitis*, 15%). Истото се однесува и на анаеробните грам позитивни коки: *Veillonella* беше застапена со 24%, *Peptostreptococcus* со 12%; а анаеробните грам негативни бацили беа застапени во значително помал процент: *Fusobacterium*, со 7% и *Bacteroides*, со 5%.

За статистичка обработка на резултатите, беа користени дескриптивни и аналитички статистички методи (фреквенции, проценти и пропорции), а за тестирање на нулта хипотезата: Ficher-ов тест на абсолютна веројатност,  $H_i$  - квадрат ( $\chi^2$ ) - тест на слагање и еднофакторска анализа на варијанса за атрибутивни обележја на набљудување (ANOVA за пропорции).

Нивоата на веројатност на остварување на нулта хипотеза “р”, беа 0,05 и 0,01 (според меѓународните стандарди за биомедицински науки).

Статистичката обработка беше извршена компјутерски, со помош на статистичка програма на Институтот за социјална медицина, статистика и истражување во здравството, при Медицинскиот факултет во Белград.

**Клучни зборови:**

- *емајл (глеј)*
- *бактерија (S.mutans, Lactobacillus)*
- *адхезија на бактерии*
- *дентален плак*
- *забен кариес*
- *плунка*
- *орална микрофлора*

---

## *Abstract*

The aim of this study – the Doctoral Dissertation, is to present the role of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* in the ethio-pathogenesis of dental caries, as well as to present new data about: oral microflora, pH of saliva and CRT – buffer capacity of the saliva of the examined patients with caries, i.e. with non-repaired teeth compared with those of healthy-intact teeth (the control group).

The research was done on 80 patients of both sexes (male and female) at the age of 18 to 30 years.

The examined patients were separated in two groups:

- The first group consists of 60 carefully chosen patients with expressed caries teeth, and
- The second group (controlled group) consists of 20 also carefully chosen patients with healthy-intact teeth.

For the research there were chosen and taken into consideration only those examined patients who did not have any anti-microbe treatment, neither a system nor a local (oral) treatment, within the last month before the research.

In total, 1020 samples were taken from the 80 examined patients for the purpose of doing the research of the: dental plaque, saliva and caries contents.

The samples were taken at the Clinic of Dental Pathology and Endodont at the Stomatology Clinic Center in Skopje, immediately after the basic cleaning and washing of the enamel surface with 3%  $H_2O_2$  and 75% alcohol (0 – time), after 4 and 24 hours respectively.

The microbiological research was done at the Institute of Microbiology and Parasitology, whereas the pH of the saliva was done at the Institute of Medicine Biochemistry at the Medicine Faculty in Skopje.

The CRT – buffer capacity of the saliva was determined immediately after the

sampling.

The research was done according to the same methodology with the both groups of examined patients.

#### **Results summary:**

The microbiological findings, taken immediately after the complete cleaning and washing of the enamel surface, with all of the 80 examined patients, were negative (there was no bacterial rising). After 4 and 24 hours, the enamel surface was colonized with: aerobe and anaerobe gram + bacteria and anaerobe gram – bacillus.

In the colonization, the aerobe gram + cocci of the Viridans group optionally dominated. This group colonized the enamel surface of the teeth pretty faster and in a rather bigger number compared with the other types of micro-organisms, particularly with the patients with caries – unrepaired teeth.

After 4 and 24 hours, before and after the washing, respectively, the mutans streptococcus significantly faster, which is statistically important, and in a rather bigger number colonized the healthy enamel surface, compared with the lactobacillus, particularly at the patients with caries teeth at  $p < 0,01$ .

After 4 hours, there were isolated the colonies of Streptococcus mutans with confluent increasing,  $CFU > 10^7$ ,  $10^6-10^7$  and  $10^5-10^6$  at the total of 100% of the patients and at 88,3% for the lactobacillus. The previously mentioned colonies ( $CFU > 10^7$ ,  $10^6-10^7$  and  $10^5-10^6$ ), were not isolated with the control group of the examined patients, but separate colonies and colonies with confluent rising were found, however with a particularly lower number:  $CFU < 10^2$ ,  $10^2-10^3$ ,  $10^3 - 10^4$  and  $10^4 - 10^5$ .

In the isolated Streptococcus mutans colonies, the Streptococcus mutans was present with 23%, S. sangius with 15%, and S. mitis with 11%.

Gram-positive bacillus (except for Actinomyces, 10%) were isolated in a rather lower percentage: Lactobacillus species with 4%, L. casei with 3%, L. fermenti with 2%, and L. brevis with 1%.

With the examined patients of the control group (with healthy intact teeth), Streptococcus oralis intermedius (Virindas, etc.) were present with the highest percentage – 7%, and Neisseria with 3%. The Streptococcus mutans were present at a very low percentage: S. mutans with 2%, whereas S. sanguis and S. mitis with 1%. The lactobacillus were also present at a very percentage, only 1%.

The obligatory gram-positive cocci and gram-negative bacillus were present only.

with the examined patients with caries teeth, however in a rather lower percentage.

After 24 hours, the percentage was increased for 1-2%, and the washing of the enamel surface did not have any influence on the colonisation.

In ml. saliva, *S. mutans* was also present in a rather higher percentage than the *Lactobacillus* species, particularly with the examined patients with caries teeth at  $p < 0,05$ .

With the First group of the examined patients (with caries teeth), there were isolated colonies of *S. mutans* with confluent rise, as follows: CFU  $> 10^6$ ,  $10^5-10^6$  and  $10^4-10^5$  with the total of 100% of the examined patients, and for *L. species* at 78,3% of the examined patients.

There were not isolated colonies with confluent rise (CFU  $> 10^6$  and  $10^5-10^6$ ), with the patients of the control group (with healthy teeth). There were isolated separate colonies and colonies with confluent rise, but in a rather lower number: CFU  $< 10^2$ ,  $10^2-10^3$ ,  $10^3-10^4$  and  $10^4-10^5$ .

In the saliva of the examined patients with caries teeth, dominated sour and poorly sour pH value, as follows: sour (pH 5,90-6,50) with 51,6%, and poorly sour (pH 6,55 – 6,99) with 33,3% of the examined patients. However, with the Second (control) group of the examined patients with healthy teeth, dominated poorly base and neutral pH value; more precisely, poorly base (pH 7,01 – 7,51) with 60% and neutral (pH 7,00) with 30% of the examined patients.

There was not found sour pH value with the examined patients of the Second (control) group, whereas poorly sour (pH 6,55 – 6,99) was found only with 2 patients, i.e. 10% of the examined patients,  $p < 0,01$ .

The CRT – buffer capacity of the saliva (ml. saliva per minute) was in a correlation with the found pH value of the saliva with the both groups of the examined patients.

With the patients with caries teeth, where very low pH of the saliva was found – pH 5,90 – 6,50 (sour environment), the CRT – buffer capacity of the saliva was very low (under 1 ml saliva per minute). Whereas with the patients with healthy teeth (the control group), where high pH of the saliva was found – pH 7,01 – 7,51 (poor base environment), there was also found high CRT – buffer capacity of the saliva (over 1 ml saliva per minute).

With the patients with the caries teeth dominated low and very low CRT – buffer

capacity of the saliva. The low CRT (up to 0,7 ml saliva per minute) with 41,6%, and very low (under 0,7 ml saliva per minute) with 33,3% of the examined patients. Yet, at the Second (control) group of the examined patients dominated high and medium CRT – buffer capacity, as follows: high CRT (over 1 ml saliva per minute) with 65%, and medium (1 ml saliva per minute) with 25% of the examined patients.

Very low CRT – buffer capacity of the saliva was not found with the patients of the Second (control) group, and low CRT (up to 0,7 ml saliva per minute) was found with 2 patients or 10% of the examined patients,  $p < 0,01$ .

In the samples taken from the caries contents, there were found identical types of microorganisms – species, as well as those that were found in the dental plaque, taken from the healthy enamel surface of the examined patients.

All the types (except for the non-pathogenic naisseriae) were isolated in a rather higher percentage, not only in the one found on healthy enamel surface, but in the one found in the saliva of the examined patients, as well.

This was particularly expressed with the *Lactobacillus* (*Lactobacillus* species and *L. casei*) that were present on the healthy plaque of the enamel surface in a very low percentage (4%, i.e. 3%), and in the caries contents in a very high percentage (*L.* species with 46% and *L. casei* with 15%).

In a significantly higher percentage there were also present the streptococcus (*S. mutans* with 37%; *S. sanguis* with 21% and *S. mitis* with 15%). This also applies with the anaerobe gram-positive cocci: *Veillonella* was present with 24%, *Peptostreptococcus* with 12%; and the anaerobe gram-negative bacillus were present in significantly lower percentage: *Fusobacterium* with 7% and *Bacteroides* with 5%.

Regarding the statistical processing of the results, there were used descriptive and analytical statistics methods (frequencies, percentages and proportions), and for testing the zero-hypothesis: the Ficher's test of absolute probability, \*\*\*\*\*the ( $\chi^2$ ) – test of concord and mono-factor analysis of the variants for attributive determination of monitoring (ANOVA for proportions).

The levels of probability for establishing the zero-hypothesis "p" were 0,05 and 0,01 (according to the international standards of biomedical sciences).

The statistical data were processed by a computer using the Statistical program from the Institute of Social Medicine, Statistics and Medical Researches at the Faculty of Medicine in Belgrade.

#### Key words:

- enamel

- adhesion of the bacteria

- bacteria (*S. mutans*, *Lactobacillus*)

- dental plaque

---

## **2. Вовед**

Кариесот е најмасовното и најзастапеното заболување кај цивилизираните човеки.

Иако одамна познато како заболување на забите, причините за неговото настанување, сè уште доволно не се познати. Голем број општи, локални, надворешни и внатрешни фактори, се доведувани во врска со етио-патогенезата на кариесот.

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 теории, тези и хипотези.

И покрај настојувањето, ниту една од споменатите теории, тези и хипотези, не дава целосен одговор на многу прашања за етио-патогенезата на кариесот.

Кај поновите научни истражувања, вниманието сè повеќе е свртено кон проучувањето на екологијата на комензалната микрофлора на оралната празнина и нејзината поврзаност со бактериолошкиот наод од кариозните маси, плунката и примарната бактериска имплантација на клинички здрава емајлова површина.

### **2.1. Преглед од литературата**

#### **2.1.1. Орална микрофлора - Екологија**

Устата, иако стерилна при раѓањето, подоцна, постојано е исполнета со голем број микроорганизми, со висок степен на физички, хемиски и биолошки својства.

Во почетокот, таа е колонизирана од микроорганизми за кои физичко-

хемиските свойства на непосредната средина, се погодни за нивното задржување, растење и размножување. Подоцна, метаболичките активности на оваа почетна микробна популација, ја менуваат средината и влијаат врз нејзиниот понатамошен состав и развиток.

Исто така, оралната микрофлора се менува и со: појавата на забите, развитокот на болестите, губењето на забите и ставањето протези.

По првите проучувања, се мислено 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 утврдуле дека дистрибуцијата на бактериите варира при различни состојби. Тие докажале дека иако составот и бактериската популација на плунката влијаат врз екологијата на оралната празнина, нејзината микрофлора се смета за преодна и потекнува главно од јазикот од букалната слузокожа и од денталниот плак.

Со следење на промените што се случуваат во оралната микрофлора од раѓањето, или со проучување на реколонизацијата на средината, Me Carthy et al. (1965) утврдиле дека предоминантни бактерии во устата на бебињата стари помалку од 24 часа се стрептококите, а од нив *Streptococcus salivarius* бил изолиран во 50 % од земените примероци.

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

Во првите неколку дена од животот на бебињата спорадично и во мал број се откриени стафилококи, најсериа, колиформни бацили, лактобацили, веilonели и фунги, (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).

*Streptococcus sanguis* и *Streptococcus mutans* не биле присутни во устите на бебињата пред појавата на забите, туку три месеци по нивната појава и тоа: *Streptococcus sanguis* постоел во сите усти, а *Strptococcus mutans* во дел од нив (Carlsson et al., 1970, б.)

Со појавата на забите, се зголемува и бројот на фузобактериите и *Actinomyces*.

**Оралната микрофлора на возрасните** е доста богата и разновидна.

Содржи повеќе од 300 видови различни микроорганизми, од кои најчесто и во најголем процент, биле изолирани мутанс стрептококите и лактобацилите.

**Лактобацилите** спаѓаат во групата на микроаерофилните грам + бацили. Во оралната микрофлора, обично, се застапени со 1%, но при намален - низок pH на плунката, нивниот сооднос (процентуална застапеност), може да биде зголемена и на 2-3%, а при значителни оштетувања (деминерализација) на емајловата површина на забите и до 18%.

Многу одамна, Robertson (1835), Muller (1882), Fosolih и Hutchison (1886), мислеле дека **лактобацилите**, заради **нивната ферментативна способност**, поседуваат кариогени особини и истите ги сметале за главен етиолошки фактор во започнувањето и настанувањето на забниот кариес.

Подоцна, ова мислење било значително изменето, особено одкако Clark (1924), го пронашол и го описал новиот вид стрептококи (мутанс стрептококите).

**Bergey's (1957)**, ги поделил лактобацилите во 2 групи **според ферментативните особини**,

**I хомоферментативни**, кои како краен производ на ферментацијата создаваат млечна киселина и

**II хетероферментативни**, кои покрај млечна киселина, како краен производ создаваат : оцетна киселина, алкохол и CO<sub>2</sub>.

Натаму според оптималната татемпературна граница, Bergey's исто така ги поделил во две групи:

**1. хомоферментативни лактобацили со оптимална температурна граница од 28-32°C (L.casei, L.plantarum и L.leichmanni) и**

**2. хомоферментативни, со оптимална температурна граница од 37-60°C (L.caucasicus, L.lactisDorner, L.bulgaricus, L.bifidus, L.acidophilus, L.helveticus, L.termophilus и L.delbrueckii), како и:**

**1. хетероферментативни лактобацили со оптимална температурна граница од 28-32°C (L.pastorianus, L.buchneri и L.brevis) и**

**2. хетероферментативни, со оптимална температурна граница од 35-40°C (L.fermenti).**

Подоцна, Mary Briggs (1953), извршила физиолошка класификација на

лактобацилите и ги поделила во 8 групи, од кои првите шест им припаѓаат на хомоферментативните, а последните 2 на хетероферментативните.

Две години подоцна, E.Sharape (1955), направил серолошка класификација, која ги дели лактобацилите во 6 групи.

Marsh и Martin (1996), идентификувале неколку видови хомо и хетероферментативни лактобацили, кои од гликозата произведуваат лактат или лактат и ацетат (*L.acidophilus* sensu stricto, *L.crispatus*, *L. gasseri* и *L.rhamnosus*). Но, најчесто изолирани видови од оралната празнина биле: *L.rhamnosus*, *L.cassei* и *L.species*.

**Лактобацилите** можат да поднесат многу ниска pH од 4,0 до 3,0, но нивниот оптимален pH на средината се движи, околу pH 6,0.

**Плунката** има важна улога во неутрализирањето на киселините во оралната празнина.

Оваа способност на плунката се базира на неколку системи, а како најважни, најчесто, се потенцираат : **фосфатниот систем и системот на карбонска киселина (бикарбонат)**.

Докажано е дека кај нестимулирана плунка, концентрацијата на неорганскиот фосфат е доста висока, а концентрацијата на системот на карбонска киселина (бикарбонат), ниска. За разлика од ова, кај зголемена секреција (стимулирана плунка), системот на карбонска киселина (бикарбонат) покажува повисока концентрација, поради што, тој се смета за најважен ублажувач на киселините во оралната празнина.

**Според истражувањата кои се вршени во последните две децении,** во бактериолошкиот наод на кариозната маса, плунката и емајловата површина на забите, најчесто и во најголем процент, биле изолирани мутанс стрептококите.

Zichert et al (1982) и Crasse and Togelius (1984), мислат дека зголемениот број на мутанс стрептококи во плунката е во директна врска со нивната колонизација на забите и дека тие можат да послужат како индикатор за ризик од кариес.

Emilson and Crasse (1985) и Loesche (1986), мутанс стрептококите ги сметгаат за главни кариогени агенси во етиопатогенезата на денталниот кариес

кај човекот и експерименталните животни.

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

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

Bratthall (1969 и 1970), извршил серолошка идентификација на истите и ги означил со мали букви од абецедата: 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 сместил во V биотипови. А Coykendall (1974), со техника на хибридизација, пристапил кон диференцијација на седумте серолошки групи според содржината на Guanin-citozinot во DNK и врз основа на Мол% во Guanin-citozinot, *Streptococcus mutans* го издиференцирал во V генотипски групи и 5 подвидови, за кои предложил и номенклатура.

Според истражувањата на Crasse (1989), од денталниот плак на емајловата површина, на здрави- интактни заби, најчесто, биле изолирани: ***Streptococcus mutans*** (серотиповите c, e и f) и ***Streptococcus sabrinus*** (серотиповите d и g), а лактобацилите, обично, биле застапени со помалку од 1%.

Исто така, интересен е и податокот дека во мешана култура, при намален - низок pH (4,5 до 5,5), бројот на ацидофилните бактерии (*S.mutans*,*L.rhamnosus* и *Veillonella*) се зголемувал, а бројот на ацидосензитивните врсти (*fusobacterium nucleatum*, *Prevotela nigresens*, *S.gordonii* и *S.oralis*) се намалувал. (Bradshaw DJ, March PD 1998).

Одиспитуваната содржина на длабок кариес, според Saini S, Mahajan A, Sharm J.K (1999), најчесто и во најголем процент, биле изолирани:

- од аеробните грам + коки : Streptococcus mutans 48% и Streptococcus sanguis 20%;
- од микроаерофилните и анаеробни грам + бацили: Lactobacillus species 52%, Actinomyces 12 % i Bifidobacterium 11%;
- од анаеробните коки: Veillonella 24% и Peptostreptococcus 10% ; а
- од анаеробните грам - бацили:Fusobacterium 7% и Bacteroides 6%.

Според истражувањата во последната деценија, во микрофлората на здрава емајлова површина, секогаш доминантни биле аеробните грам + коки, а кај испитаниците со кариозно забало, оралната микрофлора се менувала, од факултативно аеробна, до грам + анаеробна.

Од емајловата површина на забите и плунката, најчесто и во најголем процент 48 %, биле изолирани мутанс стрептококите, а во кариозната содржина, во најголем процент, биле застапени лактобацилите (L.species), 52%.

Со оглед на тоа дека мутанс стрептококите и лактобацилите, најчесто и во најголем процент, биле изолирани од оралната празнина (кариозна содржина, плунка и дентален плак) , за нив, голем број на истражувачи мислат дека тие можат да бидат или се главен етиолошки фактор во започнувањето и настанувањето на забниот кариес.

### 2.1.2. Адхезија на оралните бактерии

Голем интерес во натамошните истражувања предизвика адхезијата на оралните бактерии и нивната корелација со колонизацијата на забните површини.

Се мислено дека познавањето на начинот на прилепување за забната површина, ќе даде молекуларни објаснувања за тропизмот на бактериите и започнувањето на кариозниот процес.

Gibbons and Van Houte (1980), утврдиле дека бактериите на оралната шуплина покажуваат забележителен тропизам во наследувањето на одделни

орални површини. Така на пример: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Actinomyces viscosus* и *Bacteroides gingivalis* (*Porphyromonas gingivalis*), воглавно, се наследуваат на забите, *Streptococcus salivarius* на задниот дел од јазикот, а *Streptococcus mitis* на букалната служокожа и на забите.

**Интересен е заклучокот дека некои видови бактерии не ги наследуваат 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 *Bacteroides gingivalis* (*Porphyromonas gingivalis*), кои не се сретнуваат во устата на бебињата сè 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; Mayrand and Holt 1988).**

Адхезијата на оралните бактерии има големо значење и улога во 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; и Parker et Creamer, 1971 ), значајна улога им се придава на шеќерите, особено на декстранот, бидејќи сите кариогени стрептококи, во присуство на сахароза, продуцираат екстра целуларен декстрран 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.

За разлика, пак, од нив, Скоро, Hay et al., (1971), позначајна улога му придаваат на саливарниот гликопротеин, кој се адхерира на хидрокси апатитот. И Saxton (1971, 1972) мисли дека саливарната компонента е поважна, бидејќи може селективно да делува врз адсорцијата на поединечни микроорганизми или групи на бактерии на површината на забите.

Оралните бактерии за прилепување - адхезија на забите, за да не бидат отстранети-испирани од оралните течности, користат електростатички и хидрофобични сили од ниска специфика. Сепак, понекогаш, тоа не е доволно за добра адхезија, бидејќи некои бактерии на нивните површини поседуваат еден вид протеини, таканаречени "адхезини" кои се поврзуваат - прилепуваат

на површината на начин кој е стереохемиски специфичен, се до комплементарни молекули - "рецептори", како што мислат Gibbons (1980), Jones and Isacsson (1983).

Ензимите, особено неураминидазите и протеазите, делуваат на тој начин, што ги уништуваат "рецепторите" на некои бактерии, а истовремено, создаваат "криптомопи" за други (Watanabe et al., 1981).

Потенцијалот на исураминидазите и одредени протеази да создаваат "криптомопи", може да влијае и врз промената на оралната флора на бактериите, од бенитна воглавно, на стрептококи и други грам позитивни микроорганизми, до оние кои се доминантни - грам негативни, а кои се поврзани со периодонталната деструкција (Kitawaki et al., 1983).

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

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

Познато е дека *Actinomyces viscosus* и *Actinomyces naeslundi* синтетизираат неураминидази, кои го овозможуваат нивното прилепување - адхезија за површината, а додека, пак, *Streptococcus mitis* и *Streptococcus sanguis*, поседуваат "адхезини" кои се сврзуваат за "рецепторите" на сиалик 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 хромотографски фракции на примероци на паротидна и субмандибуларна плунка и хидрокси - апатитни зрна. Истите биле третирани со соодветни фракции, за да се создадат експериментални пеликули, слични на оние што се формираат на површината на глეѓта со селективна адсорција на компоненти од оралните течности и апатитните минерали на гледта.

Студиите покажале дека различни видови орални бактерии, покажуваат

забележително различни шаблони на поврзување со хидроксиапатитните зрна, третирани со делови на субмандибуларната и паротидната плунка.

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

За разлика од нив, *Bacteroides gingivalis*, покажале сосема различен профил на адсорбција - поврзување, додека, пак, *Streptococcus sabrinus*, третиран со било кои делови од плунката не се адсорбираше доволно добро за хидроксиапатитот.

Со електрофорезна анализа на плунката, е докажано 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 тоа 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 орални бактерии на површината на забите.

Во потрага по нови сознанија, бил испитуван и квалитативниот и квантитативниот аспект на примарната микробиолошка колонизација на емајловата површина, со цел да се видат разликите во колонизацијата, како во смисла на брзината на колонизацијата, исто така, и во смисла на разликите во видот и бројот на микроорганизмите.

Резултатите од нашите истражувања Ass.C.Апостолска - Еленчевска, Магистерски труд, 1994, укажаа на тоа дека примарна микробиота на раната бактериска имплантација се стрептококите од вириданс групата, а од нив најчесто изолирани видови, беа: *S.mutans*, *S.sanguis*, *S.mitis* и *S.salivarius*. Секој од овие видови беше докажан кај: 30-47% од испитаниците по два часа, 37-60% по 4 часа и 47-53% по 24 часа од темелното чистење на забните површини и земањето материјал за испитување.

Втора група бактерии која го наследува здравиот емајл, но поспоро од првата, се грам позитивните анаероби и микроаерофилни бацили, пред сè од родот *Actinomyces* (*A.israelli* и *A.viscosus*), *Lactobacillus* и *Propionobacterium*. Секој од овие видови, исто така, е докажан: кај 10-17% по два часа, 17-30% по 4 часа и 27-30 % по 24 часа.

Стрептококите од вириданс групата и грам позитивните бактерии, сигнификантно побрзо, ја колонизираат здравата емајлова површина кај испитаниците со изразито кариозно забало, во однос на оние со здраво-интактно забало.

Од обликатните анаероби, најчесто се изолирани грам позитивните коки-*Peptostreptococcus* и *Veillonella*; 3-7 % по 2 часа, 10-17% по 4 часа и 23-27% по 24 часа. Додека, пак, грам негативните анаеробни бацили - *Bacteroides* и *Fusobacterium*, се изолирани само кај 10 % од испитаниците, иако доминираат во оралната микрофлора на човекот, заедно со анаеробните коки и стрептококи.

Непатогените најсерии, пак, двојно помалку се изолирани од емајловата површина од онаа на плунката. Најсериите, ниту во една студија, не се споменуваат како колонизатори на денталниот плак, туку само како транзиторно присутни контаминенти од плунката.

На ист начин како и присуството на непатогените најсерии може да се интерпретира и изолацијата на одделни непатоген стафилокок и дифтероиди (непатогени видови од родот *Corynebacterium*), .

Испитуваниот материјал од кариозните лезии, квалитативно, ги содржи истите бактериски видови изолирани од површината на здравиот емајл на забите, а квантитативно, разликите се големи. Сите видови, со исклучок на нелатогените најсерии, се во многу поголем број, и тоа не само од оној вид најден на здравата емајлова површина, туку и од оној кој тие видови го претставуваат во плунката на испитаникот.

---

### **3. Цел на истражувањето**

Основна цел на трудот е да се испита улогата на *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus species* во этиопатогенезата на денталниот кариес кај возрасни пациенти со кариес (испитувана група) и без кариес (контролна група), преку одредување и споредба на следните параметри :

- Квантитативната застапеност на *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus species* на здрава емајлова површина.
- Одредување на: времето, бројот и видот на микроорганизмите колонизатори на емајловата површина.
- Квантитативна и квалитативна застапеност на *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus species* на здравата емајлова површина при зголемена и намалена pH на плунката.
- Диференцирање на микроорганизмите колонизатори од микроорганизмите контаминанти.
- Квантитативна застапеност на *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus species* во плунката.
- Одредување на бројот и видот на останатите бактерии присутни во плунката.
- Одредување на видот и бројот на микроорганизмите изолирани од кариозните лезии на соседните заби (само кај испитуваната група).

Истражувањето ја опфаќа и проценката на добиените резултати, статистичката обработка на истите, како и интерпретација на разликите во резултатите помеѓу двете групи.

---

## **4. Материјал**

Истражувањето е вршено на 80 испитаници, од двата пола (машки и женски), на возраст од 18 до 30 години. Испитаниците беа поделени во две групи:

**I-та група** ја сочинуваа 60 испитаници, внимателно одбрани, со изразено кариозно-несанирано забало, кои дошле на лекување на Клиниката за болести на забите и ендодонтот на Стоматолошкиот клинички центар во Скопје и стоматолошката ординација на МУЦ “Д-р Панче Карабазов” - Скопје.

**II-та група (контролна)** ја сочинуваа 20 испитаници, студенти и ученици на Стоматолошкиот факултет во Скопје и МУЦ “Д-р Панче Карабазов” - Скопје, кои, исто така, беа внимателно одбрани, со интактно, здраво и санирано забало.

За испитување, беа одбрани и земени само оние испитаници, кои во последниот месец пред почнување на испитувањето, не биле на антимикробен третман, ниту системски, ниту локално (усна празнина).

**Од 80-те внимателно одбрани испитаници, за испитување беа земени вкупно 1020 примероци и тоа:**

- **940 примероци за микробиолошко испитување , од кои:**
  - **720 примероци од вестибуларна емајлова површина на интактни заби, за одредување на микробната колонизација - контаминација непосредно по темелното чистење (0) и во два временски интервала (4 и 24 часа) пред и по испирање на емајловата површина (400 примероци за класичниот и 320 примероци за модифицираниот метод со CRT - bacteria комплетот).**
  - **60 примероци од кариозни лезии на соседните заби;**
  - **80 примероци на плунка, за одредување на вкупната микрофлора на**

плунката;

- 80 примероци, за одредување на квантитативната застапеност а *Streptococcus Mutans* и *Lactobacillus species* во плунката, со CRT-Bacteria и
- 80 примероци за одредување на pH на плунката и CRT buffer капацитетот на плунката.

Микробиолошкото испитување беше извршено на Институтот за микробиологија и паразитологија, а одредувањето на pH на плунката, на Институтот за медицинска биохемија на Медицинскиот факултет во Скопје. CRT buffer капацитетот на плунката беше одредуван веднаш, по самото земање на примерокот.

**За време на испитувањето, беше користена следната апаратура:**

- VITEK sistem, bio Merilux - Francija, високо софистициран систем за дефинитивна идентификација на пораснатите колонии;
- pH метар Сутјеска; и
- персонален преносен компјутер Dell Latitude, за анализа и обработка на добиените резултати.

---

## **5. Метод и техника**

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

Материјалот - примерок за испитување, беше земан во утринските часови, веднаш, непосредно по доаѓањето на испитаниците.

За време на испитувањето, оралната хигиена кај испитаниците беше прекината 24 часа.

### **5.1. Земање примероци за микробиолошко испитување**

#### **5.1.1. Земање примерок за одредување на квантитативната застапеност на *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus* во плунката.**

За одредување на квантитативната застапеност на *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus* во плунката, беше користен комплетот **CRT bacteria** (комерцијално набавени стрипови), производство на **VIVADENT, Schaan - Liechtenstein**

**Комплетот на CRT bacteria содржи:**

- **6 шишенца (стрипови)**, во коишто се наоѓа носачот на агар (микробиолошки медиум), заштитен со фолија од двете страни, едната со темно сина боја (за одредување на мутанс стрептококите), а другата со светло зелена (за одредување на лактобацилите);

- **6 таблети  $\text{NaCO}_3$  (бацитрацин)**, кој селективно го оневозможува растот на другите бактерии, а мутанс стрептококите и лактобацилите растат непречено;

- 6 топчиња парафин за стимулирање на секрецијата на плунка; и
- 6 пипети за накапување на плунка на микробиолошката подлога, која се наоѓа на носачот на стрипот.

**За време на испитувањето со CRT bacteria, испитаниците,**

- не земаат антибиотици, најмалку 2 недели;
- не ја плакнеа устата со некое антибактериско средство, најмалку 12 часа; и
- ја прекинаа оралната хигиена, 24 часа.

**Техника на земање на примероците.**

Материјалот - примерок за испитување, беше земен по претходно плакнење на устата со дестилирана вода, за механички да се отстранат остатоците од храна (со оглед на прекинатата орална хигиена).

Материјалот беше земан во стерилни шишенца (посебно наменети за таа цел) Сл. 1



Шишенцата беа претходно градуирани на 5ml., за да може земениот материјал, да се искористи и за одредување на CRT buffer капацитетот на плунката, исплукана за време од 5 минути, изразен во ml. плунка во минута.

По плакнењето на устата, на испитаникот му беше дадено да цвака топче од парафин, за стимулирање на секрецијата на плунката. Потоа, во шишенцето, испитаникот плукаше 5 пати (на секоја минута по еднаш). По секое плукање, веднаш беше одредувано нивото на исплуканата плунка (ml плунка во минута), како и капацитетот на излачената плунка за време од 5 минути.

Начинот на одредувањето на CRT buffer капацитетот на плунката, е прикажан на Сл. 2, а резултатите, веднаш беа внесувани во контролниот картон на испитаникот.



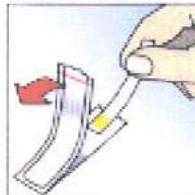
# CRT buffer

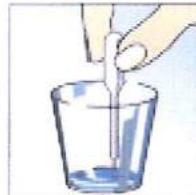


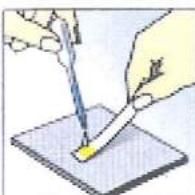
**STEP BY STEP**











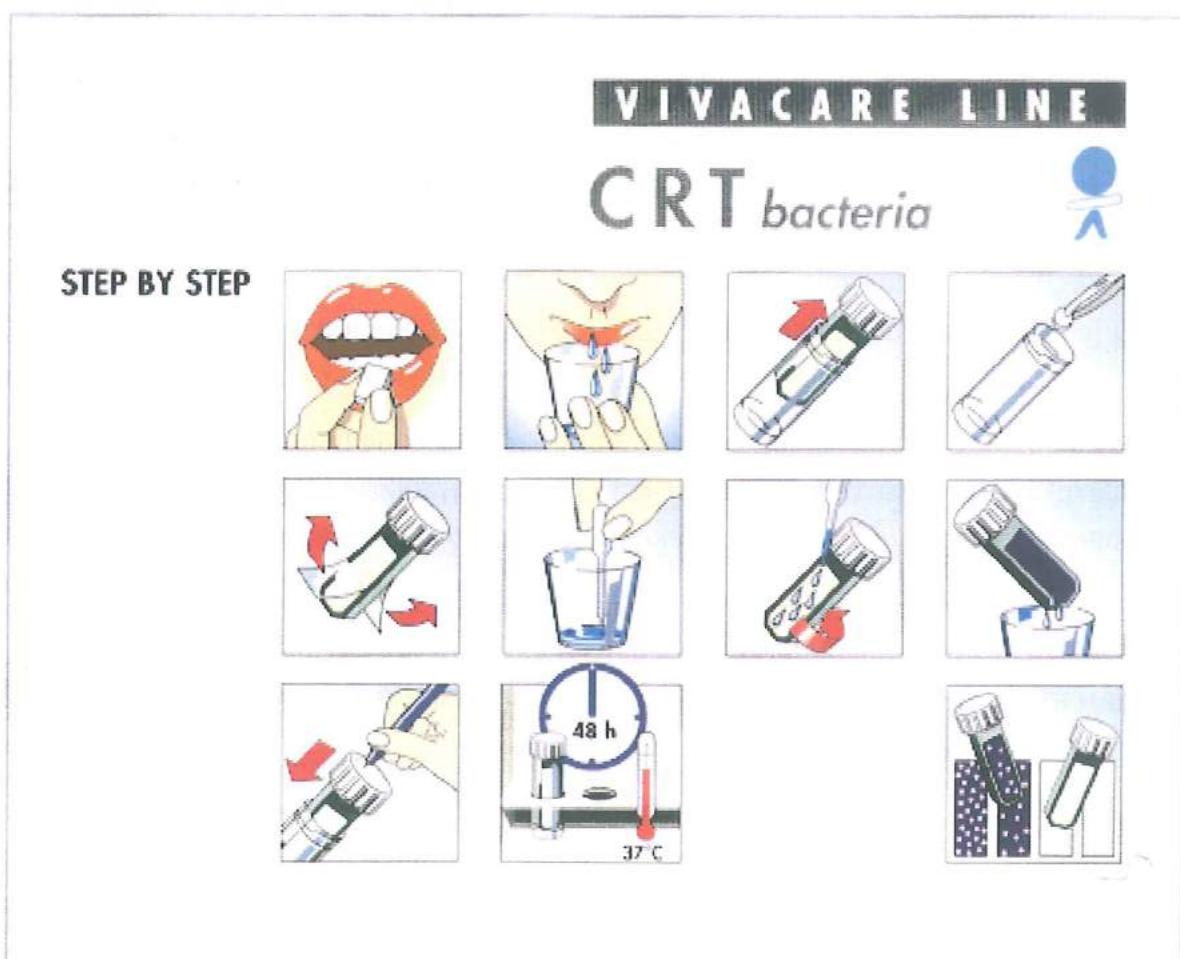




Одако беше одреден CRT buffer капацитетот на плунката, од шишенцето беше изваден носачот на агар, а потоа, на дното на шишенцето, беше ставена таблета на  $\text{NaCO}_3$  (бацитракин), кој селективно, го оневозможува растот на другите бактерии, а мутанс стрептококите и лактобацилите непречено растат и се размножуваат.

**По ставањето на таблетата, беше отстранета заштитната фолија на носачот на агар, од двете страни: едната со темно сина боја (за одредување на мутанс стрептококите), а другата, со светло зелена (за одредување на лактобацилите) и со помош на пипета од комплетот, тие беа обилно натопени со плунка од шишенцето.**

За време на натопувањето, носачот на агар беше држен малку накосо, за одвишокот на плунка да искаче на претходно ставената попивателна хартија **Сл3**. Потоа, носачот на агар беше вратен во шишенцето и цврсто затворен.



На капакот на шишенцето, со водоотпорно пенкало, беше запишано името на испитаникот и бројот на контролниот картон , а потоа, заедно со контролниот картон, земениот примерок беше испраќан на Институтот за микробиологија и паразитологија, за натамошна микробиолошка обработка и испитување.

#### **5.1.2. Земање материјал - примерок од емајлова површина на витални заби, за одредување на квалитативната застапеност на *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus***

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

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

Првиот примерок, за одредување на квалитативната застапеност на *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus* беше земан непосредно по чистењето, со остат стерилен инструмент (екскаватор), од вестибуларната емајлова површина на избраните заби. Земениот материјал, количински приближно 2-5 mg., веднаш и непосредно по земањето, беше аплициран на еден крај од петриевата плоча со Schaedler-ов крвен агар.

Потоа, беше запишано името на испитаникот и бројот на контролниот картон, а земениот примерок, заедно со контролниот картон, беше испраќан на Институтот за микробиологија и паразитологија, за микробиолошка обработка и испитување.

**По 4 и 24 часа, на ист начин и од истите забни површини, беа земени уште 4 примероци, 2 пред и 2 по испирање на емајловата површина со силен млаз на вода и воздух.**

Земањето на примероците, пред и по испирањето на забите, имаше за цел да се диференцираат пасивно присутните микроорганизми (контаминанти) од прилепените - "врзаните" (колонизатори).

И овие примероци, беа земани и аплицирани во петриеви плочи со Schaedler-ов крвен агар, а потоа испраќани на Институтот за микробиологија

и паразитологија, како и при земањето на првиот примерок.

**По 4 и 24 часа, на ист начин беа земени уште 4 примероци, при што беше користен модифицираниот метод на CRT bacteria.**

Земениот материјал кај овие примероци, веднаш и непосредно по земањето, беше аплициран - засаден на микробиолошки медиум (подлога), која се наоѓа на двете страни на носачот на агар: едната со темно сина боја (за одредување на мутанс стрептококите), а другата со светло зелена (за одредување на лактобацилите).

Аплицирањето на материјалот беше извршено по отстранувањето на заштитната фолија од носачот на стрипот и по ставањето таблета на  $\text{NaCO}_3$  (бацитракцин) на дното од шишенцето. Потоа носачот на агар, беше вратен во шишенцето и цврсто затворен.

Овие примероци по земањето беа испраќани на Институтот за микробиологија и паразитологија, на начин како и при земањето на првиот примерок, одкако претходно, на капакот на шишенцето, беше напишано името на испитаникот и бројот на контролниот картон.

### **5.1.3. Земање материјал - примерок од кариозната содржина на соседните заби**

Материјалот - примерок за микробиолошко испитување на содржината на кариозните маси од соседните заби, беше земен непосредно по земањето на материјалот за вториот примерок, и тоа со стерilen инструмент (екскаватор) од средна големина. При земањето на материјалот, се внимаваше да биде опфатен и дел од размекнатиот дентин.

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

#### **5.1.4. Земање материјал - примерок за одредување на бројот и видот на останатите бактерии, присутни во плунката и одредување на pH на плунката**

Материјалот - примерок за микробиолошко испитување и одредување на pH на плунката, од испитаниците беше земен 24 часа по земањето на првиот примерок, и тоа претпладне, во посебно наменети за таа цел стерилни шишенца, без предходно стимулирање на секрецијата (цвакање на парафин или некое друго стимултивно средство), по претходно плакнење на устата со дестилирана вода, за механички да се отстранат остатоците од храна (прекината орална хигиена).

По земањето, примероците за микробиолошко испитување беа испраќани на Институтот за микробиологија и паразитологија, како и на Институтот за медицинска биохемија, за одредување на pH на плунката , на ист начин како и другите примероци.

### **5.2. Микробиолошка обработка на примероците**

Обработката на примероците за микробиолошко испитување беше извршена на Институтот за микробиологија и паразитологија, а за одредување на pH на плунката на Институтот за медицинска биохемија на медицинскиот факултет во Скопје.

#### **5.2.1. Обработка на примероците за одредување на квантитативната застапеност на *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus* во плунката**

По добивањето на примерокот, истиот веднаш беше инкубиран во термостат на 37°C , 48 часа (бидејќи со самото земање на примерокот, фактички, се изведува и неговото засадување на микробиолошки медиум, содржан на носачот на агар - CRT bacteria.

По инкубацијата, пораснатите колонии, кога беа во помал број (**colony forming units - CFU**), веднаш беа изброени, а кога беа во поголем број, беа

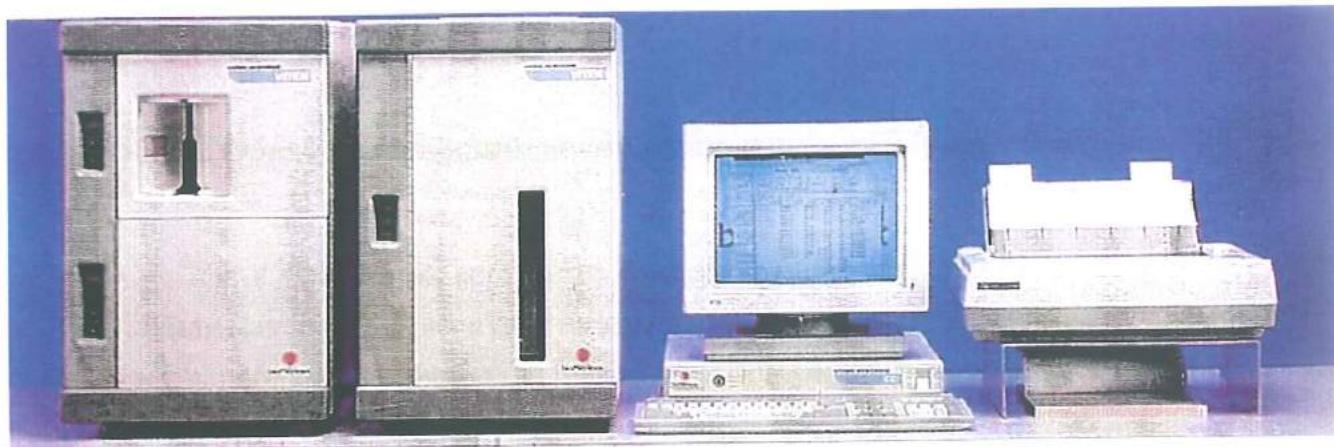
споредувани со стандардот даден во упатството на производителот и интерпретирани како: 1.000, од 10.000 - 100.000, 100.000 - 1.000.000 и > 1.000.000 CFU.

Колониите на мутанс стрептококите имаа бела боја на темно сина подлога, а на лактобацилите, сиво-бела боја на светло-зелена подлога.

Со броењето на колониите, беше одредуван и приближниот број клетки на бактериите, бидејќи, се смета дека од една клетка пораснува една колонија и истата се означува како “единица која формира колонија - Colony forming units (CFU)“

**Наодите од  $10^5$  CFU или повеќе мутанс стрептококи и лактобацили на ml. плунка, според стандардот на производителот даден во упатството на производителот, значат голем ризик од кариес.**

Дефинитивната идентификација на пораснатите бактерии, беше изведена со автоматизирана техника, користејќи го VITEK системот Сл.4, кој, за



кратко време, е во можност да одреди преку 500 видови микроорганизми, вклучувајќи ги следните: 7 видови *Actinomyces*, 13 видови *Bacteroides*, 5 видови *Corynebacterium*, 7 видови *Lactobacillus*, 8 видови *Neisseria*, 9 видови *Prevotella*, 22 видови *Streptococcus*, 16 видови *Candida* и други видови микроорганизми присутни во микрофлората на усната празнина.

Аларатот, истовремено, го покажува и процентот на точност на идентификацијата.

#### **5.2.2. Обработка на примероците за одредување на квалитативната застапеност на *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus* на емајловата површина на забите (модифициран метод на CRT bacteria)**

Обработката на примероците беше извршена на ист начин, како и обработката на примероците за кванитативната застапеност на *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus* во плунката.

#### **5.2.3. Обработка на примерокот за изолација на аеробни бактерии**

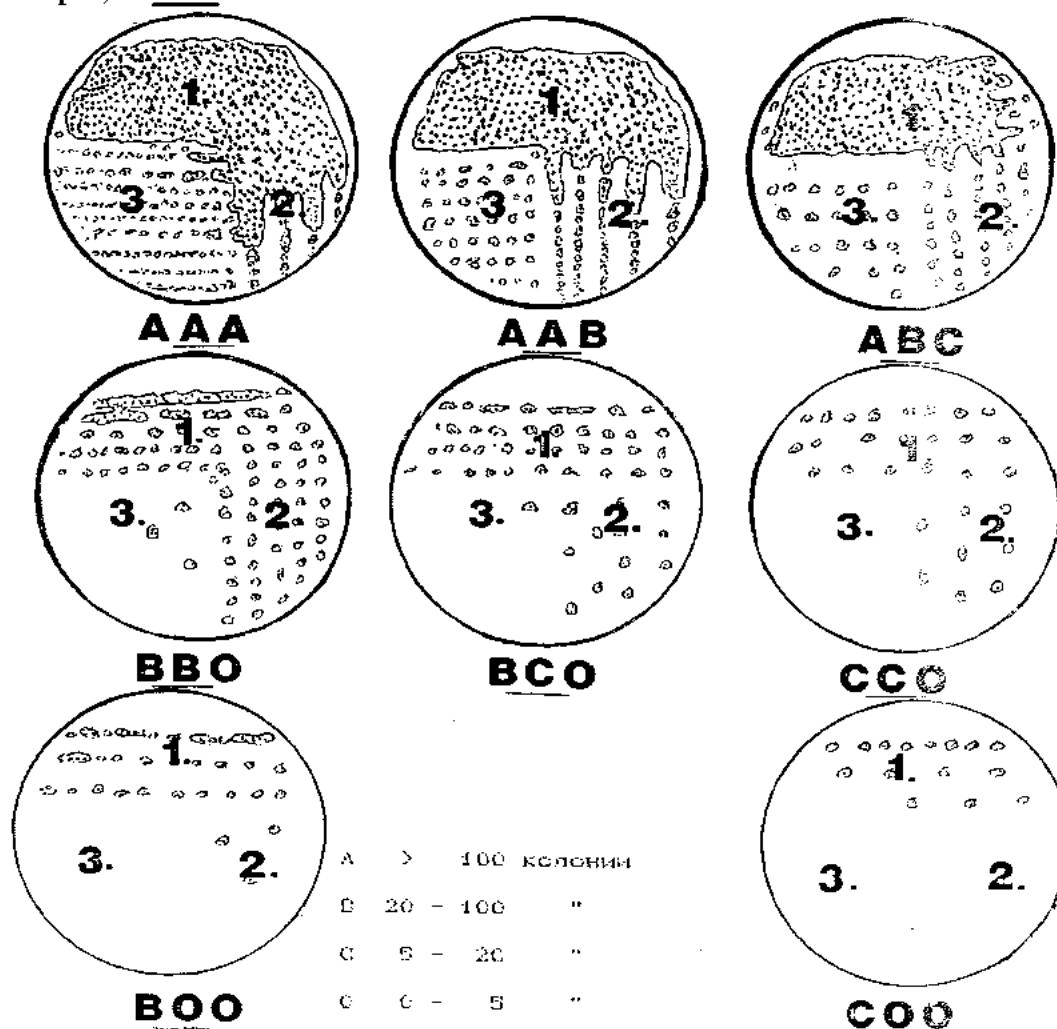
За изолација на аеробните бактерии, од секој земен примерок беше земан материјал и засадуван на хранителни подлоги од крвен агар за изолација на аеробни бактерии, кои, потоа, беа инкубиирани во термостат 24 часа на 37° C.

#### **5.2.4. 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 витамин K<sub>3</sub>, а потоа, инкубиран анаеробно во Macintosh лончи, 48 часа на 37° C.

### 5.2.5. Полуквантитативно одредување на густината на растот на изолираните колонии

За полуквантитативно одредување на густината на растот на изолираните колонии, засадувањето беше изведено на вообичаениот начин (рутинска обработка) за добивање изолирани колонии со разредување на три сектори од петриевата плоча, од веќе аплицираниот материјал (околу 2-5 mg.). Со помош на калибрирана еза со пречник од 4mm, беше расадуван материјалот до половина на петриевата плочка (сектор 1). Потоа, езата се стерилизираше со жарење и материјалот од последните две линии од секторот 1, се расадуваше на четвртината од долниот дел на петриевата плочка (сектор 2). На крајот, езата повторно беше стерилизирана и материјалот од последните две линии од секторот 2, беше расадуван на последната четвртина од петриевата плоча (сектор 3) - Сл.5.



На истиот начин, со помош на калибрирана еза со пречник од 4 mm, која може да зафати течност - плунка од 0.005 ml., беше засадувана и приближно точно определената количина на плунка. Преку одредување на густината на растот на бактериите, полуквантитативно се споредуваше бројот на микроорганизмите помеѓу приближно еднакви количини на дентален материјал и плунка.

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

**Критериум за адекватна количина - густина** на микроорганизмите во плунката на испитаникот, претставуваше густината на раст означена како **BBO, ABC, AAB или AAA**. Како изедначување на густината на растот на микроорганизмите засадени од емајловата површина, се сметаше онаа кога тие по одредено време, ја имаа истата формула (три исти букви), како што ја имаше и плунката кај истиот пациент (испитаник).

#### 5.2.6. Идентификација на пораснатите колонии

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

Дефинитивната идентификација на пораснатите бактерии беше извршена со автоматизирана техника, користејќи го Vitek системот bio Merilux - Francija, високо софтизиран систем - апарат за дефинитивна идентификација на пораснатите колонии. Апаратот, за кусо време, е во можност да одреди преку 500 видови микроорганизми, а истовремено, ја покажува и прецизноста на идентификацијата. Добиените резултати, веднаш беа внесувани во контролните картони на испитаниците.

### 5.2.7 Одредување на pH на плунката

Одредувањето на pH на плунката беше извршено на Институтот за медицинска биохемија на Медицинскиот факултет во Скопје, со помош на pH метар Сутјеска.

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 постојана. 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 што двете електроди на pH - метарот беа доволно длабоко потопени 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 вртен, така што неговата содржина околу електродите, постојано беше во движење, не мируваше.

Резултатите при мерењето беа читани со прецизност до втора децимала.

### 5.2.8. Одредување на капацитетот на плунката

Одредувањето на капацитетот на плунката (ml. плунка во минута), беше извршено со помош на градуирано шишенце (Сл.1), а одредувањето на CRT buffer капацитетот на плунката, беше извршено со помош на тест ленти, со специјален индикатор систем (Сл.2).

Капацитетот на излачената плунка за време од 5 минути, фактички, беше одреден со самото земање на примероците, а резултатите беа внесувани во контролниот картон на испитаниците.

Капацитетот на излачената плунка (ml плунка во минута) според стандардот на производителот, се сметаше за:

- **1 ml. плунка во минута**, се сметаше за нормален;
- **над 1 ml. плунка во минута**, се сметаше за висок;
- **до 0,7 ml. плунка во минута**, се сметаше за низок; и
- **под 0,7 ml. плунка во минута**, се сметаше за многу низок.

Резултатите на CRT buffer капацитетот на плунката, добиени со помош на тест ленти, беа читани 5 минути по натопувањето на тест лентата со плунка, кога и настануваше промена на бојата на тест лентата.

Притоа, висината на CRT buffer капацитетот на плунката зависеше од добиената боја на тест - лентата. Конкретно,

- **сината боја означуваше висок,**
- зелената боја - среден, нормален, а**
- жолтата, низок CRT buffer капацитет на плунката.**

Добиените резултати, веднаш беа внесувани во контролните картони на испитаниците.

---

## **6. Резултати**

Резултатите од извршеното истражување на 80 испитаници од двата пола (машки и женски), на возраст од 18 до 30 години, се прикажани на 28 табели и 28 графикони - дијаграми.

Статистички се обработени , вкупно 1.020 земени примероци: 720 од денталениот плак на вестибуларна емајлова површина, за квалитативно одредување на микробната колонизација - контаминација: непосредно по темелното чистење, по 4 и по 24 часа, пред и по испирање на емајловата површина на забите; 60 од кариозната содржина на соседните заби и 240 примероци на плунка; 80 за одредување на вкупната микрофлора на плунката; 80 за квантитативната застапеност на *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus* во плунката; и 80 за одредување на pH на плунката и CRT - buffer капацитетот на плунката.

За статистичка обработка на добиените резултати, без користени дескриптивни и аналитички статистички методи.

Од дескриптивните статистички методи, ги истакнуваме : фреквенциите, процентите и пропорциите, а за тестирање на нулта хипотеза :Fischer - овиот тест на абсолютна веројатност,  $H_i$  - квадрат ( $X^2$ ) - тестот на слагање и еднофакторската анализа на варијанса за атрибутивните обележја на набљудување (ANOVA за пропорции).

Нивоата на веројатност на остварување на нулта хипотеза "р" , беа 0,05 и 0,01 (според меѓународните стандарди за биомедицински науки).

Статистичката обработка беше извршена компјутерски, со помош на статистичка програма на Институтот за социјална медицина, статистика и истражување во здравството, при Медицинскиот факултет во Белград.

## 6.1. Резултати од извршените микробиолошки испитувања на дентален плак кај I-та и II-та група испитаници (60 + 20)

### 6.1.1. Полуквантитативни испитувања

*Табела 1 (група 1): Густота на раст на бактерии изолирани од дентален плак, на емајлова површина непосредно по темелното чистење (0), по 4 и по 24 часа, кај (60) испитаници со изразено кариозно - несанирано забало, пред испирање на емајловата површина на забите.*

Бактерии	време на земање на примерокот	густота на раст							од вкупно испитаници
		AAA	AAB	ABC	BBO	VCO	CCO	COO	
Аеробни бактерии	(0)	-	-	-	-	-	-	-	60
	по 4 часа	9	6	42	2	1	-	-	"
	по 24 часа	17	13	30	-	-	-	-	"
Анаеробни Грам + бактерии	(0)	-	-	-	-	-	-	-	"
	по 4 часа	45	13	2	-	-	-	-	"
	по 24 часа	54	6	-	-	-	-	-	"
Анаеробни Грам - бактерии	(0)	-	-	-	-	-	-	-	"
	по 4 часа	-	2	7	12	17	13	9	"
	по 24 часа	-	4	9	24	20	3	1	60

(0) ; Кај примероците земени непосредно по темелното чистење на емајловата површина на забите, микробиолошкиот наод беше негативен (немаше бактериски раст).

По 4 и 24 часа, изолирани беа аеробни и анаеробни грам+ бактерии и анаеробни грам- бацили.

Кај аеробните бактерии, доминираа изолираните колонии ABC; кај анаеробните грам+ бактерии, AAA; а кај анаеробните грам- бацили, BBO и VCO.

Густината на раст по 24 часа беше поголема во однос на онаа по 4 часа, а доминираа анаеробните бактерии, особено грам+ коки.

**Табела 1а (група 2): Бактерии изолирани од дентален плак на емајлова површина, непосредно по темелното чистење (0), по 4 и по 24 часа, кај (20) испитаници со здраво - интактно забало (контролна група), пред испирање на емајловата површина на забите.**

Бактерии	време на земање на примерокот	густина на раст							од вкупно испитаници
		AAA	AAB	ABC	BBO	VCO	CCO	COO	
Аеробни бактерии	(0)	-	-	-	-	-	-	-	20
	по 4 часа	-	-	5	3	12	-	-	"
	по 24 часа	-	-	10	7	3	-	-	"
Анаеробни Грам + бактерии	(0)	-	-	-	-	-	-	-	"
	по 4 часа	-	-	10	8	2	-	-	"
	по 24 часа	-	5	15	-	-	-	-	"
Анаеробни Грам - бактерии	(0)	-	-	-	-	-	-	-	"
	по 4 часа	-	1	2	5	7	2	3	"
	по 24 часа	-	1	3	5	8	2	1	20

(0); Микробиолошкиот наод беше негативен (немаше бактериски раст).

По 4 и по 24 часа, изолирани беа колонии на: аеробни и анаеробни грам+ бактерии и анаеробни грам- бацили.

Кај аеробните и анаеробните грам+ бактерии, доминираа изолираните колонии: ABC; а кај анаеробните грам- бацили, VCO.

Густината на раст кај изолираните колонии по 24 часа, исто така, беше поголема, како и кај I-та група испитаници.

**На табела 1 (група I) и табела 1а (група II), се прикажани резултатите од микробиолошкото испитување на дентален плак, земен од емајловата површина непосредно по темелното чистење (0), по 4 и по 24 часа, кај испитаниците од I-та и II-та група (60 + 20), пред испирање на емалјовата површина на забите.**

Кај примероците земени непосредно по темелното чистење на емајловата површина (0), микробиолошкиот наод кај двете групи испитаници (60+20), беше негативен (немаше бактериски раст).

Кај примероците земени по 4 и по 24 часа, микробиолошкиот наод беше

позитивен. Изолирани беа колонии на: аеробни и анаеробни грам+ бактерии и анаеробни грам- бацили.

Густината на раст кај изолираните колонии на : аеробни и анаеробни грам+ бактерии беше значително поголема, во однос на анаеробните грам-бацили, особено кај I-та група испитаници.

Кај I-та група испитаници (60), по 4 и по 24 часа, доминираа изолираните колонии: AAA, ABC, BBO и BCO. Кај анаеробните грам+ бактерии AAA кај аеробните ABC а кај анаеробните грам- бацили BBO по 4 часа, а BCO по 24 часа.

Кај II-та(контролната) група испитаници (20), доминираа ABC, кај аеробните и анаеробните грам+ бактерии, BCO кај анаеробните грам-бацили. Разликата е поголема кај испитуваната група (со изразено кариозно-несанирано забало), отколку кај контролната група (со здраво – интактно забало) што и статистички е потврдено.

#### 1. Аеробни бактерии

##### a) Кај изолираните колонии по 4 часа:

- AAA, AAB и BBO кај двете групи испитаници (60 + 20); немаше значајна статистичка разлика;  $p > 0,05$ (Fischer-ов егзактен тест);

- ABC и BCO;  $p < 0,01$ ; имаше значајна сигнификантна статистичка разлика

##### б) Кај изолираните колонии по 24 часа:

- ABC;  $p > 0,05$ ; немаше значајна статистичка разлика;

-AAA; AAB и BCO;  $p < 0,05$ ; имаше значајна сигнификантна статистичка разлика,

- BBO;  $p < 0,01$  имаше значајна сигнификантна статистичка разлика.

#### 2. Анаеробни грам+ бактерии

##### a) кај изолираните колонии по 4 часа;

- AAA и BCO;  $p < 0,05$ ; имаше значајна, сигнификантна статистичка разлика;

- AAA; ABC и BBO;  $p < 0,01$ ; имаше висока, сигнификантна статистичка разлика

б) кај изолираните колонии по 24 часа:

- AAB;  $p > 0,05$ ; немаше значајна, статистичка разлика,

- AAA и ABC;  $p < 0,01$ ; имаше висока, сигнификантна статистичка разлика.

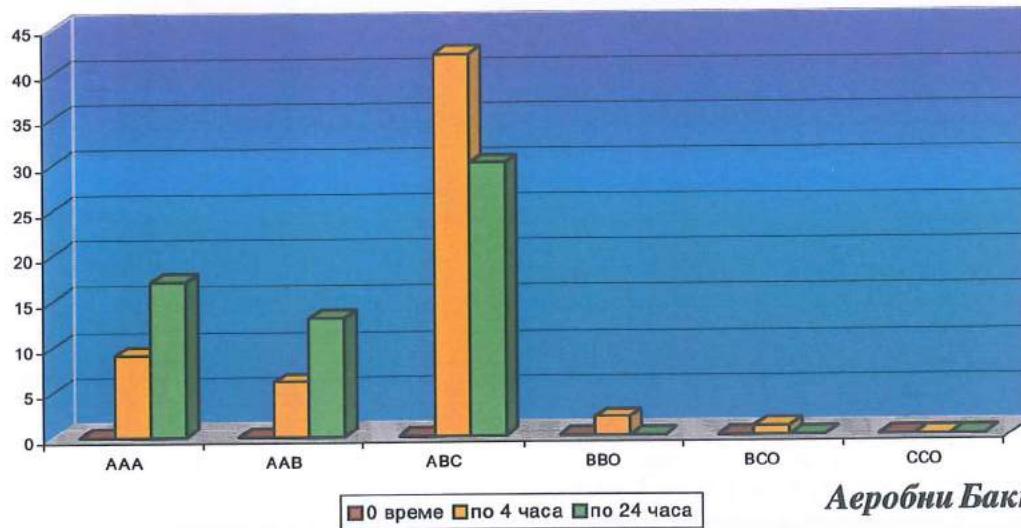
3. анаеробни грам - бацили

- кај изолираните колонии по 4 и 24 часа:

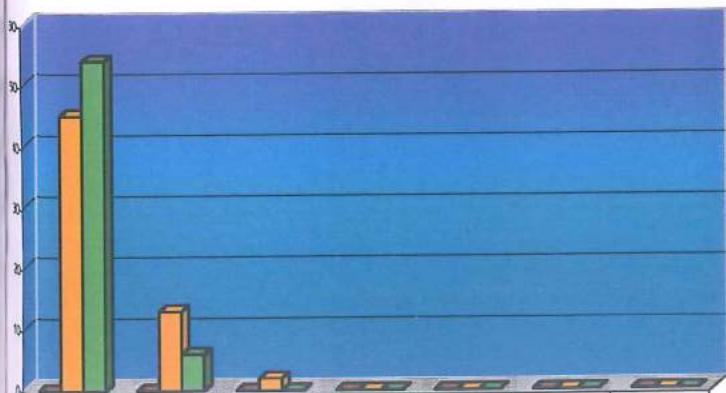
- AAB, ABC, BBO, BCO, CCO и COO;  $p > 0,05$ ; немаше значајна статистичка разлика, кај двете групи на испитаници (60 + 20)

Добиените резултати, се прикажани и графички на следните дијаграми, посебно за аеробни бактерии, анаеробни грам + бактерии и анаеробни грам - бактерии

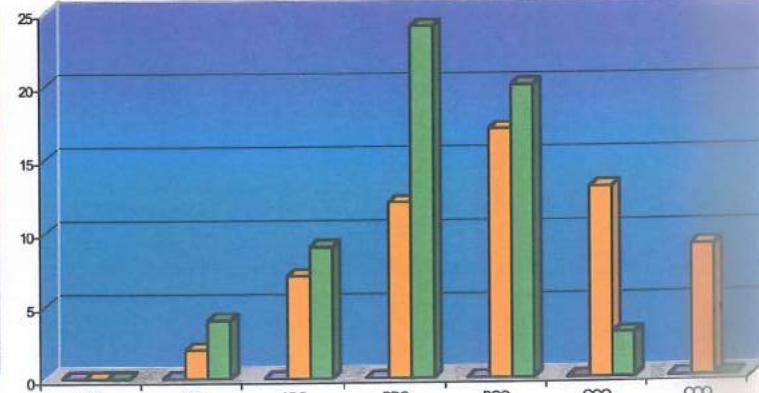
Графикон 1- гр. I: Густота на раст на бактерии од дентален плак на емајлова површина, непосредно по темелното чистење (0), по 4 и по 24 часа кај (60) испитаници со изразено кариозно - несанерирано забало



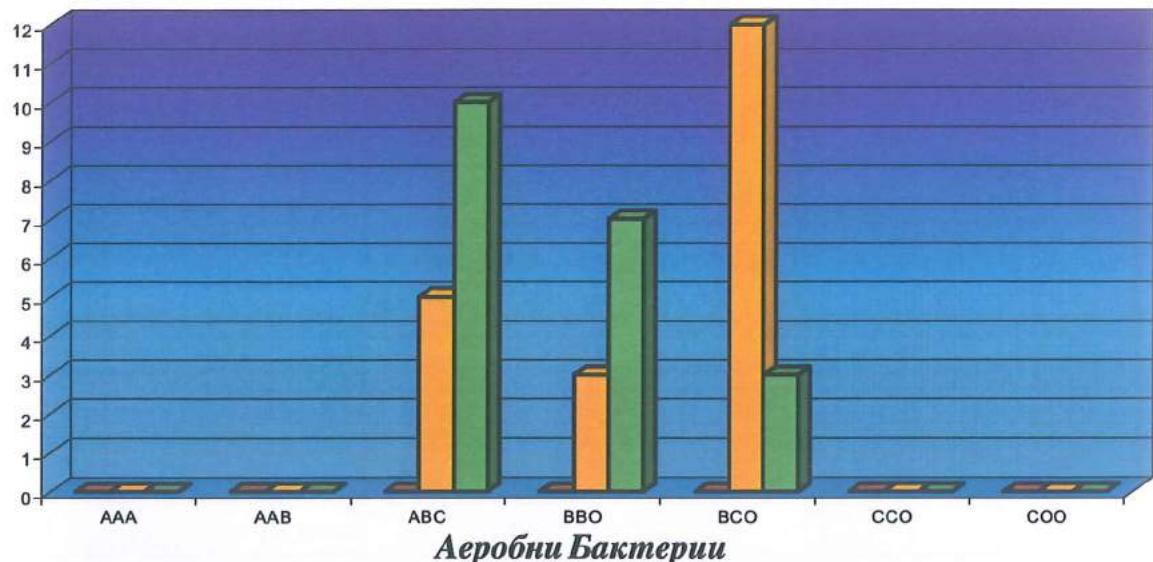
Аеробни Бактерии



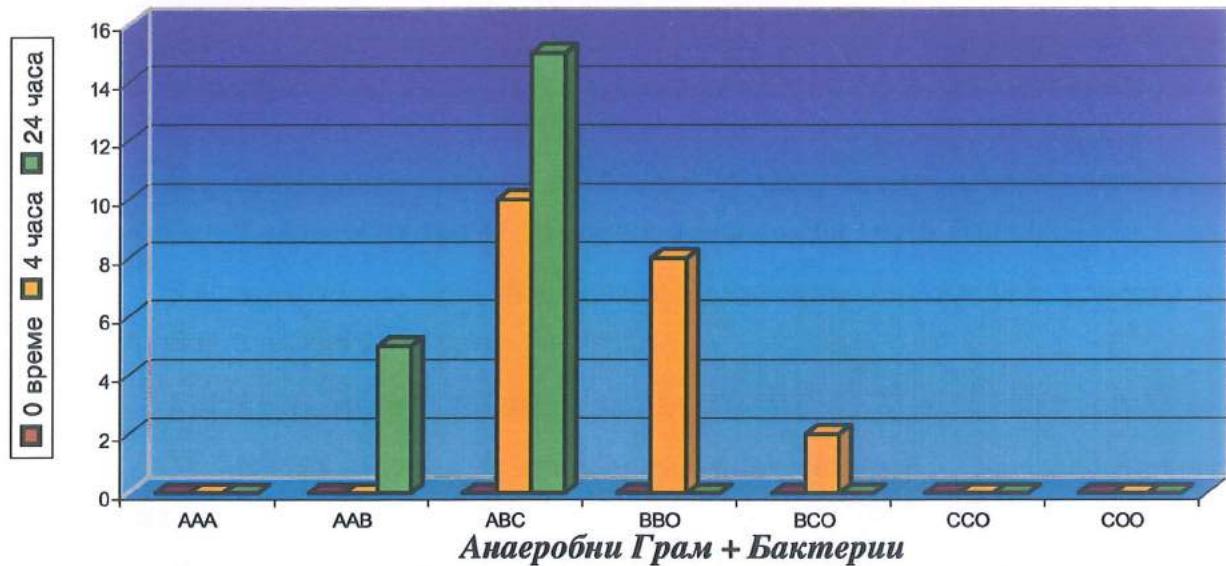
Анаеробни Грам + Бактерии



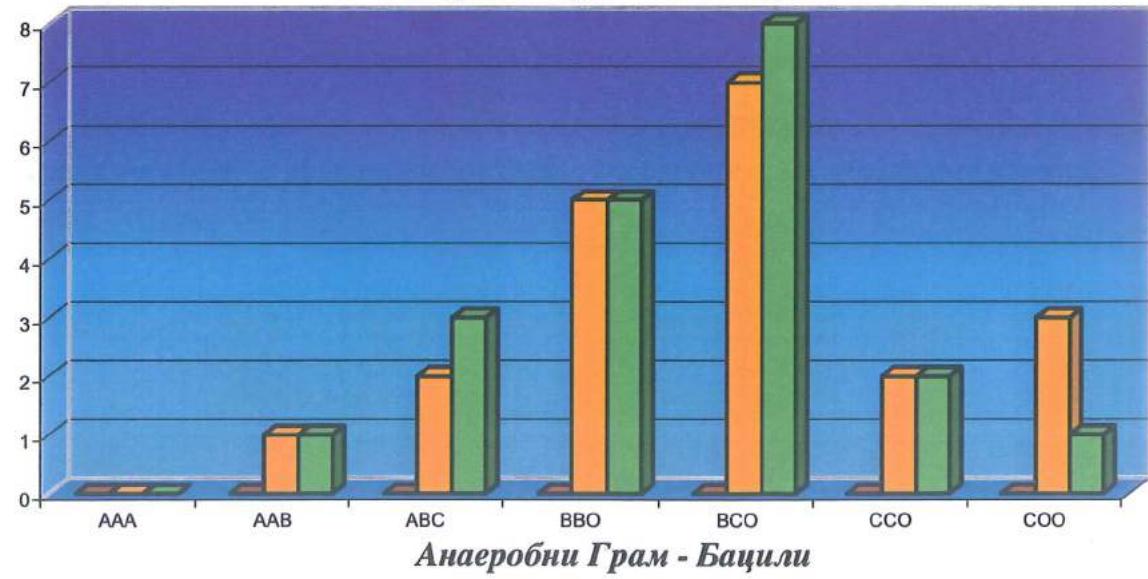
*Графикон 1- гр. II: Бактерии изолирани од дентален плак на емајлова површина, непосредно по темелното чистење (0), по 4 и по 24 часа, кај (20) испитаници со здраво интактно забало (контролна група), пред испирање на емајловата површина на забите*



Аеробни Бактерии



Анаеробни Грам + Бактерии



Анаеробни Грам - Бацили

За статистичка обработка на резултатите, беше применет Fischer-овиот ест на абсолютна веројатност.

*Табела 2 (група I): Бактерии, изолирани од дентален плак на емајлова површина по 4 и 24 часа, кај (60) испитаници со изразено кариозно - несанерирано забало, по испирање на емајловата површина на забите.*

Бактерии	време на земање на примерокот	густина на раст							од вкупно испитаници
		AAA A>100	AAB 50-100	ABC 30-50	BBO 20-30	BCO 10-20	CCO 5-10	COO 0-5	
Аеробни бактерии	по 4 часа	-	7	40	6	7	-	-	"
	по 24 часа	2	20	35	3	-	-	-	"
Анаеробни Грам + бактерии	по 4 часа	31	21	8	-	-	-	-	"
	по 24 часа	37	20	3	-	-	-	-	"
Анаеробни Грам - бактерии	по 4 часа	-	1	6	11	26	9	7	"
	по 24 часа	-	3	7	22	19	9	-	60

Кај примероците земени по 4 и по 24 часа, беа изолирани колонии на: аеробни и анаеробни грам+ бактерии и анаеробни грам- бацили.

Кај најголемиот број испитаници, доминираа изолираните колонии на: аеробни и анаеробни грам+ бактерии.

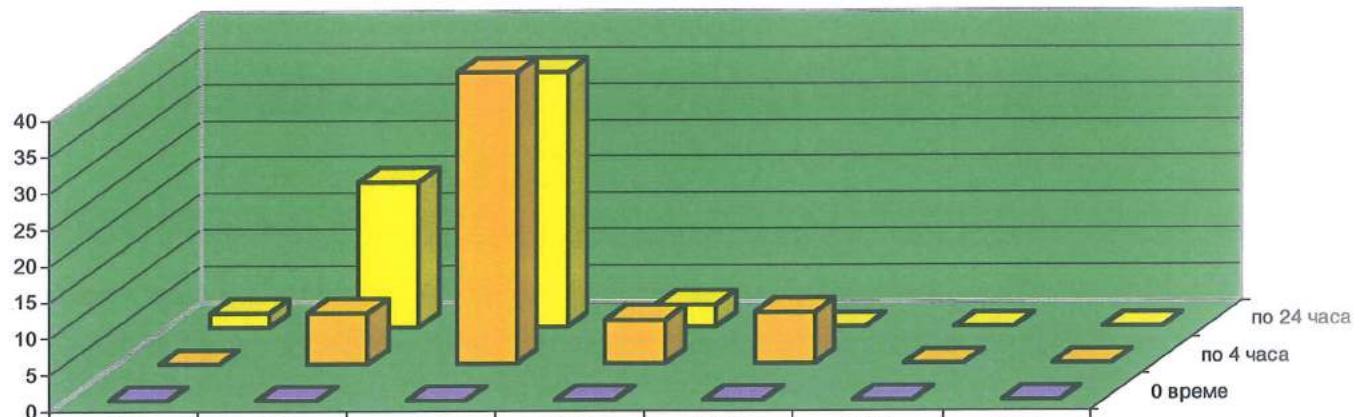
Густината на раст кај изолираните колонии по 24 часа беше поголема.

По испирањето, дел од микроорганизмите се отстрануваа од денталниот плак.

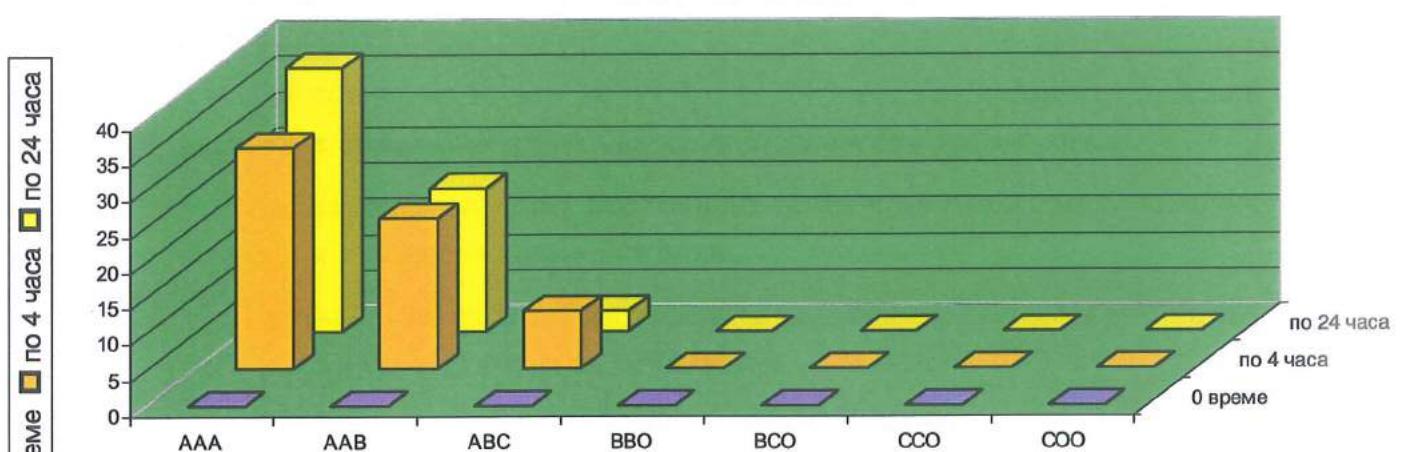
Кај изолираните колонии пред и по испирањето, на емајловата површина на забите немаше, значајна сигнificantна статистичка разлика.

Добиените резултати се прикажани и графички на дигаграм 2 (група I), изразени посебно за аеробни бактерии, анаеробни грам + бактерии и анаеробни грам - бактерии.

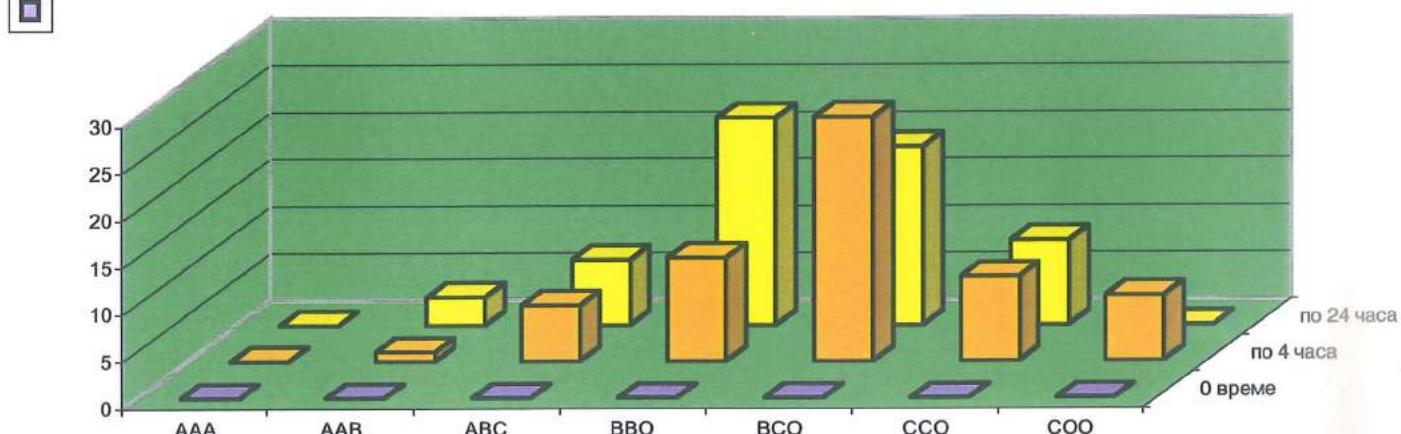
*Графикон 2- гр. I: Видови бактерии, изолирани од дентален плак на емајлова површина, по 4 и 24 часа кај (60) испитаници со изразено кариозно - несанерирано забало по испирање на емајлова површина на забите*



*Аеробни Бактерии*



*Анаеробни Грам + Бактерии*



*Анаеробни Грам - Бацили*

**Табела 2а (група II): Бактерии, изолирани од дентален плак на емајлова површина, по 4 и по 24 часа, кај (20) испитаници со здраво и интактно забало (контролна група), по испирање на емајловата површина на забите**

Бактерии	време на земање на примерокот	густина на раст							од вкупно испитаници
		AAA A>100	AAB 50-100	ABC 30-50	BVO 20-30	BCO 10-20	CCO 5-10	COO 0-5	
Аеробни бактерии	по 4 часа	-	-	3	3	10	3	1	"
	по 24 часа	-	-	5	10	5	-	-	"
Анаеробни Грам + бактерии	по 4 часа	-	-	8	8	4	-	-	"
	по 24 часа	-	3	10	7	-	-	-	"
Анаеробни Грам - бактерии	по 4 часа	-	1	2	4	6	3	4	"
	по 24 часа	-	1	3	5	7	2	2	60

Кај примероците земени по 4 и по 24 часа, беа изолирани колонии на: аеробни и анаеробни грам+ бактерии и анаеробни грам- бацили.

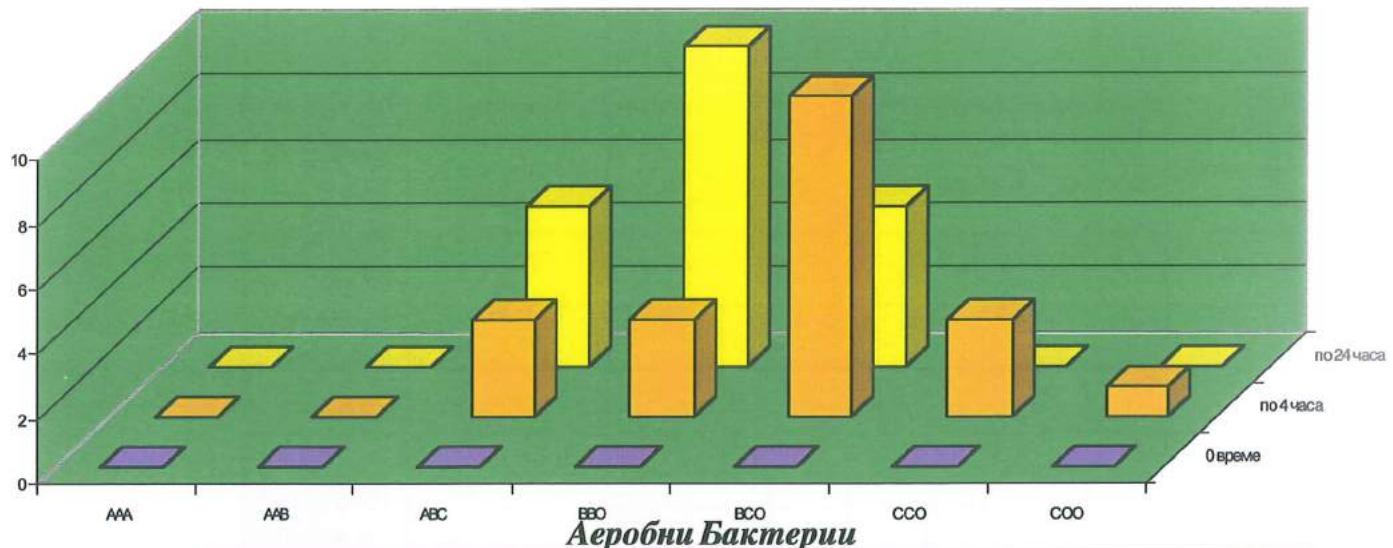
Кај најголемиот број испитаници, доминираа изолираните колонии на: аеробни и анаеробни грам+ бактерии.

Густината на раст кај изолираните колонии по 24 часа, беше поголема. исто како и кај I-та група на испитаници.

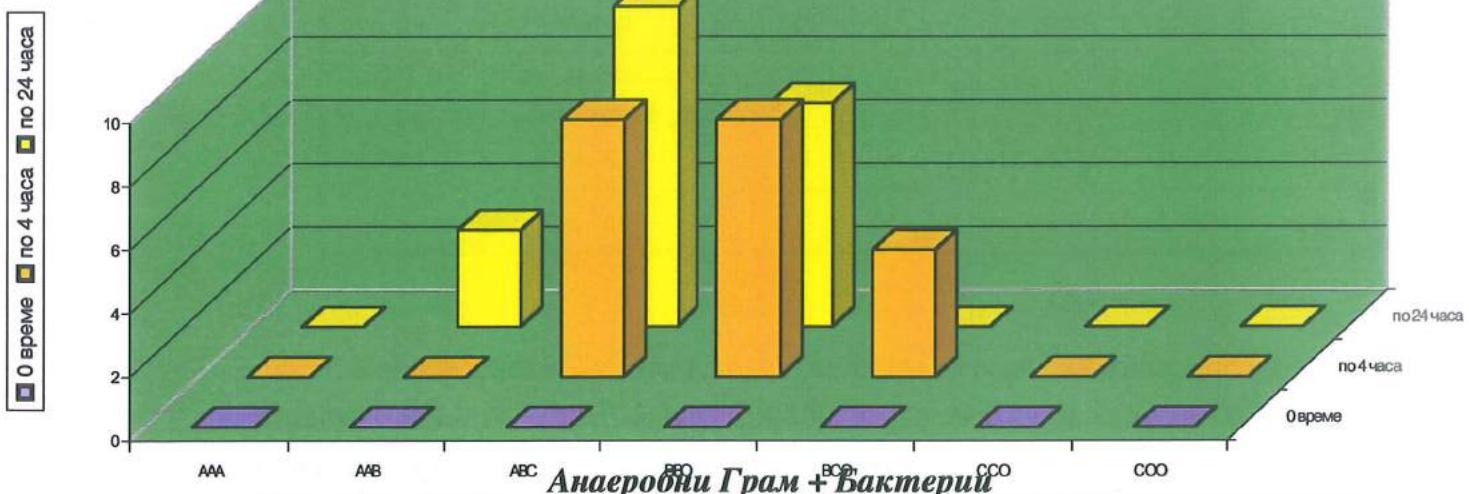
Кај изолираните колонии, пред и по испирање на емајловата површина на забите немаше значајна сигнificantна статистичка разлика.

Добиените резултати, се прикажани графички на дијаграм 2а (група II) изразени посебно за аеробни бактерии, анаеробни грам + бактерии и анаеробни грам - Бактерии.

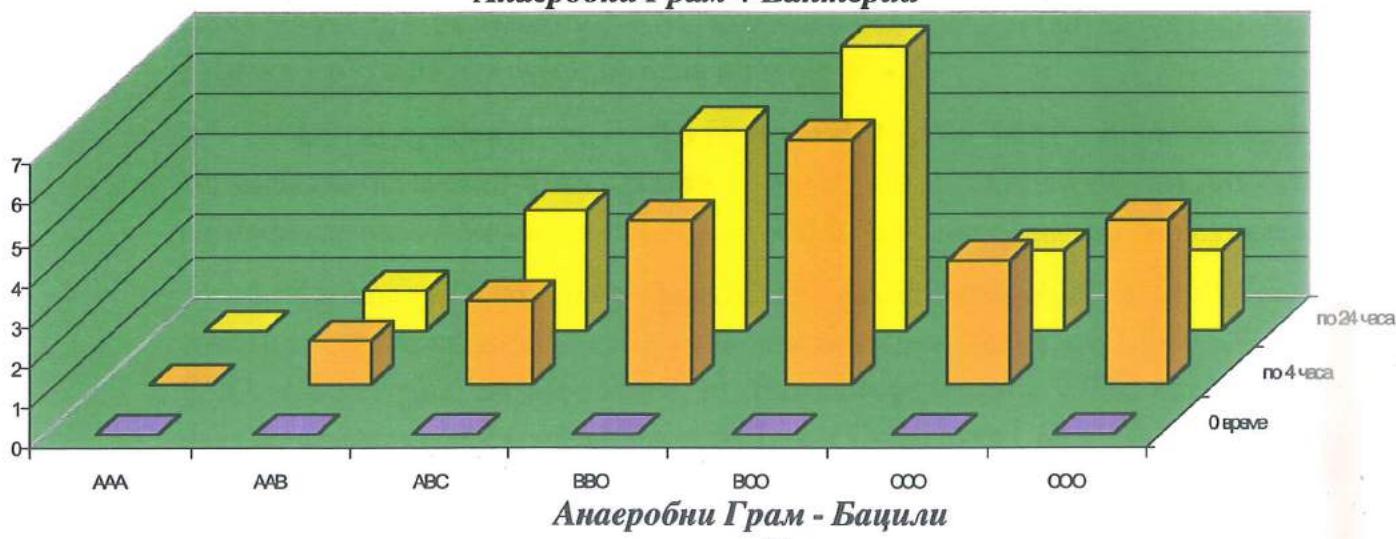
Графикон 2- гр. II: Видови бактерии изолирани од дентален плак на емајлова површина по 4 и по 24 часа, кај (20) испитаници со здраво - интактно забало (контролна група) по испирање на емајловата површина на забите



Аеробни Бактерии



Анаеробни Грам + Бактерии



Анаеробни Грам - Бацили

**Табела 3 (група I): Споредба на густината на раст на изолираните колонии на бактерии, изолирани од дентален плак земен по 4 и 24 часа, пред испирање на емајловата површина, во однос на онаа од плунката на 60 испитаници, со изразено кариозно и несанирано забало.**

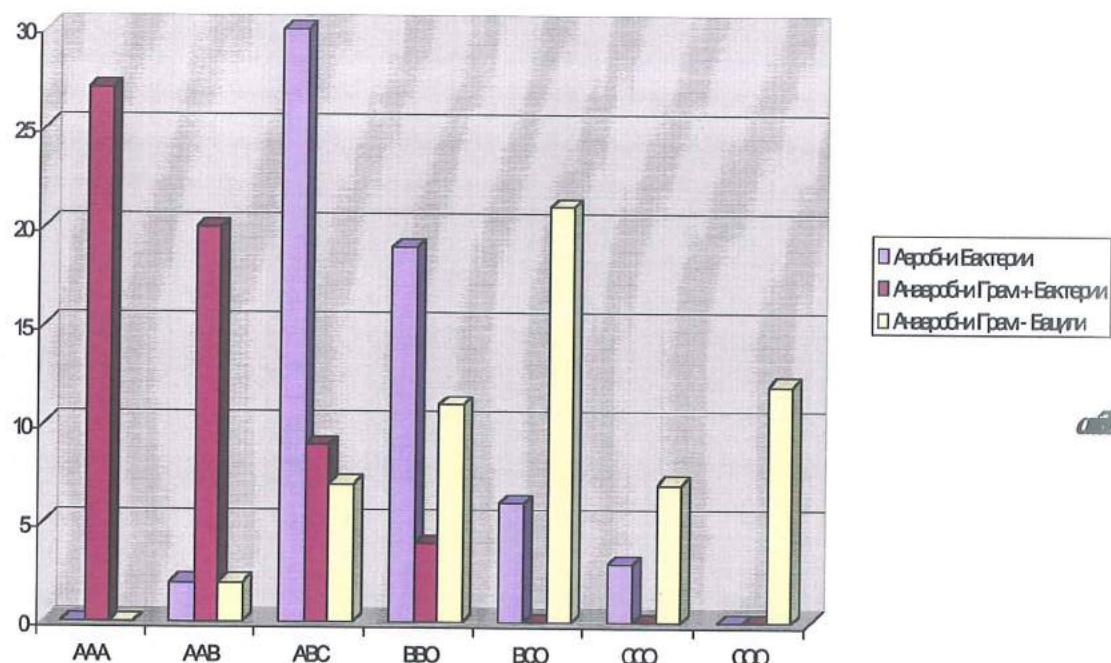
Бактерии	земени примероци -дентален плак - плунка	густина на раст на изолираните колонии							од вкупно испитаници
		AAA	AAB	ABC	BBO	BCO	CCO	COO	
Аеробни бактерии	дентален плак по 4 часа	9	6	42	2	1	-	-	60
	по 24 часа	17	13	30	-	-	-	-	"
	плунка	-	2	30	19	6	3	-	"
Анаеробни Грам + бактерии	дентален плак по 4 часа	45	13	2	-	-	-	-	"
	по 24 часа	54	6	-	-	-	-	-	"
	плунка	27	20	9	4	-	-	-	"
Анаеробни Грам - бактерии	дентален плак по 4 часа	-	2	7	12	17	13	9	"
	по 24 часа	-	4	9	24	20	3	-	"
	плунка	-	2	7	11	21	7	12	60

1. Кај аеробните бактерии: кога густината на раст на изолираните колонии изнесува AAA; AAB; BBO; BCO и CCO , кај двете групи испитаници (60 + 20), нема значајна, сигнификантна статистичка разлика -  $p > 0,05$  (Fischer-ов егзактен тест), а кога изнесува ABC има значајна, сигнификантна статистичка разлика -  $p < 0,05$ , во однос на онаа од плунката.

2. Кај анаеробните грам+ бактерии: кај AAB и BBO , нема значајна, сигнификантна статистичка разлика -  $p > 0,05$ , а кај AAA и ABC, има висока, сигнификантна статистичка разлика -  $p < 0,01$  во однос на онаа од плунката.

3. Кај анаеробните грам- бацили: кај AAA, AAB, ABC и BCO, нема значајна, сигнификантна статистичка разлика -  $p > 0,05$ ; а кај BBO, CCO и COO, има значајна, сигнификантна статистичка разлика -  $p < 0,05$  во однос на онаа од плунката , на испитаниците од I-та и II-та група ( 60 +20) .

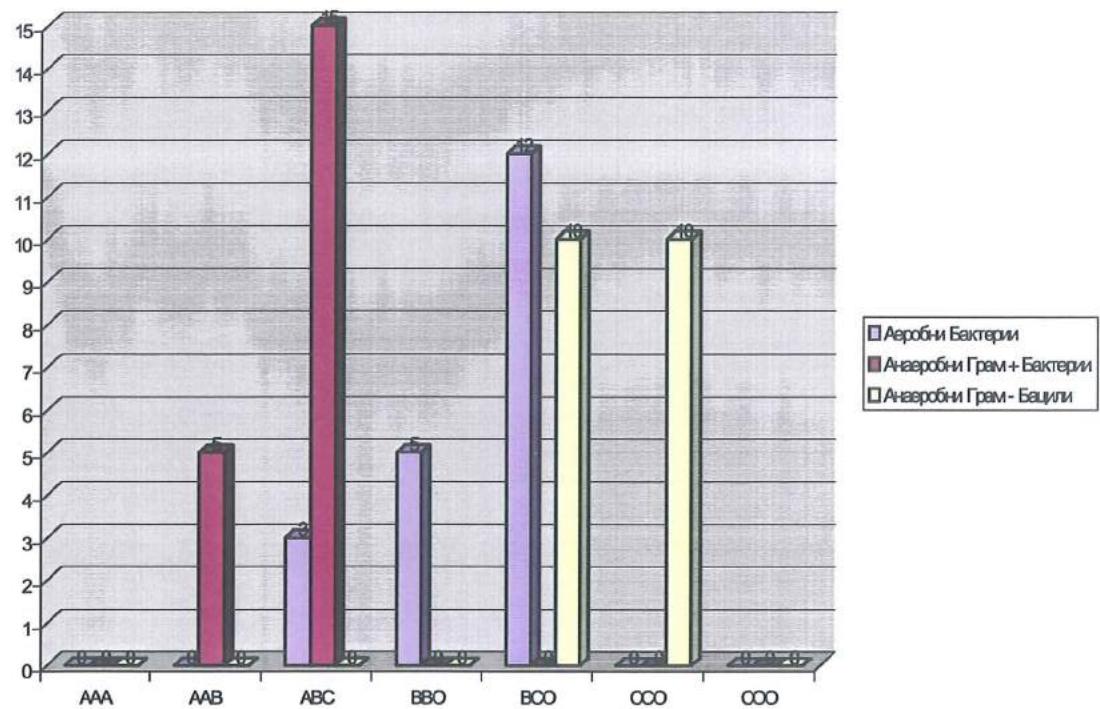
*Графикон 3- гр. I: Споредба на густина на раст на пораснатите колонии на бактерии изолирани од дентален плак, земен по 4 и по 24 часа, пред испирање на емајловата површина во однос на онаа од плунката на 60 испитаници, со изразено кариозно и несанирано забало*



**За (група II): Споредба на густината на раст на пораснатите колонии на бактерии, изолирани од дентален плак, земен по 4 и по 24 часа, пред испирање на емајловата површина во однос на онаа од плунката на 20 испитаници, со здраво - интактно забало (контролна група).**

Бактерии	земени примероци -дентален плак - плунка	густина на раст на изолираните колонии							од вкупно испитаници
		AAA	AAB	ABC	BBO	BCO	CCO	COO	
Аеробни бактерии	дентален плак по 4 часа	-	-	5	3	12	-	-	20
	по 24 часа	-	-	10	7	3	-	-	"
	плунка	-	-	3	5	12	-	-	"
Анаеробни Грам + бактерии	дентален плак по 4 часа	-	-	10	8	2	-	-	"
	по 24 часа	-	5	15	-	-	-	-	"
	плунка	-	5	15	-	-	-	-	"
Анаеробни Грам - бактерии	дентален плак по 4 часа	-	1	2	5	7	2	3	"
	по 24 часа	-	1	3	5	8	2	1	"
	плунка	-	-	-	-	10	10	-	20

*Графикон 3- гр. II: Споредба на густина на раст на пораснатите колонии на бактерии изолирани од дентален плак, земен по 4 и по 24 часа, пред испирање на емајловата површина во однос на онаа од плунката на 20 испитаници, со здраво - интактно забало (контролна група)*



**Табела 4 (група I) : Споредба на густината на раст на пораснатите колонии на бактерии, изолирани од дентален плак, земен по 4 и по 24 часа, по испирање на емајловата површина во однос на онаа од плунката на 60 испитаници, со изразено кариозно и несанерирано забало.**

Бактерии	земени примероци -дентален плак - плунка	густина на раст на изолираните колонии							од вкупно испитаници
		AAA A>100	AAB 50-100	ABC 30-50	BBO 20-30	BCO 10-20	CCO 5-10	COO 0-5	
Аеробни бактерии	дентален плак по 4 часа	-	7	40	6	7	-	-	60
	по 24 часа	2	20	35	3	-	-	-	"
	плунка	-	2	30	19	6	3	-	"
Анаеробни Грам + бактерии	дентален плак по 4 часа	31	21	8	-	-	-	-	"
	по 24 часа	37	20	3	-	-	-	-	"
	плунка	27	20	9	4	-	-	-	"
Анаеробни Грам - бактерии	дентален плак по 4 часа	-	1	6	11	26	9	7	"
	по 24 часа	-	3	7	22	19	9	-	"
	плунка	-	2	7	11	21	7	12	60

1. Каде аеробните бактерии: кога густината на раст на изолираните колонии е AAA, AAB, BBO и BCO, каде двете групи испитаници (60 + 20), нема значајна, сигнификантна статистичка разлика -  $p > 0,05$ , а кога е ABC, има значајна, сигнификантна статистичка разлика -  $p < 0,05$  во однос на онаа од плунката.

2. Каде анаеробните грам+ бактерии: каде AAA, AAB, ABC и BBO , нема значајна, сигнификантна статистичка разлика -  $p > 0,05$  во однос на онаа од плунката, каде двете групи на испитаници (60 + 20).

3. Каде анаеробните грам - бацили: кога густината на раст на изолираните колонии е AAA, AAB, BCO и CCO, нема значајна сигнификантна статистичка разлика -  $p > 0,05$ , а кога е ABC, BBO и COO има значајна сигнификантна статистичка разлика -  $p < 0,05$  во однос на онаа од плунката на испитаниците од I-та и II-та група. (60+20).

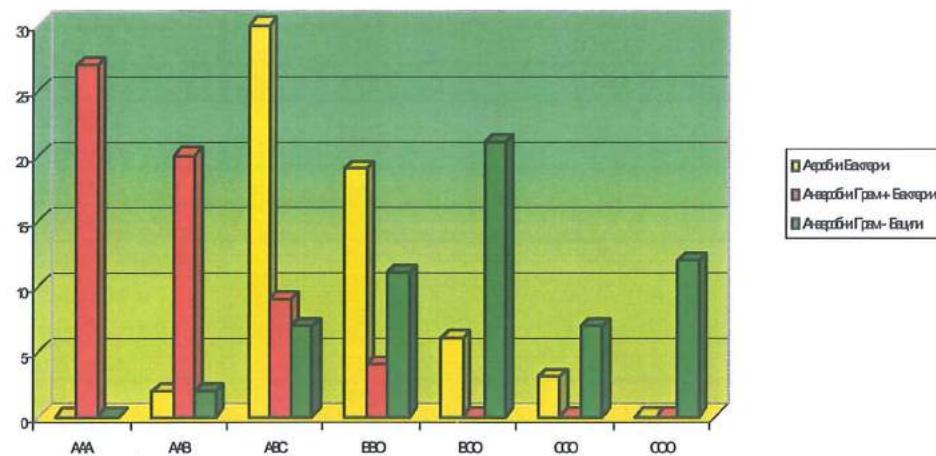
**Табела 4а (група II): Споредба на густината на раст на пораснатите колонии на бактерии, изолирани од дентален плак, земен по 4 и по 24 часа , по испирање на емајловата површина , во однос на онаа од плунката на 20 испитаници, со здраво - интактно забало (контролна група)**

Бактерии	земени примероци -дентален плак - плунка	густина на раст на изолираните колонии							од вкупно испитаници
		AAA	AAB	ABC	BBO	BCO	CCO	COO	
Аеробни бактерии	дентален плак по 4 часа	-	-	3	3	10	3	1	20
	по 24 часа	-	-	5	10	5	-	-	"
	плунка	-	-	3	5	12	-	-	"
Анаеробни Грам + бактерии	дентален плак по 4 часа	-	-	5	4	6	2	3	"
	по 24 часа	-	2	6	6	2	4	-	"
	плунка	-	5	15	-	-	-	-	"
Анаеробни Грам - бактерии	дентален плак по 4 часа	-	1	2	5	7	2	3	"
	по 24 часа	-	1	3	5	7	2	2	"
	плунка	-	-	-	-	10	10	-	20

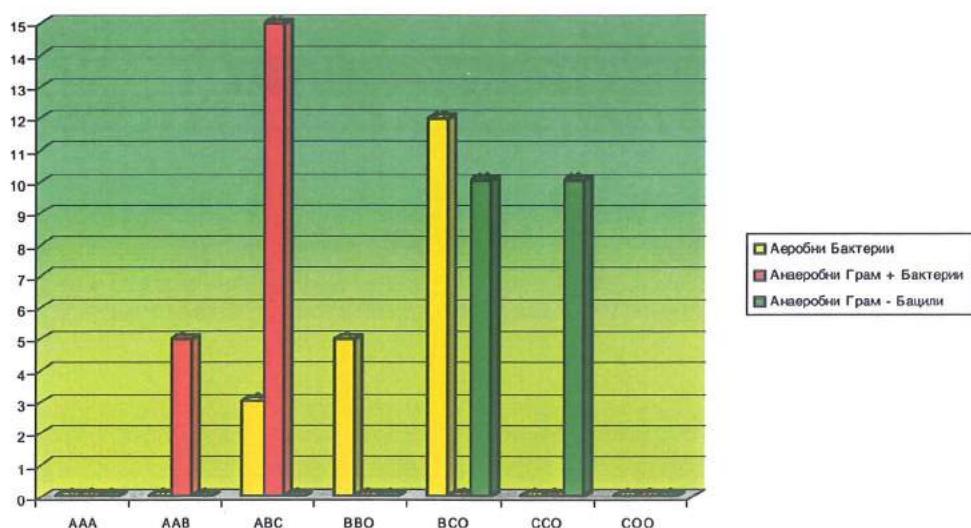
На табела 3 и 4 (група I) и табела 3а и 4а (група II), се прикажани резултатите од споредбата на густината на раст на пораснатите колонии на бактерии, изолирани од дентален плак, земен по 4 и по 24 часа, пред и по испирање на емајлова површина, кај двете групи испитаници во однос на онаа од плунката.

Густината на раст кај изолираните колонии од дентален плак, по 4 и по 24 часа, во однос на онаа од плунката, имаше значајна, сигнификантна статистичка разлика, кај двете групи испитаници (60+20). Додека, споредено со густината на раст, пред и по испирање на емајловата површина, кај двете групи испитаници (60+20), немаше значајна, сигнификантна статистичка разлика, што значи, испирањето на емајловата површина нема влијание врз колонизирањето.

Графикон 4- гр. I: Споредба на густина на раст на пораснатите колонии на бактерии изолирани од дентален плак, земен по 4 и по 24 часа, по испирање на емајловата површина во однос на онаа од плунката на 60 испитаници, со изразено кариозно и несанирано забало



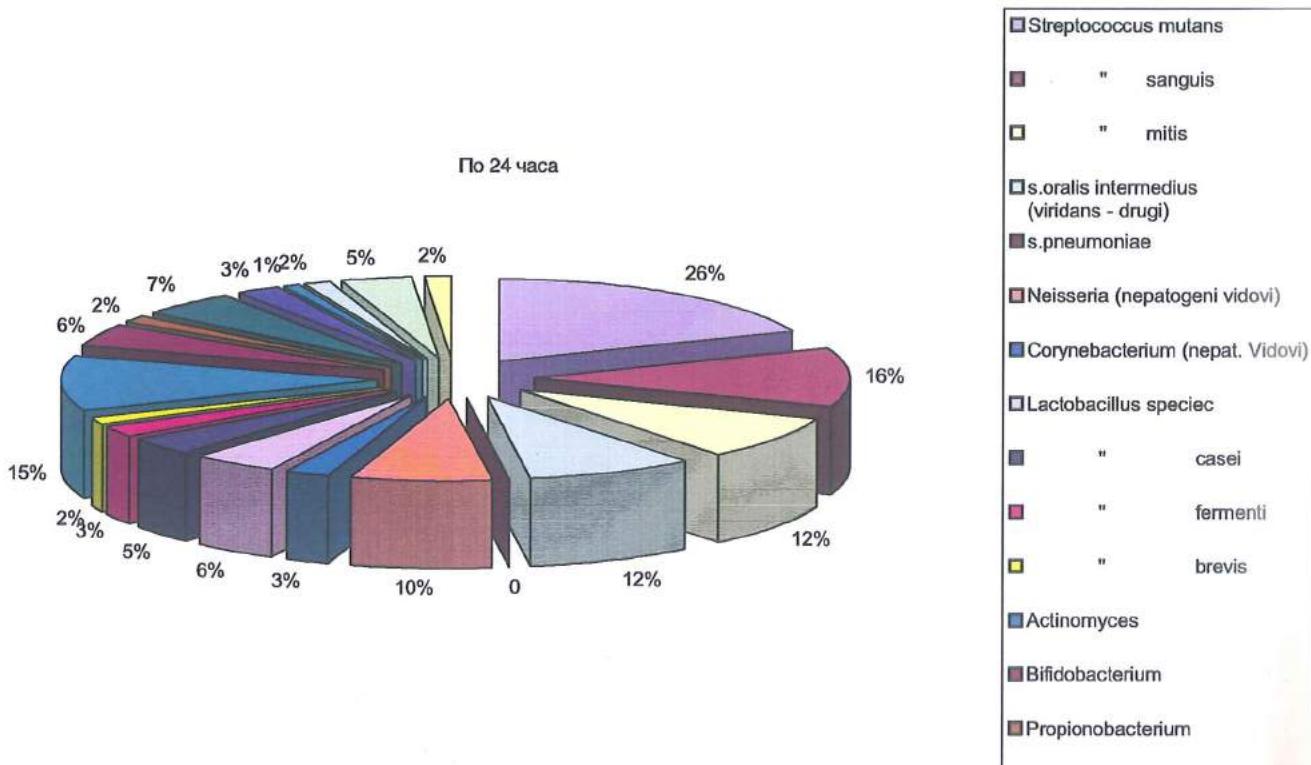
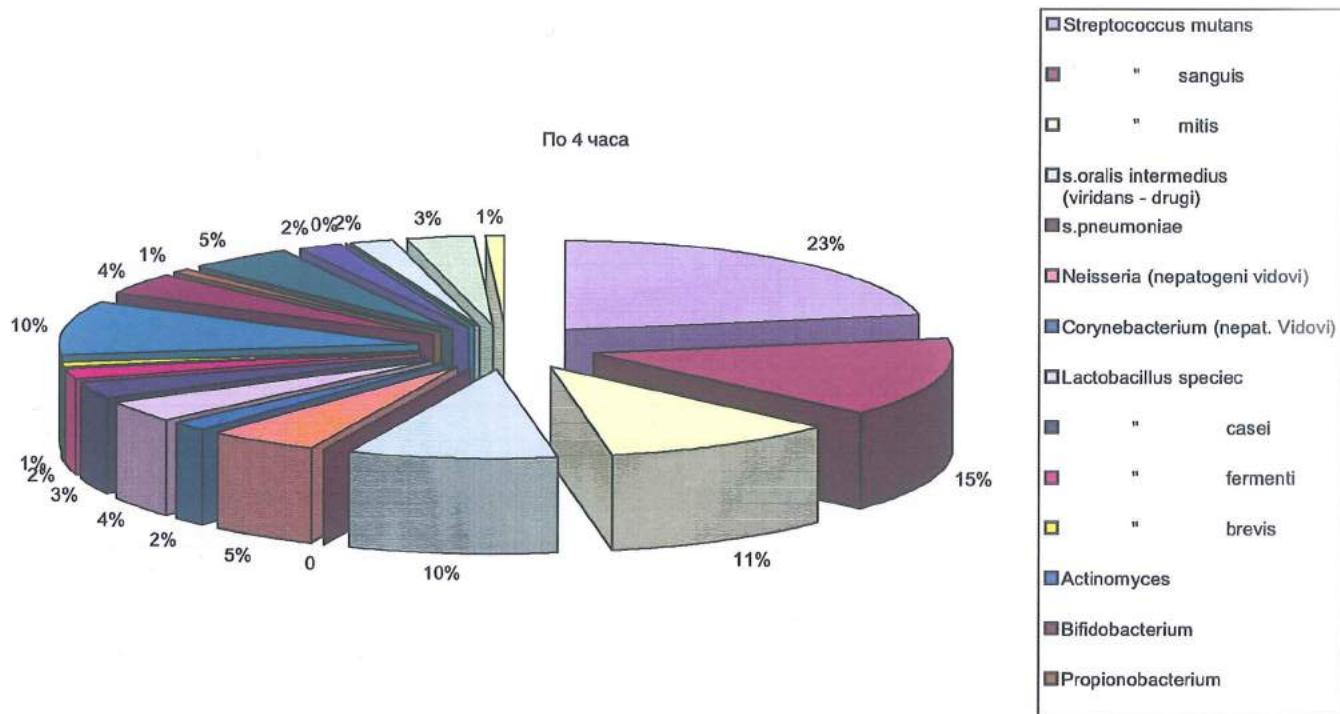
Графикон 4- гр. II: Споредба на густина на раст на пораснатите колонии на бактерии изолирани од дентален плак, земен по 4 и по 24 часа, по испирање на емајловата површина во однос на онаа од плунката на 20 испитаници со здраво - интактно забало (контролна група)



**Табела 5 (гр. I): Процент на видови микроорганизми изолирани од дентален плак на емајлова површина, по одредено време (4 и 24 часа), кај испитаници со изразено кариозно - несанерирано забало (60)**

Изолирани видови бактерии	Процент на застапеност на поединечни видови микроорганизми, изолирани од дентален плак на емајлова површина, по одредено		
	По 4 часа	По 24 часа	Од вкупно испитаници
<b>1. Факултативно аеробни коки и бацили S.Viridans група</b>			
Streptococcus mutans	23%	26% (23 + 3)	60
" sanguis	15%	16% (15 + 1)	"
" mitis	11%	12% (11 + 1)	"
s.oralis intermedius (viridans - други)	10%	12% (10 + 2)	"
s.pneumoniae	-	-	"
Neisseria (непатогени видови)	5%	10% (5 + 5)	"
Corynebacterium (непат. Видови)	2%	3% (2 + 1)	"
<b>2. Микроаерофилни и анаеробни грам+ бацили</b>			
Lactobacillus species	4%	6% (4 + 2)	"
" casei	3%	5% (3 + 2)	"
" fermenti	2%	3% (2 + 1)	"
" brevis	1%	2% (1 + 1)	"
Actinomyces	10%	15% (10 + 5)	"
Bifidobacterium	4%	6% (4 + 2)	"
Propionobacterium	1%	2% (1 + 1)	"
<b>3. Анаеробни грам - + коки</b>			
Veillonella	5%	7% (5 + 2)	"
Peptostreptococcus	2%	3% (2 + 1)	"
Peptococcus	-	1%	"
<b>4. Анаеробни грам - коки</b>			
Fusobacterium	2%	2%	"
Bacteroides	3%	5% (3 + 2)	"
<b>5. Квасници</b>			
Candida albicans	1%	2% (1 + 1)	"

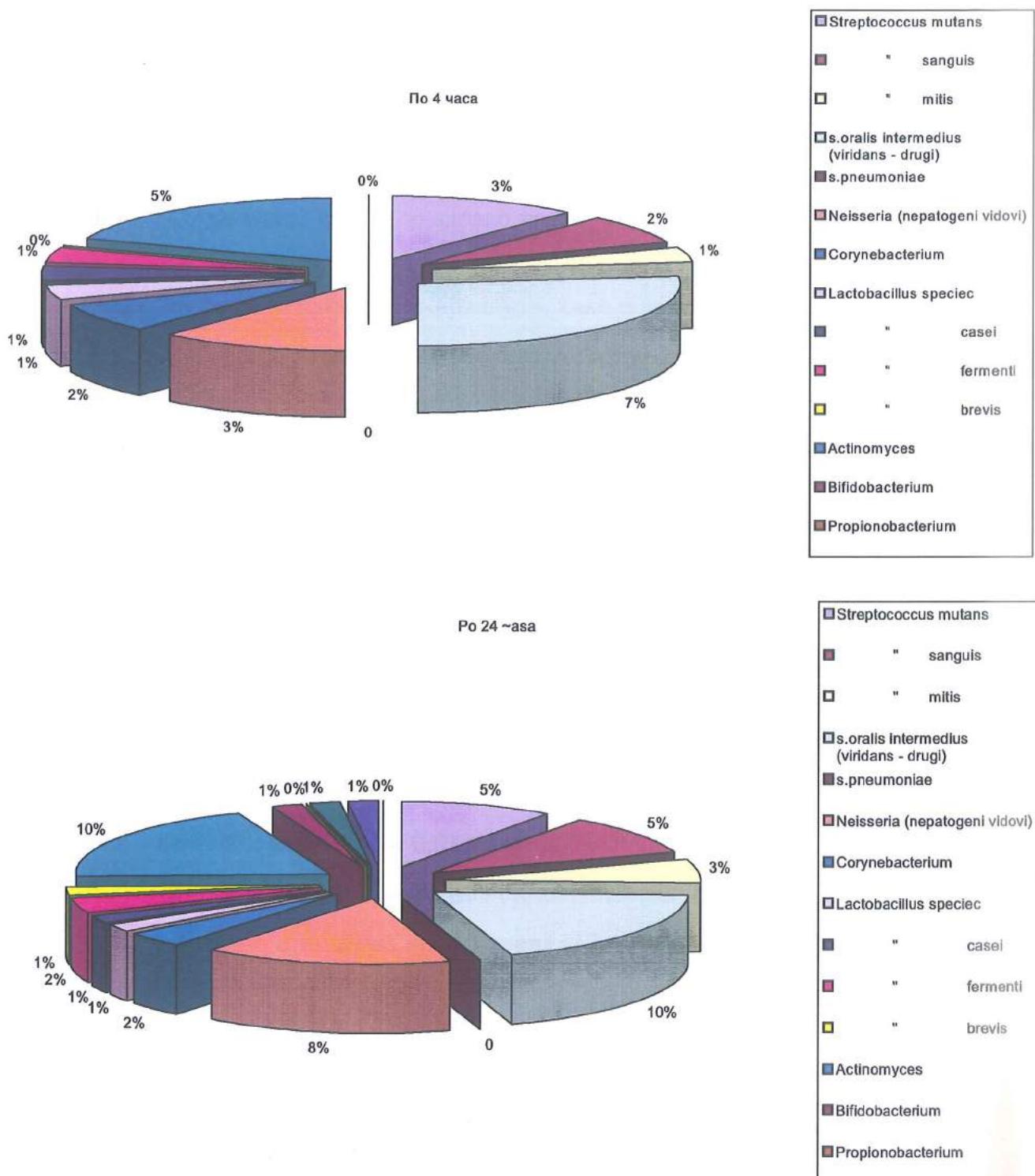
**Графикон 5 (гр. I): Процент на видови микроорганизми изолирани од дентален плак на емајлова површина, по одредено време (4 и 24 часа), кај испитаници со изразено кариозно - несанерирано забало (60)**



**Табела 5 (гр. II): Процент на видови микроорганизми изолирани од дентален плак на емајлова површина, по одредено време (4 и 24 часа), кај испитаници со здраво - интактно забало (20) (Контролна Група)**

Изолирани видови на бактерии	Процент на застапеност на поединечни видови микроорганизми, изолирани од дентален плак на емајлова површина, по одредено		
	По 4 часа	По 24 часа	Од вкупно испитаници
<b>1. Факултативно аеробни коки и бацили S.Viridans група</b>			
Streptococcus mutans	3%	5% (3 + 2)	20
" sanguis	2%	5% (2 + 3)	"
" mitis	1%	3% (1 + 2)	"
s.oralis intermedius (viridans - други)	7%	10% (7 + 3)	"
s.pneumoniae	-	-	"
<b>Neisseria (непатогени видови)</b>	3%	8% (3 + 5)	"
Corynebacterium	2%	2%	"
<b>2. Микроаерафилни и анаеробни грам+ бацили</b>			
Lactobacillus specie	1%	1%	"
" casei	1%	1%	"
" fermenti	1%	2% (1 + 1)	"
" brevis	-	1%	"
Actinomyces	5%	10% (5 + 5)	"
Bifidobacterium	-	1%	"
Propionobacterium	-	-	"
<b>3. Анаеробни грам - + коки</b>			
Veillonella	-	1%	"
Peptostreptococcus	-	1%	"
Peptococcus	-	-	20

Графикон 5 (гр. II): Процент на видови микроорганизми изолирани од дентален плак на емајлова површина, по одредено време (4 и 24 часа), кај испитаници со здраво - интактно забало (20) (Контролна Група)



Резултатите од микробиолошкото испитување на видовите микроорганизми се прикажани на табела 5 (гр.I) и табела 5а (гр.II); специеси, изолирани од емајловата површина, по 4 и 24 часа, кај двете групи испитаници (60+20).

Кај земените примероци по 4 и 24 часа, кај двете групи испитаници (60+20) беа изолирани, идентични видови микроорганизми - бактерии, специеси.

Кај I-та група испитаници (со изразено кариозно и несанирано забало), беа изолирани и диференцирани 19 видови микроорганизми, специеси, а кај II-та (контролната) група (со здраво интактно забало), 15 видови.

Кај двете групи испитаници (60+20), доминираат стрептококите од вириданс групата и микроаерофилните, како и анаеробни грам + бацили.

Меѓутоа, процентот на изолирани бактерии, специеси, кај I-та група испитаници, беше значително поголем во однос на II-та група на испитаници:

#### **1. Резултати добиени кај примероците земени по 4 часа:**

a) Кај факултативно аеробните коки и бацили:

- *Streptococcus Mutans*: кај I-та група испитаници беше застапен со 23%, а кај II-та група, со 3%;

Студентовиот - тест за %:  $t = -2,172$ ;  $DF = 78$ ;  $p < 0,05$ ; што значи, процент на застапеност на *streptococcus mutans*, кај I-та група испитаници, има значајна статистичка разлика во однос на II-та (контролната) група испитаници.

- *Streptococcus sanguis*: кај I-та група испитаници беше застапен со 15%, а кај II-та група, со 2%;

$$t = 4,202; DF = 78; p < 0,01;$$

Процент на застапеност има сигнификантна статистичка разлика.

- *Streptococcus mitis*: кај I-та група испитаници беше застапен со 11%, а кај II-та група, со 1%;

$$t = 2,168; DF = 78; p < 0,05$$

Процент на застапеност има значајна статистичка разлика.

- *Streptococcus oralis* интермедиус (*Viridans* - други): кај I-та група испитаници беше застапен со 10%, а кај II-та група, со 7%;

$t = 5,477; DF = 78; p > 0,05;$

Процент на застапеност нема сигнификантна статистичка разлика.

- *Neisseria* (непатогени видови): кај I-та група испитаници, беше застапено со 5%, а кај II-та група, со 3%

$t = 1,227; DF = 78; p > 0,05;$

Процент на застапеност нема значајна статистичка разлика.

- *Corynebacterium* (непатогени видови): кај I-та и кај II-та група испитаници, беше застапено со 2%;

$t = 0,001; DF = 78; p > 0,05;$

Процент на застапеност нема значајна статистичка разлика.

б) Кај Микроаерофилните и анаеробни грам + бацили:

- *Lactobacillus Species*: кај I-та група испитаници беше застапен со 4%, а кај II-та, со 1%;

$t = 0,89; DF = 78; p > 0,05;$

Процент на застапеност нема значајна статистичка разлика.

- *Lactobacillus casei*: кај I-та група испитаници, беше застапен со 3%, а кај II-та група, со 1%;

$t = 0,639; DF = 78; p > 0,05;$

Процент на застапеност нема значајна статистичка разлика.

- *Lactobacillus Fermenti*: кај I-та група испитаници беше застапен со 2%, а кај II-та група, со 1%;

$t = 0,349; DF = 78; p > 0,05;$

Процент на застапеност нема значајна статистичка разлика.

- *Lactobacillus Brevis*: кај I-та група испитаници беше застапен со 1%, а кај II-та група не беше застапен (изолиран);

$t = 0,788; DF = 78; p > 0,05;$

Процент на застапеност нема значајна статистичка разлика.

- *Actinomyces*: кај I-та група испитаници беше изолиран со 10%, а кај

II-та, со 5%;

$$t = 0,903; DF = 78; p > 0,05;$$

Процент на застапеност нема значајна статистичка разлика.

- *Bifidobacterium*: кај I-та група испитаници беше изолиран со 4%, а кај II-та група не беше застапен (изолиран);

$$t = 1,581; DF = 78; p > 0,05;$$

Процент на застапеност нема значајна статистичка разлика.

- *Propionobacterium*: кај I-та група испитаници, беше застапен со 1%, а кај II-та група не беше застапен (изолиран);

$$t = 0,77; DF = 78; p > 0,05;$$

Процент на застапеност нема значајна статистичка разлика.

в) Кај анаеробните грам + бактерии:

- *Veillonella*: кај I-та група испитаници беше застапена со 5%, а кај II-та група не беше застапена (изолирана).

$$t = 1,77; DF = 78; p > 0,05;$$

Процент на застапеност нема значајна статистичка разлика.

- *Peptostreptococcus*: кај I-та група испитаници беше застапен со 2%, а кај II-та група не беше застапен (изолиран);

$$t = 0,349; DF = 78; p > 0,05;$$

Процент на застапеност нема значајна статистичка разлика.

- *Peptococcus*: кај двете групи испитаници (60+20) не беше застапен (изолиран).

г) Кај анаеробните грам - бацили:

- *Fusobacterium*: кај I-та група испитаници беше застапен со 2%, а кај II-та група не беше застапен (изолиран).

$$t = 1,107; DF = 78; p > 0,05;$$

Процент на застапеност нема значајна статистичка разлика.

- *Bacterioiodes*: кај I-та група испитаници беше застапен со 3%, а кај II-та група не беше застапен (изолиран).

$t = 1,362$ ;  $DF = 78$ ;  $p > 0,05$ ;

Процент на застапеност, нема значајна статистичка разлика

- *Candida Albicans*: кај I-та група испитаници беше застапена со 1%, а кај II-та група не беше застапена (изолирана).

$t = 1,107$ ;  $DF = 78$ ;  $p > 0,05$ ;

Процент на застапеност нема значајна статистичка разлика.

**2. Резултати добиени кај примероците земени по 24 часа:** кај двете групи испитаници (60+20) беа изолирани и диференцирани, идентични видови микроорганизми – специеси, како и кај примероците земени по 4 часа од темелното чистење на емајловата површина, само со таа разлика што процентот на изолирани бактерии – специеси беше значително поголем кај испитаниците со кариозно забало.

За статистичка обработка на резултатите, беше применет Студентовиот тест за процент.

**Табела 6 (група I): Колонизирање на емајловата површина со мутанс стрептококи и лактобацили, непосредно по темелното чистење (0), по 4 и по 24 часа кај 60 испитаници со изразено кариозно - несанирано забало, пред и по испирање на емајлова површина на забите**

Време на земање на примерокот	Колонизирање на емајловата површина по одредено време													
	со мутанс стрептококи						со лактобацили						од вкупно испитаници	
	пред испирање			по испирање			пред испирање			по испирање				
	*	**	***	+	+-	-	+	+	-	+	+-	-		
	+	+-	-	+	+-	-	+	-	-	+	+-	-		
(0)	-	-	60	-	-	-	-	-	60	-	-	-	60	
По 4 часа	54	6	-	54	6	-	49	8	3	49	8	3	60	
По 24 часа	60	-	-	60	-	-	58	2	-	58	2	-	60	

\* (+) - конфлуентен раст ;

\*\* (+ -) - поединечни колонии ;

\*\*\* (-) - нема раст;

**Табела ба (група II): Колонизирање на емајловата површина со мутанс стрептококи и лактобацили, непосредно по темелното чистење (0), по 4 и по 24 часа кај 20 испитаници со здраво - интактино забало(контролна група) пред и по испирање на емајлова површина на забите**

Време на земање на примерокот	Колонизирање на емајловата површина по одредено време													
	со мутанс стрептококи						со лактобацили						од вкупно испитаници	
	пред испирање			по испирање			пред испирање			по испирање				
	*	**	***	+	+-	-	+	+	-	+	+-	-		
(0)	-	-	20				-	-	20				20	
По 4 часа	3	7	10	3	7	10	2	6	12	2	6	12	20	
По 24 часа	5	10	5	5	10	5	3	8	9	3	8	9	20	

\* (+) - конфлуентен раст ;

\*\* (+ -) - поединечни колонии ;

\*\*\* (-) - нема раст;

На табела 6 (група I) и табела ба(група II), се прикажани резултатите од колонизирањето на емајловата површина, со мутанс стрептококи и лактобацили, непосредно по темелното чистење на емајловата површина (0), по 4 и по 24 часа, пред и по испирање на емајловата површина, кај двете групи испитаници (60 + 20).

Кај примероците земени непосредно по темелното чистење на емајловата површина, микробиолошкиот наод беше негативен (немаше бактериски раст).

Кај примероците земени по 4 и по 24 часа, пред и по испирање на емајловата површина, микробиолошкиот наод беше позитивен. Изолирани беа колонии на мутанс стрептококи и лактобацили, со поединечен (+-) и конфлуентен раст (+).

a) Колонизирање на емајловата површина со мутанс стрептококи кај двете групи испитаници (60 + 20).

По 4 часа, колонии на мутанс стрептококи, со конфлуентен раст (+), кај

I-та група на испитаници, изолирани беа кај 54 примероци од (60) или кај 90% од испитаниците, а кај II-та (контролната) група, кај 3 од (20) или кај 15% од испитаниците –  $p < 0,01$ .

Во I-та група испитаници, поединечно беа изолирани колонии (+), кај 6 од (60) или кај 10% од испитаниците, а кај II-та (контролна) група, кај 7 од (20) или кај 35% од испитаниците –  $p < 0,05$ .

Негативен наод (-) на мутанс стрептококи, немаше во I-та група на испитаници, а II-та (контролната) група, имаше кај 10 од 20 или кај 50% од испитаниците –  $p < 0,01$ .

По 24 часа, во I-та група на испитаници, беа изолирани колонии на мутанс стрептококи со конфлуентен раст (+), кај сите 60 земени примероци или кај 100% од испитаниците, а во II-та (контролната) група, кај 5 од 20 или кај 25% од испитаниците –  $p < 0,01$ .

Во I-та група на испитаници немаше, поединечно изолирани колонии (+), а во II-та (контролната) група имаше кај 10 од 20 или кај 50% од испитаниците –  $p < 0,01$ .

Исто така во I-та група немаше негативен наод (-) на мутанс стрептококи, а во II-та (контролната) група имаше кај 5 од 20 или кај 25% од испитаниците –  $p < 0,05$ .

#### б) Колонизирање на емајловата површина со лактобацили.

По 4 часа, во I-та група на испитаници, беа изолирани колонии на лактобацили со конфлуентен раст (+), кај 49 примероци од 60 или кај 81,6 % од испитаниците, а кај II-та (контролната) група кај 2 од (20) или кај 10% од испитаниците –  $p < 0,01$ .

Во I-та група на испитаници, поединечно беа изолирани колонии (+), кај 8 од 60 или кај 13,3 % од испитаниците, а во II-та (контролната) група, кај 6 од 20 или кај 30% од испитаниците –  $p < 0,05$ .

Во I-та група испитаници имаше негативен наод (-) на лактобацили, кај 3 од 60 или кај 5% од испитаниците, а во II-та (контролната) група, кај 12 од 20 или кај 60% од испитаниците –  $p < 0,01$ .

По 24 часа, во I-та група испитаници, беа изолирани колонии на лактобацили со конфлуентен раст (+), кај 58 примероци од 60 или кај 96,6 %

од испитаниците, а во II-та (контролната) група кај 3 од 20 или кај 15% од испитаниците –  $p < 0,01$ .

Во I-та група испитаници поединочно беа изолирани колонии (+), кај 2 од 60 или кај 3,3% од испитаниците, а во II-та (контролната) кај 8 од 20 или кај 40% од испитаниците –  $p < 0,01$ .

Во I-та група испитаници не беше најден негативен наод (-) на лактобацили, а во II-та контролната група, беше најден кај 9 од 20 или кај 45% од испитаниците –  $p < 0,01$ .

Колонизирањето на емајловата површина со мутанс стрептококи и лактобацили по 4 и по 24 часа, пред и по испирање на емајловата површина, кај I-та група испитаници (со кариозно – неасанирано забало) беше побрзо и во поголем број, во однос на II-та (контролната) група испитаници (со здраво – интактно забало).

Оваа разлика, статистички е високо сигнификантна –  $p < 0,01$ .

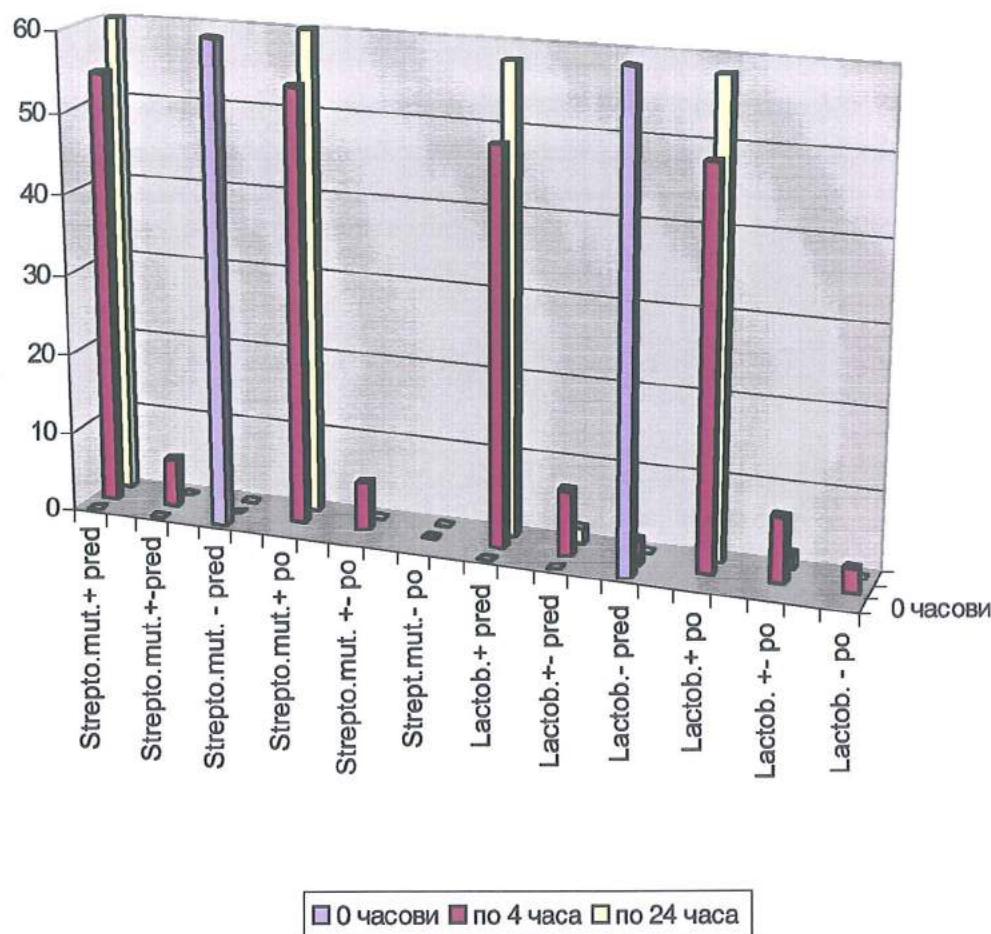
Кај двете групи испитаници , по 4 и по 24 часа мутанс стрептококите ја колонизираа емајловата површина побрзо и во поголем број, во однос на лактобацилите.

Испирањето на емајловата површина, кај двете групи на испитаници (60 + 20), немаше влијание врз колонизирањето.

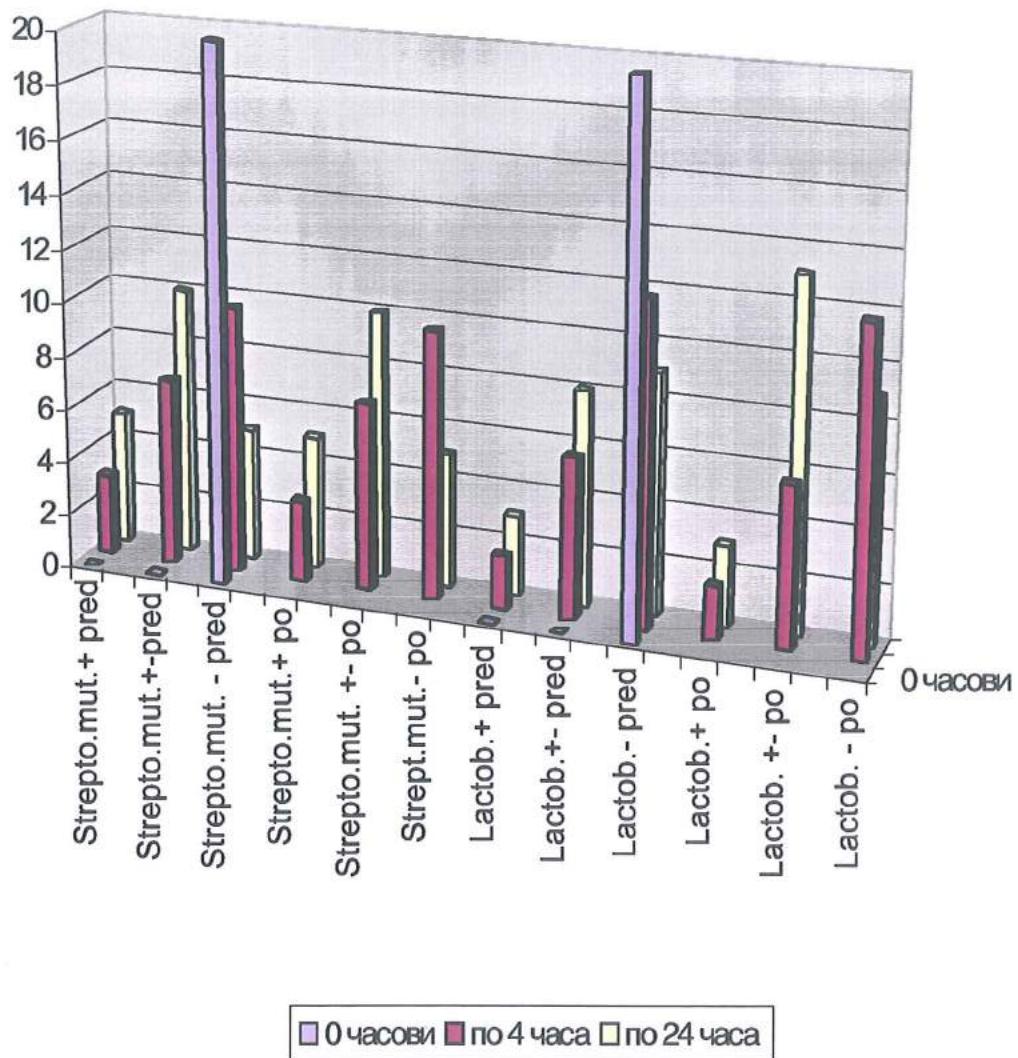
За статистичка обработка на резултатите беше применет  $\chi^2$  тест на слагање и Fischer-овиот тест на абсолютна веројатност.

Добиените резултати се прикажани и графички на дијаграмите 6 (гр-1) и 6а (гр-2).

*Графикон 6- гр. I: Колонизирање на емајловата површина со мутанси стрептококи и лактобацили, непосредно по темелното чистење (0), по 4 и по 24 часа кај 60 испитаници со изразено кариозно - несанерирано забало, пред и по испирањето на емајловата површина на забите*



**Графикон б- гр. II: Колонизирање на емајловата површина со мутанси стрептококи и лактобацили, непосредно по темелното чистење (0), по 4 и по 24 часа кај 20 испитаници со здраво - интактно забало (контролна група), пред и по испирањето на емајловата површина на забите**



**Табела 7 (група I) Колонизирање на емајловата површина со мутанс стрептококи и лактобацили, по 4 часа од темелното чистење, кај 60 испитаници со изразено кариозно и несанирано забало, докажано со модифициран метод на CRT- bacteria.**

изолирани (CFU) колонии од дентален плак по 4 часа	изолирани (CFU) колонии на мутанс стрептококи			
	мутанс стрептококи		лактобацили	
	Број на испитаници	% на застапеност	Број на испитаници	% на застапеност
$> 10^7$	15	25,0%	10	16,6%
$10^6 - 10^7$	34	56,6%	27	45,0%
$10^5 - 10^6$	11	18,3%	12	20,0%
$10^4 - 10^5$	-	-	9	15,0%
$10^3 - 10^4$	-	-	2	3,3%
$10^2 - 10^3$	-	-	-	-
$< 10^2$	-	-	-	-
од вкупно	60	100,00%	60	100%

Во колонизирањето на емајловата површина по 4 часа, мутанс стрептококите беа застапени во поголем процент од лактобацилите.

*Табела 7а (група II) : Колонизирање на емајловата површина со мутанс стрептококи и лактобацили, по 4 часа од темелното чистење, кај 20 испитаници со здраво - интактно забало (контролна група), докажано со модифициран метод на CRT- bacteria.*

изолирани (CFU) колонии од дентален плак по 4 часа	изолирани (CFU) колонии на мутанс стрептококи			
	мутанс стрептококи		лактобацили	
	Број на испитаници	% на застапеност	Број на испитаници	% на застапеност
> 10 <sup>7</sup>	-	-	-	-
10 <sup>6</sup> - 10 <sup>7</sup>	-	-	-	-
10 <sup>5</sup> - 10 <sup>6</sup>	-	-	-	-
10 <sup>4</sup> - 10 <sup>5</sup>	2	10,0%	1	5,0%
10 <sup>3</sup> - 10 <sup>4</sup>	11	55,0%	9	45,0%
10 <sup>2</sup> - 10 <sup>3</sup>	5	25,0%	7	35,0%
< 10 <sup>2</sup>	2	10,0%	3	15,0%
од вкупно	20	100,00%	20	100%

И кај контролната група, мутанс стрептококите, беа застапени во поголем процент од лактобацилите.

**Табела 8 (група I): Колонизирање на емајловата површина со мутанс стрептококи и лактобацили, по 24 часа од темелното чистење, кај 60 испитаници со изразено кариозно - несанерирано забало, докажано со модифициран метод на CRT-bacteria.**

изолирани (CFU) колонии од дентален плак по 24 часа	изолирани (CFU) колонии на мутанс стрептококи			
	мутанс стрептококи		лактобацили	
	Број на испитаници	% на застапеност	Број на испитаници	% на застапеност
> 10 <sup>7</sup>	17	28,3%	11	18,3%
10 <sup>6</sup> - 10 <sup>7</sup>	35	58,3%	29	48,3%
10 <sup>5</sup> - 10 <sup>6</sup>	8	13,3%	13	21,6%
10 <sup>4</sup> - 10 <sup>5</sup>	-	-	4	6,6%
10 <sup>3</sup> - 10 <sup>4</sup>	-	-	3	5,0%
10 <sup>2</sup> - 10 <sup>3</sup>	-	-	-	-
< 10 <sup>2</sup>	-	-	-	-
од вкупно	60	100,00%	60	100%

И кај колонизирањето на емајловата површина по 24 часа, мутанс стрептококите беа застапени во поголем процент од лактобацилите.

**Табела 8а (група II) : Колонизирање на емајловата површина со мутанс стрептококи и лактобацили, по 24 часа од темелното чистење, кај 20 испитаници со здраво - интактно забало (контролна група), докажано со модифициран метод на CRT-bacteria.**

изолирани (CFU) колонии од дентален плак по 24 часа	изолирани (CFU) колонии на мутанс стрептококи			
	мутанс стрептококи		лактобацили	
	Број на испитаници	% на застапеност	Број на испитаници	% на застапеност
> 10 <sup>7</sup>	-	-	-	-
10 <sup>6</sup> - 10 <sup>7</sup>	-	-	-	-
10 <sup>5</sup> - 10 <sup>6</sup>	-	-	-	-
10 <sup>4</sup> - 10 <sup>5</sup>	3	15,0%	2	10,0%
10 <sup>3</sup> - 10 <sup>4</sup>	11	55,0%	10	50,0%
10 <sup>2</sup> - 10 <sup>3</sup>	4	20,0%	6	30,0%
< 10 <sup>2</sup>	2	10,0%	3	15,0%
од вкупно	20	100,00%	20	100%

Исто така, и кај контролната група испитаници, мутанс стрептококите беа застапени во поголем процент од лактобацилите.

На табела 7 и 8 (гр.I) и табела 7а и 8а (гр.II), се прикажани резултатите од колонизирањето на емајловата површина со мутанс стрептококи и лактобацили, по 4 и по 24 часа од темелното чистење, кај I-та и II-та група испитаници (60+20), докажано со модифициран метод на CRT - bacteria (комплетот).

Во колонизирањето на емајловата површина, мутанс стрептококите беа застапени во поголем процент од лактобацилите. Тоа беше особено изразено кај I-та група испитаници (со изразено кариозно и несанирано забало).

Колонизирањето на емајловата површина, кај I-та и II-та (контролната) група испитаници, значајна, сигнификантна статистичка разлика.

Кај примероците земени по 4 и по 24 часа:

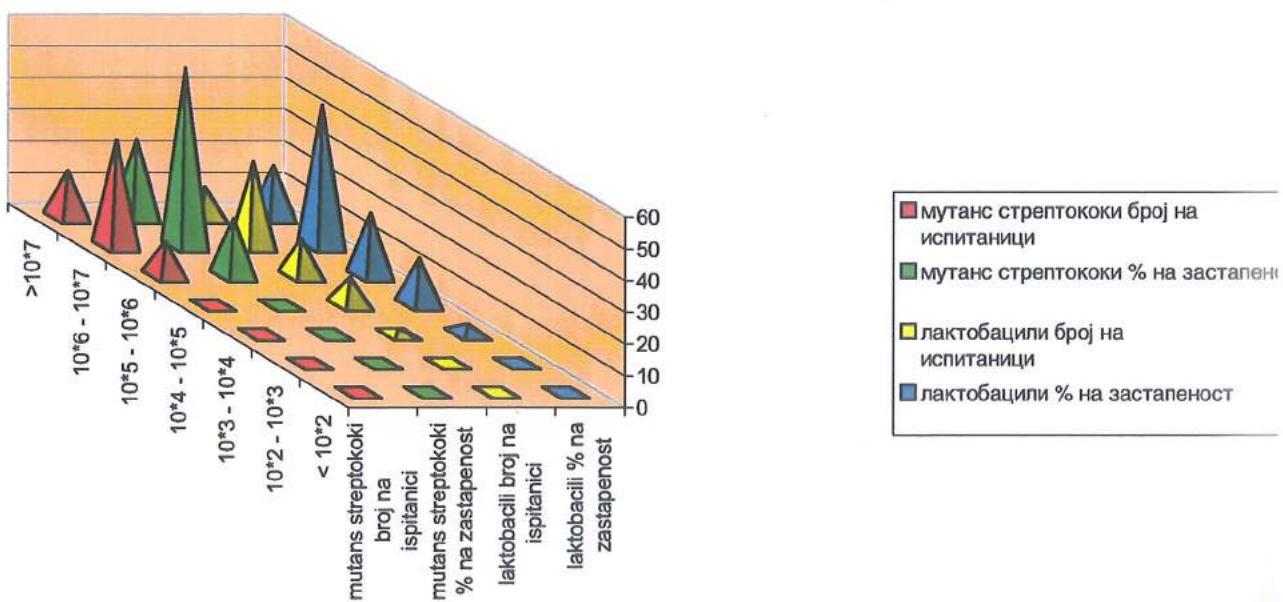
- CFU - колонии на мутанс стрептококи и лактобацили: CFU  $>10^7$ ;

CFU -  $10^6$ - $10^7$ ; и CFU -  $10^5$  -  $10^6$ ; кај I-та група испитаници ( со кариозно и несанирано забало) беа изолирани , а кај II-та (контролната) група (со здраво - интактно забало), не беа изолирани. Беа изолирани поединечни колонии и колонии на CFU со многу помал број CFU  $< 10^2$ ,  $10^2$ - $10^3$  и  $10^3$ - $10^4$ .

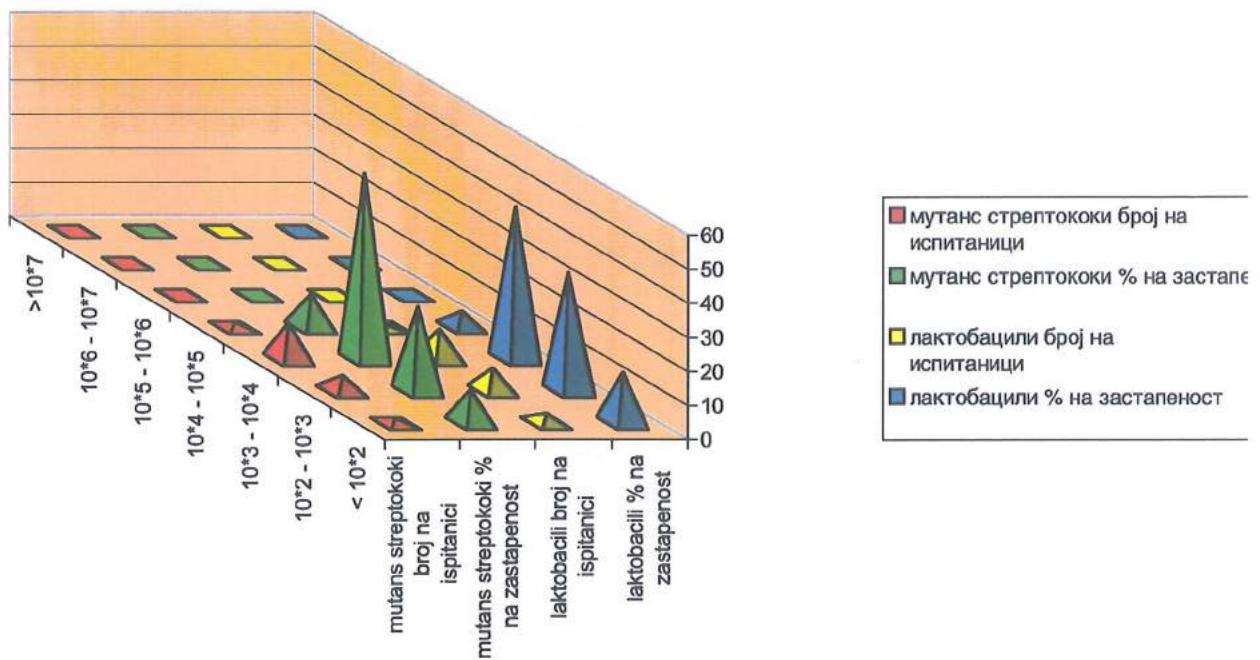
Оваа разлика во колонизирањето на емајловата површина, кај I-та и II-та (контролната) група испитаници, по 4 и по 24 часа, има високо сигнификантна статистичка разлика -  $p < 0,01$ .

Добиените резултати од колонизирањето на емајловата површина, по 4 и по 24 часа, се прикажани и графички на дијаграмите: 7 и 8 (гр.I) и 7а и 8а (гр. II).

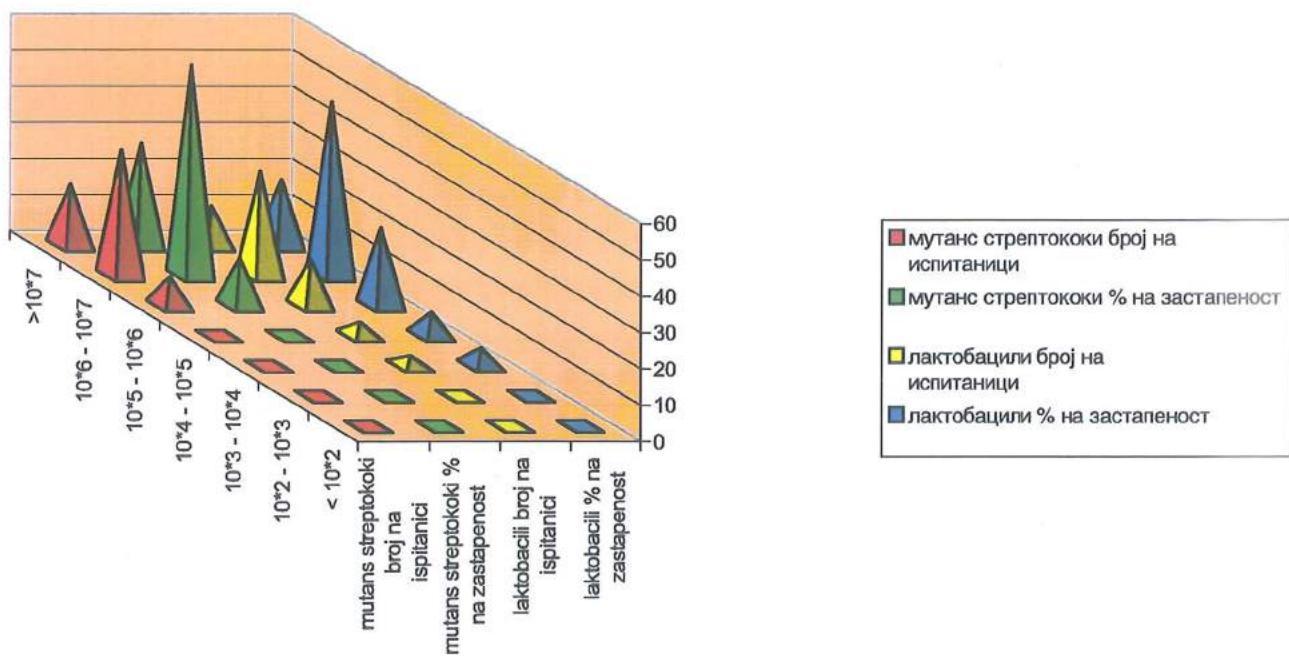
*Графикон 7- гр. I: Колонизирање на емајловата површина со мутанс стрептококи и лактобацили, по 4 часа од темелното чистење, кај 60 испитаници со изразено кариозно и несанирано забало, докажано со модифицирана метода на CRT - bacteria*



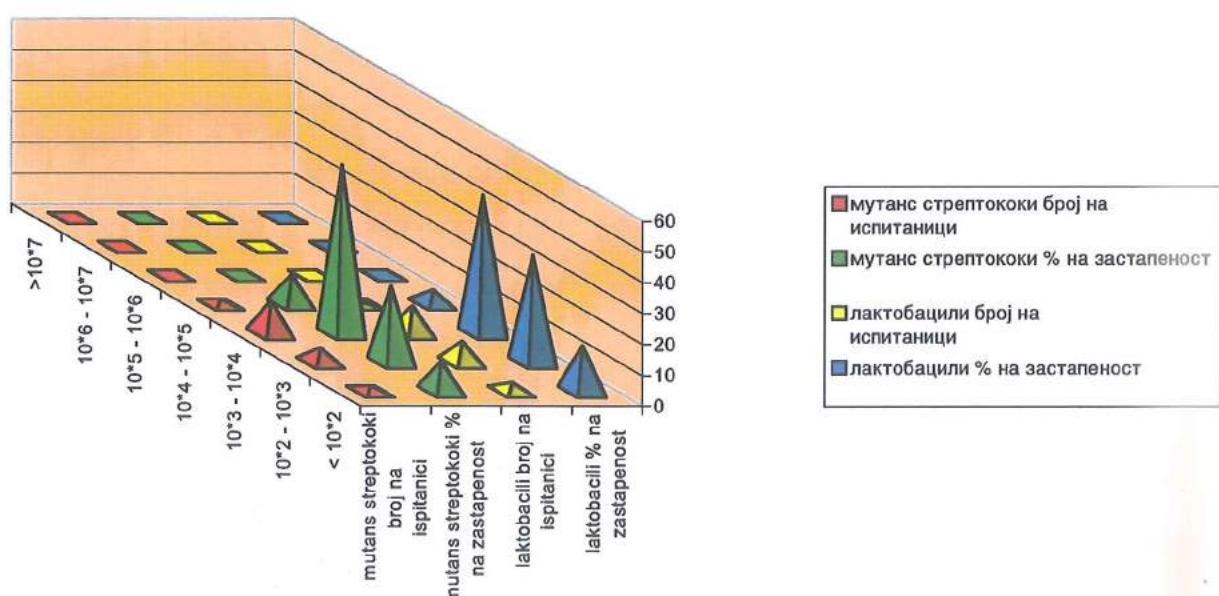
*Графикон 7- гр. II: Колонизирање на емајловата површина со мутанс стрептококи и лактобацили, по 4 часа од темелното чистење, кај 20 испитаници со здраво - интактно забало (контролна група), докажано со модифицирана метода на CRT - bacteria*



**Графикон 8 - гр. I: Колонизирање на емајловата површина со мутанс стрептококи и лактобацили, по 24 часа од темелното чистење, кај 60 испитаници со изразено кариозно и несанерирано забало, докажано со модифициран метод на CRT - bacteria**



**Графикон 8 - гр. II: Колонизирање на емајловата површина со мутанс стрептококи и лактобацили, по 24 часа од темелното чистење, кај 20 испитаници со здраво - интактно забало (контролна група), докажано со модифициран метод на CRT - bacteria**



## 6.2. Резултати од извршеното микробиолошко испитување на плунка кај испитаници од I-та и II-та група

*Табела 9 (гр. I): Густина на раст на изолираните бактерии од плунка на 60 испитаници со изразено кариозно и несанерирано забало.*

Бактерии	густина на раст во 1 ml плунка							од вкупно испитаници
	AAA	AAB	ABC	BBO	VCO	CCO	COO	
Аеробни бактерии	-	2	30	19	6	3	-	60
Анаеробни Грам + бактерии	27	20	9	4	-	-	-	60
Анаеробни Грам - бактерии	-	2	7	11	21	7	12	60

- Кај аеробните бактерии во мл. плунка, доминираа изолираните колонии
- ABC, кај 30 примероци од вкупно 60;
- Кај анаеробните грам + бактерии - AAA, кај 27 примероци;
- Кај анаеробните грам - бацили - VCO, кај 21 примерок од вкупно 60.

Густината на раст на изолираните колонии беше најголема, кај анаеробните грам + бактерии ( $A > 100$ ), а најмала, кај анаеробните грам - бацили (10 - 20 колонии).

**Табела 9 (гр. II): Густина на раст на изолираните бактерии од плунка на 20 испитаници со здраво - интактно забало (Контролна група).**

Бактерии	густина на раст во 1 ml плунка							од вкупно испитаници
	AAA	AAB	ABC	BBO	BCO	CCO	COO	
Аеробни бактерии	-	-	3	5	12	-	-	20
Анаеробни Грам + бактерии	-	5	15	-	-	-	-	20
Анаеробни Грам - бактерии	-	-	-	-	10	10	-	20

На табела 9 (гр.I) и табела 9а (гр.П), се прикажани резултатите од вкупниот број изолирани бактерии во ml. плунка, кај двете групи испитаници (60 + 20).

И кај двете групи испитаници доминираа изолираните колонии на аеробни и анаеробни грам + бактерии.

Густината на раст на изолираните колонии, кај I-та група испитаници (со изразено кариозно и несанирано забало), беше значително поголема во однос на II-та (контролната) група (со здраво - интактно забало).

Резултати од испитувањето на густината на раст во ml. плунка кај изолираните колонии:

#### 1. Аеробни бактерии:

- Кај густината AAA, AAB, BBO, CCO и COO и во двете групи испитаници (60 + 20), немаше, сигнификантна статистичка разлика -  $p > 0,05$ , а кај густината ABC и BCO имаше, сигнификантна статистичка разлика -  $p < 0,01$

#### 2. Анаеробни грам + бактерии кај изолираните колонии:

- Кај густината AAA - имаше сигнификантна статистичка разлика –  $p < 0,01$ ;

- Кај густината ABC - имаше сигнификантна статистичка разлика –  $p < 0,05.$ ,

- Кај густината AAB и BBO - немаше сигнификантна статистичка разлика –  $p > 0,05.$

### 3. Анаеробни грам - бацили кај изолираните колонии:

- Кај густината AAA, AAB, BCO и CCO - немаше сигнификантна статистичка разлика –  $p > 0,05;$

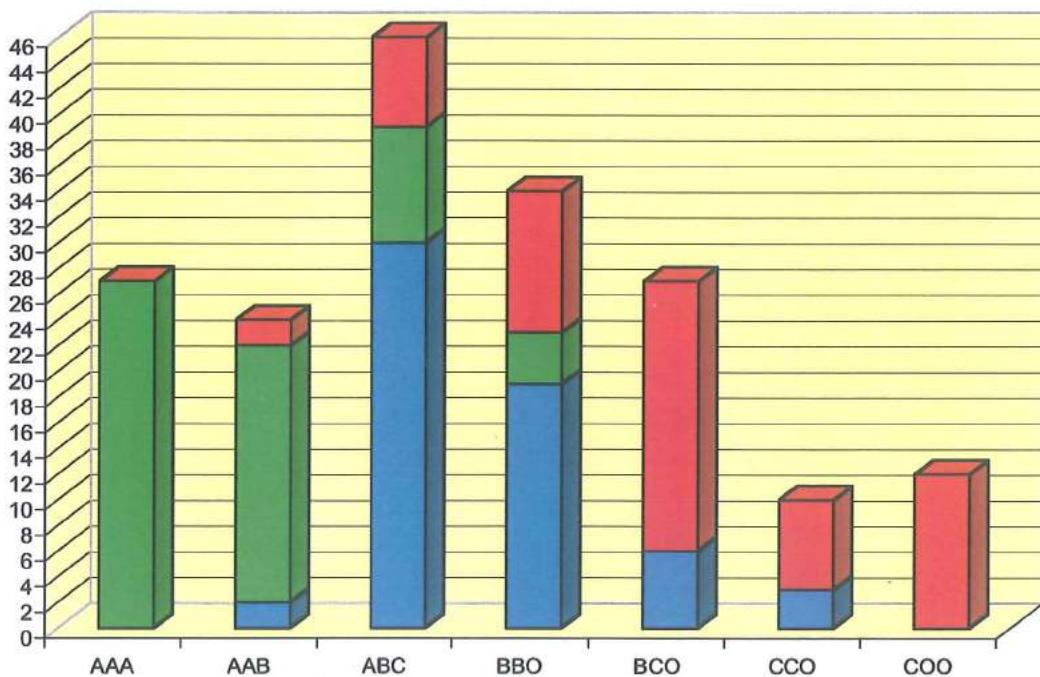
- Кај густината ABC - имаше сигнификантна статистичка разлика –  $p < 0,05;$

- Кај густината BBO - имаше сигнификантна статистичка разлика –  $p < 0,01.$

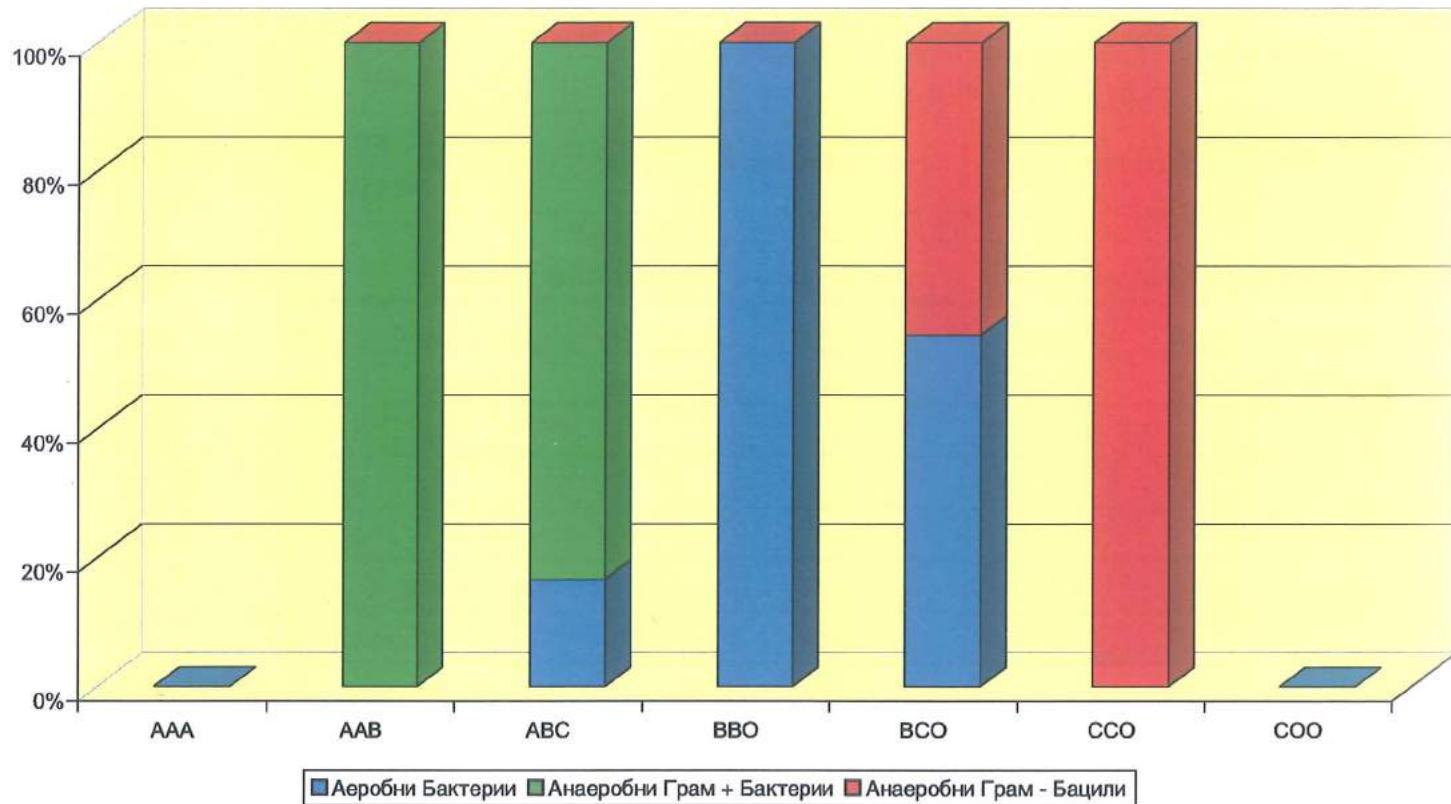
За статистичка обработка на резултатите, беше применет Fischer-ов тест на абсолютна веројатност.

Добиените резултати, се прикажани и графички на дијаграмите: 9 (гр. I) и 9а (гр. II).

***Графикон 9 - гр. I: Вкупен број на изолирани бактерии од мешана плунка на 60 испитаници со изразено кариозно и несанирано забало***



*Графикон 9 - гр. II: Вкупен број на изолирани бактерии од мешана плунка  
на 20 испитаници со здраво - интактно забало (контролна група)*



**Табела 10 (гр I): Квантитативна застапеност на *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus species* во мл. плунка кај 60 испитаници со изразено кариозно - несанирано забало, докажано со CRT Bacteria (комплетот)**

CFU / ml. Плунка	Квантитативна застапеност на <i>Streptococcus mutans</i> и <i>Lactobacillus species</i> , во ml. плунка			
	<i>Streptococcus mutans</i>		<i>Lactobacillus species</i>	
	Број на испитаници	% на застапеност	Број на испитаници	% на застапеност
$> 10^6$	19	31,6%	15	25,0%
$10^5 - 10^6$	28	46,6%	20	33,3%
$10^4 - 10^5$	13	21,6%	12	20,0%
$10^3 - 10^4$	-	-	10	16,6%
$10^2 - 10^3$	-	-	3	5,0%
$< 10^2$	-	-	-	-
од вкупно	60	100,00%	60	100%

**Табела 10 (гр II) Квантитативна застапеност на *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus species* во мл. плунка кај 20 испитаници со здраво - интактно забало (контролна група), докажано со CRT Bacteria (комплетот)**

CFU / ml. Плунка	Квантитативна застапеност на <i>Streptococcus mutans</i> и <i>Lactobacillus species</i> , во ml. плунка			
	<i>Streptococcus mutans</i>		<i>Lactobacillus species</i>	
	Број на испитаници	% на застапеност	Број на испитаници	% на застапеност
$> 10^6$	-	-	-	-
$10^5 - 10^6$	-	-	-	-
$10^4 - 10^5$	3	15,0%	2	10,0%
$10^3 - 10^4$	10	50,0%	7	35,0%
$10^2 - 10^3$	5	25,0%	8	40,0%
$< 10^2$	2	10,0%	3	15,0%
од вкупно	20	100,00%	20	100%

Резултатите од квантитативната застапеност на *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus species* во ml. плунка, кај I-та и II-та група испитаници (60+20) се прикажани на табела 10 (гр. I) и табела 10а (гр. II).

Добиените резултати од испитувањето со CRT-bacteria (комплетот) покажаа дека застапеноста на *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus species* во ml. плунка, кај I-та и II-та (контролната) група испитаници, има голема и значајна статистичка разлика.

- Во I-та група на испитаници, беа изолирани  $CFU > 10^6$  - колонии на *S. mutans* и *L. species* во ml. плунка, кај 31,6%, односно кај 25% од испитаниците, а во II-та (контролната) група ( $CFU > 10^6$ ), не беа изолирани колонии на *S. mutans* и *L. species*.

Застапеноста на *S. mutans* и *L. species* во ml. плунка, кај I-та група испитаници (со изразено кариозно и несанирано забало), има, сигнификантна статистичка разлика, за разлика од II-та (контролна) група (со здраво - интактно забало).

Тестот за пропорции (% на застапеност) го покажа следново:

$$t = 5,314; DF = 78; p < 0,01.$$

- Во I-та група испитаници беа изолирани  $CFU$  - од  $10^5 - 10^6$  - колонии на *S. mutans* и *L. species*, во ml. плунка, кај 46,6%, односно кај 33,3% од испитаниците, а во II-та (контролната) група ( $CFU - 10^5 - 10^6$ ), исто така, не беа изолирани колонии на *S. mutans* и *L. species*.

$$t = 7,294; DF = 78; p < 0,01.$$

- Во I-та група испитаници беа изолирани  $CFU$  - од  $10^4 - 10^5$  - колонии на *S. mutans* и *L. species*, во ml. плунка, кај 21,6%, односно кај 20% од испитаниците, а во II-та (контролната) група, беа изолирани кај 15%, односно кај 10% од испитаниците.

$t = 0,628; DF = 78; p > 0,05$  - нема значајна, сигнификантна статистичка разлика кај двете групи испитаници (60 + 20).

-  $CFU$  - од  $10^3 - 10^4$  - во I-та група на испитаници, не беа изолирани колонии на *S. mutans* но, беа изолирани колонии на *L. species* кај 16,6% од испитаниците. Во II-та (контролната) група, *S. mutans* беше застапен кај 50%, а *L. species* кај 35% од испитаниците.

$$t = 4,472; DF = 78; p < 0,01.$$

- CFU - од  $10^2$  -  $10^3$  - во I-та група испитаници, исто така не беа изолирани колонии на *S. mutans*, а колонии на *L. species*, беа изолирани кај 5% од испитаниците. Во II-та (контролната) група испитаници, беа изолирани кај 25%, односно кај 40% од испитаниците.

$$t = 2,581; DF = 78; p < 0,05.$$

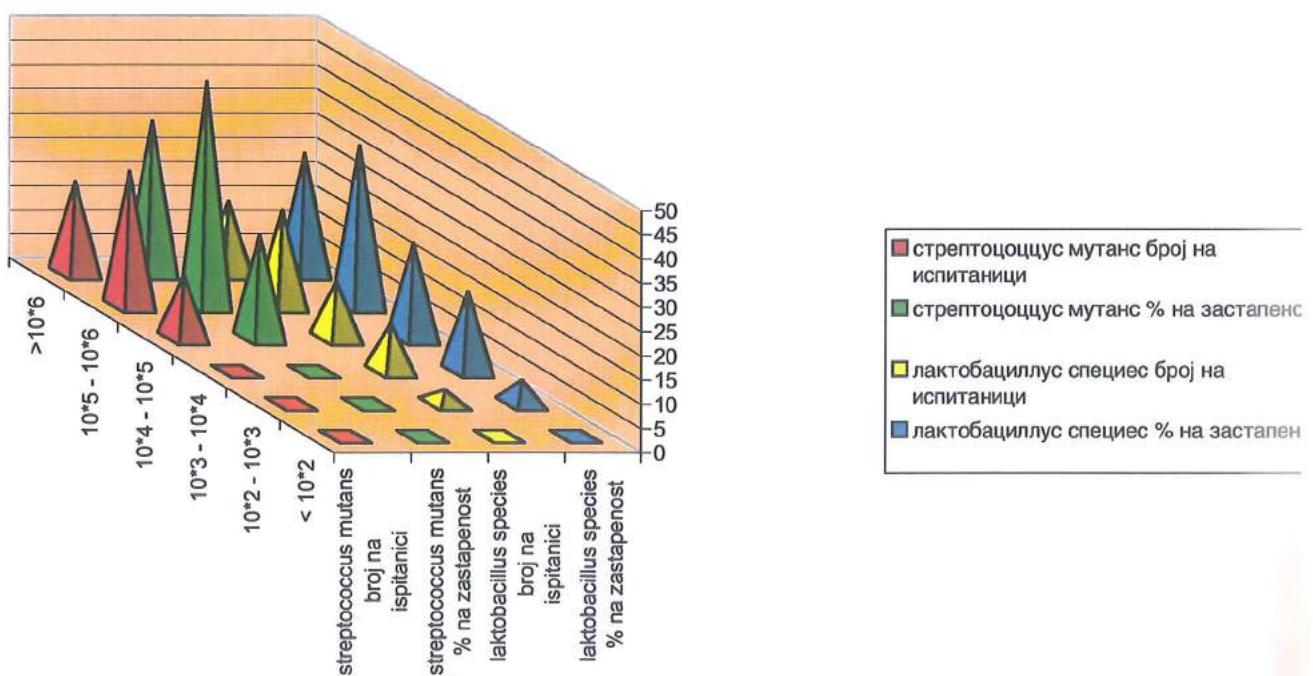
-  $CFU < 10^2$  - Во I-та група испитаници не беа изолирани колонии на *S. mutans* и *L. species*, во ml. плунка, а во II-та (контролната) група беа изолирани кај 10%, односно кај 15% од испитаниците.

$t = 2,108; DF = 78; p < 0,05$ ; исто така, имаше значајна, сигнификантна статистичка разлика помеѓу I-та и II-та група на испитаници.

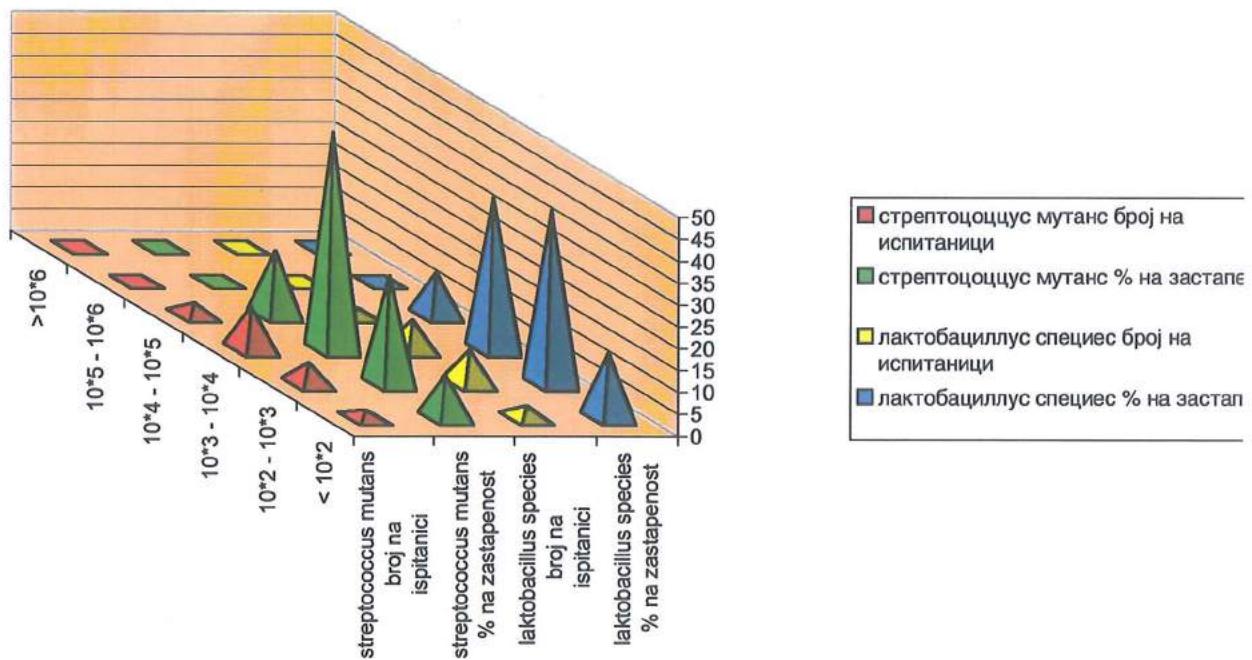
За статистичка обработка на резултатите, беше применет тест за пропорции (% на застапеност).

Добиените резултати, се прикажани и графички на дијаграмите 10 (гр.I) и 10a (гр.II).

*Графикон 10 - гр. I: Квантитативна застапеност на *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus species* во ml. / плунка кај 60 испитаници со изразено кариозно - несанерирано забало, докажано со CRT - bacteria (комплетот)*



**Графикон 10 - гр. II: Квантитативна застапеност на *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus species* во ml. / плунка кај 20 испитаници со здраво - интактно забало (контролна група), докажано со CRT - Bacteria (комплетот)**



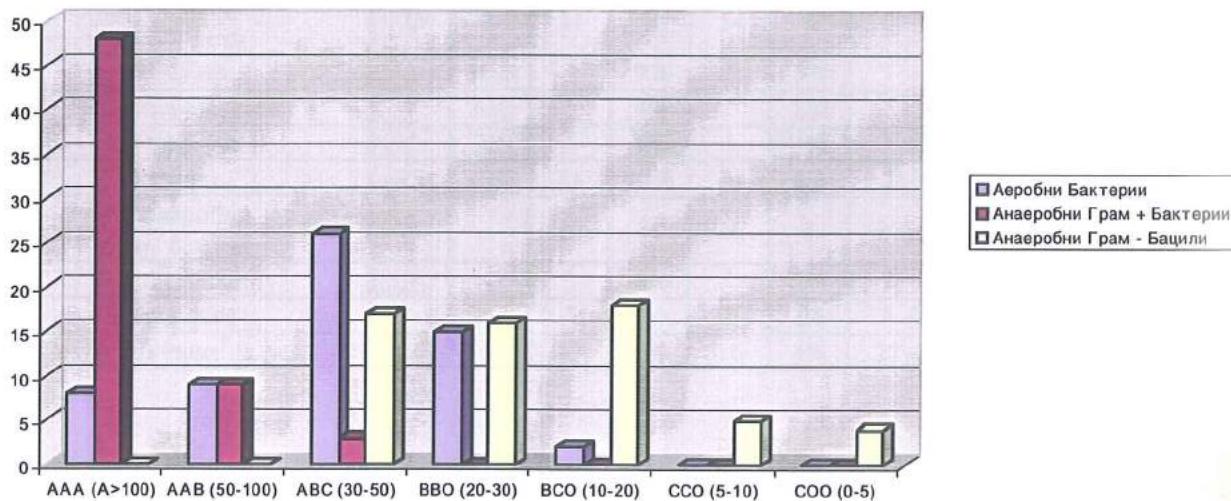
### 6.3. Резултати од микробиолошкото испитување на кариозната содржина

#### 6.3.1. Бактериологија на кариозен заб

*Табела 11 (гр. I): Вкупен број на изолирани бактерии од кариозна содржина на 60 испитаници со изразено кариозно и несанирано забало.*

Бактерии	Изолирани колонии на бактерии од кариозна содржина							од вкупно испитаници
	AAA	AAB	ABC	BBO	BCO	CCO	COO	
Аеробни бактерии	8	9	26	15	2	-	-	60
Анаеробни Грам + бактерии	48	9	3	-	-	-	-	60
Анаеробни Грам - бактерии	-	-	17	18	18	5	4	60

*Графикон 11 - гр. I: Вкупен број на изолирани бактерии од кариозна содржина на 60 испитаници со изразено кариозно и несанирано забало*



**Табела 12 (гр.I) : % на застапеност на поединечни видови микроорганизми изолирани од карисна содржина на 60 испитаници со изразено корисно несанерирано забало.**

ТАБЕЛА 12 Изолирани видови бактерии	% на застапеност на поединечни видови микроорганизми специеси во изолирани колонии од карисна содржина									
									Од вкупно	% на застапеност
	(и)	%	(и)	%	(и)	%	(и)	%		
<b>1. Факултативно аеробни коки и бацили <i>S. Viridans</i> група</b>	8	%	9	%	26	%	17	%	60	
<i>Streptococcus mutans</i>	"	11%	"	10%	"	9%	"	7%	60	37%
" <i>sanguis</i>	"	8%	"	6%	"	4%	"	3%	"	21%
" <i>mitis</i>	"	6%	"	4%	"	3%	"	2%	"	15%
<i>s.oralis intermedius</i> ( <i>viridans</i> - други)	"	6%	"	4%	"	3%	"	1%	"	14%
<i>s. piogenes</i>	"	2%	"	1%	"	1%	"	-	"	4%
<i>Neisseria</i> (непатогени видови)	"	3%	"	2%	"	1%	"	-	"	6%
<i>Corynebacterium</i> (непат. Видови)	"	1%	"	1%	"	1%	"	-	"	3%
Вкупно	8	37%	9	28%	26	22%	17	13%	60	100%
<b>2. Микроаерофилни и анаеробни грам+ бацили</b>	24	%	19	%	12	%	5	%	60	
<i>Lactobacillus</i> speciec	"	15%	"	13%	"	10%	"	8%	60	46%
" <i>casei</i>	"	6%	"	4%	"	3%	"	2%	"	15%
" <i>fermenti</i>	"	3%	"	2%	"	1%	"	1%	"	7%
" <i>brevis</i>	"	2%	"	2%	"	1%	"	-	"	5%
<i>Actinomyces</i>	"	7%	"	6%	"	3%	"	1%	"	17%
<i>Bifidobacterium</i>	"	3%	"	2%	"	2%	"	-	"	7%
<i>Propionibacterium</i>	"	1%	"	1%	"	1%	"	-	"	3%
Вкупно	24	37%	19	30%	12	21%	5	12%	60	100%
<b>3. Анаеробни грам - + коки</b>	23	%	21	%	14	%	2	%	60	
<i>Veillonella</i>	"	10%	"	9%	"	5%	"	-	60	24%
<i>Peptostreptococcus</i>	"	6%	"	4%	"	2%	"	-	"	12%
<i>Peptococcus</i>	"	2%	"	1%	"	1%	"	-	"	4%
Вкупно	23	18%	21	14%	14	8%	2	-	60	40%
<b>4. Анаеробни грам - бацили</b>	-	-	17	%	16	%	27	%	60	
<i>Fusobacterium</i>	-	-	"	4%	"	2%	"	1%	60	7%
<i>Bacteroides</i>	-	-	"	2%	"	2%	"	1%	"	5%
Вкупно	-	-	17	6%	16	4%	27	2%	60	12%

На табела 12 (гр. I), е прикажана бактериологијата на кариозен заб кај 60 пациенти - (испитаници) со изразено кариозно и несанирано забало.

Од земените 60 примероци, беа изолирани и диференцирани 19 видови на микроорганизми - специеси, воглавно идентични со оние од плунката и денталниот плак, но во значително поголем процент.

Доминираа факултативно аеробните коки од *Viridans* групата и микроаерофилните и анаеробни грам + бацили

Кај факултативно аеробните грам + коки и бацили доминираа мутанс стрептококите: *S. mutans*, со 37%, *S. sanguis*, со 21% и *S. mitis*, со 15%, а кај микроаерофилните и анаеробни грам + бацили - лактобацилите, *L. species* со 46 % и *L. casei* со 15%.

Исто така во значително голем процент, беа изолирани и *S. oralis intermedius* со 14% и *Actinomyces* со 17%.

Кај анаеробните грам + коки, доминираше *Veillonella* со 24% и *Peptostreptococcus* со 12%, а анаеробните грам - бацили беа изолирани во значително помал процент: *Fusobacterium* со 7% и *Bacteroides* со 5%.

#### 6.4. Резултати од испитуваните pH вредности на мешана плунка

*Табела 13 (гр. I): Добиени pH вредности на мешана (нестимулирана) плунка кај испитаници со изразено кариозно и несанирано забало (60).*

Добиени pH вредности	Број на испитаници	Од вкупно
pH 5.90 - 5.99	3	60
pH 6.05 - 6.10	5	60
pH 6.12 - 6.20	7	60
pH 6.25 - 6.38	9	60
pH 6.40 - 6.50	7	60
pH 6.55 - 6.60	5	60
pH 6.61 - 6.70	4	60
pH 6.75 - 6.80	6	60
pH 6.84 - 6.90	3	60
pH 6.91 - 6.99	2	60
pH 7.00	7	60
pH 7.01 - 7.10	2	60

- Кисела pH вредност (pH 5.90 - 6.50), е најдена кај 31 испитаник или кај 51,6 %
- Слабо кисела (pH 6.55 - 6.99), кај 20 испитаници или кај 33,3 %;
- Неутрална (pH 7.00), кај 7 испитаници или кај 11,6 % ;
- Слабо базична (pH 7.01 - 7.10), само кај 2 испитаника од вкупно 60 или кај 3,3%.

**Табела 13 (гр. II): Добиени pH вредности на мешана (нестимулирана) плунка кај контролната група испитаници 20, со здраво - интактно забало**

Добиени pH вредности	Број на испитаници	Од вкупно
pH 5.90 - 6.50	-	20
pH 6.95 - 6.99	2	20
pH 7.00	6	20
pH 7.01 - 7.05	3	20
pH 7.06 - 7.12	2	20
pH 7.15 - 7.20	2	20
pH 7.21 - 7.25	2	20
pH 7.33	1	20
pH 7.42	1	20
pH 7.51	1	20

- Кисела pH вредност (pH 5.90 - 6.50) не е најдена кај испитаниците од контролната група (20);
- Слабо кисела (pH 6.95 - 6.99), е најдена кај 20 испитаника или кај 10 %;
- Неутрална (pH 7.00), кај 6 испитаници или кај 30% ;
- Слабо базична (pH 7.01 - 7.51), е најдена кај 12 испитаника од вкупно 20 или кај 60%.

На табела 13 (гр. I) и табела 13а (гр. II), се прикажани резултатите од испитувањето на pH на плунката, кај испитаниците од I-та и II-та група (60 + 20).

- Кај испитаниците од I-та група (со изразено кариозно – несанирано забало), е најдена кисела pH вредност (pH 5.90 – 6.50), кај 31 испитаник од 60 или кај 51,6% од испитаниците, а кај испитаниците од II-та (контролната) група (со здраво – интактно забало) истата не беше најдена.

Добиените вредности имаат високо сигнификантна статистичка разлика –  $p < 0,01$ ; ANOVA за пропорции:  $F_x=20,8448$ ;  $DF=1$ .

- Кај испитаниците од I-та група е најдена слабо кисела pH вредност (pH 6,55 – 6,99) кај 20 од 60 или кај 33,3 % од испитаниците, а кај испитаниците од II-та група, беше најдена кај 2 од 20 или кај 10% од испитаниците.

Добиените вредности имаат значајна сигнификантна статистичка разлика –  $p < 0,05$ ; ANOVA за пропорции:  $F_x=4,21$ ;  $DF=1$ .

- Кај испитаниците од I-та група е најдена неутрална pH вредност (pH 7,00) кај 7 од 60 или кај 11,6% од испитаниците, а кај испитаниците од II-та група, кај 6 од 20 или кај 30% од испитаниците.

Добиените вредности немаат значајна сигнификантна статистичка разлика –  $p > 0,05$ ; ANOVA за пропорции:  $F_x=3,787$ ;  $DF=1$ .

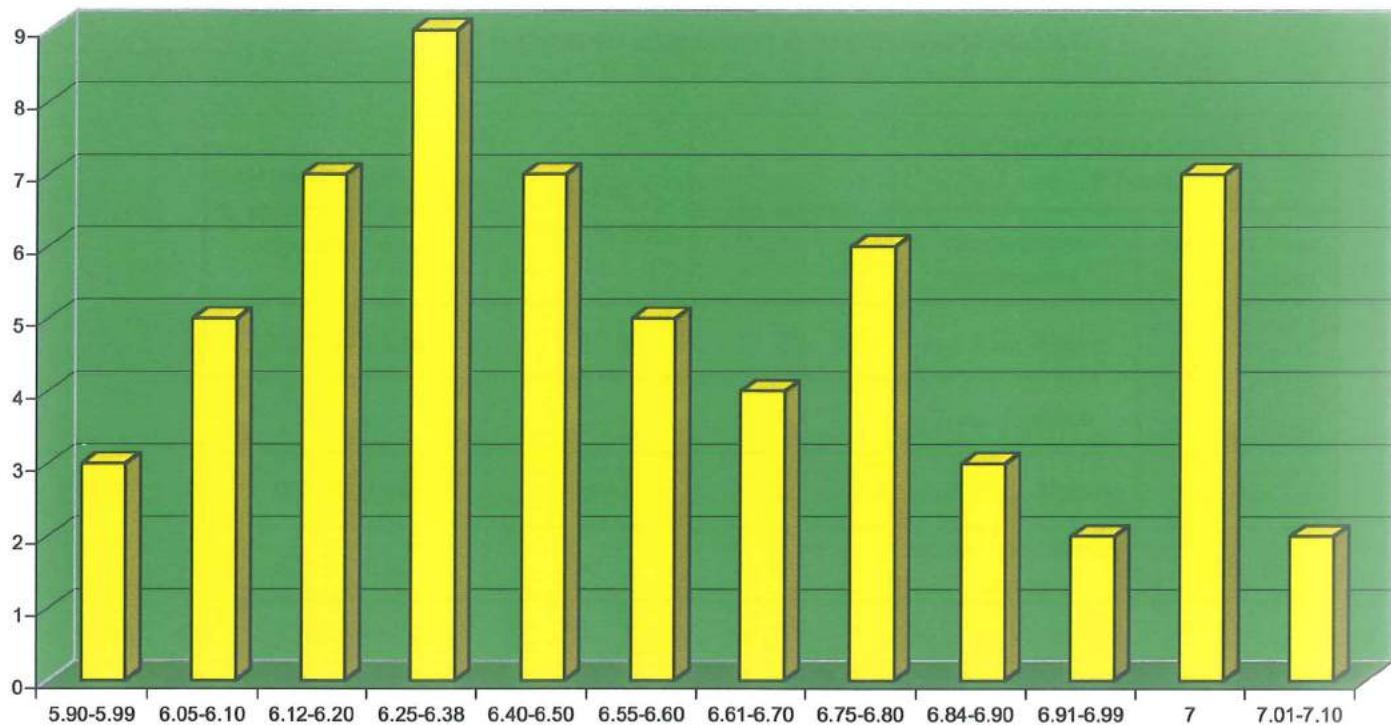
- Кај испитаниците од I-та група е најдена слабо базична pH вредност (pH 7,01- 7,51) кај 2 од 60 или кај 3,3% од испитаниците а кај II-та група (контролната) , кај 12 од 20 или кај 60% од испитаниците.

Добиените вредности имаат високо сигнификантна статистичка разлика –  $p < 0,01$ ; ANOVA за пропорции:  $F_x=55,797$ ;  $DF=1$ .

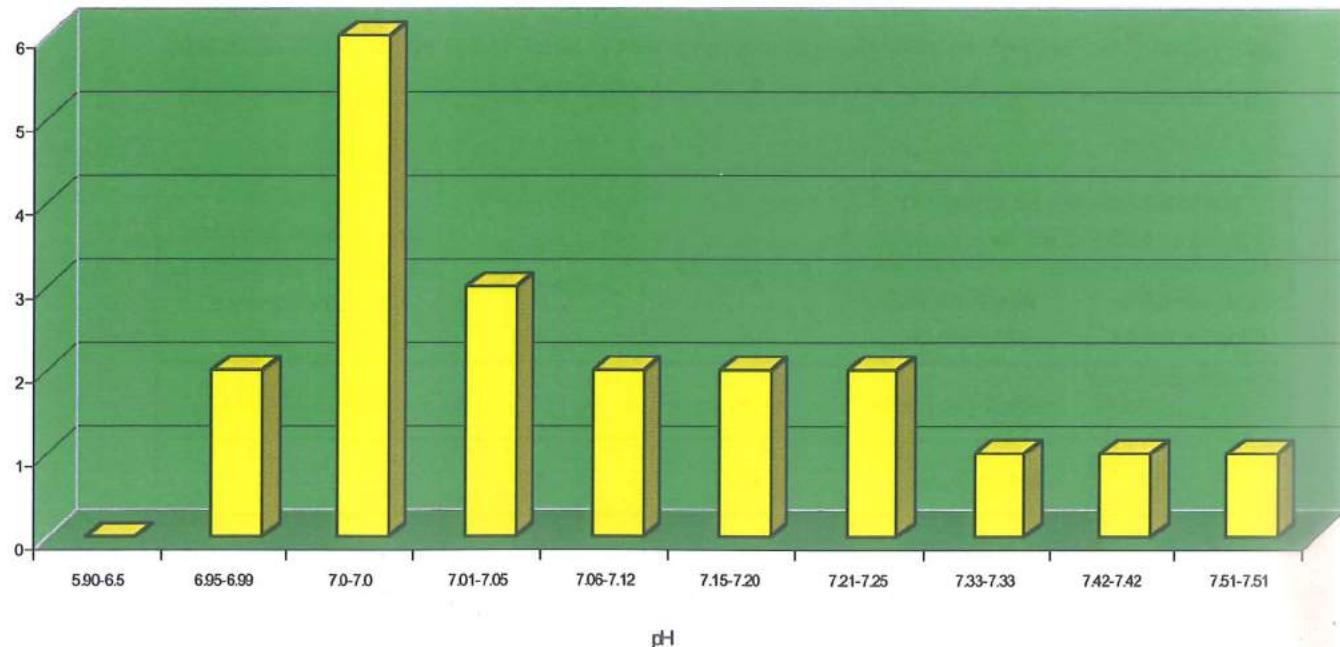
Кај I-та група испитаници (со изразено кариозно – несанирано забало), доминираше pH од 5,90 – 6,99 (кисела и слабо кисела средина), а кај II-та (контролната) група (со здраво – интактно забало), доминираше pH од 7,00 до 7,51 (неутрална и слабо базична средина).

Разликите на добиените pH вредности, се прикажани и графички на дијаграмите 13 (гр I) и 13а (гр II).

*Графикон 13 - гр. I: Добиени pH вредности на мешана (нестимулирана) плунка, кај испитаници со изразено кариозно и несанерирано забало 60)*



*Графикон 13 - гр. II: Добиени pH вредности на мешана (нестимулирана) плунка, кај контролната група испитаници (20) со здраво - интактно забалоинтактно забало*



**Табела 14 (гр I) :Добиени резултати од одредувањето на CRT buffer капацитетот на излечена (стимулирана) плунка за време од 5 минути, изразено во мл. плунка во минута, кај испитаници со изразено кариозно и несанирано забало**

дебиени вредности за време од 1 минута, изразено во ml.	Број на испитаници	Од вкупно	стандарт на производителот на CRT buffer	
			споредбени вредности	дебиена боја на тест лента
1.0.5. - 1.1 ml	3	60	над 1 ml Висок	сина
1 ml.	12	60	1 ml. Среден	зелена
0.7 - 0.9 ml.	25	60	до 0.7 ml. Низок	жолта
0.3 - 0.6 ml	20	60	под 0.7 ml. Многу низок	жолта

- Висок CRT buffer капацитет (над 1 ml. плунка во минута), е најден кај 3 испитаници или кај 5% (тест лента обоена сино);
- Среден - нормален (1 ml.), кај 12 испитаници или кај 20% (зелена боја);
- Низок ( до 0.7 ml), кај 25 испитаници или кај 41,5% (жолта боја);
- Многу низок (под 0.7 ml), кај 20 испитаници или кај 33,3%, жолта боја.

**Табела 14 (гр II): Добиени резултати од одредувањето на CRT buffer капацитетот на излечена (стимулирана) плунка за време од 5 минути, изразено во мл. плунка во минута, кај контролната група испитаници**

дебиени вредности, за време од 1 минута, изразено во ml.	Број на испитаници	Од Вкупно	стандарт на производителот на CRT buffer	
			споредбени вредности	дебиена боја на тест лента
1.0.5. - 1.1 ml	13	20	над 1 ml Висок	сина
1 ml.	5	20	1 ml. Среден	зелена
0.7 - 0.9 ml.	2	20	до 0.7 ml. Низок	жолта
0.3 - 0.6 ml	-	20	под 0.7 ml. Многу низок	жолта

- **Висок** CRT буфтер капацитет (над 1 ml. плунка во минута), е најден кај 13 испитаници или кај 65% (тест лента обоена сино);
- **Среден** - нормален (1 ml.), кај 5 испитаници или кај 25% (зелена боја);
- **Низок** ( до 0.7 ml), кај 2 испитаници или кај 10% (жолта боја);
- **Многу низок** (под 0.7 ml), не беше најден кај испитаниците од контролната група (20) (жолта боја).

На табела 14 (гр.I) и табела 14а (гр. II), се прикажани резултатите од одредувањето на CRT buffer капацитетот на излачена (стимулирана) плунка, за време од 5 минути, изразено во ml. плунка во минута, кај испитаниците од I-та и II-та група (60 + 20).

- Кај испитаниците од I-та група (со изразено кариозно - несанирано забало) е најден висок CRT buffer капацитет на излачена плунка (над 1 ml. плунка во минута), само кај 3 испитаници од 60 или кај 5% од испитаниците, а кај испитаниците од II-та (контролната) група (со здраво - интактно забало), кај 12 од 20 или кај 65% од испитаниците;

Добиените вредности имаат високо сигнификантна статистичка разлика -  $p < 0,01$ ; ANOVA за пропорции:  $F_x = 46,264$ ;  $DF = 1$

- Кај испитаниците од I-та група е најден среден - нормален CRT buffer капацитет (1 ml. плунка во минута), кај 12 испитаници од 60 или кај 20% од испитаниците, а кај испитаниците од II-та група, кај 5 од 20 или кај 25% од испитаниците;

ANOVA за пропорции:  $F_x = 0,219$ ;  $DF = 1$ ;  $p > 0,05$  - нема значајна сигнификантна статистичка разлика.

- Кај испитаниците од I-та група е најден низок CRT buffer капацитет (до 0,7 ml. плунка во минута), кај 25 испитаници од 60 или кај 41,6% од испитаниците, а кај испитаниците од II-та група, кај 2 од 20 или кај 10% од испитаниците;

Добиените вредности имаат високо сигнификантна статистичка разлика -  $p < 0,01$ ; ANOVA за пропорции:  $F_x = 7,161$ ;  $DF = 1$

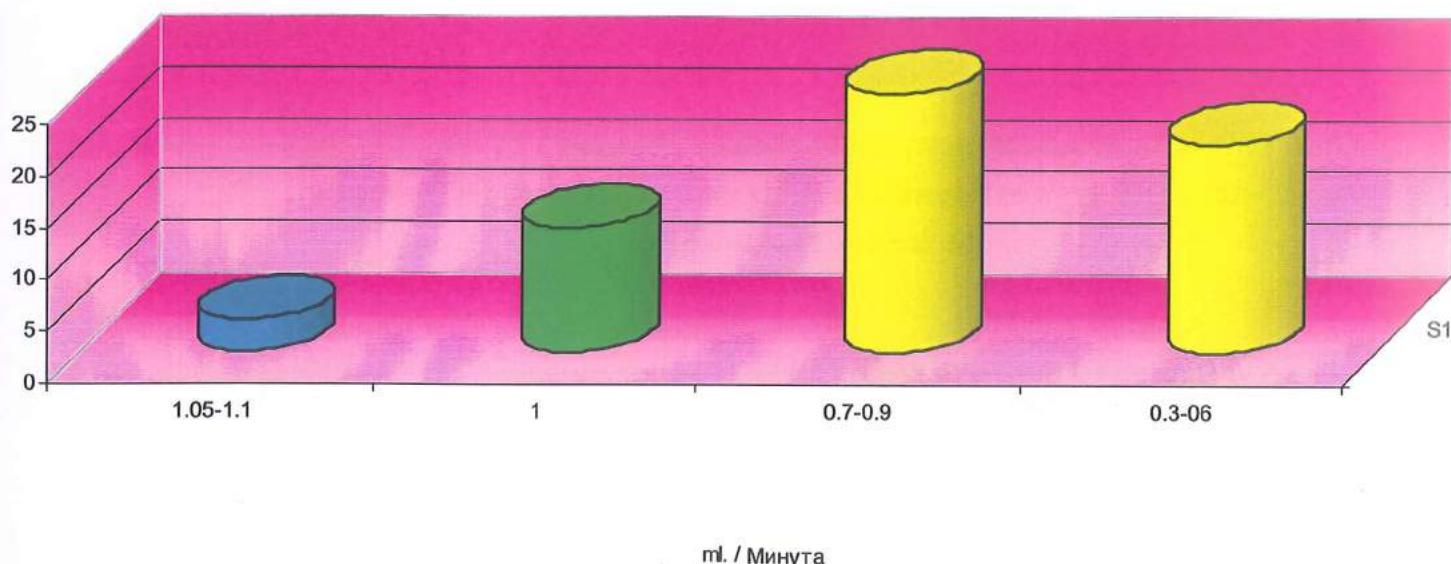
- Кај испитаниците од I-та група е најден многу низок CRT buffer капацитет (под 0,7 ml. плунка во минута), кај 20 испитаници од 60 или кај 33,3% од испитаниците, а кај испитаниците од II-та (контролната) група истиот не е најден.

Добиените вредности имаат високо сигнификантна статистичка разлика -  $p < 0,01$ ; ANOVA за пропорции:  $F_x = 9,75$ ;  $DF = 1$

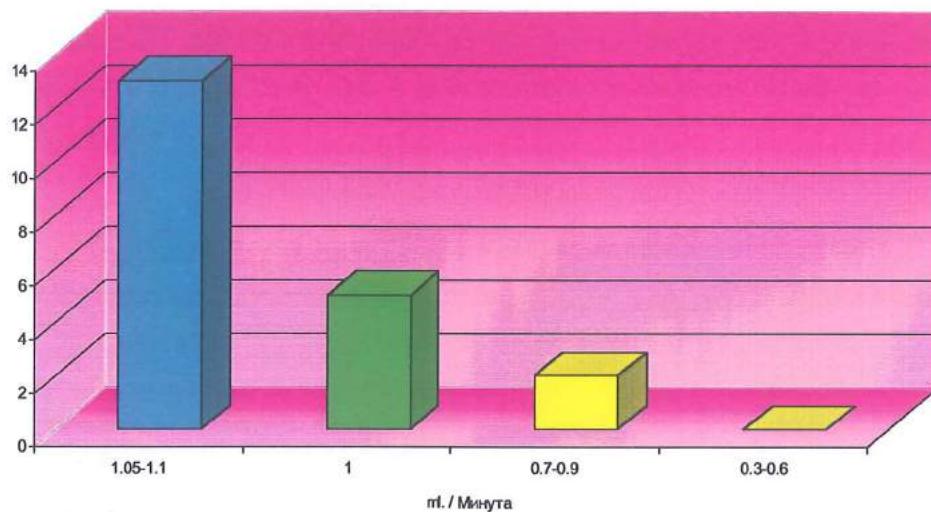
Кај I-та група испитаници, доминира низок и многу низок CRT buffer капацитет на излачена плунка (**0,7 и под 0,7 ml** плунка во минута), а кај II-та (контролната) група испитаници, доминира висок CRT buffer капацитет на излачена плунка (**над 1ml** плунка во минута).

Разликите на добиените вредности на CRT buffer капацитетот на излачената плунка, се прикажани се и графичка на дијаграмите : 14 (гр-I) и 14а (гр-II).

*Графикон 14 - гр. I: Добиени резултати од одредувањето на CRT buffer капацитетот на излачена (стимулирана) плунка за време од 5 минути, изразено во ml. Плунка во минута, кај испитаници со изразено кариозно и несанериано забало (60)*



**Графикон 14 - гр. II: Добиени резултати од одредувањето на CRT buffer капацитетот на излачена (стимулирана) плунка за време од 5 минути, изразено во ml. Плунка во минута, кај контролната група испитаници (20)**



**Табела 15 (гр. I): Споредба на добиените резултати на pH и CRT buffer капацитетот на плунката кај испитаници со изразено кариозно и несанирано забало (60)**

добиени pH вредности	Број на испитаници	Од вкупно	CRT buffer капацитет	добиена боја на тест лента
pH 5.90 - 6.50	31	60	под 0.7 ml. (Многу низок)	жолта
pH 6.55 - 6.99	20	60	до 0.7 ml. (Низок)	жолта
pH 7.00	7	60	1 ml. (Среден)	зелена
pH 7.01 - 7.10	2	60	над 1 ml. (Висок)	сина

- Многу низок CRT buffer капацитет на плунката, под 0.7 ml. плунка во минута (жолта боја), е најден кај 31 испитаник, со pH 5.90 - 6.50 (кисела средина);
- Низок, до 0.7 ml. плунка во минута (жолта боја), е најден кај 20 испитаници, со pH 6.55 – 6.99 (слабо кисела);
- Среден - нормален, 1 ml. плунка во минута (зелена боја), е најден кај 7 испитаници, со pH 7.00 (неутрална средина);
- Висок CRT buffer капацитет на плунката, над 1 ml. плунка во минута (сина боја), е најден , само кај 2 испитаника од вкупно 60 со pH 7.01 – 7.10 (слабо базична).

***Табела 15 (гр. II): Споредба на добиените резултати на pH и CRT buffer капацитетот на плунката кај контролната група на испитаници (20)***

дебиени pH вредности	Број на испитаници	Од вкупно	CRT buffer капацитет	дебиена боја на тест лента
pH 5.90 - 6.50	-	20	под 0.7 ml. (Многу низок)	
pH 6.55 - 6.99	3	20	до 0.7 ml. (Низок)	жолта
pH 7.00	5	20	1 ml. (Среден)	зелена
pH 7.01 - 7.10	12	20	над 1 ml. (Висок)	сина

- Многу низок CRT buffer капацитет на плунката, под 0.7 ml. плунка во минута (жолта боја), со pH 5.90 - 6.50 (кисела средина) не е најден кај испитаниците од контролната група (20);
- Низок, до 0.7 ml. плунка во минута (жолта боја), е најден кај 3 испитаника, со pH 6.95 – 6.99 (слабо кисела);
- Среден - нормален, 1 ml. плунка во минута (зелена боја), е најден кај 5 испитаници, со pH 7.00 (неутрална средина);

- Висок CRT buffer капацитет на плунката, над 1 ml. плунка во минута (сина боја), е најден кај 12 од вкупно 20 испитаници, со pH 7,01 – 7,51 (слабо базична).

На табела 15 (група I) и табела 15а (група II), е прикажана споредбата на резултатите од извршените испитувања на pH и CRT buffer капацитетот на плунката, кај испитаниците од I-та и II-та група (60+20).

- Многу низок CRT buffer капацитет на излачена плунка, под 0,7 ml плунка во минута (жолта боја) е најден кај 31 испитаник од I-та група испитаници, кај со pH вредност од 5,90 - 6,50 (кисела средина), а кај испитаниците од II-та (контролната) група, истиот не беше најден.

Разликата на добиените вредности има високо сигнификантна статистичка разлика -  $p < 0,01$ ; ANOVA за пропорции:  $Fx=20,845 ; DF=1$

- Низок, до 0,7 ml плунка во минута (жолта боја) е најден кај 20 од 60 испитаници во I-та група, со pH вредност од 6,55 - 6,99 (слабо кисела средина), а кај испитаниците од II-та група е најден кај 3 од 20 испитаници со pH вредност од 6,95 до 6,99 (слабо кисела средина).

Разликата на добиените вредности има значајно сигнификантна статистичка разлика -  $p < 0,05$ ; ANOVA за пропорции:  $Fx=5,475 ; DF=1$

- Среден - нормален, 1 ml плунка во минута (зелена боја) е најден кај 7 од 60 испитаници во I-та група, со pH вредност од 7,00 (неутрална средина), а кај испитаниците од II-та група е најден кај 5 од 20 испитаници, со pH вредност од 7,00 (неутрална средина).

ANOVA за пропорции:  $Fx=2,094 ; DF=1 ; p > 0,05$  - нема значајна, сигнификантна статистичка разлика.

- Висок CRT buffer капацитет, над 1 ml плунка во минута (сина боја) е најден кај 2 од 60 испитаници во I-та група, со pH вредност од 7,01 - 7,10 (слабо базична средина), а кај испитаниците од II-та група е најден кај 12 од 20 испитаници, со pH вредност од 7,01 - 7,51 (слабо базична средина).

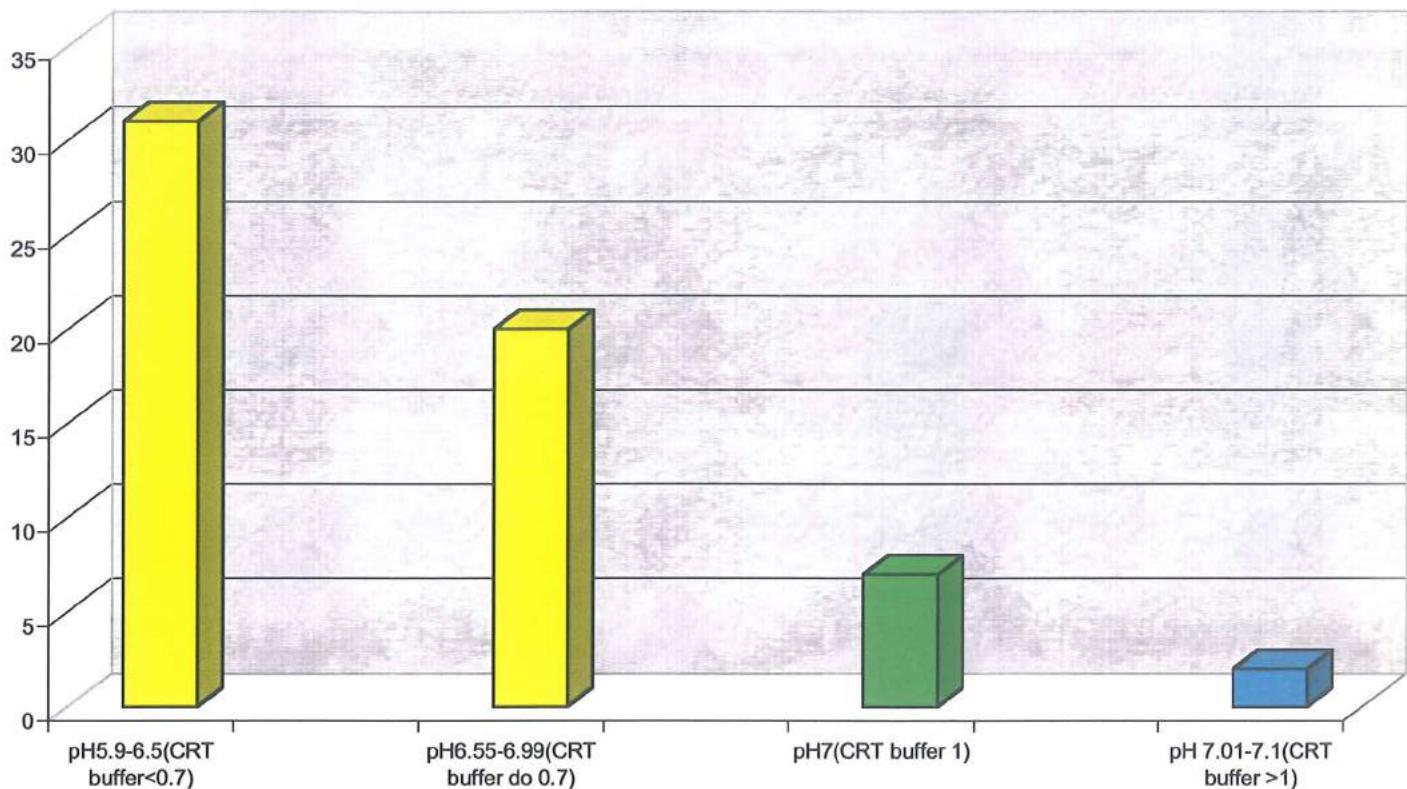
Разликата на добиените вредности има високо сигнификантна статистичка разлика -  $p < 0,01$ ; ANOVA за пропорции:  $Fx=55,797 ; DF=1$

Кај испитаниците од I-та група (со изразено кариозно - несанирано забало), доминира многу низок и низок CRT Buffer капацитет на плунката

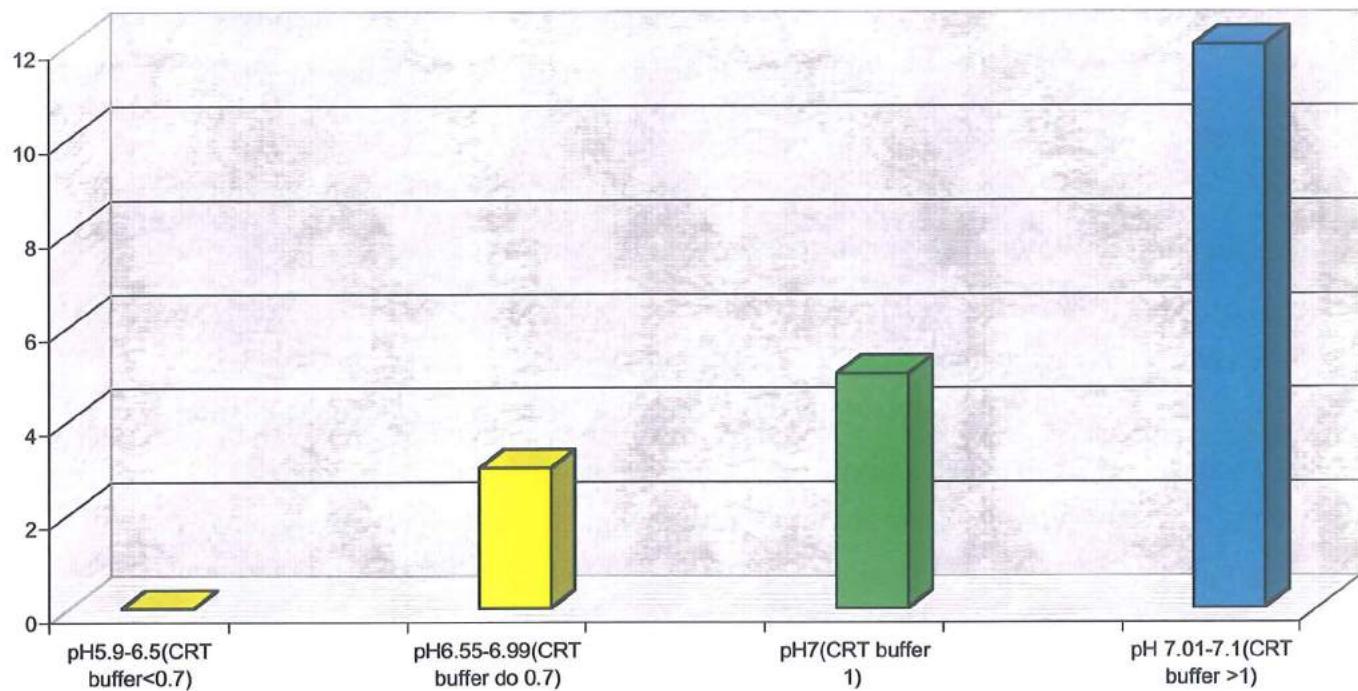
(жолта боја) и кисела средина (pH 5,90 - 6,50), а кај II-та (контролната) група испитаници (зо здраво - интактно забало), **доминира висок CRT Buffer капацитет на плунката (сина боја)** и слабо базична средина (pH 7,01 - 7,51).

Разликите на добиените вредности, се прикажани се и графички на дијаграмите : 15 (гр-I) и 15a (гр-II).

*Графикон 15 - гр. I: Споредба на добиените резултати на pH и CRT buffer капацитетот на плунката кај испитаници со изразено кариозни и несанерирано забало (60)*



*Графикон 15 - гр. II: Споредба на добиените резултати на pH и CRT Buffer капацитетот на плунката кај контролната група на испитаници (20)*



---

## 7. Дискусија

Истражувањето беше извршено на 80 испитаници, од двата пола (машки и женски), на возраст од 18 до 30 години.

Испитаниците беа поделени во две групи:

I-та група, ја сочинуваа 60 испитаници, внимателно одбрани, со изразено кариозно и несанерирано забало; а

II-та (контролна) група, 20 испитаници, исто така, внимателно одбрани, со здраво-интактичко забало.

Од 80 испитаници беа земени вкупно 1.020 примероци за испитување па: денталниот плак, плунката и кариозната содржина.

Кариесот е заболување на тврдите забни ткива. Иако одамна познато и во голем процент застапено, причината за неговото започнување сè уште доволно не е позната.

Во последните две децении, вниманието сè повеќе е свртено кон проучување на екологијата, на комензалната микрофлора на оралната празнина и нејзината поврзаност со етио-патогенезата на забниот кариес (Emilson and Krasse, 1985; Loesche, 1986; Beighton, 1987; Gibbons and Hay, 1988; Krasse, 1989; Apostolска, С. 1994; Sullivan et al., 1996; Bradshaw, D.J. i March, P.D., 1998; Sani, S.; Machajan, A. и Scharf, P.D., 1999).

Со цел да се добијат нови сознанија, испитуван е квалитативниот и квантитативниот аспект на примарната микробиолошка колонизација на емајловата површина, за да се видат разликите во колонизирањето, како во смисла на брзината на колонизацијата, исто така и во смисла на разликите во видот и бројот на микроорганизмите. Со истражувањето на С. Апостолска, Магистерски труд, (1994), е утврдено дека примарна микробиота на раната бактериска имплантација се стрептококите од *Viridans* групата, а од нив

најчесто изолирани видови биле мутанс стрептококите (*S. mutans*; *S. sanguis* и *S. mitis*). Секој од овие видови бил докажан кај 30-47% од испитаниците по 2 часа; 37-60% по 4 часа и 47-53% по 24 часа од темелното чистење на емајловата површина. Втората група бактерии која го наследува здравпот емајл, но посврзо од првата, се грам позитивните анаеробни и микроаерофилни бацили, пред сè од родот *Actinomyces* (*A. viscosus* и *A. israelii*), *Lactobacillus species* и *Peptostreptococcus*. Секој од овие видови е докажан кај: 10-17% од испитаниците по 2 часа; 17-30% по 4 часа и 23-27% по 24 часа. Во истражувањето беа застапени и облигателните анаеробни грам позитивни коки, конкретно: *Veillonella* и *Peptostreptococcus*, со 3-7% по 2 часа; 10-17% по 4 часа и 23-27% по 24 часа. За разлика од нив, анаеробните грам негативни бацили биеле застапени во значително помал процент.

Со оглед на тоа дека мутанс стрептококите и лактобацилите, најчесто и во најголем процент биле изолирани од денталниот плак, плунката и карпозната содржина, голем број истражувачи мислат дека токму тие, мутанс стрептококите и лактобацилите, можат да бидат или се главен этиолошки фактор во започнувањето и настанувањето на забниот карис (Zichert et al., 1982; Crasse and Togelius, 1984; Emilson and Crasse, 1985; Loesche, 1986; Crasse, 1989; Апостолска, С., 1994; Bradchaw, D.J. и March, P.D., 1998).

Истражувањето покрај другото имаше за цел да се добијат и нови податоци, врз сопствен материјал, за разликите меѓу оралната микрофлора (дентален плак, плунка, карпозна содржина), pH на плунката и CRT buffer капацитетот на плунката, што постојат кај испитаници со изразено карпозно-несанирано забало (испитувана група), од една и кај испитаници со здраво-интактичко забало (контролна група), од друга страна.

За да се добијат релевантни резултати, беа применети стандардни и современи методи на истражување.

Негативниот (стерилен) наод кај примероците земени непосредно по темелното чистење на емајловата површина (0-време) и наодот на адекватен број бактерии во плунката ( $10^7$ - $10^9$ , на ml. плунка), беше сигурен предуслов за понатамошно испитување, бидејќи во следните неколку минути, стерилната емајлова површина, ќе биде облеана со плунка и населена со микроорганизми. Но, според бројни истражувања (Gibbons, 1984; Emilson and Krasse, 1985; Murray et al., 1986; Gibbons and Hay, 1988, a i b; Апостолска, С., 1994), ќе се

задржат и ќе се мултиплцираат само оние бактерии од плунката кои имаат фактори на колонизирање, како што се: продукција на декстранот, саливарниот гликопротеин, адхезините, неураминидазите, протазите и други електростатички и хидрофобични сили, што и беше потврдено по 4 часа.

По 4 часа, емајловата површина беше колонизирана со: аеробни и анаеробни грам + бактерии и анаеробни грам - бацили. Притоа, доминираат аеробните и анаеробните грам позитивни коки. Тие набрзо и во поголем број, ја колонизираат емајловата површина на забите, особено кај I-та група испитаници (со кариозно-несапирено забало).

По 24 часа, бројот и густината на раст кај изолираните колонии од денталниот плак, беше значително поголем во однос на оној од плунката.

Кај примероците земени пред и по испирање на емајловата површина, немаше некоја значајна статистичка разлика, што значи, испирањето на емајловата површина, не влијае врз колонизирањето.

Од земените примероци (60+20), беа изолирани 19 видови микрорганизми - специеси.

Кај I-та група испитаници (со кариозно-несапирено забало), по 4 часа, доминираат мутаните стрептококите (*S. mutans* со 23%, *S. sanguis* 15% и *S. mitis* 11%), а кај II-та (контролната) група (со здраво-интактно забало), *Streptococcus oralis intermedius* со 7% и *Neisseria* со 3%. Мутаните стрептококите, за разлика од I-та група, беа изолирани во многу мал процент (*S. mutans* 2%, а *S. sanguis* и *S. mitis* 1%).

Од микроаерофилните и анаеробни грам позитивни бацили, во најголем процент беа изолирани: *Actinomyces* со 10% кај I-та и 5% кај II-та група испитаници, *Lactobacillus species* со 4%; *L. casei* со 3%; и *L. fermenti* со 2% кај I-та група, додека кај II-та (контролната) група беа застапени само со 1%.

Од облигателните, анаеробни грам позитивни коки беа изолирани: *Veillonella* со 5% и *Peptostreptococcus* со 2%. Од анаеробните грам пегативни бацили: *Bacteroides* со 3%, *Fusobacterium* со 2% и *Candida albicans* со 1%, кај I-та група испитаници, а кај II-та (контролната) група не беа изолирани, иако, според Sutter и соработниците (1988), истите секогаш се присутни во устата во големи количини.

Кај примероците земсни по 24 часа, беа изолирани идентични видови микроорганизми-спецеси, но во значително поголем процент, особено кај I-та група испитаници.

Стрептококите од *Viridans* групата, сагнификантно побрзо, а мутаните стрептококите и во статистички значајно поголем број, ја колонизираа здравата емајлова површина на испитаници со кариозно-несанирано забало, во однос на оние со здраво-штактично забало (контролна група). Такви разлики кај најсерните и анаеробните бактерии не беа најдени.

Една од претпоставките е дека овие разлики се должат на индивидуалните разлики на денталниот плак, помеѓу двете групи испитаници, односно на поголемата приемчивост за колонизација, кај пациентите со кариозно забало (Emilson and Krasse, 1985; Loesche, 1986; Beighton, 1987; Mayrand and Holt, 1988). Другата претпоставка е дека во усната празнина на испитаниците со кариозно-несанирано забало, постојат поволни услови за размножување на ацидофилните бактерии способни за колонизација (Gibbons and Hay, a, b, 1988; Krasse, 1989; Apostolска, С., 1994; Bradshaw, D.J.; March, P.D. 1998).

Непатогените најсерни беа изолирани во многу помал процент од овој на плунката, но, тие, во шту едно истражување, не се спомнуваат како колонизатори на емајловата површина на забите. Тие се сметаат за транзиторно присутни, односно контаминацији од плунката. Во прилог на ова е и фактот дека тие двојно поретко се изолираат од кариозните маси, отколку од емајловата површина. Заради сето ова, се укажува па потребата од претходно испирање на емајловата површина, пред земање примерок за микробиолошко испитување (Nyvat и соработници, 1987), со цел да се отстранат пасивно присутните бактерии од денталниот плак, што е и направено во ова истражување.

Колонизирањето на емајловата површина со 2% *Corynebacterium* (непатогени видови) може да се интерпретира па ист начин, како и присуството на непатогените најсерни.

За разлика од нив, *Actinomyces* кои, обично, не доминираат во плунката кај испитаници со здраво забало, и обично, се присути во мали количини, кај испитаниците од I-та група (со кариозно забало), беа изолирани во доста голем процент (10% по 4 и 15% по 24 часа). Најверојатно, тоа се должи на нивниот тропизам и мултиплекација за колонизирање па забниот емајл. А, тоа

што пододна беа изолирани во поголем процент, најверојатно се должи па нивната поспора мултицилација, во однос на мутанс стрептококите.

Истражувањата за почетната фаза на колонизацијата на гнатобиотични глувци, покажале дека времето на дуплирање на *Actinomyces viscosus* е значително подолго (2.7 часа), отколку кај *Streptococcus mutans* (1.4 часа). Најверојатно, тоа е така заради тоа што актиномицесите, наместо делба, развиваат разгранувачки форми (Beckers и соработници, 1984). Во оваа група резултатите и за лактобацилите може да се интерпретираат па ист начин, како и оние за актиномицесите. И нивниот процент по 24 часа беше зголемен од 4% па 6% кај *Lactobacillus species*; од 3% па 5% кај *L. casei*; од 2% па 3% кај *L. fermenti* и од 1% па 2% кај *Lactobacillus brevis*.

Кај анаеробните грам позитивни коки и анаеробните грам негативни бацили, процентот на застапеност кај *Veillonella* беше зголемен за 2%, кај *Peptostreptococcus* и *Peptococcus* за 1%, а кај анаеробните грам негативни бацили, резултатите беа следни: *Bacteroides* за 2% и *Candida albicans* 1%.

Кај контролната група на испитаници, по 4 часа, овие видови бактерии и бацили не беа изолирани, а по 24 часа, беа изолирани само *Veillonella*, *Peptostreptococcus* и *Bacteroides* со 1%.

Добиените податоци се комплетни и даваат јасна слика за видот па микроорганизмите-сисциеси, брзината на имплантација и процентот па застапеност во денталниот плак земен од смајлова површина, по 4 и по 24 часа од темелното чистење на смајловата површина.

Колонизирањето на смајловата површина со мутанс стрептококи и лактобацили, покрај другото, беше и основна цел на ова истражување. Заради тоа, а и со цел да се добијат релевантни податоци, истото беше хронолошки следено и испитувано (непосредно по темелното чистење (0), по 4 и по 24 часа, пред и по испирање на смајловата површина.

За испитување, беше применета стандардниот и модифициран микробиолошки метод на CRT bacteria (комерцијално набавен комплет) од Vivadent, Schaan-Liechtenstein, со вграден микробиолошки медиум, за селективно одредување на мутанс стрептококи и лактобацили.

Со обата методи, беше потврдено дека кај сите примероци (60+20), земени непосредно по темелното чистење на смајловата површина,

микробиолошкиот наод беше негативен (немаше бактериски раст). А кај примероците земени по 4 и по 24 часа, беа изолирани и диференцирани поединечни колонии (+) и колонии со конфлуентен раст (+) на мутанс стрептококи и лактобацили.

Кај I-та група испитаници (со кариозно-песапирано забало), по 4 и по 24 часа, доминираа изолираните колонии со конфлуентен раст; 90% по 4 часа и 100% по 24 часа кај мутанс стрептококите и 81.6%, односно 96.6% кај лактобацилите.

Во многу помал процент беа изолирани поединечни колонии на мутанс стрептококите и лактобацили. Кај мутанс стрептококите, само 10% по 4 часа, а по 24 часа не беа изолирани. А кај лактобацилите беа изолирани 13.3% по 4 часа и 3.3% по 24 часа.

Кај II-та (контролната) група (со здраво-иптактно забало), доминираа поединечно изолирани колонии: 35% по 4 часа и 50% по 24 часа кај мутанс стрептококите и 30%; односно 40% кај лактобацилите.

Кај II-та (контролната) група испитаници во многу помал процент беа изолирани колонии со конфлуентен раст: 15%, односно 25% кај мутанс стрептококите и 10%, односно 15% кај лактобацилите.

Кај I-та група испитаници, негативен наод на мутанс стрептококи и лактобацили немаше, а на лактобацилите, имаше само кај 5% од примероците земени по 4 часа.

Кај II-та (контролната) група испитаници, негативен наод на мутанс стрептококи беше најден кај 35% од испитаниците по 4 часа, и 50% по 24 часа, а кај лактобацилите 60% по 4 часа и 45% по 24 часа.

Разликата во колонизирањето кај двете групи испитаници (60+20) е очигледна и високо сигнификантна, особено кај мутанс стрептококите.

Испитувањето со модифициралиот метод на CRT bacteria беше поеноствавно и попрактично, бидејќи со самото земање па примерокот, фактички, беше изведен и неговото засадување на селективен микробиолошки медиум, за мутанс стрептококи и лактобацили.

Идентификацијата на пораснатите колонии беше брза и едноставна. Колониите на мутанс стрептококите имаа бела боја на темпо - сина подлога,

а на лактобацилите сиво - бела боја на светло - зелена подлога. Пораснатите колонии, кога беа во помал број (Colony forming units - CFU), веднаш беа изброени, а кога беа во поголем број, беа споредувани со стандардот даден во упатството на производителот и интерпретирани како: 1.000, од 10.000-100.000, 100.-1.000.000 и > 1.000.000 CFU.

Како и кај стандардниот метод, кај I-та група испитаници (со кариозно-несанирано забало), по 4 и по 24 часа, доминираа CFU-колонии на мутантни стрептококи и лактобацили со конфлуентен раст: CFU > 10<sup>7</sup>; 10<sup>6</sup>-10<sup>7</sup> и 10<sup>5</sup>-10<sup>6</sup>, а кај II-та (контролната) група (со здраво-интактно забало), вакви колонии па мутантни стрептококи и лактобацили (CFU > 10<sup>7</sup>; 10<sup>6</sup>-10<sup>7</sup> и 10<sup>5</sup>-10<sup>6</sup>), не беа изолирани; беа изолирани поединечни колонии и колонии па CFU со многу помал број: < 10<sup>2</sup>; 10<sup>2</sup>-10<sup>3</sup> и 10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup>.

Добиените податоци, со двата метода на испитување, се во потполна согласност со испитувањата и мислењата на бројни истражувачи (Emilson and Krasse, 1985; Loesche, 1986; Gibbons and Hay, 1988; Krasse, 1989; Апостолска, С., 1994; Sullivan et al., 1996) и укажуваат на фактот дека кај испитаниците со изразено кариозно забало, колонизирањето на емајловата површина со мутантни стрептококи и лактобацили е побрзо и во многу поголем процент, отколку кај оние со здраво-интактно забало, од контролната група.

Оваа разлика е статистички високо сигнификантна и има големо значење во ова истражување.

Разлика во колонизирањето и несаше пред и по испирање на емајловата површина, што значи, испирањето на емајловата површина нема влијание врз колонизирањето.

Бројот и видот на изолираните бактерии, беа идентични со оние кои беа изолирани од денталниот плак на емајловата површина па испитаниците.

Кај двете групи испитаници (60+20), доминираа изолираните колонии па аеробни бактерии. Меѓутоа, густината на раст кај I-та група испитаници (со кариозно забало), беше значително поголема (30-50 колонии па ml. плунка) во однос на II-та (контролната) група, каде густината на раст беше 10-20 колонии па ml. плунка.

Анаеробни грам позитивни бактерии беа изолирани во помал процент, но густината на раст беше поголема. Кај I-та група изнесуваше A>100, а кај II-та

(контролната) група, 30-50 колонии на ml. плунка.

Анаеробни грам негативни бацили, кај двете групи испитаници (60+20), беа изолирани во значително помал број и со помала густина на раст 10-20 колонии кај I-та група и 5-10 кај II-та (контролната) група испитаници.

Зголемениот број на мутанс стрептококи и лактобацили во ml. плунка е во директна врска со нивната колонизација на забите (Zichert et al., 1982; Crasse and Togelius, 1984). Примерокот на плунка го одразува бројот на колонизираните забни површини со *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus species*, бидејќи тие се ослободуваат од забните површини и одат во плунката. Според Linkvist и соработниците (1989), тоа може и да се докаже, со земање примерок од нестимулирана и стимулирана плунка. Кај примерокот со стимулирана плунка, преку цвакањето парафин, од оралните површини на забите се ослободуваат поголем број мутанс стрептококи и лактобацили и затоа, во него секогаш има поголем број мутанс стрептококи и лактобацили отколку во примерокот со нестимулирана плунка.

Во прилог на оваа претпоставка, одат разликите во квалитативното и квантитативното испитување како и анализата на земените примероци од денталниот плак и плунка. Мутанс стрептококите и лактобацилите беа застапени во многу поголем број кај испитаници со изразено кариозно забало, отколку кај оние со здраво-интактно забало (контролна група). Ова е потврдено и кај испитувањето на *S. mutans* и *L. species* со CRT-bacteria комплетот.

Кај I-та група испитаници (со изразено кариозно забало), во ml. плунка, доминираа изолирани CFU-колонии на *S. mutans* и *L. species* со конфлуентен раст:  $CFU > 10^6$  и  $CFU-10^5-10^6$ , а кај II-та (контролната) група испитаници (со здраво-интактно забало), CFU-колонии ( $CFU > 10^6$  и  $CFU-10^5-10^6$ ) не беа изолирани. Изолирани беа поединечни колонии и колонии на CFU со многу помал број:  $CFU < 10^2$ ;  $10^2-10^3$  и  $10^3-10^4$ .

Потребно е да се истакне дека *Streptococcus mutans* беше изолиран во значително поголем процент во однос на *Lactobacillus species*, особено кај I-та група испитаници (со изразено кариозно забало).

Зголемените нивоа на *S. mutans* и *L. species* во ml. плунка, можат да бидат значајно средство во предвидувањето на забниот кариес.

Наодите од  $10^5$  CFU или повеќе мутанс стрептококи и лактобацили во ml.

плунка, според стандардот на производителот, на CRT-bacteria значат голем ризик од кариес.

За животот, растот и размножувањето на оралните бактерии, pH на плунката има големо значење. Bradshaw, D.J. и March, P.D. (1998) утврдиле дека кај многу низок pH на плунката (кисела средина) бројот на ацидофилните бактерии се зголемува, а на ацидосензитивните бактерии се намалува, што е и потврдено со ова истражување.

Кај најголемиот број од I-та група испитаници (со изразено кариозно забало), 51.6%, беше најдена многу писка pH вредност (pH 5.90-6.50). Ниска pH вредност (pH 6.55-6.99) беше најдена кај 33.3% од испитаниците.

Неутрална pH вредност (pH 7.00) е регистрирана кај 11.6%, а висока pH вредност (pH 7.01-7.51) само кај 3.3% од испитаниците.

Кај најголемиот број од II-та (контролната) група на (со здраво-интактно забало), 60%, беше најдена висока pH вредност (pH 7.01-7.51). Многу писка pH вредност (pH 5.90-6.50) не беше најдена, ниска pH вредност (pH 6.55-6.99) беше најдена кај 10% од испитаниците, а неутрална pH вредност (pH 7.00), кај 30% од испитаниците.

Од добиените податоци за двете групи испитаници (60+20), може да се заклучи дека многу низок и писок pH на плунката (кисела и слабо кисела средина), доминираше кај I-та група испитаници (со изразено кариозно забало), а кај II-та (контролната) група испитаници (со здраво-интактно забало), доминираше висока и неутрална pH вредност (слабо базична и неутрална средина).

Капацитетот на излачена (стимулирана) плунка, за време од 5 минути (ml. плунка во минута), фактички, беше одредуван со самото земање на примерокот (со помош на градуирани шишченца), а CRT-buffer капацитетот, по 5 минути од натопувањето на тест лентата со плунка, кога и настануваше промена на тест лентата.

Добиените резултати беа споредувани со стандардот на производителот (Vivadent, Schaan-Liechtenstein) даден во упатството. Според тоа, кога кај засмениот примерок беше излачена 1 ml. плунка во минута (тест лентата обована заслено), CRT-buffer капацитетот на плунката се сметаше за нормален (среден). Кога беше излачена над 1 ml. плунка во минута, (тест лентата обована

цино) CRT-buffer капацитетот на плунката се сметаше за висок, а кога беше излачена до 0.7 или под 0.7 ml. плунка во минута (тест лентата обоена жолто), истиот се сметаше за низок, односно многу низок.

Во испитаниците од I-та група (со изразено кариозно забало), беше најден нормален (среден) CRT-buffer капацитет (1 ml. плунка во минута), кај 12 испитаници (од 60) или кај 20% од испитаниците, а кај II-та (контролната) група (со здраво-интактно забало), кај 5 (од 20) или кај 25% од испитаниците;

Во I-та група испитаници, беше најден висок CRT-buffer капацитет (над 1 ml. плунка во минута), кај 3 (од 60) или кај 5% од испитаниците, а во II-та (контролната) група, кај 12 (од 20) или кај 65% од испитаниците.

Низок CRT-buffer капацитет на плунката е регистриран (до 0.7 ml. плунка во минута), кај 25 (од 60) или кај 41,6% од испитаниците, во I-та група односно 2 (од 20) или кај 10% од испитаниците во II-та (контролната) група.

Многу низок CRT-buffer капацитет на плунката (под 0.7 ml. плунка во минута, беше најден кај 20 (од 60) или кај 33.3% од испитаниците во I-та група , а кај испитаниците од II-та (контролната) група не беше најден.

Од добиените резултати (податоци) може да се заклучи дека кај I-та група испитаници (со изразено кариозно забало) доминира низок и многу низок CRT-buffer капацитет, до 0.7 и под 0.7 ml. плунка во минута (тест лентата обоена жолто), а кај II-та (контролната) група (со здраво-интактно забало), висок CRT-buffer капацитет, над 1 ml. плунка во минута (тест лента обоена сино).

Овој податок укажува на фактот за можноста корелација помеѓу капацитетот на плунката и pH на плунката кај двете групи испитаници (60+20) што беше и потврдено, со направената споредба на резултатите од pH и CRT-buffer капацитетот на плунката кај I-та и II-та група испитаници.

Кај испитаниците кај кои беше најден многу низок pH; 5.90-6.50 (кисела средина), беше регистриран и многу низок CRT-buffer капацитет на плунката, под 0.7 ml. плунка во минута (жолта боја), а кај испитаниците кај кои беше најден висок pH, 7.01-7.51 (слабо базична средина), CRT-buffer капацитетот на плунката, беше висок, над 1 ml. плунка во минута (сина боја).

Добиените податоци за CRT-buffer капацитетот на плунката и pH на плунката се од големо значење за стапо-патогенезата на забниот карies.

Од испитуваната содржина на длабок кариес, беа изолирани и диференцирани 19 видови микроорганизми-специеси, воглавно, идентични со оние на плунката и денталниот плак, но во значително поголем процент.

Доминираа факултативно аеробните коки од *Viridans* групата и микроаeroфилните и анаеробни грам позитивни бацили.

Каде факултативно аеробните коки, доминираа мутанс стрептококите (*S. mutans*, со 37%; *S. sanguis*, со 21% и *S. mitis*, со 15%), а каде микроаeroфилните и анаеробни грам позитивни бацили, лактобацилите (*L. species*, со 46% и *L. casei*, со 15%); во доста голем процент, беа изолирани и *Actinomyces*, 17%.

Каде анаеробните грам позитивни коки доминираше *Veillonella*, со 24% и *Peptostreptococcus*, со 12%.

Анааеробните грам негативни бацили, беа изолирани во значително помал процент: *Fusobacterium*, со 7% и *Bacteroides*, со 5%.

Добиените резултати се во согласност со опије па: Sani, S., Mahajan, A. и Sharm, J.K. (1999).

Кариозната содржина, квалитативно, ги содржи истите бактериски видови изолирани од денталниот плак па здрава емајлова површина, а додека, пак, квантитативните разлики беа големи. Сите видови, со исклучок на непатогените најсерии, беа изолирани во многу поголем процент и тоа не само од овој најден на здрава емајлова површина, туку и од овој во плунката на испитаникот.

---

## 8. Заклучок

1. Примарна микробиота на рапата бактериска имплантација на здрава емајлова површина се мутанс стрептококите од Viridans групата. Тие побрзо и во значително поголем број ја колонизираат емајловата површина на забите, во однос на другите видови микроорганизми-специеси.

2. По 4 и по 24 часа, пред и по испирање, мутанс стрептококите, сигнификантно побрзо и во статистички значајно, многу поголем број, ја колонизираат здравата емајлова површина, во однос на лактобацилите, особено кај испитаниците со кариозно забало.

По 4 часа беа изолирани колонии на мутанс стрептококи со конфлуентен раст  $CFU > 10^7$ ,  $10^6\text{-}10^7$  и  $10^5\text{-}10^6$  кај 100% од испитаниците, а на лактобацили кај 88.3%. Кај испитаниците од контролната група не беа изолирани ( $CFU > 10^7$ ;  $10^6\text{-}10^7$  и  $10^5\text{-}10^6$ ), туку поединечни колонии и колонии со конфлуентен раст, но со значително помал број:  $CFU < 10^2$ ,  $10^2\text{-}10^3$ ,  $10^3\text{-}10^4$  и  $10^4\text{-}10^5$ .

3. Во изолираните колонии на мутанс стрептококи, *Streptococcus mutans* беше застапен со 23%, *S. sanguis*, со 15%, а *S. mitis*, со 11%.

Грам позитивните бацили (освен *Actinomyces*, 10%), беа изолирани во многу помал процент: *Lactobacillus species*, со 4%, *L. casei*, со 3%, *L. fermenti*, со 2% и *L. brevis*, со 1%.

Кај испитаниците од контролната група (со здраво-иштактно забало), со најголем процент, 7%, беше застапен *Streptococcus oralis intermedius* (Viridans - други) и *Neisseria*, со 3%. Мутанс стрептококите, беа застапени во многу мал процент: *S. mutans*, со 2%, а *S. sanguis* и *S. mitis*, со 1%. Исто така, и лактобацилите беа застапени во помал процент, само 1%.

Обликателните грам позитивни коки и грам негативни бацили беа застапени само кај испитаниците со кариозно забало, но во значително помал процент.

По 24 часа, процентот беше зголемен за 1-2%, а испирањето на емајловата површина немаше влијание колонизирањето.

4. Во ml. шлунка, *S. mutans*, исто така, беша застапен во значително поголем процент од *Lactobacillus species*, особено кај испитаниците со кариозно забало.

Кај I-та група испитаници (со кариозно забало), беа изолирани колонии на *S. mutans* со конфлуентен раст и тоа: CFU >  $10^6$ ,  $10^5\text{-}10^6$  и  $10^4\text{-}10^5$ , кај 100% од испитаниците, а на *L. species* кај 78.3%.

Колонии со конфлуентен раст (CFU >  $10^6$  и  $10^5\text{-}10^6$ ), кај испитаниците од контролната група (со здраво-шпакливо забало) не беа изолирани. Изолирана беа поединечни колонии и колонии со конфлуентен раст, но со многу помал број: CFU <  $10^2$ ;  $10^2\text{-}10^3$ ;  $10^3\text{-}10^4$  и  $10^4\text{-}10^5$ .

Наодите над  $10^5$  или повеќе CFU колонии во ml. плунка, според стандардот на CRT-bacteria, можат да значат ризик за карies.

5. Во плунката на пациентите (испитаници) со кариозно забало, доминираше кисела и слабо кисела pH вредност и тоа: кисела (pH 5.90-6.50), кај 51.6%, а слабо кисела (pH 6.55-6.99), кај 33.3% од испитаниците. Кај II-та (контролната) група испитаници (со здраво забало), пак, доминираше слабо базична и неутрална pH вредност. Конкретно, слабо базична (pH 7.01-7.51), кај 60%, а неутрална (pH 7.00), кај 30% од испитаниците.

Кај испитаниците од II-та (контролната) група не беше најдена, кисела pH вредност, а слабо кисела (pH 6.55-6.99), беше најдена само кај 2 испитаници или кај 10% од испитаниците.

6. CRT-buffer капацитетот на плунката (ml. плунка во минута), и кај двете групи испитаници (60+20) беше во корелација со најдепата pH вредност па плунката.

Кај испитаниците со кариозно забало, кај кои беше најден многу низок pH на плунката - pH 5.90-6.50 (кисела средина), CRT-buffer капацитетот на плунката беше многу низок (под 0.7 ml. плунка во минута). А кај испитаниците со здраво забало (контролната група), кај кои беше најден висок pH на плунката - pH 7.01-7.51 (слабо базична средина), најден беше и висок CRT-buffer капацитет на плунката (над 1 ml. плунка во минута).

Кај испитаниците со кариозно забало доминираше низок и многу низок CRT-buffer капацитет на плунката. Низок (до 0.7 ml. плунка во минута) кај 41.6%, а многу низок (под 0.7 ml. плунка во минута), кај 33.3% од испитаниците. Додека, шак, кај II-та (контролната) група испитаници доминираше висок и среден CRT-buffer капацитет и тоа: висок (над 1 ml. плунка во минута), кај 65%, а среден (1 ml. плунка во минута), кај 25% од испитаниците.

Многу низок CRT-buffer капацитет на плунката, не беше најден кај испитаниците од II-та (контролната) група, а низок (до 0.7 ml. плунка во минута), беше најден кај 2 испитаници или кај 10% од испитаниците.

7. Во примироците земени од кариозна содржина, беа најдени идентични видови микроорганизми-специеси, како и оние кои беа најдени во денталниот плак, земен од здрава емајлова површина на испитаникот.

Сите видови (освен непатогени најсерии), беа изолирани во многу поголем процент и тоа не само од овој најден на здравата емајлова површина, туку и од овој во плунката на испитаникот.

Ова особено беше изразено кај лактобацилите (*Lactobacillus species* и *L. casei*), кои во денталниот плак на здравата емајлова површина беа застапени во многу мал процент (4%, односно 3%), а во кариозната содржина, во многу голем процент (*L. species*, со 46%, а *L. casei*, со 15%).

Во значително поголем процент, беа застапени и мутанси стрептококите (*S. mutans*, со 37%; *S. sanguis*, 21% и *S. mitis*, 15%). Истото се однесува и на анаеробните грам позитивни коки: *Veillonella* беше застапена со 24%, а *Peptostreptococcus* со 12%; а анаеробните грам негативни бацили беа застапени во значително помал процент: *Fusobacterium*, со 7% и *Bacteroides*, со 5%.

8. Резултатите од истражувањето можат да се сметаат за веродостојни и како такви укажуваат на фактот дека зголемениот број на *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus species* во денталниот плак и плунката, над  $10^5$  CFU колонии или повеќе како и наодите на многу низок и низок pH и CRT-buffer капацитет на плунката, можат да значат голем ризик за кариес.

## 9. Литература

1. ALALUUSUA S (1993): Salivary counts of mutans streptocci and lactobacilli and past caries experience in caries prediction. *Caries Res* ; 27 (suppl) : 68-71.
2. ADJIC D, RUSSEL, RRB, FERRETTI JJ (1995): The galactose operon of Streptococcus mutans. 4th International ASM Conference on Streptococcal Genetics, Santa Fe, NM,
3. АПОСТОЛСКА С (1993): Корелација помеѓу бактериолошки пот наод во кариозните маси, плунката и примарната бактериска имплантација на Клинички здрава емајлова површина - Магистерски труд, Универзитет "Св. Кирил и Методи" - Стоматолошки факултет - Скопје
4. 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.
5. BEGEY'S (1957): Manual of Determinative Bacteriology, 7:zd. Baltimore - MET. Enciklopedia, 4 - 1969, Zagreb
6. BRATTHALL,D. (1970): Demonstration of five serological groups of Streptococcal strains resembling Streptococcus mutans. *Odontal Revy*; 21:143-152.
7. BRATTHALL,D.;(1991): Mutans Streptococci - dental, oral and global aspects; *J Indian Soc Pedo Prev Dent* 9:4-12
8. BRATTHALL,D., ERICSSON,D. (1994): Tests for assessment of caries risk, in Thulstrup A., Fejerskov O., Texbooh of clinical cariology. Mynuksgaart, Copenhagen, 2 nd. 333-335
9. BRATTHALL,D (1998): Mutans Streptococci-Oral Health, Faculty of Odontology, Lund University, Malmo - Sweden, 10-52.

10. BORGSTORM,M.K.; SULLIVAN,A.; GRANTH,L.; NILSSON,G. (1997). On the pH - lowering potential of Lactobacilli and mutans streptococci, from dental plaque related, to the prevalence of caries. *Community Dent Oral Epidemiol.* 25(2):165-9
11. CARLSSON,P. (1988) :On the Epidemiology of mutans Streptococci. Thesis, LundUniversity, 1-104.
12. CARLSSON,PETER (1989) Distibution of mutans Streptococci in populations with different levels of sugar consumption N 2:vol. 97-120.
13. CLARK,J.K. (1924) On the bacterial factor in the Aetiology of dental caries, *Brit.J.Exp. Patol.* 5:141-147
14. CLARK,W.B.;BAMMAN,L.L.;GIBBONS,R.J. (1978) :Comparative estimates of bacterial affinities and adsorbtion sites an Hydoxyapatite surfaces. *Infect Immun.* 19:846-853.
15. CLARK,W.B.,WHEELER,T.T.;LANE,D.D.;and CISAR,J.O. (1986) :Actinomyces Adsorption Mediatat by Type- 1 Fimbrial. *J.Dent Res* 65:1166-1168.
16. 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 naeslundi*, *J.Dent Res*, 63:393-396.
17. 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.
18. COYKENDALL,A.L. (1974) : Four Tipes of *Streptococcus mutans* Based on their Genetic, Antigenic and Biochemical Characteristic *Journal of General Microbiol.* 1-83.
19. COYKENDALL,A.L. (1977) : Proposal to Elevate the subspecies of *Streptococcus mutans* to species status, Based on Their Molecular composition, *International Journal of Sistematic Bacteriology*, 1-27.
20. ЦВЕТКОВИЋ,Н., ТАВЧИОВСКИ,И., СТЕВАНОВИЋ,М., КОВАЧЕВА,А., ПОП-АЦЕВА, М.(1975): Микробиолошки наод на клинички здрава смајлова површина; Зборник на изнесените трудови на V Конгрес на стоматологите на Југославија.
21. CVETKOVIC,N.,ODJAKLIEVA,S.,STEVANOVIC,M.(1988) Ispitivanje sadrzine nekih mikroelemenata u gledji i zubni karies; IX Kongres stomatologa Jugoslavije, 10

22. ELLEN,R.P.;BANTING,D.W.;FILLERIE,D. (1985): Streptococcus mutans and Lactobacillus detection in the assessment of dental root surface caries risk . J Dent Res , 64:1245-9.
23. EMILSON,C.G.;RAVALD,N. and BIRKHED,D. (1993). Effects of a 12-month prophylactic programme on selected oral bacterial populations on root surfaces with active and inactive carious lesions, Caries Res 27(3):195-200
24. EMILSON,C.G. and KRASSE,B. (1985) Support for an Implications of the Specific Plaque Hypothesis, Scand J Dent Res 93:96-104.
25. GABRIS,K.;NAGY,G.;MADLENA,M.;DENES,Z.,etal(1999): Associations between microbiological and salivary caries activity tests and caries experience in Hungarian adolescents; 33(3):191-5.
26. 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.
27. GIBBONS,R.J. (1980): Adhesion of Bacteria to Surfaces of the Mouth In : Microbial Adhesion to Surfaces, R.C.W.Berceley, J.M.Lynch, J.Melling, P.R.Rutter, and B.Vincent, Eds., Chichester, England: Ellis Horwood Ltd.,p.p. 351-388.
28. GIBBONS,R.J. (1984) : Adherent Interactions Which May Affect Microbial Ecology in the Mouth, J Dent Res 63:378-385.
29. 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.
30. 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.
31. GIBBONS,R.J. ,(1996): Role of adhesion in microbial colonization of host tissues: A contribution of oral microbiology, J Dent Res 75:866-870
32. 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.
33. HAMILTON,I.R., (2000): Ecological basis for dental caries; Oral Bacterial Ecology 9-13

34. 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-I, PRP-2, PRP-3, PRP-4, PIF-S and PIF-t), *Boichem J* 255: 15-21.
35. HARTY, D.W.; OKEY, H.J.; PATRIKAKIS, M. et al. (1994): Pathogenic potential of Lactobacilli. Institute of Dental Research, Sidney, N.S.W., Australia, 24 (1-2) - 179-89.
36. HOUTE, J. (1994): Role of micro-organisms in caries etiology, *J Dent Res*, 73(3):672-81
37. JENSEN,B., BRATTHALL,D. (1989): A new method for the estimation of mutans streptococci in Human saliva. *J Dent Res* ; 68:468-471
38. JONES,G.W., and ISACSSON,R.E. (1983): Proteinaceous Bacterial Adhesion and Their Receptors, *Crit Revs Microbiol* 10:229-260.
39. KARADJOV,O., KEZELE,D., KUBUROVIC,D., MARKOVIC,D. (1986): Preparacija kaviteta III izdanje, Decje Novine, Gornji Milanovac, .
40. KITAWAKI,M., IIJIMA,K., NAKASHIZUKA,T., and HAYAKAWA,T. (1983): Neuraminidase Activity in Human Crevicular Fluid, *J Periodont Res* 18:318-320.
41. KRASSE,B. (1984): Can Mikrobiological Knowlendge be Applied in Dental Practica for the Treatment and Prevention of Dental Caries, *J. Can Dent Assoe.* 50:221-223.
42. KRASSE,B. (1985): Caries risk, a practical guide for assessment and control. Chicago:Quinyessence Publishing bo.
43. LINDQUIST,B., EMILSON CG (1991): Dental location of streptococcus mutans and streptococcus sobrinus in humans harboring both species. *Caries Res* ; 25: 146-152.
44. LOESCHE,W.J. (1986): The Role of Streptococcus mutans in Human Dental Decay, *Mikrobiol Rev* 50:353-380.
45. MARSH,P.D., BRADSHAW,D.J. (1997): Phsiological approaches to the control of oral biofilms, *Adv Dent Res*; 11(1):176-185
46. MARSH AND MARTIN (1996): *Lactobacilli Oral Health, Oral Microbiology*, Chapman Hall, 1996 - Faculty of Odontology, Malmo, University - Sweden

47. MAYRAND,D. and HOLD,S.C. (1988) : Biology of Asaccharolytic Black-pigmented Bacteroides Species, Microbiol Revs 52:134-152.
48. 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.
49. 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.
50. NUVDAB. (1993) : Microbial colonization of human tooth surfaces Rojal Dental College, Faculty of Health Sciences, University of Harhus, Denmark, ARMIS - supi, 1993; 32, 1-45
51. ПАНОВСКИ,Н. (1990) : Испитување на факторите одговорни за опстанокот на медицински значајните соеви на неспорогените анаеробни бактерии "ин витро" - докторска дисертација. Универзитет "Св. Кирил и Методиј", Медицински факултет Скопје
52. PEARCE EIF (1991) : Relation ship between demineralization events in dental enamel and the pH and mineral content of plaque. Proc Finn Dent Soc , 87: 527-539
53. 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.
54. POWELL,L.V., LEROUX,B.G., PERSSON,R.E. and KIYAK,H.A (1998) : Factors associated with caries incidence in an elderly population, Community Dent Oral Epidemiol 26(3):170-176
55. RADOSAVLJEVIC,B. (1988) : Postupak izbiranja i identifikovanja Streptococcus mutans sojeva iz materijala dentalnog plaka. Stomatol. Glas. Srbije, 5., 351-356, Beograd, 1988.
56. RICHARDSON,L., MCKIBBINS,S.M., SEIBERT,W., TYUS,J (1995) : Salivary count of streptococcus mutans in elementary school children, NDAJ 46(2):8-11
57. SANI,S., MAHAJAN,A., SHARMA,J.K. et al; (1999) : Polymicrobial etiology of dental caries. Indian J Pathol Microbiol 42 (1): 25-9
58. SANSONE C, VAN HOUTE J, JOSHIPURA K, KENTR (1993) : The association of mutans streptococci and non-mutans streptococci capable of acidogenesis at a low pH with dental caries on enamel and root surfaces. J Dent Res , 72: 508-516

59. SHKLAIR, I. L. (1974) : A biochemical scheme for the separation of the varieties of *Streptococcus mutans*. *Arch Oral Biol.*, 19: 1079-1081.
60. SHARPE, E. (1955) : A Serological Classification of Lactobacilli. *Med Enciklopedia*, 4 - 1969, Zagreb
61. SHU, M. ; (1998) : Study of root caries in an artificial mouth, *NZ Dent J* 94 (416): 62-4.
62. SHU, M. ; WONG, M. ; MILLER, J. H. ; SISSONS, C. H. ; (2000) Development of multi-species consortia biofilms of oral bacteria as an enamel and root caries model systems, *Arch Oral Biology* 45(1):27-40.
63. SOET, J. J GRAFF, J. (1998) : Microbiology of carious lesions, *Dent Update* 25(8):319-24
64. SULIVAN, A. et al (1996) : Number of mutans streptococci of Lactobacilli in a total dent plaque Sample does not explain the variation in caries better than the numbers in stimulated Whole Saliva. *Comun Dent Oral Epidemiol*
65. SUTTER, V.L., CITRON, D.M., EDELSTEIN, M.A.C., FINEGOLD, S.M. (1985) : Wadsworth anaerobic bacteriology manual, 4th edition.
66. TENOVUO, J., LAGERLOF, F. (1994) : Saliva. In Thylstrup, A., Fejerskov, O. Textbook of clinical cariology. Munksgard, Copenhagen, 2nd 17-43.
67. 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.
68. VELCESCU, C. ; ILIESCU, A. ; Factors associated with caries increment in young adult patients, *Balk J Stom*, 2000; 4:161-163
69. 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.
70. 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.