

XXVI РЕГИОНАЛЬНАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ ШКОЛЬНИКОВ
«ИССЛЕДОВАТЕЛЬ ПРИРОДЫ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ»

Влияние табачных изделий на микрофлору полости рта

Россия, Иркутская область, г. Шелехов

Автор: **Пономарева Елизавета Михайловна**,
МБОУ ШР «Шелеховский лицей, 10 класс

Руководитель: **Карпова Елена Геннадиевна**,
учитель биологии и экологии
МБОУ ШР «Шелеховский лицей»,

2022 год

Влияние табачных изделий на микрофлору полости рта

Пономарева Елизавета Михайловна

Россия, Иркутская область, город Шелехов,

МБОУ ШР «Шелеховский лицей», 10 класс.

Научная статья

Курение - одна из самых опасных вредных привычек, оказывающих неблагоприятное воздействие на состояние здоровья человека. В наше время проблема курения глобальна, имеет характер пандемии. Исследователи отмечают высокую распространенность курения среди подростков и взрослых [3]. Процесс курения сопровождается выделением целого ряда сложных химических веществ и взаимодействием химических веществ не только с кислородом воздуха, но и между собой [10]. Полость рта из-за своих анатомо-топографических особенностей первично подвергается воздействию продуктов табакокурения, с которыми связывают существенное повышение риска ряда заболеваний органов и тканей полости рта, прежде всего пародонта, и онкологических заболеваний [10]. Полость рта человека не стерильна, заселена многочисленными микробными сообществами. Микроорганизмы во рту и носу имеют прямой контакт с сигаретным дымом и, следовательно, могут быть затронуты им. По этой причине изучение вопросов, связанных с микрофлорой полости рта, с факторами, оказывающими на нее влияние, является совершенно необходимым. Мы считаем, что очень важно экспериментальным путем определить, какое влияние оказывает курение на микрофлору зубного налета. Нагляднее всего этого можно достичь, используя морфологические и молекулярно-биологические маркеры. Таким образом, данная проблема представляется актуальной и практически значимой, для поддержания здоровья человека.

Цель работы: Изучение микрофлоры зубного налета под влиянием употребления табачных изделий.

Для реализации поставленной цели были сформулированы следующие **задачи**:

1. Провести анкетирование среди обследуемых для выявления факторов, которые могут оказывать влияние на микрофлору полости рта.
2. Изучить морфологические свойства и тинкториальные свойства зубного налета у обследуемых лиц.
3. Проанализировать молекулярно-биологический профиль микрофлоры полости рта у обследуемых лиц по результатам ПЦР-исследования.

Объект исследования: микрофлора зубного налета участников эксперимента.

Методы исследования:

1. Изучение литературы и интернет - источников.

2. Микроскопический метод исследования
3. Молекулярно-биологический метод исследования (анализ результатов).

Основное содержание

1. Обзор литературы

Микрофлора полости рта – совокупность представителей различных таксономических групп микроорганизмов, населяющих полость рта как своеобразную экологическую нишу организма человека, вступающих в биохимические, иммунологические и прочие взаимодействия с макроорганизмом и друг с другом [14].

В состав нормальной микрофлоры полости рта входят бактерии, вирусы, грибы и простейшие. Наиболее многочисленными являются бактериальные биоценозы, которые играют основную роль в поддержании постоянства данного биотопа. Микроорганизмы попадают в полость рта с пищей, водой и из воздуха. Богатство пищевых ресурсов, постоянная влажность, оптимальные значения рН и температуры создают благоприятные условия для адгезии, колонизации различных микробных видов. Видовой состав микробной флоры полости рта в норме довольно постоянен. Микроорганизмы в полости рта распределяются не равномерно. Содержание микроорганизмов в ротовой жидкости составляет от 4 млн. до 5 млрд. в 1мл; а в зубном налете - до 1 триллиона в 1г материала [4].

Постоянная микрофлора полости рта человека образовалась вследствие взаимной адаптации организма и микробов [4, 12, 14]. Микрофлора полости рта подразделяется на *аутохтонную (резидентную, постоянную)* и *аллохтонную (транзиторную, временную)*. К *резидентной группе* относят микробы, максимально приспособленные к существованию в условиях макроорганизма и поэтому присутствующие в данном биотопе постоянно. Аутохтонную микрофлору подразделяют на *облигатную*, которая постоянно обитает в полости рта, и *факультативную*, в составе которой чаще встречаются условно-патогенные бактерии. Факультативные виды встречаются реже, они являются возбудителями и главными виновниками основных стоматологических заболеваний. *Транзиторную группу* составляют микроорганизмы, которые не способны к длительному существованию в организме человека и поэтому являются необязательными компонентами микробиоценоза полости рта [14].

В полости рта может обитать более 100 различных видов бактерий, имеющих разные морфологические, тинкториальные, культуральные свойства, являющиеся по типу дыхания преимущественно анаэробами, или факультативными (необязательными) анаэробами (Приложение 1, таблица 1) [14].

Ротовая жидкость – важнейший биотоп полости рта, т.к. она осуществляет взаимодействие между всеми микроорганизмами всех биотопов полости рта и участвует в

регуляции микробиоты. В ротовой жидкости содержатся стрептококки (*S.salivarius*), нейссерии, вейлонеллы, встречаются вибрионы, спираиллы и спирохеты.

Зубная бляшка - плотное образование над пелликулой, состоит из матрицы, которая образуется за счет белков, полисахаридов, липидов и некоторых неорганических веществ (кальция, фосфатов, магния, калия, натрия и др.) и микроорганизмов, расположенных внутри неё. Чаще всего зубная бляшка располагается над десной, в пришеечной области. Зубная бляшка представляет собой наиболее сложный и многокомпонентный биотоп (биопленку), формирующийся на поверхности зуба, являясь приобретенной структурой полости рта. В зубной бляшке происходит активная жизнедеятельность микроорганизмов, сопровождаемая кислотообразованием, ферментативной активностью.

Формирование данного микробиоценоза зависит от индивидуальных особенностей макроорганизма: диеты, наличия вредных привычек и т.д. Зубной налёт формируется на поверхности бляшки и на 80-85% состоит из воды, минеральных компонентов: кальция, фосфатов, фторидов. Мягкий зубной налет накапливается на поверхности зубов, пломб, десны преимущественно в период речевого и жевательного покоя и при отсутствии рациональной гигиены полости рта [5]. В результате гигиенических мероприятий полости рта, приема пищи (особенно твердой) часть налета постоянно удаляется, однако быстро образуется вновь. Все поверхностные образования на зубах инфицированы и играют отрицательную роль в развитии стоматологических заболеваний [14].

Сигаретный дым - мощный неблагоприятный фактор внешней среды, содержит целый ряд токсичных химических веществ: никотин, угарный газ, смолы и жирные соединения, метан, кадмий, фенол, бензоприен, тоулен и другие ядовитые компоненты [13]. Табачный дым вызывает микротрещины в эмали зуба, где оседают вредные компоненты табака, изменяющие свойства зубного налёта, в котором, размножаются бактерии и со временем налёт переходит в зубной камень. При курении увеличивается содержание органических кислот, в частности, лактата в ротовой жидкости и зубном налете, что способствует деминерализации эмали и развитию кариеса [7]. Курение изменяет биологические свойства ротовой жидкости, меняя условия обитания микробных сообществ в полости рта, что нарушает ее минерализующие и иммунологические свойства, приводя к развитию кариозного процесса, воспалительных и других заболеваний слизистой оболочки полости рта [10]. На сегодняшний день абсолютно очевидно, что легче предотвратить развитие многих заболеваний, чем их лечить. Для этого необходимо прежде всего исключить курение, а также изменить рацион питания, уменьшив употребление углеводов. Если соблюдать все вышеизложенные условия, то можно значительно сократить

распространенность и интенсивность стоматологических заболеваний, как среди школьников, так и среди населения в целом.

2. Материалы и методы исследования

Выполнить экспериментальную часть работы позволило применение микроскопического (бактериоскопического) и молекулярно-биологического метода исследования. Микроскопический (бактериоскопический) метод направлен на обнаружение в исследуемом материале бактерий и изучение их морфологических и тинкториальных (отношение к красителям) свойств [1, 2, 8, 11]. Изучить качественный и количественный состав микрофлоры определенных биотопов можно с помощью молекулярных методов (ПЦР – полимеразная цепная реакция), направленных на обнаружение генетического материала микроорганизмов. Сущность ПЦР как метода заключается в многократном избирательном копировании определённого гена при помощи специальных ферментов в условиях *in vitro* (в пробирке) [6]. Эксперимент проводился с использованием бактериальной микрофлоры обследуемых лиц, которая находилась на поверхности зубов и составляла мягкую часть зубного налета. Для проведения самостоятельного забора зубного налета и сбора необходимых анкетных данных, каждый из участников эксперимента получил комплект материалов, включающий: анкету (Приложение 2), памятку по сбору зубного налета (Приложение 3), 2 зубочистки в индивидуальной упаковке, 2 пробирки растворами для транспортировки микроорганизмов с герметично закрывающимися крышками. В одной из пробирок был налит 1мл физиологического раствора NaCl, в другой - транспортная среда с муколитиком для ПЦР. Зубной налет обследуемые собирали утром, до чистки, с наружной поверхности всех зубов с использованием одноразовых зубочисток. После снятия зубного налета зубочистки погружали в пробирки с транспортными растворами и передавали на исследование. Схема постановки, основные этапы работы (Приложение 4).

Для чистоты эксперимента в домашних условиях использовали средства индивидуальной защиты. Для приготовления мазка из зубного налета на предметное стекло стерильным наконечником наносили каплю подготовленной микробной суспензии в физиологическом растворе NaCl. Приготовленный на предметном стекле мазок, высушивали на воздухе. После фиксирования проводили окрашивание мазка по методу Грама, который позволяет изучить структуру бактериальной клетки (точнее строение ее клеточной стенки), и дифференцировать микробы друг от друга.

Микроорганизмы в окрашенных мазках определяли с помощью атласа по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии [2].

Лабораторный этап работы с микроорганизмами проводился в ПЦР-лаборатории, куда были доставлены транспортные среды с микроорганизмами. Транспортные среды не содержат субстрата для размножения микробов, консервант и стабилизатор препятствуют росту неспецифической микрофлоры и преждевременному лизису клеток, обеспечивая стабильность ДНК микроорганизмов, муколитик в составе обеспечивает разжижение слизи, что способствует более эффективному и гомогенному смешиванию клинического материала с транспортной средой.

В лаборатории проведено ПЦР-исследование по определению ДНК микроорганизмов, составляющих микрофлору зубного налета. Исследованием занимался персонал, имеющий специальную подготовку.

Лаборатория оснащена приборами для амплификации – амплификаторами и другим оборудованием (вortexы, аспираторы, термостаты, дозаторы) и т.д. Все работы проводятся в ламинарных шкафах, УФО-ПЦР боксах, где за счет потока воздуха и ультрафиолетового излучения, специальных фильтров создаются стерильные условия, которые необходимы для исключения ложных и сомнительных результатов.

3 Результаты исследования и их обсуждение

Ниже приведены проанализированные данные анкетирования обследуемых. Всего участниками экспериментальных исследований был 21 человек. Преобладала возрастная группа 15-16 лет (61,9%), группа 19-22 лет составляла 23,8%, количество взрослых не превышало 14,3%. Подавляющее большинство – 17 человек (80,9%) были женского пола. (Приложение 5, рис.1).

Для участия в эксперименте с целью сравнения показателей, влияющих на микрофлору полости рта, специально подбирались группы употребляющих и не употребляющих табачные изделия примерно в равных долях. Было обследовано 11 курящих и 10 не курящих людей. Большинство курящих употребляли как обычные, так и электронные сигареты (Приложение 5, рис.2).

Частоту употребления табачных изделий только двое из обследуемых (18,2%) указали как редкую. Остальные 9 человек (81,8%) отметили ежедневное употребление табачных изделий, а 5 человек из них (что составляет 55,5%) указали на ежедневное многократное злоупотребление.

Участники эксперимента также отвечали на вопросы, связанные с употреблением продуктов с высоким содержанием сахара, которые тоже влияют на качественный и количественный состав микрофлоры полости рта. Оказалось, что 17 человек (80,9%) из 21 опрошенных употребляют такие продукты: 4 человека (23,5%) - несколько раз в день, 7 человек (41,2%) - не более одного раза в день, 6 человек (35,3%) - 2-3 раза в неделю. Были

проанализированы и средства индивидуальной гигиены, которыми пользовались анкетированные. На рисунке 8 видно, что большинство предпочитают пользоваться обычной зубной пастой 2 раза в день и использовать жевательную резинку (Приложение 5, рис.3).

Помимо перечисленных факторов, 7 человек (33,3%) из 21 опрошенного, отметили у себя наличие стоматологических заболеваний, 14 человек (66,7%) были условно здоровы, 1 человек (4,7%) на момент обследования проходил лечение у ортодонта, носил ортодонтический аппарат. В таблице 2 (Приложение 6) представлены данные, характеризующие морфологические и тинкториальные свойства микрофлоры зубного налета не употребляющих табачных изделий людей.

Исходя из полученных данных следует, что микрофлора зубного налета не курящих людей характеризуется качественным и количественным разнообразием своих морфологических свойств. Среди микроорганизмов в мазках преобладают крупные палочки (стрептобактерии), кокки (стрептококки), много извитых форм бактерий. У одного из участников эксперимента отмечено нарушение микроскопической картины мазка. Его анкетные данные указывают на злоупотребление сахаросодержащих продуктов и не достаточную гигиену полости рта.

В таблице 3 (Приложение 7) представлены данные, характеризующие морфологические и тинкториальные свойства микрофлоры зубного налета людей, употребляющих табачные изделия. Анализируя полученные данные микроскопического исследования, следует отметить, что микроорганизмы зубного налета курящих людей представлены палочковой, кокковой флорой, есть извитые, ветвящиеся формы бактерий и грибы. Обращает на себя внимание наличие в мазках некоторых участников эксперимента эпителиальных клеток ротовой полости.

Сравнительная характеристика морфологических свойств микрофлоры зубного налета не курящих и курящих людей представлена в таблице 4 (Приложение 8). У курящих людей, также, как и у не курящих из палочковидной микрофлоры преобладают стрептобактерии, но у курящих частота их встречаемости в мазках на 27,3% меньше. В то же время у курящих в 3-4 раза чаще обнаруживали средние и мелкие палочки. Кокки, располагающиеся в виде «гроздей винограда» (стафилококки) в мазках, курящих и не курящих, обнаруживались примерно с равной частотой, тогда как цепочкой расположенные кокки (стрептококки) у курящих встречались гораздо реже (у 63,6% курящих и у 100% не курящих обнаруживались стрептококки). В то же время, у курящих реже встречались извитые формы бактерий, и чаще – ветвящиеся. Так, извитые формы были в мазках 80% не курящих людей и лишь в 36,4% курящих. А ветвящиеся формы не встречались у не курящих, но были у 27,3% курящих. Помимо этого, у 18,2% курящих людей были

обнаружены грибы. Грибы под микроскопом выглядели как крупные, почкующиеся, грам «+» клетки овальной формы или нитевидные ветвящиеся образования. Следует отметить, что у 27,3% курящих в мазках определяли слущенный эпителий ротовой полости, в некоторых случаях покрытый мелкими палочками, в то время как у не курящих эпителиальные клетки в мазках не определялись. Кроме того, в группе курящих чаще определялись мазки со скудной микрофлорой. Изменения качественного и количественного состава микрофлоры зубного налета у курящих при микроскопическом исследовании в большой степени зависело от стажа курения и количества употребляемых табачных изделий.

Для определения молекулярно-биологического профиля и концентрации содержащихся в зубном налете микроорганизмов были проанализированы результаты ПЦР-исследования. В таблице 5 (Приложение 9) представлены данные, характеризующие молекулярно-биологические свойства микрофлоры зубного налета не курящих людей. Из таблицы следует, что наименьшую распространенность среди проанализированных микроорганизмов имеют энтеробактерии, которые или не встречались в зубном налете или содержались в низкой концентрации. Концентрация бактерий рода *Staphylococcus* была не высокой, не превышала 10^4 ГЭ/мл. В то же время бактерий рода *Streptococcus* в зубном налете содержится до десятков миллионов на 1 мл. Лактобактерии также составляют значительную часть нормальной микрофлоры зубного налета, их концентрация достаточно высокая. Грибы рода *Candida* обнаружены не были.

Аналитические данные результатов ПЦР-исследований микрофлоры зубного налета курящих людей представлены в таблице 6 (Приложение 10).

Следует отметить, что у курящих людей наблюдается похожая картина по содержанию в зубном налете энтеробактерий, стафилококков и лактобактерий. В то же время, отмечается снижение количества стрептококков и повышение количества грибов рода *Candida*.

В таблице 7 (Приложение 11) приведены данные для наглядного представления выявленных различий при сравнении концентрации микрофлоры зубного налета не курящих и курящих людей. Так, у 63,6% курящих концентрация стрептококков не превышала 10^5 ГЭ/мл. В то же время, такая концентрация (10^5) стрептококков была лишь у 10% не курящих людей, а преобладала концентрация 10^7 , которая обнаруживалась в 50% случаев. Грибы рода *Candida* не встречались у не курящих и были обнаружены методом ПЦР у 27,3% курящих лиц.

Проведенные экспериментальные исследования микрофлоры зубного налета курящих и не курящих людей позволяют сделать следующие выводы:

1. Большинство употребляющих табачные изделия людей пользуются как обычными, так и электронными сигаретами, что усиливает негативное влияние на микрофлору полости рта.
2. 81,8% из группы курящих людей ежедневно употребляют табачные изделия, а 55,5% из них – ежедневно многократно, что повышает риск развития стоматологических заболеваний.
3. Микрофлора зубного налета как не курящих, так и курящих людей характеризуется качественным и количественным разнообразием своих морфологических, тинкториальных, молекулярно-биологических свойств.
4. У курящих людей выявлены нарушения морфологических свойств микроорганизмов по микроскопической картине мазка: снижение количества стрептобактерий и стрептококков, большее количество мазков со «скудной микрофлорой», реже встречались извитые формы бактерий, и чаще – ветвящиеся.
5. Снижение концентрации стрептококков подтверждается молекулярно-биологическим методом.
6. В группе курящих как при микроскопическом исследовании, так и в ПЦР-реакции, выявлено наличие в зубном налете грибов, что не отмечено среди не курящих лиц.
7. Использование молекулярно-биологического метода позволило подтвердить данные микроскопического метода, исключить погрешность визуальной оценки микропрепаратов.
8. Снижение концентрации облигатной аутохтонной микрофлоры (стрептококки) в полости рта курящих приводит к увеличению концентрации факультативной аутохтонной микрофлоры (грибы).
9. У 27,3% курящих при микроскопическом исследовании были выявлены признаки патологических изменений слизистой оболочки полости рта – наличие слущенного эпителия ротовой полости.
10. Степень выраженности нарушений микрофлоры полости рта у курящих зависит от стажа курения и частоты употребления табачных изделий и не зависит от вида употребляемых табачных изделий (электронные или обычные сигареты).
11. Помимо курения, нарушения микрофлоры зубного налета провоцирует частое употребление сахаросодержащих продуктов и недостаточная гигиена полости.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Проведенное исследование, исходя из полученных результатов, показывает, что под влиянием курения, при использовании табака в любой форме, микрофлора зубного налета претерпевает значительные изменения, интенсивность которых зависит от количества

выкуриваемых сигарет и стажа курения. Прямой контакт микробных сообществ полости рта с сигаретным дымом, содержащим многочисленные токсичные вещества, приводит к выраженным нарушениям микробной экологии, качественного и количественного состава микрофлоры. Так, у курящих отмечается снижение концентрации облигатной аутохтонной микрофлоры (стрептококки) приводящее к увеличению концентрации факультативной аутохтонной микрофлоры (грибы), обнаруживаются патологические изменения слизистой оболочки полости рта и другие нарушения. В связи с этим, курильщики подвергаются большому риску потери зубов, серьезным заболеваниям пародонта и многих других проблем, которые варьируются от эстетически неприятных до серьезных заболеваний в полости рта. Очевидно, чтобы предотвратить развитие многих стоматологических заболеваний необходим отказ от курения, что является наиболее эффективным способом решения этих проблем. Хотя курильщики прекрасно знают, что сигареты не приносят ничего, кроме вреда их здоровью, они зачастую игнорируют каждое предупреждение. С целью мотивации курящих к отказу от курения, результаты этой работы доведены до сведения всех участников эксперимента. Помимо этого, с целью пропагандирования навыков здорового образа жизни, результаты будут использованы на уроках биологии и представлены на научно-практических конференциях разного уровня.

Список литературы:

1. Борисов Л.Б., Козьмин-Соколов Б.Н., Фрейдлин И.С. Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии/ Л.Б. Борисов, Б. Н. Козьмин-Соколов, И.С. Фрейдлин. - 2-е изд., перераб. и доп./М.: Медицина, 1984. - 256 с., ил.
2. Воробьев А.А. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. / А.А. Воробьев. - М.: Медицинское информационное агентство, 2003. – 236 с.
3. Змановский, Ю.Ф. Воспитаем детей здоровыми /Ю.Ф. Змановский. –М.: Медицина, 1989.
4. Зеленова Е.Г., Заславская М.И., Салина Е.В., Рассанов С.П. Микрофлора полости рта: норма и патология: Учебное пособие. Нижний Новгород: Издательство НГМА, 2004. - 158с.
5. Индивидуальная гигиена полости рта: учеб.-метод. пособие / М. Н. Суворова, Л. А. Зюлькина, Г. В. Емелина, Н. К. Кузнецова. – Пенза: Изд-во ПГУ, 2017. 32 с.
6. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология: Учебник для меда. вузов. – СПб.: СпецЛит, 2002. – 591
7. Кубанов И.М., Курбанов А.А., Влияние курения на состояние тканей полости рта, распространенность курения среди студентов СГМУ/ Бюллетень медицинских Интернет-конференций 2018. Том 8. №3

8. Литусов Н.В. Бактериоскопические методы исследования: Иллюстрированное учебное пособие. – Екатеринбург: Изд-во Уральского государственного медицинского университета, 2015. – 55 с.
9. Малыхина М.А. Изучение микрофлоры зубного налета при различной степени интенсивности кариеса у детей. Автореферат диссертации. – Воронеж, 2010. -30 с.
12. Мхитарян А.К., Агранович Н.В., Венедиктова В.А., Матеуш Ф.А. Анализ распространенности факта курения и его влияние на развитие заболеваний ротовой полости среди студенческой молодежи г. Ставрополя //Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 6.
13. Микробиология, вирусология: Руководство к практическим занятиям. Учебное пос./под редакцией акад. РАН В.В. Зверева и проф. М.Н. Бойченко. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. — 71 с.
14. Микробиология, вирусология, иммунология полости рта: учеб. для студентов мед. вузов / под ред. В. Н. Царёва, 2-е издание, переработанное и дополненное. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. — 708 с.
15. Петрова А.П., Павлова А.О., Мирошниченко Ю.Д., Сергеев А.А. Влияние вейпа и табачных изделий на слизистую оболочку полости рта // Международный студенческий научный вестник. – 2018. – № 1.
16. Правосудова Н.А., Мельников В.Л. Микробиология полости рта: Учебно-методическое пособие для студентов медицинских вузов. – Пенза: Изд-во Пензенского государственного университета, 2013. – 89 с.

Приложение 1

Таблица 1. Основные группы бактериальной микрофлоры полости рта

Окраска по Граму	Морфология	Название рода
Облигатные анаэробы		
Грамотрицательные	Кокки	Veillonella
	Палочки	Bacteroides Porphyromonas Prevotella Fusobacterium Leptotrichia
	Спирохеты	Treponema Borrelia
Грамположительные	Кокки	Peptostreptococcus Peptococcus
	Палочки	Bifidobacterium Propionibacterium
Аэробы и факультативные анаэробы		
Грамотрицательные	Кокки	Neisseria
	Спирохеты	Leptospira
Грамположительные	Кокки	Streptococcus Staphylococcus
	Палочки	Lactobacillus Corynebacterium
	Ветвящиеся	Actinomyces

Приложение 2

Анкета

10. Укажите Ваш пол

- женский
 мужской

10. Укажите Ваш возраст

10. Употребляете ли Вы табачные изделия?

- да
 нет

10. Если Вы ответили да, то какие и как часто?

- сигареты (как часто)
 электронные сигареты (как часто)
 жевательный табак (как часто)
 другое (укажите что и как часто)

5. Употребляете ли Вы продукты с высоким содержанием сахара?

- да
 нет

6. Если Вы ответили да, то как часто употребляете такие продукты?

- несколько раз в день
 не более одного раза в день

- 2-3 раза в неделю
- другое (укажите)
7. Какие средства для индивидуальной гигиены полости рта Вы используете?
- антибактериальная паста
- обычная паста
- ополаскиватель для полости рта
- зубная нить
- зубной порошок
- средство для чистки языка
- жевательная резинка
8. Сколько раз в день Вы чистите зубы?

Вас стоматологические заболевания?

- нет
10. Носите ли Вы какие-либо ортодонтические аппараты?

- да
- нет

Приложение 3

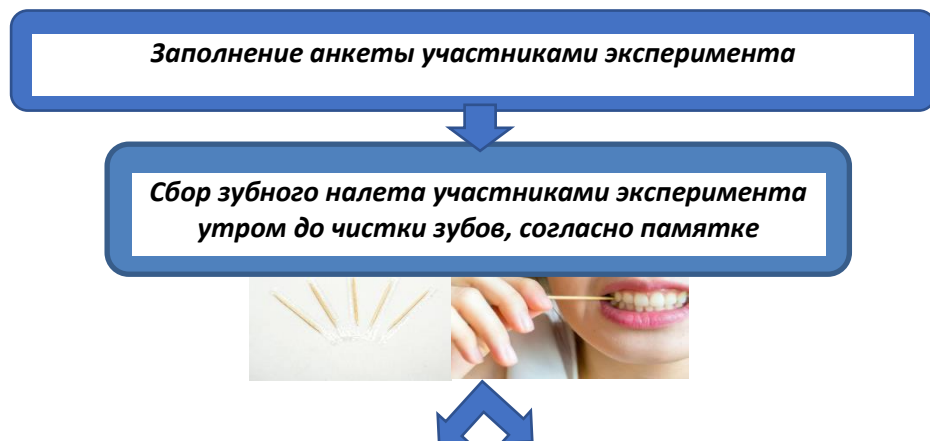
Памятка по сбору зубного налета

1. Утром до чистки зубов взять одну из зубочисток, вынуть из индивидуальной упаковки.
2. Держа зубочистку, с одной стороны, другим концом провести по поверхности всех зубов, собирая зубной налет, не менее 15 секунд.
3. Вынуть пробирку с розовой жидкостью, аккуратно открыть крышку, поместить в жидкость зубочистку стороной с налётом вниз (если не влезает, отломать часть, за которую держали), плотно закрыть крышку.
4. Взять вторую зубочистку, вынуть из индивидуальной упаковки.

Приложение 4

Схема постановки эксперимента

Этапы эксперимента





Приложение 5

Результаты анкетирования

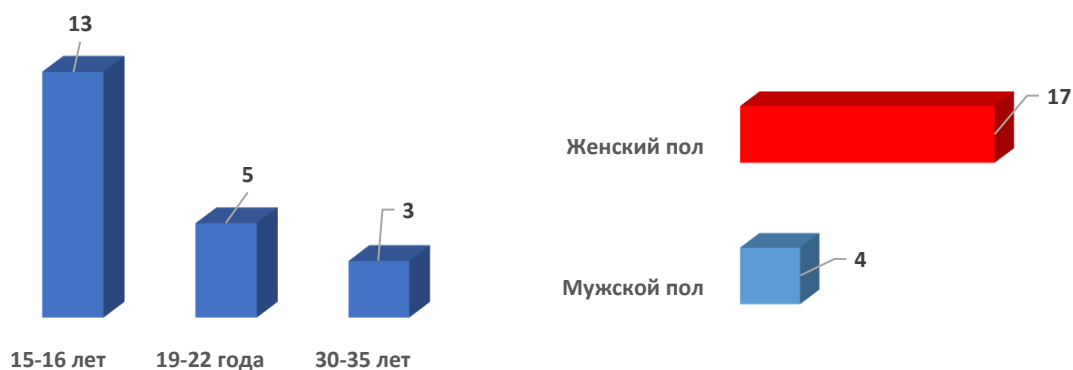


Рис. 1. Распределение обследуемых по возрасту и полу



Рис. 2. Виды табачных изделий, употребляемых обследуемыми

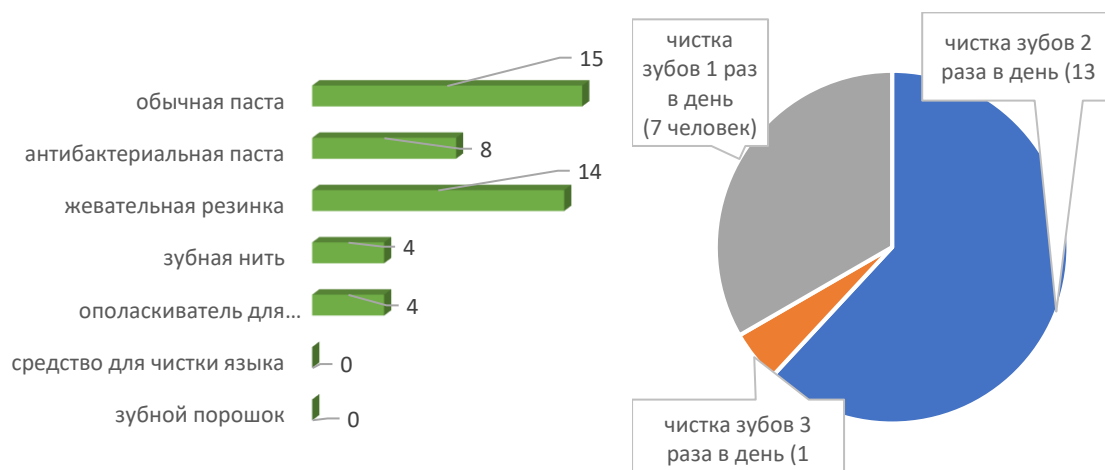
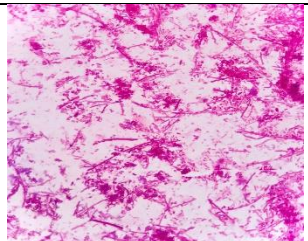
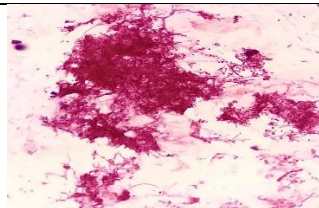
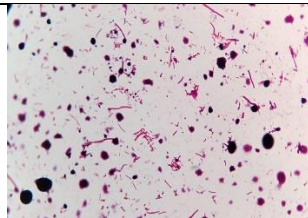
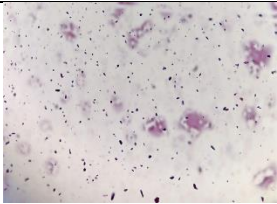
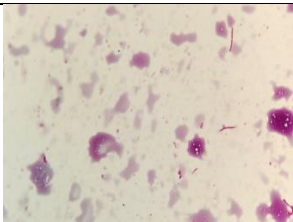

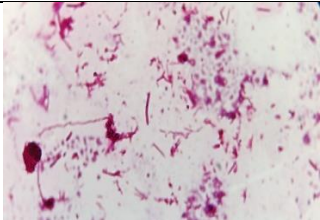




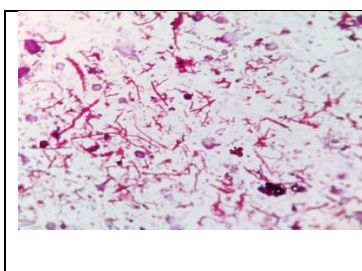
Рис. 3. Гигиена полости рта обследуемых

Приложение 6

Таблица 2 Изучение морфологических и тинкториальных свойств микрофлоры зубного налета не курящих людей

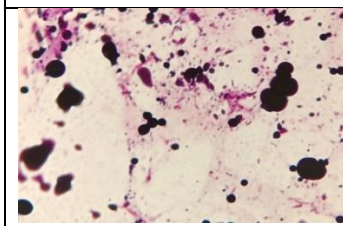
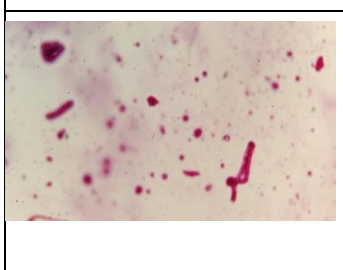

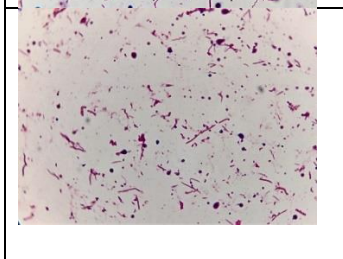

Микропрепарат, окраска по Граму	Описание
	В препарате от участника №1, множество микроорганизмов, большинство крупные грам «+» палочки расположенные цепочками (стрептобактерии), и кокки, (стрептококки)
	В препарате от участника №3 множество микроорганизмов, большинство крупные грам «+» палочки расположенные цепочками (стрептобактерии), и кокки, (стрептококки, стафилококки). Видно наличие извитых форм
	В препарате от участника №4, большинство микроорганизмов - крупные грам «+» палочки, стрептобактерии, кокки, стрептококки, много извитых форм

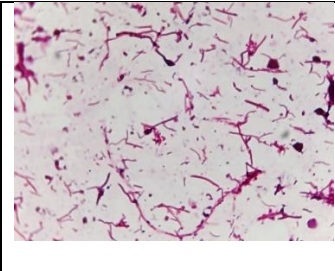
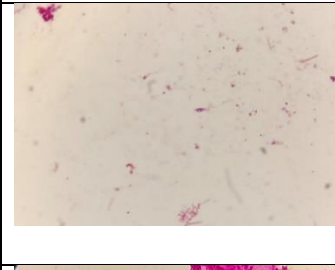
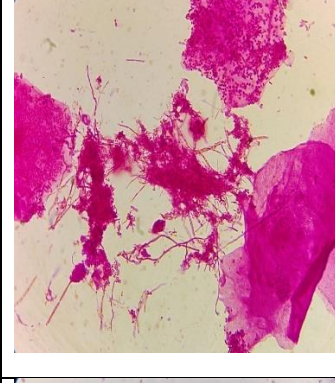
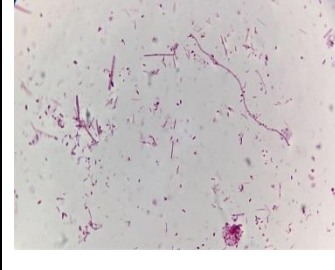
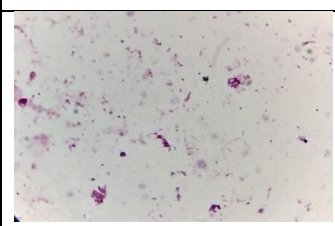
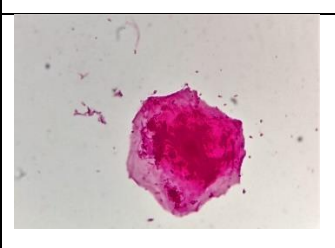
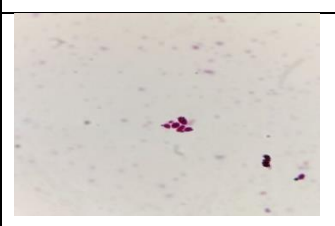
	<p>В препарате от участника №6, микрофлора представлена в основном грам «+» мелкими палочками и кокками, расположенными по-одиночке, реже - цепочкой. В анкете участник отметил частое употребление сахаросодержащих продуктов, недостаточную гигиену полости рта и наличие стоматологических заболеваний</p>
	<p>В препарате от участника №7, микрофлора скудная, что скорее всего связано с качеством забора материала. В мазке видны крупные грам «+» палочки расположенные цепочками (стрептобактерии), и кокки</p>
	<p>В препарате от участника №9, большинство крупные грам «+» палочки, стрептобактерии, очень много извитых форм</p>
	<p>В препарате от участника №13, большинство грам «+», стрептобактерии, стрептококки, извитые формы бактерий</p>
	<p>В препарате от участника №14, большинство крупные грам «+» палочки, стрептобактерии, кокки, стрептококки, много извитых форм</p>
	<p>В препарате от участника №17 большинство крупные грам «+» палочки расположенные цепочками, кокки, извитые формы</p>

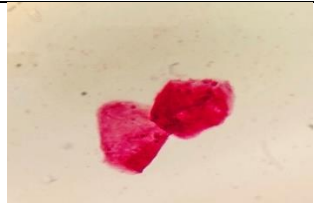
	<p>В препарате от участника №20 большинство крупные грам «+» палочки расположенные цепочками, кокки, извитые формы бактерий</p>
---	---

Приложение 7

Таблица 3. Изучение морфологических и тинкториальных свойств микрофлоры зубного налета курящих людей

Микропрепарат, окраска по Граму	Описание
 	<p>В препарате от участника №2, скудная микрофлора, большинство крупные грам «+» палочки, и кокки. Обнаружены грибы в виде нитей мицелия</p>
	<p>В препарате от участника №8 много микроорганизмов, большинство крупные грам «+» палочки расположенные цепочками (стрептобактерии), и кокки, (стрептококки, стафилококки), извитые формы. В анкете участник указал, что курит только электронные сигареты очень редко</p>
	<p>В препарате от участника №10, большинство микроорганизмов – грам «+» кокки и грам «+» палочки, стрептобактерии, есть извитые формы. В анкете участник указал, что курит не более 1 сигареты в день, в основном употребляет электронные сигареты</p>
	<p>В препарате от участника №12, большинство крупные грам «+» палочки, стрептобактерии, извитые формы. В анкете участник указал, что курит не более 1 сигареты в день, в основном употребляет электронные сигареты</p>

	<p>В препарате от участника №15, большинство крупные грам «+» палочки, стрептобактерии, очень много извитых форм, ветвящиеся формы бактерий</p> <p>В анкете участник указал, что курит не более 10 сигарет в день, редко употребляет электронные сигареты</p>
	<p>В препарате от участника №16, микрофлора скудная, в основном грам «+» мелкие и крупные палочки и кокки.</p> <p>В анкете участник указал, что курит более 10 сигарет в день, употребляет электронные сигареты</p>
	<p>В препарате от участника №18, видны клетки слущенного эпителия ротовой полости, с микроорганизмами на их поверхности. Бактериальная флора представлена грам «+» крупными, средними, мелкими палочками, ветвящимися формами бактерий, стафилококками и одиночными кокками. В анкете участник указал, что курит каждые 20-30 минут электронные сигареты и обычные сигареты, чистит зубы не чаще 1 раза в день.</p>
	<p>В препарате от участника №19, грам «+» кокки и грам «+» палочки, стрептобактерии, есть ветвящиеся формы. В анкете участник указал, что курит не более 5 сигарет в день</p>
	<p>В препарате от участника № 21 микрофлора скудная, большинство кокки (стрептококки и стафилококки). В анкете участник указал, что употребляет электронные сигареты 8-30 раз в день, имеет большой стаж курения.</p>
	<p>В препарате от участника № 22 микрофлора скудная, большинство кокки. Обнаружены клетки слущенного эпителия ротовой полости, с микроорганизмами на их поверхности В анкете участник указал, что употребляет обычные сигареты 10-15 раз в день, имеет большой стаж курения.</p>
	<p>В препарате от участника № 22 микрофлора скудная, большинство кокки. Обнаружены грибы в виде скопления крупных почкующихся клеток, клетки слущенного эпителия ротовой полости. В анкете участник указал, что употребляет</p>

	обычные сигареты 20-30 раз в день, имеет большой стаж курения.
---	--

Приложение 8

Таблица 4. Сравнительная характеристика морфологических свойств микрофлоры зубного налета не курящих и курящих людей (по результатам изучения микропрепаратов)

Обс леду емы е	Микроскопическая картина									
	Палочки			Кокки			Извит ые формы бактер ий	Ветвя щиеся форм ы бакте рий	Гриб ы	Слуш енны й эпите лий ротов ой полос ти
	Крупн ые (стрепт обакте рии)	Сре дние	Мелк ие	Стаф илоко кки	Стреп токок ки	Одино чные				
н/к, чел	10(100 %)	1(10 %)	1(10 %)	6 (60%)	10(10 0%)	4 (40%)	8(80%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
к, чел	8(72,7 %)	3(27 ,3%)	4(36,4%)	8(72,7 %)	7(63,6 %)	3(27,3 %)	4(36,4%)	3(27,3 %)	2 (18,2 %)	3 (27,3 %)

Примечание: н/к – не курящие, кол-во человек (абс./%); к – курящие, кол-во человек(абс./%)

Приложение 9

Таблица 5. Изучение молекулярно-биологических свойств микрофлоры зубного налета не курящих людей (по результатам лабораторных анализов)

	Параметр
--	----------

Индивидуальный номер участника	ДНК Enterobacteriaceae, ГЭ/мл (энтеробактерии)	ДНК Staphylococcus spp., ГЭ/мл (стафилококки)	ДНК Streptococcus spp., ГЭ/мл (стрептококки)	ДНК Lactobacillus spp., ГЭ/мл (лактобактерии)	ДНК Candida spp., ГЭ/мл (грибы)
1	0	$< 1.00 \cdot 10^4$	$1,1 \cdot 10^7$	$2,5 \cdot 10^6$	0
3	0	$7.39 \cdot 10^4$	$2,4 \cdot 10^7$	$8,1 \cdot 10^6$	0
4	0	0	$2,4 \cdot 10^6$	$4,7 \cdot 10^5$	0
6	0	$< 1.00 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^5$	$1,9 \cdot 10^4$	0
7	$< 1.00 \cdot 10^4$	$< 1.00 \cdot 10^4$	$6,6 \cdot 10^6$	$7,4 \cdot 10^5$	0
9	$< 1.00 \cdot 10^4$	0	$2,7 \cdot 10^7$	$3,3 \cdot 10^6$	0
13	$< 1.00 \cdot 10^4$	$1,6 \cdot 10^4$	$5,6 \cdot 10^6$	$6,6 \cdot 10^5$	0
14	0	$1,2 \cdot 10^4$	$1,1 \cdot 10^7$	$1,1 \cdot 10^7$	0
17	$< 1.00 \cdot 10^4$	$< 1.00 \cdot 10^4$	$1,3 \cdot 10^7$	$5,5 \cdot 10^6$	0
20	0	$< 1.00 \cdot 10^4$	$1.00 \cdot 10^6$	$1,3 \cdot 10^6$	0

Приложение 10

Таблица 6. Изучение молекулярно-биологических свойств микрофлоры зубного налета курящих людей (по результатам лабораторных анализов)

Индивидуальный номер участника	Параметр				
	ДНК Enterobacteriaceae, ГЭ/мл (энтеробактерии)	ДНК Staphylococcus spp., ГЭ/мл (стафилококки)	ДНК Streptococcus spp., ГЭ/мл (стрептококки)	ДНК Lactobacillus spp., ГЭ/мл (лактобактерии)	ДНК Candida spp., ГЭ/мл (грибы)

2	0	$< 1.00 \cdot 10^4$	$9,4 \cdot 10^5$	$3,1 \cdot 10^5$	< 200
8	0	$3,4 \cdot 10^4$	$1,1 \cdot 10^7$	$3,0 \cdot 10^6$	0
10	0	$3,8 \cdot 10^4$	$3,1 \cdot 10^7$	$8,3 \cdot 10^6$	0
12	$< 1.00 \cdot 10^4$	$1,1 \cdot 10^4$	$4,2 \cdot 10^6$	$5,9 \cdot 10^5$	0
15	$< 1.00 \cdot 10^4$	$< 1.00 \cdot 10^4$	$8,7 \cdot 10^6$	$2,9 \cdot 10^6$	0
16	0	0	$5,4 \cdot 10^5$	$3,6 \cdot 10^6$	0
18	0	$< 1.00 \cdot 10^4$	$9,0 \cdot 10^5$	$1,0 \cdot 10^7$	$1.00 \cdot 10^4$
19	0	$< 1.00 \cdot 10^4$	$9,0 \cdot 10^5$	$1,8 \cdot 10^6$	0
21	$< 1.00 \cdot 10^4$	0	$6,0 \cdot 10^5$	$1,0 \cdot 10^6$	0
22	$< 1.00 \cdot 10^4$	$< 1.00 \cdot 10^4$	$2,0 \cdot 10^5$	$1,7 \cdot 10^5$	0
23	$< 1.00 \cdot 10^4$	0	$3,0 \cdot 10^5$	$8,6 \cdot 10^4$	< 200

Приложение 11

Таблица 7. Сравнение концентрации микрофлоры зубного налета не курящих и курящих людей (по результатам лабораторных анализов)

Микробы	Концентрация микроорганизмов в зубном налете (ГЭ/мл)									
	10^7		10^6		10^5		10^4-10^2		0	
	н/к	к	н/к	к	н/к	к	н/к	к	н/к	к
Энтеробактерии	0	0	0	0	0	0	4	5	6	6
Стафилококки	0	0	0	0	0	0	8	8	2	3
Стрептококки	5	2	4	2	1	7	0	0	0	0
Лактобактерии	1	1	5	6	3	3	1	1	0	0
Грибы	0	0	0	0	0	0	0	3	10	8

Примечание: н/к – не курящие, кол-во человек; к – курящие, кол-во человек