**Наставна јединица 13**

**Микробиологија усне дупље**

**Орална микробиологија** се бави проучавањем микроорганизама присутних у усној дупљи, односно њиховом међусобном интеракцијом и интеракцијом са домаћином. Од посебног значаја је проучавање улоге микроорганизама у настанку две најчешће болести оралних ткива:

* *зубног каријса* - инфекције и пропадања тврдих зубних ткива: глеђи, дентина и цемента;
* *пародонтопатије* - која захвата десни, алвеоларну кост, периодонтални лигамент и цемент корена зуба.

Оно што треба нагласити на самом почетку јесте да се у усној дупљи налази велики број различитих микроорганизама од којих су најзаступљеније бактерије. Дакле, бактерије колонизују читаву усну дупљу, али се ипак највише „задржавају“ у узаним просторима као што је простор између зуба и епитела гингиве. Значи, сва „тешко доступна места“ механичком четкању зуба, односно физиолошком спирању пљувачком, покретима језика или образне мускулатуре су погодна за ретенцију бактерија и представљају *предилекциона места за настанак каријеса*. Другим речима, бактерије денталног плака су узрочници и каријеса и пародонтопатија.

Стога, у овом поглављу се говори о:

1. микрофлори усне дупље,
2. денталном плаку,
3. улози бактерија оралне слузнице у системским обољењима и
4. одбрамбеним механизмима домаћина.

**Микрофлора усне дупље**

**Увод:**

Усну дупљу насељава физиолошка микрофлора која је квантитативно и квалитативно врло богата. У устима одрасле особе се налази између 500 и 1.000 разичитих типова бактерија. Односно, код особе која релативно добро одржава оралну хигијену на свакој зубној површини се може наћи између 1.000 и 100.000 бактерија, а код особа са лошим орално – хигијенским навикама између 100.000.000 и 1.000.000.000 бактерија по зубу.

**Историјски осврт:**

Још 1674. године, холандски научник, отац модерне микроскопије *Antony van Leeuwenhoek* је први открио бактерије усне дупље. Наиме, он је најпре под микроскопом посматрао сопстевени дентални плак, или „малу белу масу“ (енгл. “*a little white matter*”) како га је назвао, и уочио „мале и изузетно покретне животињице“. Затим је микроскопски посматрао и „малу белу масу“ код два испитаника који никада у животу нису опрали зубе. *Leeuwenhoek* је при томе забележио да постоји „невероватно велики број животињица и да је читава маса жива и покретна“. Каснија истраживања су потврдила да је *Leeuwenhoek* заправо видео читаве колонијебактерија које чине **биофилм**. Генерално говорећи, биофилм чине накупине бактерија или других микоорганизама који су атхерирани за различите површине у организму човека. Бактеријски биофилм у усној дупљи се назива **дентални плак**.

**Микрофлора усне дупље**

Слузница усне дупље је покривена плочасто-слојевитим епителом који насељавају бројни микроорганизми (бактерије, гљиве, микоплазме, протозое, вируси), који сви заједно чине микрофлору усне дупље. У микрофлори су најзаступљеније **бактерије** (најмање 350 различитих врста које се могу култивисати).

Усна дупља није еколошки јединствена и неки њени делови пружају различите услове за колонизацију микроорганизама:

* букална слузница је релативно слабо колонизована;
* низак редокс потенцијал на папиларној површини језика стимулише раст анаеробних микроорганизама, па се зато ово место сматра резервоаром *Gram*-негативних анаероба укључених у настанак обољења парoдонцијума;
* глатке пoвршине зуба онемогућавају (или бaр отежавају) колoнизaцију бактерија. На овим местима бактерије су изложене неповољним утицајима: акт мастикације, механичко испирање пљувачком, абразивни ефекат хране;
* јамице и фисурe на мастикаторним површинама, апроксималне (бочне) површине, као и вратни делови зуба су места која омогућавају колонизацију бактерија. Ови региони садрже велики број микроорганизама па су због тога и најчешћа места у којима се развија зубни каријес и обољења парoдoнцијумa.

**Физиолошка микрофлора усне дупље**

**Резидентна (стална) микрофлора** се састоји од уобичајено присутних микроорганизама. Релативно је стабилна (не мења се по више година) и у уравнотежном односу је са домаћином. Ова равнотежа између оралне микрофлоре и домаћина у одређеним условима, као што су ксеростомија или дуготрајна употреба антибиотика, може да буде поремећена што за последицу има повећану учесталост зубног каријеса и обољења пародонцијума;

**Транзиторна (пролазна) микрофлора** краткотрајно насељава усну дупљу. Микроорганизми транзиторне микрофлоре немају факторе неопходне за дужи боравак у усној дупљи, а изложени су и еколошком притиску (резидентна микрофлора спречава колонизацију ових микроооганизама).

**Састав микрофлоре усне дупље**

**Стрептококе (*Streptococcus spp.*)**чине највећи део оралне микрофлореи играју важну улогу у настанку каријеса, гнојних инфекција усне дупље и инфективног ендокардитиса. Доминантно су **супрагингивалне** бактерије.

**Факултативно анаеробне стрептококе усне дупље:**

* ***Streptococcus mutans*** група
* ***Streptococcus salivarius*** група
* ***Streptococcus anginosus*** група
* ***Streptococcus mitis*** група

1. Припадници ***Streptococcus mutans*** групе: *S. mutans* (*c, e, f*), *S. sobrinus* (*d, g*), *S. cricetus* (*a*), *S. rattus* (*b*), *S. ferus, S. macacae,* *S. downei* (*h*).

Присутни су на површини зуба и играју важну улогу у патогенези зубног каријеса. Представљају „примарне непријатеље зуба“.

1. Припадници ***Streptococcus salivarius*** групе: *S. salivarius, S. vestibularis.*

Присутни су на дорзалној страни језика и у пљувачци;

1. Припадници ***Streptococcus anginosus*** групе: *S. constellatus, S. intermedius, S. anginosus.*

Насељавају пукотину десни и играју важну улогу у дентоалвеоларним инфекцијама;

1. Припадници ***Streptococcus mitis*** групе: *S. mitis, S. sanguis, S. gordonii,S. oralis, S. crista.*

Углавном улазе у састав зубног плака (биофилма), колонизују језик и букалну слузницу, учествују у развоју зубног каријеса и инфективног ендокардитиса.

Усна дупља новорођенчета иницијално не садржи бактерије, али убрзо је колонизују стрептококе из групе ***Streptococcus salivarius.*** Током прве године живота и ницања зуба, зубне површине и десни насељавају бактерије ***Streptococcus mutans*** и ***Streptococcus sanguinis*** групе.Предео вратног дела зуба колонизују претежно анаеробне бактерије.

**Неспорогене анаеробне бактерије усне дупље:**

***Peptostreptococcus***врсте:

* насељавају површину зуба играју важну улогу у развоју зубног каријеса, периодонталног и дентоалвеоларног апсцеса.

***Eubacterium:***

* стриктно анаеробне бактерије, чине више од 50% анаероба пародонталних џепова и улазе у састав зубног плака и каменца.

***Propionibacterium:***

* стриктно анаеробне бактерије, улазе у састав зубног плака, присутни су у каријесу корена зуба. Могуће је учешће у дентоалвеоларним инфекцијама.

***Lactobacillus:***

* чине мање од 1% микрофлоре усне дупље, њихов ниво у пљувачци корелира са уносом угљених хидрата путем хране.

**Бактерије које улазе у састав субгингивалног плака:**

***Actinomyces*** (стриктни или факултативни анаероб)***:***

* *А. israelii* је опортуниста који изазива цервикофацијалну актиномикозу; *A. odontolyticus* је укључена у најранијим фазама деминерализације глеђи; *A. naeslundii* је укључена у каријес корена зуба и запаљењу десни.

***Veillonella*** (стриктни анаероб):

* *V. parvula, V. dispar, V. atypica.* Изоловани су на различитим местима (језик, пљувачка, зубни плак).

***Porphyromonas*** (стриктни анаероб):

* *P. gingivalis, P. endodontalis* насељавају пукотине десни и у мањем броју су присутни у субгингивалном плаку*.*

***Prevotella*** (стриктни анаероб):

* *P. intermedia, P. nigrescens, P. corporis, P. melaninogenica, P. buccae, P. oralis, P. oris, P. dentalis.* Насељавају периодонтални џеп, улазе у састав зубног плака, учествују у развоју хроничног периодонтитиса и дентоалвеоларног апсцеса.

***Fusobacterium*** (стриктни анаероб):

* најчешћи изолат је *F. nucleatum; F. alocis* и *F. sulci* насељавају пукотине гингива и тонзиле; *F. periodonticum* је укључен у настанак периодонталних инфекција.

**Капнофилне бактерије:**

***Actinobacillus:***

* *А. actinomycetemcomitans* (a–e) продукује различите факторе вируленције (леукотоксин, епителиотоксин, колагеназе, протеазе и разграђује IgG. Насељава периодонталне пукотине и учествује у агресивним формама периодонтитиса.

***Capnocytophaga:*** *C. gingivalis, C. sputigena, C. ochracea, C. granulosa, C. haemolytica.*

* Присутне су у пљувачци и на оралној слузници. Учествују у развоју инфекција код имунодефицијентних особа.

**Остале факултативно анаеробне бактерије усне дупље:**

***Neisseria:*** *N. subflava, N. mucosa, N. sicca.*

* У мањем броју су изоловане на језику, у пљувачци, оралној слузници. Троше кисеоник у раном стадијуму формирања плака и на тај начин обезбеђују повољне услове за раст анаероба.

***Haemophilus:*** *H. parainfluenzae, H. segnis, H. aphrophilus, H. haemolyticus, H. parahaemolyticus.*

* Присутни су у пљувачци и на слузници усне дупље, и улазе у састав плака. Укључени су у развој инфективног ендокардитиса, акутног сијалодентитиса, као и у дентоалвеоларним инфекцијама.

***Treponema:***

*T. denticola* поседује пролин амино пептидазе и аргинин-специфичне протеазе којима разграђује колаген и желатин. Насељава пукотине десни и у блиској је вези са акутним улцерозним гингивитисом , као и деструктивним периодонталним обољењима.

**Протозое усне дупље:**

***Entamoeba gingivalis*** (стриктни анаероб):

* Колонизује периодонтално ткиво нарочито код пацијента на радиотерапији или након примене метронидазола.

***Trichomonas tenax*** (стриктни анаероб):

* Насељава пукотине десни.

**Гљиве:**

***Candida albicans*** је најчешћи изолат усне дупље (до 40% код особа без симптома). Инфекције се јављају код имунодефицијентних особа, након дуготрајне употребе антибиотика, при употреби протеза.

**Вируси:**

Одређени вируси, ***Epstein Barr* вирус** и **хумани *herpes virus* тип 6** се често могу изоловати у пљувачци здравих особа.

**Главна станишта микроорганизама у усној дупљи**

* горња површина језика;
* површина зуба (супрагингивална и субгингивална, јамице и фисуре);
* епител гингивалног сулкуса;
* букална слузница;
* зубне протезе и мостови (ако су присутни).

**Фактори који модулишу раст микроорганизама у усној дупљи**

**Анатомски фактори**

* облик и топографија зуба;
* криви зуби;
* лош квалитет рестаурације зуба (пломбе и мостови);
* некератинизован епител сулкуса.

**Сви наведени анатомски фактори представљају места која се тешко чисте, било испирањем пљувачком или прањем зуба.**

**Пљувачка**

Пљувачка на више начина модулише раст микроорганизама:

* механичким испирањем усне дупље уклања остатке хране, као и микроорганизме са површине зуба и оралне слузнице;
* адсорпција пљувачке на површини зуба омогућава формирање пљувачне наслаге (пеликле) која између осталог олакшава адхезију бактерија;
* обзиром на доступност, пљувачка представља важан извор хране (угљених хидрата и протеина) за микроорганизме;
* омогућава агрегацију бактерија којом олакшава њихово уклањање, али истовремено омогућава и таложење које за последицу има формирање зубног плака;
* садржи неспецифичне одрамбене механизме (лизозиме, лактоферин и хистатине) са бактериоцидним и фунгицидним дејством, као и специфичне одрамбене механизме (антитела, пљувачни инхибитор протеазе леукоцита), који сви заједно инхибирају раст микроорганизама;
* својим пуферским капацитетом, пљувачка одржава pH усне дупље и тако неутралише киселост плака и подстиче реминерализацију*.* **Насупрот томе, кисела пљувачка стимулише раст кариогених бактерија.**

**Гингивална течност**

У физиолошким условима постоји континуиран и слаб проток гингивалне течности, а он се повећава у упалним поцесима (запаљење десни).

Гингивална течност испољава различите ефекте на раст микроорганизама:

* механичким испирањем уклања микроорганизме из гингивалног сулкуса;
* служи као извор хранљивих материја (протеина, угљених хидрата, кофактора раста) неопходних за раст бактерија;
* одржава pH средине;
* својим специфичним и неспецифичним одрамбеним механизмима инхибира раст микроорганизама.

**Микробни фактори**

Стална микрофлора усне дупље потискује или инхибира раст егзогених неоралних микроорганизама и на тај начин их уклања са својих станишта:

* Бактерије које прве населе усну дупљу заузимају рецепторска места на слузници и тако спречавају колонизацију других бактерија;
* Бактерије продукују токсине (бактериоцине) којим убијају остале бактерије исте или друге врсте *(S. salivarius*  продукује инхибитор (еноцин) који спречава раст *S. pyogenes*-а);
* Бактерије ослобађају метаболичке продукте који или смањују pH у усној дупљи или делују токсично на друге бактерије.
* Неке бактерије користе метаболичке продукте за нутритивне потребе (*Veillonella spp.* користи киселине које продукује *Streptococcus mutans).*

**Стечена физиолошка микрофлора усне дупље**

Усна дупља плода је стерилна средина, а на рођењу, проласком кроз порођајни канал мајке, започиње колонизација усне дупље новорођенчета микроорганизмима. Колонизација се одвија поступно, при првом храњењу, и то прво са мајке, а затим са особља из породилишта као и непосредног окружења. Стрептококе (*S. salivarius*) су прве бактерије које насељавају епител слузнице усне дупље.

Метаболичка активност стрептокока мења микросредину усне дупље и тако олакшава колонизацију бактерија различитих родова и врста. Нпр, *S. salivarius* из сахарозе производи ванћелијске полимере који омогућавају везивање других бактерија (*Actinomyces spp*.). Микрофлору усне дупље прве године живота обично чине стрептококе, стафилококе, најсерије и лактобацили, заједно са анаеробима као што су *Veillonella* и *Fusobacteria.*

Следећа промена у саставу микрофлоре се дешава током и након ницања зуба када и друге површине (глеђ и гингивални сулкус) постају места насељавања бактеријама. Тако *S. mutans*, *S. sanguis* и *Actinomyces spp.,* селективно насељавају чврста ткива (глеђ), док анаребне бактерије, *Prevotella spp., Porphyromonas spp*. и спирохете, првенствено колонизују гингивални сулкус. Тек у периоду адлесценције анаероби су у великом броју присутни у овом региону.

Микрофлора усне дупље одраслих је релативно стабилна, али употреба зубних протеза може да утиче на састав микрофлоре повећавајући степен раста *Candida-е albicans*. У доба старости, ако су сви зуби извађени, састав микрофлоре усне дупље је сличан оном у детињству пре ницања зуба.

**Дентални плак**

Дентални плак је безбојна лепљива маса (биофилм) која се ствара на зубима, али и на другим местима у усној дупљи (десни, зубне протезе, мостови). Плак се састоји од великог броја бактерија повезаних у мукополисахаридни матрикс и не може се испрати, али се може механички одстранити зубном четкицом. Његова главна особина је пријањање (чак и за глатке површине зуба), а већ неколико минута након полирања зуба, поново почиње да се ствара из пљувачке у облику веома танког слоја који облаже зубе.

Плак је продукт размножавања микроорганизaмa и њиховог метaбoлизмa. Микроорганизми у денталном плаку су окружени органским матриксом који чини 30% од укупне запремине зубног плака. Њега чине продукти домаћина као и продукти микроорганизама који су у саставу плака. У региону десни, протеини гингивалне течности се такође уграђују у плак. Органски матрикс служи као резервоар хране и функционише као цемент који повезује микроорганизме, како међусобно, тако и за различите површине. Плак се нарочито ствара у случају лоше хигијене зуба. Најчешћа места на којима се формира су оклузионе пукотине између зуба или у гингивалном сулкусу.

**Састав денталног плака**

Поред микроорганизама, дентални плак садржи воду (80%), органске и неорганске материје (20%). **Органске материје** потичу из три извора: из пљувачке, мањим делом из гингивалног ексудата, док су у нешто већој количини продукт микроорганизама. Дакле, органски део денталног плака чини муцин, десквамиране епителне ћелије, леукоцити и друге материје.

**Муцини**, као и неки други гликопротеини пљувачке су важан састојак денталног плака. Због тога неки аутори дентални плак називају и **муцинозним плаком***.* Тек у киселој средини настаје таложење и преципитација муцина. Поред тога, услов за преципитацију муцина је и да је он претходно денатурисан (измењен). Денатурисање муцина се одвија под утицајем ензима који су бактеријског порекла. Тако денатурисан муцин добија адхезивну моћ и чврсто се припаја за глеђ зуба. Органску основу денталног плака чине и **полисахариди** које углавном синтетишу микроорганизми (најчешће стрептококе). Ти **високомолекуларни полисахариди** су **декстран** и **леван**. Они повећавају масу денталног плака. Односно, сматра се да декстран са протеинима пљувачке и гингивалног ексудата ствара преципитате који фиксирају дентални плак за површину зуба. Леван, а донекле и декстран, својом лепљивошћу обезбеђује и бољу везу микроорганизама у денталном плаку. Дентални плак садржи и бројна **нискомолекуларна једињења** која представљају крајњи продукт метаболизма угљених хидрата и протеина. То су млечна, пирогрожђана, сирћетна киселина, као и бројне аминокиселине.

**Десквамиране епителне ћелије** денталног плака потичу од слузокоже усне дупље. Налазе се у новоформираном (незрелом) денталном плаку. Касније, под утицајем бактеријских ензима буду разграђене, па се ретко могу наћи у зрелом плаку.

Од неорганских материја дентални плак садржи све оне минерале који се нормално налазе и крвном серуму. То су **калцијум**, **натријум**, **фосфор** и **магнезијум**. Само у траговима се могу наћи: бакар, олово, цинк, стронцијум и литијум. Ти минерали граде неорганске соли као калцијум фосфат, калцијум карбонат и магнезијум фосфат. Ове соли се у облику кристализираног хидрокиапатита таложе у органску основу плака. На тај начин се формира зубни каменац.

**На основу положаја, дентални плак можемо поделити на:**

**Супрагингивални плак** се ствара изнад нивоа гингиве. Наслаге овог плака могу бити врло танке, а некада су голим оком видљиве. Он се клинички може веома лако открити, било сондом било бојењем специјалним бојама;

**Субгингивални плак** се накупља испод гингиве зуба. Он се не може директно открити тј. уколико је у танком слоју немогуће га је клинички открити.

**Супрагингивални плак** обухвата:

* плак на фисурама (јамицама) зуба: углавном на моларним зубима (кутњацима);
* плак апроксималних (бочних) површина зуба: јавља се на местима контакaта зуба;
* плак глатких површина (на зубима, букалној и непчаној површини).

**Субгингивални плак** се обично јавља при употреби протетских и ортодонтских апарата:

* плак повезан са протетским надокнадама (потпуне или парцијалне протезе);
* плак повезан са ортодонтским апаратима.

Субгингивални дентални плак лежи у пародонталном џепу где може бити слободан или везан (најчешће за корен зуба, али може бити везан и за меки зид пародонталног џепа). Везан дентални плак не допире до припојног епитела (прстен плочастослојевитог епитела који обухвата врат зуба). Његовом минерализацијом настају субгингивални конкременти. Слободни дентални плак је у контакту са припојним епителом и меким зидом пародонталног џепа.

**Формирање денталног плака**

Микроорганизми денталног плака су бројни и разноврсни. Сматра се да 1 грам плака садржи око 220 билиона бактерија. Стварање плака је сложен процес и одвија се поступно.

* Прво настаје **пљувачна пеликла**, прва стечена наслага на зубима, прозирна гликопротеинска наслага без ћелија и бактерија. Она се формира већ неколико минута после прања зуба, а стварa се и кaдa се не уноси хрaнa. Прекрива глеђ и затвара њене поре и на тај начин је механички штити, док својим протеинима неутралише киселине. На такву основу се насељавају микроорганизми, јер пеликла олакшава њихову адхезију.
* **Транспорт бактерија** - пре него што се вежу за површину зуба, бактерије доспевају у његову близину на више начина: протоком пљувачке, Брауновим кретањем (дифузијом) или хемотаксом.
* **Реверзибилно повезивање** - на великом растојању између површине микроорганизама и пеликле која облаже површину зуба најпре се успоставља почетна слаба веза у којој доминантну улогу играју *Van der Waals*-ове и електростатске силе. На јачину ових сила утиче концентрација јона у пљувачци.
* **Иреверзибилно повезивање** - када бактерије приђу ближе површини зуба између њих се успостављају иреверзибилне јаке везе (ковалентне, јонске...). Ове везе се успостављају између адхезина на површини микроорганизама и рецептора на пеликли и омогућавају усидравање микроорганизама.
* **Коагрегација или коадхезија** - за прву генерацију бактерија "залепљених" за површину зуба везују се нове бактерије исте или различите врсте.
* **Формирање биофилма** - бактерије, када се једном вежу за површину зуба, следи њихово умножавање, при чему оне остају везане. Формира се биофилм који представља сесилну заједницу микроорганизама (исте и различите врсте) која је иреверзибилно везана за површину и окружена екстраполимерним матриксом (слуз). Комуникација која се остварује помоћу сигналних молекула омогућује бактеријама биофилма да се организују у функционaлну зaједницу. Унутар биофилма, микроорганизми су распоређени у колонама, односно њихов распоред подсећа на структуру гљива, а између њих су канали који омогућују транспорт метаболита и хранљивих материја.

Пљувачну пеликлу најпре колонизују аеробне бактерије, јер на почетку владају аеробни услови и матрикс плака је још увек довољно пропустљив за улаз пуферских система из пљувачке, као и кисеоника. Временом, повећава се количина ванћелијских полисахарида која повећава запремину плакa и смaњује његову пропустљивост. У плак сада могу да продиру само мали молекули, као што је сахароза којој се приписује велики кариогени потенцијал. Због мањка кисеоника владaју aнaеробни услови тако да у овој фази у састав плака улазе и анаеробне бактерије.

Другим речима, састав флоре денталног плака није константан и варира у току еволуције плака, тако да постоји разлика у микроорганизмима и у незрелом и у зрелом плаку. Микроорганизми се насељавају одмах по формирању стечене пеликле. У тој **првој фази** која траје до два дана нису створени анаеробни услови, па су присутни **аеробни Грам позитивни микроорганизми** и то Грам позитивне коке (нарочито стрптококе) и Грам позитивни бацили. У овој фази дентални плак није потпуно формиран и назива се **незрели дентални плак**. Анаеробни услови се стрварају тек после другог до четвртог дана, када се појављују анаеробни бацили (фузиформни бацили), неки филаментозни облици (*Leptotrichia buccalis*) и Грам негативне коке. Тек после четвртог до деветог дана јављају се и спирални облици као што су спирохете, вибриони и друге. У овој фази заступљеност стрептокока, које су биле најбројније у незрелом плаку, своди се скоро на пловину оног броја колико их је било у незрелом плаку. У денталном плаку сада доминирају ананеробни сојеви, дентални плак је потпуно формиран па се назива **зрели дентални плак**.

Дакле, дентални плак које се налази у гингивалном сулкусу и у пародонталном џепу, по бактеријском саставу се разликује од супрагингивалног денталног плака. Субгингивални плак представља „зрео“ дентални плак и чине га претежно вирулентне анаеробне бактерије. Састав микрофлоре денталног плака зависи и од стања пародонцијума. Тако, док у здравом пародонцијуму преко 70% флоре денталног плака чине коке, остало су бацили и филаментозни облици. У оболелом пародонцијуму коке чине свега 20%, док се знатно повећава број филаментозних облика.

**Дисеминација (расејавање) плака**

Бактерије из зубног плака могу да се одвоје и уђу у планктонску фазу и да се транспортују до нових места где се поново може покренути исти циклус.

**Карактеристике биофилма и његова улога у настанку болести усне дупље**

До 65% инфекција код људи могу бити узроковане микроорганизмима биофилма. Бактерије биофилма могу бити морфолошки и физиолошки другачије од њихових планктонских (слободних) форми (исте врсте).

Предности удруживања бактерија у биофилм су:

* заштита од антимикробних лекова;
* боља доступност хранљивих материја;
* снажнија повезаност молекула воде редукује могућност дехидрације.

Формирањем биофилма вишеструко се повећава резистенција бактерија на негативне утицаје околине (антибиотике, дезинфицијенсе и одбрамбене механизме домаћина). Разлози резистенције су:

* ограничена дифузија антибиотика кроз ванћелијски матрикс биофилма;
* развој бактеријске "толеранције" на ниске концентрације лекова у матриксу биофилма;
* хетерогеност бактеријске популације услед чега је антибиотски учинак слаб или никакав јер бактерије у биофилму су у различитим фазама живота;
* редокс потенцијал и pH средине су различити у дубљим деловима биофилма што антибиотике чини мање активним или неактивним;
* због слабе метаболичке активности, бактерије унутар биофилма су отпорније на дејство антибиотика;
* антибиотици се везују за егзополисахарид матрикса тако да се смањује њихова концентрација;
* смањена доступност одрамбеним механизмима имунског система.

**Формирање зубног каменца (калкулус)**

Зубни каменац је минерализовани зубни плак који настаје таложењем соли у зубни плак. Минерали који улазе у његов састав су пореклом из пљувачке. Зубни каменац се састоји од 80% неорганских соли, од којих највише има соли калцијума, фосфора и магнезијума. Органску основу каменца чине сви састојци зубног плака.

Брзина формирања зубног каменца зависи од састава пљувачке, оралне хигијене и неких спољашњих фактора (пушење и употреба тешке водe за пићe). Састав пљувачке има пресудну улогу у брзини стварањa кaменцa. Докaзaно је дa се код особa које имају повећaне концентрације јонa кaлцијумa и фосфата у пљувaчци, брже ствaрa кaменац.

Процес минерализације зубног плака је убрзан присуством бактеријских фосфатаза и протеаза које разграђују неке инхибиторе калцификације у пљувачци (статхерин и протеине богате пролином). Формирају се нерастворљиви кристали калцијум фосфата који се спајају при чему настаје калцификована маса плака (калкулус).

Зубни каменац се обилно таложи на местима у близини изводних канала пљувачних жлезда. Таложи се и на зубима и то на гингивалној трећини крунице пратећи ивице гингиве.

**Структура зубног каменца**

У спољашњим слојевима најзаступљније су коке и бацили, а могу се наћи и спирохете. Бактерије у близини глеђи су морфолошки измењене (смањена цитоплазма) што указује да су метаболички неактивне. Супрагингивални каменац садржи више Грам позитивних бактерија, док су у субгингивалном каменцу углавном присутне Грам негативне бактерије. У неким областима (нарочито у спољашњем делу каменца) коке се везују и расту на површини филаментозних микроорганизама што даје изглед "клипа кукурузa". Филаментозне бактерије могу да се оријентишу под правим углом у односу на површину глеђи што има изглед распореда књига на полици. У цитолазми неких бактерија (коке) присутне су грануле у којима се складишти храна. Површина каменца је неравна и порозна и представља идеалан резервоар бактеријских токсина (нпр. липополисахарид) штетних за пародонцијум. Отуда уклањање каменца је од суштинске важности за одржавање здравог пародонцијума

**Улога бактерија оралне слузнице у системским обољењима**

Верује се да бактерије зубног плака, осим што играју важну улогу у обољењима пародонцијума, могу да учествују и у патогенези, а могу да утичу и на исход многих системских обољења, као што су:

**Кардиоваскуларна обољења (**инфективни миокардитис и ендокардитиси атеросклероза) - Узрочници обољења пародонцијума као што су *P. gingivalis, Tannerella forsythia, F. nucleatum, P. intermedia* и *A. actinomycetemcomitans*, детектоване су у атеросклеротичном плаку у аорти, коронарним и каротидним артеријама што указује на њихову потенцијалну улогу у патогенези атеросклерозе. У прилог томе је и налаз *in vitro*, који указује да *P. gingivalis* улази у ендотелне ћелије у којима индукује секрецију проинфламацијских цитокина и повећава експресију адхезивних молекула. У присуству липопротеина мале густине (LDL, од енгл. Low *Density Lipoprotein*), *P. gingivalis* изазива и формирање пенастих ћелија из макрофага што је знак ране атеросклерозе. Ова бактерија индукује и агрегацију тромбоцита, што све заједно доприноси развоју и прогресији атеросклерозе.

**Респираторна обољења (бактеријска пнеумонија)** - Бактерије пародонцијума, као и бактеријски агрегати из биофилма, могу да доспеју у пљувачку одакле могу да се аспирирају у доње респираторне путеве, укључујући и плућа. Ове бактерије могу да директно изазову инфекцију или могу да узрокују локално оштећење ткива што на тај начин олакшава успостављање инфекције уобичајеним респираторним патогенима. Цитокини продуковани у одговору на бактерије пародонцијума могу да доспеју у плућа и да стимулишу локалну инфламацијску реакцију која стимулише колонизацију бактерија и ткивна оштећења.

**Дијабетес** - Док дијабетес представља фактор ризика за инфекције пародонцијума, и инфекције пародонцијума су праћене повећаном синтезом цитокина као и протеина акутне фазе што резултира инсулинску резистенцију. Тако на пример, TNF-α негативно регулише ефекте инсулина и преузимање глукозе, а IL-6 омета ослобађање инсулина из бета ћелија панкреаса које стимулише ниво глукозе. Уз то, IL-1β и IL-6 могу да антагонизују ефекат инсулина.

Бактеријске инфекције усне дупље учествују у патогенези системских обољења помоћу три механизма:

* Метастатска инфекција - свака инфекција или интервенција у усној дупљи (нпр. вађење зуба) могу да изазову транзиторну бактеријемију. Ако дисеминоване бактерије наиђу на повољне услове, могу да адхерирају, колонизију и започну размножавање што резултира настанком обољења као што су инфективни ендокардитис, миокардитис, апсцес мозга, као и апсцес плућа и пнеумонију и сл.
* Метастатска оштећења - у току инфекције пародонцијума, бактеријски продукти (егзотоксини, ендотоксини) који доспевају у циркулацију узрокују оштећења (синдром токсичног шока);
* Метастатска инфламација - последица је имунског одговора услед присуства бактерија у усној дупљи. Солубилни антигени ових бактерија доспевају у циркулацију и са антителима граде имунске комплексе који узрокују акутне и хроничне запаљенске реакције на месту таложења (Бехчетов синдром, гломерулонефритис).

**Одбрамбени механизми усне дупље**

Главни одбрамбени механизми у усној дупљи су:

* очуван итегритетет (целовитост) оралне слузнице;
* лимфно ткиво;
* пљувачка;
* гингивална течност;
* хуморална и ћелијска имуност.

**Орална слузница**

Усна дупља представља “улазна врата“ за многе микроорганизме из спољашње средине. У усној дупљи, интегритет слузница представља ефикасну физичку баријеру која спречава улазак микроорганизама. Ако је ова баријера компромитована (нпр. код оболелих од канцера, услед хемотерапије), могућа су оштећења оралне слузнице што повећава ризик од локалних или системских инфекција.

Слузница усне дупље се наставља на друге анатомске структуре (нпр. ждрело) Ове структуре су веома осетљиве на микроорганизме ако су одбрамбени механизми у усној дупљи ослабљени. Нарочито осетљиво место на микрооганизме је спој десни и зуба.

**Лимфно ткиво усне дупље**

* **Екстраорални лимфни чворови**

Са површине слузнице усне дупље, десни као и пулпе зуба, полазе лимфни капилари који се удружују и граде веће судове. Ови судови се затим спајају са лимфним судовима из дубљих фацијалних структура (мишићи језика). Затим се лимфа, путем лимфних судова, дренира у субмандибуларне, субменталне и дубље вратне и ретрофарингелане лимфне чворове. Микроорганизми који пробијају епител оралне слузнице доспевају до ламине проприје, било директним уласком у лимфни суд или помоћу фагоцита који их до ње транспортују. Након препознавања антигена у ламини проприји започиње имунски одговор на микроорганизме.

* **Крајници (тонзиле)** функционишу као "чувари" који спречавају колонизацију микроорганизама у дигестивни и респираторни систем.
* **Лимфно ткиво десни (гингива)** заузима важно место у одбрани од микроорганизама денталног плака.
* Секретована **IgА антитела која продукују плазмоцити пљувачних жлезда** учествују у спречавању инфекције унутар самих жлезда, а и штите слузницу усне дупље и површине зуба од колонизације микроорганизмима.

**Заштитна улога пљувачке**

Пљувачка је комплексна мешавина неорганских компоненти (јона натријума, калијума, калцијума, хлорида, бикарбоната и фосфата). Концентрације ових јона дневно варирају у зависности од узимања хране. Главни органски састојци пљувачке су протеини и гликопротеини (муцини) који модулишу раст бактерија.

Захваљујући механичком испирању и присуству различитих антимикробних фактора, пљувачка је важна компонента одбране усне дупље. Пљувачне жлезде дневно секретују 0.5-1.5 литара пљувачке. Велике пљувачне жлезде су паротидна, подвилична и подјезична жлезда, а мале су: лабијална, језична, букална и непчана пљувачна жлезда.

Пљувачка непрекидно механички испира слузницу усне дупље (уклања микроорганизме као и остатке хране), облаже и влажи ткива. Адекватан проток пљувачке је важан за одржавање интегритета меког и чврстог ткива.

Пљувачка садржи аглутинине који омогућавају агрегацију (слепљивање) бактерија спречавајући њихово везивање за површине и на тај начин олакшавају њихову елиминацију (гутањем и искашљавањем).

**Антимикробне компоненте пљувачке**

Једна од главних компоненти пљувачке су **секретована IgА антитела (S-IgA).** Њих продукују плазмоцити у ламини проприји слузнице усне дупље као и плазмоцити пљувачних жлезда. IgА се усидравају у слој муцина на епителу оралне слузнице и спречавају везивање и пенетрацију микроорганизама кроз ткива. Такође изазивају агрегацију бактерија и олакшавају њихово уклањање. *Streptococcus, Haemophilus* и *Neisseria* продукују протеазе које специфично разграђују S-IgA1 антитела и тако ремете њихову заштитну функцију.

**Лизозим** је базни протеин и присутан је у многим секретима. Има га и пљувачци (у високој концентрацији) као и у гингивалној течности. Лизозим игра значајну улогу у неспецифичној антимикробној заштити усне дупље тако што:

* разграђује ћелијски зид Грам позитивних бактерија а и активира аутолизине у ћелијском зиду бактерија;
* везује и индукује слепљивање бактерија и тако убрзава њихову елиминацију гутањем или искашљавањем.

**Пљувачна пероксидаза** је ензим пљувачке. Продукују је пљувачне жлезде, као и полиморфонуклеарни леукоцити. Пљувачна пероксидаза катализује реакцију између H2O2 (продукт метаболизма бактерија усне дупље) и јона тиоцијаната. Продукти ове реакције су хипотиоцијантна киселина и хипотиоцијанати који блокирају активност неких бактеријских ензима (алдолазa, пируват киназa...). Испољава антибактеријско дејство на многе Грам позитивне (*S. mutans*), као и Грам негативне бактерије (*Prevotela, F. nucleatum, A. actinomycetemcomitans*). Ефикасно уклања H2O2 из усне дупље и тако спречава оксидативно оштећење меког ткива.

**Лактоферин** је гликопротеин који везује гвожђе из ацинусних и епителних ћелија, као и фагоцита. Лактоферин је значајна компонента неспецифичне антимикробне заштите слузница јер испољава бактерицидно и бактериостатско дејство на Грам позитивне и Грам негативне бактерије тако што:

* инхибира раст бактерија тако што везује секвестрирано и слободно гвожђе па га чини недоступним за бактерије што за последицу има њихов смањен раст и размножавање;
* бактериоцидно дејство подразумева директну интеракцију са ћелијским зидом бактерија нарушавајући његов инегритет;
* омета адхезију бактерија.

**Хистатини** су фамилија протеина пљувачке, познати су и као протеини богати хистидином. Главни извор хистатина су пљувачне жлезде. Укупно има 12 чланова хистатина. Хистатин 5 је главни представник ове фамилије протеина у пљувачци. Хистатини су укључени у различите биолошке процесе у усној дупљи и то:

* играју улогу у формирању пљувачне пеликле;
* везују поједине јоне метала и токсичних полифенола у пљувачци;
* делују антифунгицидно (*Candida-е albicans)*: инхибира респираторни ланац и стимулишу излазак АТP из гљиве;
* имају и антибактеријско дејство: регулишу раст кристала хидроксиапатита и спречавају коагрегацију бактерија.

**Цистатини** су пептиди богати цистеином и инхибирају цистеин протеазу бактерија. Регулишу и инфламацију тако што инхибирају активност протеаза домаћина и регулишу секрецију цитокина.

**Хромогранин А** продукују подвиличне и подјезичне жлезде. Његовом обрадом се ослобађа вазостатин-1 са антибактеријским и антифунгицидним дејством.

**Антимикробни протеини**:

**α-дефензине** продукују полиморфонуклеарни леукоцити, док **β-дефензине** продукују епителне ћелије и леукоцити. Убијају многе Грам позитивне и Грам негативне бактерије, гљиве (*Candida albicans*), као и неке вирусе (*Herpes simplex*).

**Кателицидин** је присутан у пљувачним жлездама, на језику, букалној слузници и деснима. Ствара поре на мембрани микроорганизама (бактерије, гљиве, вируси, паразити).

**Антивирусни фактори:**

**Секретовани инхибитор протеазе леукоцита** (SLPI; енгл. *Secretory Leukocyte Protease Inhibitor*) је инхибитор серин протеазе и смањује инфективност HIV-а, а има и бактерицидно и антифунгицидно дејство.

**Тромбоспондин 1** спречава везивање HIV-а за CD4 молекул на Т лимфоцитима.

**Протеини богати пролином** се везују за gp120 и на тај начин инхибирају инфективност HIV-а. .

Пљувачка садржи и **ниске концентрације IgG, IgM** и компоненте комплемента из гингивалне течности, као и **калпротектин** из епителних ћелија са антибактеријским и антифунгицидним дејством.

**Гингивална течност**

Гингивална течност је трансудат серума или инфламаторни ексудат који се налази у физиолошком (гингивална пукотина) или у патолошком простору између десни и зуба (гингивални џеп или пародонтални џеп).

Поред антитела (IgG, IgM и IgA) у гингивалној течности су детектоване и компоненте система комплемента што указује на класичну и алтернативну активацију комплемента у гингивалној течности. Главна ћелијска компонента гингивалне течности су неутрофили, док су Т и B лимфоцити, као и макрофаги присутни у мањем броју. Ове ћелије непрекидно мигрирају из крви преко епитела споја до гингивалних пукотина. Више од 80% неутрофила у гингивалној течности су функционални и способни су да фагоцитују микроорганизме.