

Т.Н. Терехова,
д.м.н., профессор, зав.кафедрой

Н.В. Шаковец,
к.м.н., доцент

Н.В. Ковальчук,
к.м.н., доцент

Кафедра стоматологии детского
возраста Белорусского государственного
медицинского университета, Минск

Применение пробиотического напитка с целью профилактики кариеса зубов у дошкольников

Пробиотики — это живые микроорганизмы или пищевые ингредиенты, содержащие живые микроорганизмы, которые оказывают положительное влияние на здоровье организма хозяина при условии их использования в адекватном количестве. Это определение было принято Международной организацией питания и сельского хозяйства и Всемирной организацией здравоохранения [9].

Современные знания о важной роли кишечной микрофлоры привели к разработке стратегий улучшения здоровья путем влияния на микробное сообщество организма [10]. Стратегии влияния на микрофлору включают коррекцию рациона питания, увеличение потребления невосасаемых углеводов и поступление живых бактерий в организм человека. Последняя концепция обычно носит название бактериотерапии, или заместительной терапии.

В ее основе лежит предположение о том, что патогенные микроорганизмы, такие как лактобактерии и бифидобактерии, могут занять пространство в биопленке человека, которое при других обстоятельствах могло бы быть колонизировано бактериями-патогенами. Бифидобактерии и лактобактерии являются частью нормальной микрофлоры человека. В полости рта лактобактерии составляют менее 1% от всей культивируемой микрофлоры, однако среди них нет штаммов, специфичных для полости рта [2, 15]. В ротовой жидкости обычно определяют штаммы *L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* и *L. salivarius* [2, 6, 15, 23]. Бифидобактерии являются одними из первых анаэробных микроорганизмов, заселяющих полость рта. Они также

обнаруживаются среди преимущественно анаэробных бактерий кишечного тракта и играют важнейшую роль в поддержании равновесия естественной кишечной флоры [10]. И бифидобактерии, и лактобактерии определяются в грудном молоке, что способствует их ранней колонизации в полости рта [1, 14].

В образцах слюны и зубного налета обычно определяют *B. bifidum*, *B. dentium* и *B. longum* [3, 8, 15]. Основоположником концепции влияния пробиотических бактерий на здоровье человека был И.И. Мечников, удостоенный за серию работ в этом направлении Нобелевской премии в области медицины в 1908 г. [16].

В настоящее время доказано положительное воздействие пробиотических бактерий на организм человека, таких как повышение иммунитета, снижение частоты аллергических реакций и непереносимости лактозы, понижение кровяного давления и уровня холестерина в сыворотке крови [5].

Механизмы действия пробиотиков можно разделить на три основные группы: 1) нормализация кишечной микрофлоры путем предотвращения адгезии и инвазии патогенных бактерий к слизистой оболочке; 2) изменение среды в кишечнике путем снижения pH; 3) модуляция местного и системного иммунитета [13].

Влияние пробиотических бактерий на состояние здоровья полости рта менее изучено. Для оказания противокариозного действия пробиотики должны обладать способностью к адгезии к поверхности зуба и интегрироваться в бактериальные сообщества, формирующие зубной налет. Они также должны конкурировать и быть антагонистами кариесогенных бактерий, а также

предотвращать их рост. И наконец, метаболизм пищевых сахаров пробиотиками должен протекать с низким выделением кислоты [11]. Возможные механизмы воздействия пробиотиков в полости рта представлены на рис. 1 и заключаются в следующем:

- выработка различных противомикробных веществ, таких как органические кислоты, перекись водорода и бактериоцины;
- конкуренция с патогенными микроорганизмами за участки прикрепления к слизистой оболочке;
- модификация параметров окружающей среды полости рта путем изменения рН и/или окислительно-восстановительного потенциала, что приводит к снижению жизнеспособности патогенных микроорганизмов;
- стимуляция неспецифического иммунитета и изменение гуморального и клеточного иммунного ответа;
- комбинация пробиотических штаммов приводит к усилению положительных эффектов [22].

Одним из наиболее типичных пробиотических продуктов является йогурт, а ежедневный прием молочных продуктов представляет собой наиболее естественный путь поступления пробиотических бактерий [20]. Важным преимуществом молочных продуктов является содержание основных питательных веществ, необходимых для растущего организма ребенка. Более того, они являются безопасными для зубов, оказывая положительное влияние на микробный и минеральный состав слюны благодаря содержанию казеина, кальция и фосфатов [18]. Для ежедневного приема рекомендуется

150–200 мл молочных продуктов с содержанием пробиотических бактерий 10^8 ед/г (или ед/мл). Предпочтительно, чтобы молочные продукты не были подслащены. Необходимо отметить, что в процессе приготовления пищи жизнеспособность бактерий может снижаться и быть недостаточной для достижения терапевтического эффекта. Число живых колоний может уменьшиться ниже рекомендуемого уровня к концу срока годности продукта, и некоторые штаммы бифидобактерий могут погибнуть при транзите через желудок. Поскольку пробиотики не оказывают выраженного остаточного эффекта после прекращения их поступления [17], наиболее целесообразным является их регулярный ежедневный прием с раннего детства, когда шанс постоянной колонизации возрастает.

Из 23 бактериальных видов, используемых в молочной промышленности, лишь *S. thermophilus* и *L. lactis* обладают способностью интегрироваться в биопленку, присутствующую на поверхности эмали, и влиять на развитие кариесогенных видов *S. sobrinus* [7]. Совсем недавно было показано, что штаммы *W. cibaria* обладают способностью ингибировать как *in vitro*, так и *in vivo* формирование биопленки *Str. mutans* и предотвращать размножение этих бактерий [14].

Сообщается также о способности одного штамма *L. rhamnosus* и нескольких видов *L. casei* подавлять *in vitro* рост двух важнейших кариесогенных стрептококков — *S. mutans* и *S. sobrinus*. Результаты нескольких клинических исследований подтвердили, что регулярный прием йогурта, молока или сыра с пробиотиками приводит к снижению числа кариесогенных микроорганизмов

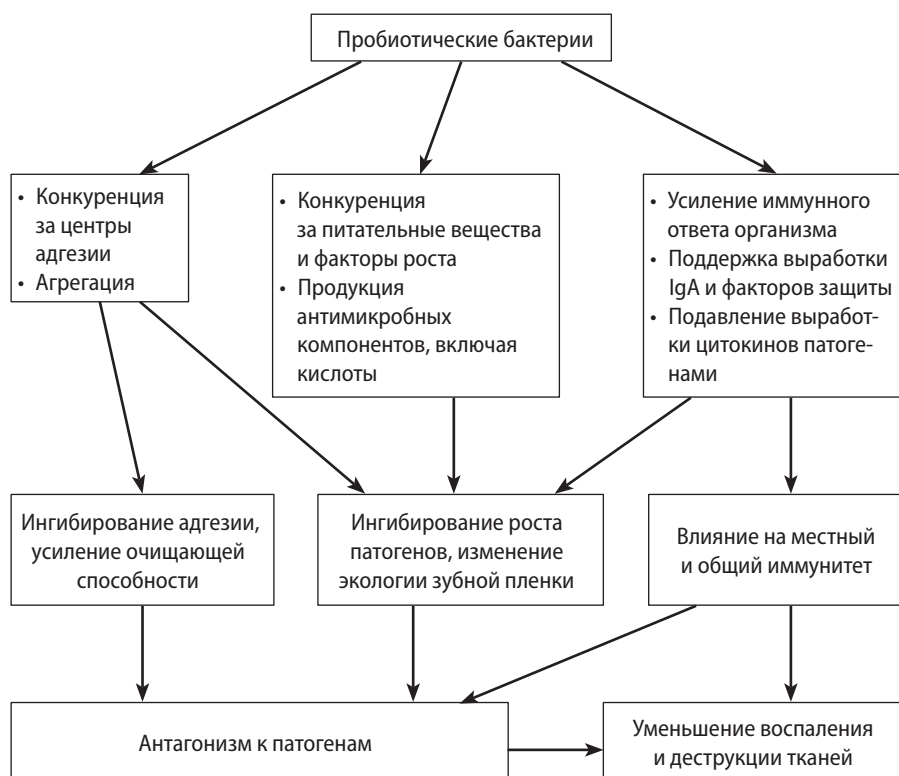


Рис. 1. Возможные механизмы действия пробиотических бактерий в организме и полости рта [13]

в слюне и зубном налете. Так, потребление в течение двух недель йогурта, содержащего *Lactobacillus reuteri*, приводит к снижению концентрации *S. mutans* в слюне до 80% [20].

В Республике Беларусь выпускается пищевой йогурт «MARUSYA+7» (ОАО «Березовский сыродельный комбинат»), который содержит 7 видов живых бифидо- и лактобактерий:

- *Lb. acidophilus* улучшает пищеварение и усвоение питательных веществ, стимулирует выработку интерферона, подавляет рост болезнетворных бактерий.
- *Lb. bulgaris* — одна из основных бактерий — позитивно влияет на иммунную систему кишечника, в симбиозе с другими бактериями проявляет противораковые, антибактериальные, детоксирующие, антисклеротические качества.
- *Str. thermophiles* стимулирует рост бифидобактерий в кишечнике, оказывает иммуномодулирующий эффект.
- *Lb. casei* усиливает полезные свойства йогуртов; отличается повышенной устойчивостью к желудочной кислоте, что обеспечивает ее высокую концентрацию в кишечнике; благотворно влияет на иммунную систему; имеет высокую антагонистическую активность против опасных бактерий; стимулирует активность нормальных клеток и ингибирует активность опухолевых клеток.
- *Bf. bifidum* нормализует обмен микроэлементов, нейтрализует токсины в кишечнике, проявляет иммуностимулирующую активность.
- *Bf. longum* обладает высокими генозащитными свойствами; стимулирует иммунную систему, обладает антираковыми свойствами.
- *Bf. infantis* уменьшает симптомы раздраженного кишечника, нормализует уровень противовоспалительных цитокинов, способствует поддержанию нормальной микрофлоры в кишечнике.

Цель исследования — изучить влияние краткосрочного потребления йогурта «MARUSYA+7» на pH зубного налета и уровень кариесогенных микроорганизмов в слюне детей дошкольного возраста.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на базе Республиканской клинической стоматологической поликлиники Минска. В ходе профилактического осмотра родителям 50 детей в возрасте от 2 до 6 лет (17 девочек и 33 мальчика), имеющих начальные или кариозные поражения с образованием полости, было предложено принять участие в исследовании. Все родители подписали добровольное согласие на участие. В зависимости от вкусовых предпочтений (молочные или кисломолочные продукты) детей поделили на две группы по 25 человек в каждой. В I группе детям было предложено ежедневно утром и вечером пить по 100 мл (1 бутылочка) йогурта «MARUSYA+7», а во II группе — по 100 мл молока с такой же периодичностью. Наблюдение продолжалось 2 нед. В ходе стоматологического обследования у детей оценивали интенсивность кариеса по индексу кпуз (где к1 — начальные кариозные поражения, к2 — кариес эмали, к3 — кариес дентина, к4 — кариозные поражения с вовлечением пульпы), гигиену полости рта по индексу Silness-Loe (PLI), pH зубного налета при помощи набора GC Plaque Indicator Kit (GC, Япония). Концентрацию *Streptococcus mutans* и лактобактерий в слюне детей определяли с помощью набора CRT bacteria (CRT/Ivoclar Vivadent, Лихтенштейн). Все параметры определяли дважды: непосредственно перед началом исследования и в ближайшие 2 дня после прекращения потребления йогурта и молока.

Исследование проводилось слепым методом: врач, проводивший стоматологическое обследование, не знал, к какой группе относится ребенок.

Результаты исследования были статистически обработаны с применением *t*-теста и *U*-теста Манна — Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Средний возраст детей в обеих группах составил $4,50 \pm 0,16$ года (в I группе — $4,50 \pm 0,27$ года, во II — $4,50 \pm 0,15$ года). В ходе исследования один ребенок

Результаты клинического обследования детей до и после проведения профилактических мероприятий

Показатель	До эксперимента		Достоверность различий между группами	Через 2 недели	
	I группа	II группа		I группа	II группа
PLI	$0,90 \pm 0,06$	$0,90 \pm 0,07$	0,91	$0,40 \pm 0,04$ $p < 0,05$	$0,80 \pm 0,07$ $p < 0,05$
pH зубного налета	$5,90 \pm 0,08$	$6,10 \pm 0,10$	0,35	$6,60 \pm 0,06$ $p < 0,001$	$6,20 \pm 0,08$ $p = 0,06$
Концентрация <i>S. mutans</i> в слюне	$2,10 \pm 0,16$	$2,00 \pm 0,16$	0,74	$0,60 \pm 0,14$ $p < 0,001$	$1,90 \pm 0,18$ $p = 0,16$
Концентрация лактобактерий в слюне	$2,00 \pm 0,19$	$2,20 \pm 0,16$	0,42	$1,50 \pm 0,13$ $p < 0,05$	$2,30 \pm 0,18$ $p = 0,32$
Индекс кпуз	$6,40 \pm 0,88$	$5,30 \pm 0,54$	0,34	$6,40 \pm 0,88$	$5,30 \pm 0,54$

Примечание: *p* — достоверность различий с исходными показателями.

из II группы заболел, ему была назначена антибиотикотерапия, поэтому он был исключен из проекта. Данные результатов клинического обследования детей перед началом проекта приведены в таблице.

Исходные показатели у детей обеих групп статистически не отличались. У 40% детей I группы pH зубного налета соответствовал наиболее низкому значению 5,5. Во II группе таких детей было 33%. Наиболее высокое значение pH 7,0 не встречалось в I группе и было таковым лишь у 8% детей II группы.

Количество колоний *S. mutans* в слюне не определялось или было низким у 28% детей I группы и 21% детей II группы. Количество колоний лактобактерий в слюне не определялось либо соответствовало низкой концентрации у 72% детей I группы и 75% детей II группы.

В среднем у каждого ребенка было по 5–6 пораженных кариесом зубов.

Через 2 нед ежедневного приема йогурта «MARUSYA+7» или молока в ходе клинического обследования детей обеих групп были получены результаты, приведенные в таблице.

У детей обеих групп произошло достоверное улучшение гигиены полости рта, что можно объяснить повышением мотивации родителей к тщательной чистке зубов детей после посещения и осмотра у стоматолога.

У детей I группы через 2 нед pH зубного налета достоверно увеличился с 5,9 до 6,6 и наблюдался у 76% участников (рис. 2). Во II группе pH возрос с 6,1 до 6,2 и наблюдался у 33% детей.

В I группе практически у всех детей (92%) pH зубного налета стал нейтральным или близким к нему (6,5–7,0). Во II группе доля таких детей увеличилась незначительно, с 38 до 41%, но при этом произошло увеличение доли детей с pH 6,0 по сравнению с детьми, у которых отмечался самый низкий pH 5,5 (рис. 3).

Количество колоний *S. mutans* в слюне снизилось у 92% детей I группы и лишь у 8% II группы. В целом у детей I группы уровень *S. mutans* в слюне достоверно снизился на 71,4%, а во II группе этот показатель уменьшился лишь на 5%. Доля детей с отсутствием роста или низким уровнем колоний *S. mutans* в слюне возросла до 88% в I группе и до 29% во II группе (рис. 4).

Уровень лактобактерий в слюне детей I группы снизился у 36% участников, не изменился у 36% и увеличился у 12%. В целом уровень лактобактерий в слюне за период потребления йогурта снизился на 25%. Во II группе уровень лактобактерий в слюне детей увеличился на 5% (см. таблицу).

ВЫВОДЫ

Таким образом, у детей, потреблявших ежедневно в течение 2 нед йогурт «MARUSYA+7», произошло достоверное повышение значения pH зубного налета, снизился уровень кариесогенных микроорганизмов *S. mutans* и лактобактерий в слюне. У детей, потреблявших молоко, наблюдалась тенденция к увеличению pH зубного налета, незначительное снижение концентрации

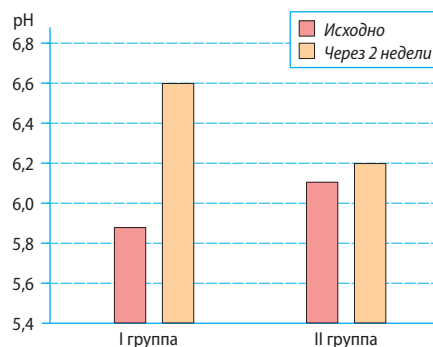


Рис. 2. Изменение pH зубного налета в ходе исследования

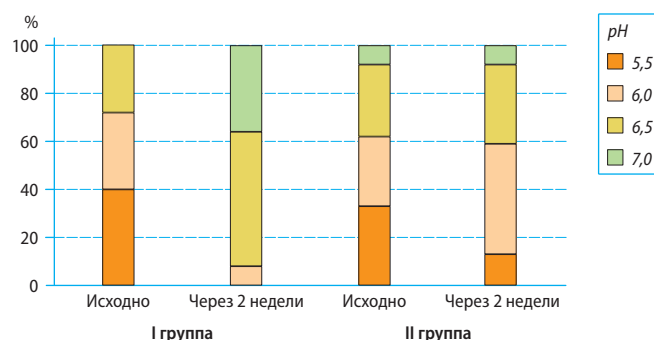


Рис. 3. Соотношение доли детей с разным значением pH зубного налета до и после проведения профилактических мероприятий

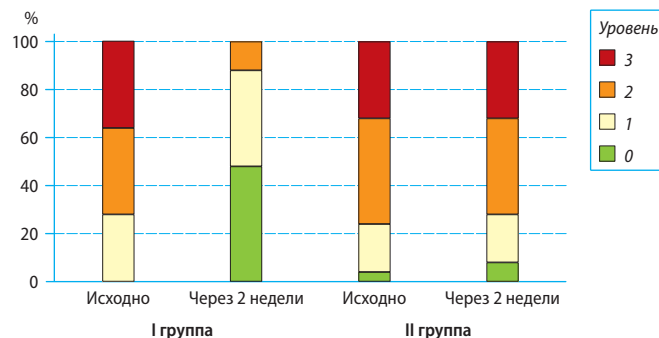


Рис. 4. Доля детей с различным уровнем *S. mutans* в слюне до и после профилактических мероприятий

в слюне *S. mutans* и повышение концентрации лактобактерий.

Защитное действие молока и других молочных продуктов в первую очередь заключается в замедлении деминерализации и ускорении реминерализации эмали. Оно реализуется через повышение концентрации кальция и фосфатов в зубном налете, а также увеличение буферной емкости налета при расщеплении белков молока бактериями биопленки [21]. Главными компонентами молока, вовлеченными в процессы снижения деминерализации и повышения реминерализации эмали, являются различные формы казеина: альфа-казеин, казеинат натрия, трипсин-связанный казеин, казеина фосфопептид-аморфный кальция фосфат (CPP-ACP). Во-вторых, белки молока, такие как α -1-казеин, могут фиксироваться на пелликуле и действовать как ингибиторы адгезии *S. mutans* к гидроксипатитам эмали [19, 24].

Однако в группе детей, потреблявших йогурт «MARUSYA+7», изменения концентрации кариеогенных микроорганизмов в слюне и pH зубного налета были достоверными и выражены в значительно большей степени, чем у детей, потреблявших молоко. Это можно объяснить конкурентным воздействием пробиотических микроорганизмов, входящих в состав йогурта. На фоне снижения уровня кариеогенной микрофлоры произошло снижение ее ацидогенной активности, что привело к повышению pH зубного налета.

Помимо поступления в организм растущего ребенка кальция и фосфатов, краткосрочное применение йогурта «MARUSYA+7» приводит к снижению уровня кариеогенной микрофлоры в полости рта и ее ацидогенной активности. В связи с этим он может быть рекомендован к регулярному приему детьми с целью профилактики кариеса. Для оценки кариес-профилактической эффективности применения йогурта «MARUSYA+7» необходимы дальнейшие исследования по его длительному применению.

Л И Т Е Р А Т У Р А :

1. **Abrahamsson T.R., Sinkiewicz G., Jakobsson T., Fredrikson M., Bjorksten B.** Probiotic lactobacilli in breast milk and infant stool in relation to oral intake during the first year of life. — *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* — 2009; 49: 349—54.
2. **Ahrne S., Nobaek S., Jeppsson B., Adlerberth I., Wold A.E., Molin G.** The normal Lactobacillus flora of healthy human rectal and oral mucosa. — *J Appl Microbiol.* — 1998; 85: 88—94.
3. **Beighton D., Gilbert S.C., Clark D., Mantzourani M., Al-Haboubi M., Ali F. et al.** Isolation and identification of bifidobacteriaceae from human saliva. — *Appl Environ Microbiol.* — 2008; 74: 6457—60.
4. **Burton J.P., Chilcott C.N., Tagg J.R.** The rationale and potential for the reduction of oral malodour using Streptococcus salivarius probiotics. — *Oral Dis.* — 2005; 11 (suppl. 1): 29—31.
5. **Caglar E., Cildir S.K., Ergeneli S., Sandalli N., Twetman S.** Salivary mutans streptococci and lactobacilli levels after ingestion of the probiotic bacterium Lactobacillus reuteri ATCC 55730 by straws or tablets. — *Acta Odontol Scand.* — 2006; 64 (5): 314—8.
6. **Colloca M.E., Ahumada M.C., Lopez M.E., Nader-Macias M.E.** Surface properties of lactobacilli isolated from healthy subjects. — *Oral Dis.* — 2000; 6: 227—33.
7. **Comelli E.M., Guggenheim B., Stingle F., Neeser J.R.** Selection of dairy bacterial strains as probiotics for oral health. — *Eur J Oral Sci.* — 2002; 110 (3): 218—24.
8. **Crociani F., Biavati B., Alessandrini A., Chiarini C., Scardovi V.** Bifidobacterium inopinatum sp. nov. and Bifidobacterium denticolens sp. nov., two new species isolated from human dental caries. — *Int J Syst Bacteriol.* — 1996; 46: 564—71.
9. **Food and Health Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization.** Guidelines for the evaluation of probiotics in food. — Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. — 2002. — Available: ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2.pdf (accessed 2009 Aug 31).
10. **Fooks L.J., Gibson G.R.** Probiotics as modulators of the gut flora. — *Br J Nutr.* — 2002; 88 (suppl. 1): 39—49.
11. **Gedalia I., Ionat-Bendat D., Ben-Mosheh S., Shapira L.** Tooth enamel softening with a cola type drink and rehardening with hard cheese or stimulated saliva in situ. — *J Oral Rehabil.* — 1991; 18 (6): 501—6.
12. **Gueimonde M., Laitinen K., Salminen S., Isolauri E.** Breast milk: a source of bifidobacteria for infant gut development and maturation? — *Neonatology.* — 2007; 92: 64—6.
13. **Hatakka K., Saxelin M.** Probiotics in intestinal and non-intestinal infectious diseases—clinical evidence. — *Curr Pharm Des.* — 2008; 14: 1351—67.
14. **Kang M.S., Chung J., Kim S.M., Yang K.H., Oh J.S.** Effect of Weissella cibaria isolates on the formation of Streptococcus mutans biofilm. — *Caries Res.* — 2006; 40 (5): 418—25.
15. **Maukonen J., Mätto J., Suihko M.L., Saarela M.** Intra-individual diversity and similarity of salivary and faecal microbiota. — *J Med Microbiol.* — 2008; 57(pt 12): 1560—8.
16. **Metchnikoff E.** Studier ofver människans naturförsök till en optimistisk filosofi, bemyndigad ofvers. från tredje franska uppl (3d ed). — Stockholm: Isaac Marcus' boktraktiebolog, 1906.
17. **Meurman J.H., Stamatova I.** Probiotics: contributions to oral health. — *Oral Dis.* — 2007; 13 (5): 443—51.
18. **Näse L., Hatakka K., Savilahti E., Saxelin M., Pönkä A., Poussa T. et al.** Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, Lactobacillus rhamnosus GG, in milk on dental caries and caries risk in children. — *Caries Res.* — 2001; 35 (6): 412—20.
19. **Neeser J.R., Golliard M., Woltz A., Rouvet M., Dillman M.L., Guggenheim B.** In vitro modulation of oral bacterial adhesion to saliva-coated hydroxyapatite beads by milk casein derivatives. — *Oral Microbiol Immunol.* — 1994; 9: 193- 201.
20. **Nikawa H., Makihira S., Fukushima H., Nishimura H., Ozaki K., Darmawan S. et al.** Lactobacillus reuteri in bovine milk fermented decreases the oral carriage of mutans streptococci. — *Int J Food Microbiol.* — 2004; 95 (2): 219—23.
21. **Reynolds E.C., Cain C.J., Webber F.L., Black C.L., Riley P.F., Johnson I.H. et al.** Anticariogenicity of calcium phosphate complexes of tryptic casein phosphopeptides in the rat. — *J Dent Res.* — 1995; 74: 1272—9.
22. **Riccia D.N., Bizzini F., Perilli M.G., Polimeni A., Trinchieri V., Amicosante G. et al.** Anti-inflammatory effects of Lactobacillus brevis (CD2) on periodontal disease. — *Oral Dis.* — 2007; 13 (4): 376—85.
23. **Simark-Mattsson C., Emilson C.G., Håkansson E.G., Jacobsson C., Roos K., Holm S.** Lactobacillus-mediated interference of mutans streptococci in caries-free vs. caries-active subjects. — *Eur J Oral Sci.* — 2007; 115: 308—14.
24. **Vacca-Smith A.M., Van Wuyckhuysse B.C., Tabak L.A., Bowen W.H.** The effect of milk and casein proteins on the adherence of Streptococcus mutans to saliva-coated hydroxyapatite. — *Arch Oral Biol.* — 1994; 39: 1063—9.