

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Институт развития образования
Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии

На правах рукописи

Исхакова Розалия Ирековна

АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ДЛЯ
ПОДДЕРЖАНИЯ НОРМАЛЬНОГО МИКРОБИОМА ПОЛОСТИ РТА
ПОСЛЕ ПРИЕМА ПИЩИ

Научный руководитель:

кандидат биологических наук,
доцент кафедры ФПМ

Хакимова Л.Р.

Уфа – 2024

Оглавление

| | |
|--|----|
| ВВЕДЕНИЕ..... | 4 |
| Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ..... | 6 |
| 1. Нормальная микробиота полости рта..... | 6 |
| 1.1. Нормальная микробиота полости рта с описанием видов и родов..... | 6 |
| 1.2. Виды микроорганизмов нормальной микробиоты полости рта | 7 |
| 1.3. Микробиом полости рта при различных заболеваниях..... | 10 |
| 1.4. Меры профилактики сохранения нормальной микробиоты полости рта..... | 14 |
| Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ..... | 21 |
| 2.1. Объекты исследования..... | 21 |
| 2.2. Реактивы и материалы..... | 21 |
| 2.3. Составы использованных сред..... | 21 |
| 2.3.1. Приготовление среды Эндо..... | 22 |
| 2.3.2. Приготовление среды MRS..... | 22 |
| 2.3.3. Приготовление среды ГМ-Ф-АГАР..... | 23 |
| 2.3.4. Приготовление среды КА..... | 23 |
| 2.4. Посев бактерий..... | 24 |
| 2.5. Идентификация микроорганизмов, выросших на питательных средах..... | 25 |
| 2.5.1. Окраска по методу Грама..... | 25 |
| 2.5.2. MALDI_TOF масс-спектрометрия..... | 25 |
| Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ..... | 28 |
| 3.1. Исследование микробиома полости рта после еды с применением средств гигиены..... | 28 |
| 3.1.1. Анализ микробиоты ротовой полости после приема пищи..... | 29 |
| 3.1.2. Анализ микробиоты ротовой полости после применения жевательной резинки..... | 41 |
| 3.1.3. Анализ микробиоты ротовой полости после ополаскивания водой.... | 49 |

| | |
|---|----|
| 3.1.4. Анализ микробиоты ротовой полости после применения ополаскивателя..... | 58 |
| 3.2. Анализ полученных данных и сравнение результатов, полученных от испытуемых после еды и применения средств гигиены..... | 60 |
| Выводы..... | 69 |
| Заключение..... | 70 |
| Список литературы..... | 71 |

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. Микроорганизмы, населяющие полость рта человека, образуют постоянную микробиоту, выполняющую значительную в поддержании здоровья а так же в развитие патологий. Эти микроорганизмы организованы в сложные экологические сообщества, состав которых может существенно различаться как внутри, так и между особей в зависимости от возраста, образа жизни и генетики хозяина.

Формирование определенной микробиоты происходит в динамичном процессе, который включает в себя взаимодействие между генетикой микроорганизмов, иммунной системой организма хозяина и воздействием местных и внешних факторов окружающей среды. Изменения в микробиоте способствуют патогенезу многих заболеваний и отражают состояние здоровья или болезни человека. Таким образом, мониторинг изменений в микробиоме являются многообещающим потенциально новым критерием в диагностике и прогнозировании заболеваний полости рта.

Нарушения нормальной микробиоты полости рта могут привести к развитию заболеваний ротовой полости, включая кариес, пародонтит, стоматиты и другие различные заболевания. Поддержание здоровой микробиоты полости рта является важным аспектом для общего здоровья организма.

Данная дипломная работа может быть полезна как специалистам в области стоматологии, так и тем, кто заботится и поддерживает здоровье полости рта [3].

Микробиота полости рта формируется в результате мутационной эволюции с организмом хозяина и под влиянием индивидуальной физиологии полости рта. В результате эволюционного обмена хозяин обеспечивает бактериям стабильную экологическую нишу, а взамен микробиота полости рта поддерживает здоровье хозяина на местном уровне, образуя симбиотические биопленки, которые уравновешивают уровень pH и

подавляют рост патогенов. Однако, когда биопленка переходит в дисбиотическое состояние, которое больше не находится в гомеостатическом равновесии с организмом хозяина, микробиота полости рта может способствовать патологическим процессам, вызывающим широкий спектр заболеваний. Биопленка представляет собой колонию микроорганизмов, прикрепленных друг к другу с помощью выделяемого ими матрикса. Способность к самоорганизации в сложные биопленки на мягких и твердых тканях полости рта играет центральную роль во взаимодействии микробиоты полости рта с хозяином для поддержания здоровья [55].

В настоящее время отсутствует средство, которое могло бы гарантировать окончательное удаления биопленки из ротовой полости, но есть возможность уменьшить патогенность путем восстановления нормальной микробиоты с помощью полноценной гигиены полости рта [6].

Целью работы был поиск наиболее эффективного средства для поддержания нормобиоты ротовой полости после приема пищи.

Задачи:

1. Выделение отдельных групп микроорганизмов, полученных из микробиологических посевов соскоба зубного налета от добровольных испытуемых после еды и использования различных методов профилактики полости рта.

2. Характеристика тинкториальных, культуральных свойств и идентификация выделенных групп микроорганизмов.

3. Анализ полученных данных и сравнение результатов, полученных от испытуемых после еды и применения средств гигиены.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1. Нормальный микробиом полости рта

1.1. Нормальная микробиота полости рта с описанием видов и родов

Полость рта человека является благоприятной средой и одной из самых населенных микробиот организма человека. Это идеальная среда для формирования сообществ бактерий, грибков и других в виде сложной структуры, называемой биопленкой, или зубным налетом. В то время как биопленки из мягких тканей полости рта, таких как язык, щеки и небо, а также наддесневая биопленка постоянно омываются слюной и подвергаются множеству колебаний окружающей среды, поддесневой налет занимает уникальную нишу с менее резкими колебаниями окружающей среды.

Адгезия бактерий к поверхностям и дальнейшая колонизация являются регулируемыми процессами. Адсорбированные компоненты пленки, такие как статерины, богатые пролином белки, муцины или α -амилаза, обеспечивают связывающие мотивы, которые обеспечивают избирательное прикрепление ранних колонизирующих видов, экспрессирующих родственные поверхностные рецепторы [33, 36]. В основном к ним относятся виды стрептококков, такие как *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus sanguinis* и *Streptococcus mitis* [40]. В свою очередь, ранние колонизаторы экспрессируют на своей поверхности адгезины, распознаваемые мостиковыми видами, названные так потому, что они сами экспонируют поверхностные рецепторы, что позволяет дальнейшей инкрементной коагрегации более поздних колонизаторов [31, 34].

Микробиота полости рта начинает формироваться с самого рождения ребенка. Ротовая полость новорожденного представлена *Lactobacillus* spp., негемолитическими *Streptococcus* spp. и непатогенными *Staphylococcus* spp. В течение 10–12 дней эти микроорганизмы сменяются микроорганизмами, характерными уже для взрослого человека. В ротовой полости самую

большую группу бактерий составляют кокки [35]. Известно, что наддесневая и поддесневая биопленка содержит *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Haemophilus*, *Aggregatibacter*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Leptotrichia*, *Veillonella*, *Neisseria*, *Rothia*, *Actinomyces*, *Lautropia*, *Porphyromonas*. Основными бактериями в полости рта представлены *Staphylococcus hominis* и *Streptococcus mitis* обитают на слизистой оболочке. *S. mutans* и *S. sanguis* обнаруживаются в основном на зубах. Среди прочих микроорганизмов нейсерии составляющие до 4–6% от общего количества бактерий. В частности, *Neisseria sicca*, *Neisseria perflava*, *Neisseria subflava*, которые в большинстве случаев колонизируют носоглотку и поверхность языка. Значительную группу составляют грамположительные палочки родов *Corynebacterium* и *Lactobacillus*. Коринебактерии в большом количестве выделяют у здоровых лиц, а содержание лактобацилл зависит от состояния полости рта. В состав микробных сообществ могут входить *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. salivarius* [21, 37].

1.2. Виды микроорганизмов нормальной микробиоты полости рта

Род *Staphylococcus*. Стапилококки являются частыми обитателями организма человека, являются грамположительными микроорганизмами, в окрашенных мазках расположены в виде гроздьев винограда. Стапилококки делятся на два типа - коагулазо-положительные и коагулазоотрицательные. Среди коагулазоположительных стапилококков самым известным является *S. aureus*. В группу коагулазо-отрицательных входят *S. epidermidis*, *S. wameri*, *S. capitis*, *S. hominis*, *S. saprophyticus*, *S. simulans*. Стапилококки принимают участие в расщеплении остатков пищи в полости рта. В зубном налете и на деснах здоровых людей присутствуют в основном *Staphylococcus epidermidis*. Патогенные стапилококки являются частой причиной эндогенных инфекций, вызывая различные гнойно-воспалительные процессы полости рта. При резидентном типе носительства у практически здоровых людей встречаются

9 видов *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. simulans*, *S. cohnii*, *S. wameri*, *S. capititis*, *S. hominis*, *S. hyicus*, *S. xylosus*, в то время как у больных кариесом и пародонтитом 11 видов *S. haemolyticus* и *S. gallinarum*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. simulans*, *S. cohnii*, *S. wameri*, *S. capititis*, *S. hominis*, *S. hyicus*, *S. xylosus*.

Род *Streptococcus*. Бактерии *Streptococcus* spp., являются первыми обитателями полости рта и играют важную роль в формировании микробиоты. Являются грамположительными, факультативными анаэробами, в мазках располагаются в виде цепочек. *Streptococcus* spp. полости рта производят целый арсенал адгезивных молекул, которые позволяют им эффективно колонизировать различные ткани полости рта. Кроме того, они обладают способностью метаболизировать углеводы путем ферментации, тем самым образуя кислоты в качестве метаболитов. Чрезмерное подкисление среды полости рта кислотными видами, такими как *S. mutans*, напрямую связано с развитием кариеса зубов [26]. Однако менее кислотоустойчивые виды, такие как *S. salivarius* и *S. gordonii*, вырабатывают большое количество щелочи, которая играет важную роль в кислотно-щелочной физиологии полости рта. Другой важной характеристикой некоторых оральных стрептококков является их способность вырабатывать перекись водорода, которая может подавлять рост *S. mutans*. Таким образом, *Streptococcus* spp. полости рта также могут быть полезны для хозяина, продуцируя молекулы, ингибирующие патогенные виды, а другие виды стрептококков могут в итоге получить доступ в кровоток и вызвать системные инфекции, такие как инфекционный эндокардит [11].

Род *Veillonella*. Вейлонеллы являются облигатными анаэробами, окрашиваются по Граму отрицательно, имеют форму кокков. Высокое обилие видов *Veillonella* в микробиоме как наддесневых, так и субдесневых биопленок, а также их взаимозависимая взаимосвязь с множеством других видов бактерий позволяют предположить, что *Veillonella* spp. играют важную роль в экологии биопленок полости рта. Развитие ротовых биопленок зависит

от постепенного процесса коагрегации между ранними, мостиковыми и более поздними бактериальными колонизаторами, в итоге формируя многовидовые сообщества. Их способность устанавливать мутуалистические отношения с другими членами микробиома полости рта стала решающим фактором, который может способствовать равновесию здоровья. Уникальной характеристикой рода является отсутствие глюкокиназы и фруктокиназы, что делает их неспособными усваивать глюкозу, фруктозу и дисахариды [15].

Род *Neisseria*. Нейссерии относятся к роду грамотрицательных кокковидных микроорганизмов, расположенных в виде пары зерен. Являются неподвижными, а также не образуют спор, аэробы. Нейссерии являются постоянными обитателями в полости рта здоровых людей. Они активно сокращают кислород, что снижает окислительно-восстановительный потенциал среды и создает условия для развития анаэробной микрофлоры. Различают пигментообразующие виды и виды, не образующие пигмент. Не образующие пигмент нейссерии чаще всего находятся в пульпе и периодонте при остром серозном воспалении и при катаральном воспалении слизистой оболочки полости рта [7]

Палочковидные формы бактерий

Род *Lactobacillus*. *Lactobacillus* spp. – это молочнокислые грамположительные бактерии. Большинство из них неподвижны, не образуют спор и капсул. Факультативные анаэробы. *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. brevis* и *L. casei* являются самыми часто встречающимися в ротовой полости человека. Вызывают молочнокислое брожение с образованием большого количества молочной кислоты. *Lactobacillus* spp. являются непатогенными микроорганизмами. Количество лактобацилл в полости рта при кариесе возрастает и зависит от величины кариозных поражений. Бактерии способны существовать при пониженных значениях pH и, синтезируя большое количество кислот, могут усугублять кариозный процесс [1].

Род *Corynebacterium*. Коринебактерии представляют собой прямые или слегка изогнутые палочки, иногда с булавовидными концами, имеют зерна волютина. Часто и в больших количествах встречаются в полости рта здорового человека. Характерной особенностью коринебактерий, является их способность понижать окислительно-восстановительный потенциал, что содействует росту и размножению анаэробов. Коринебактерии в процессе жизнедеятельности синтезируют витамин К – важнейший фактор роста бактероидов, пептострептококков, фузобактерий и вейлонелл [11, 12].

Грибы полости рта.

Род *Candida*. В полости рта здоровых людей в 40–50 % случаев встречаются дрожжеподобные. Среди этих грибов виды *Candida* spp. являются наиболее частыми колонизаторами в полости рта и адаптировались к проживанию в качестве комменсалов. Распространение *Candida* spp. происходит равномерно по всей полости рта, при этом наиболее распространенным местом выделения является тыльная сторона языка. Бактериальная колонизация полости рта и равновесие обусловлены благоприятным поведением многих компонентов микробиоты человека. С другой стороны, комменсализм *Candida* spp. является результатом мощных врожденных и адаптивных иммунных реакций хозяина, которые ограничивают рост патогенов на эпителии [10, 47].

1.3. Микробиом полости рта при различных заболеваниях

В ротовой полости постоянные микроорганизмы часто ассоциированы с двумя главными заболеваниями — кариесом и болезнями пародонта. У здоровых людей видовой состав микробиома относительно стабилен и индивидуален, но все же количество и состав микроорганизмов может измениться при различных факторах, таких как: характер питания, наследственность, беременность, употребление табачных изделий, качества гигиены полости рта, приема антибиотиков.

Питание играет одну из важнейших ролей в формировании микробиома полости рта. Включение в рацион пищи богатой углеводами увеличивает рост сахаролитических микроорганизмов, таких как *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Veillonella*, *Actinomyces*, обладают способностью расщеплять углеводы с образованием конечных продуктов метаболизма включающих лактат, ацетат, формиат и этанол [9].

Такие бактерии, как *Streptococcus sobrinus*, *S. mutans*, *S. gordonii* ферментируют глюканы и фруктаны с образованием молочной кислоты, которая способствует разрушению зубной эмали и увеличению pH среды, что в свою очередь приводит к кариесу и росту *S. mutans*, *P. gingivalis* и представителей рода *Lactobacillus* соответственно [13].

Потребление витаминов группы D, K, P, B и C оказывают влияние на состояние пародонта. Недостаток витамина D – приводит к нарушению метаболизма кальция при формировании зубов и костей, витаминов группы K – кровоточивости, P – слабость капилляров и кровоточивость, B – кариес, повышенная чувствительность, воспаления мягких тканей, C – кровоточивость десен, расшатывание и выпадение зубов (гингивит).

Потеря зубов в пожилом возрасте приводит к значительному уменьшению содержания облигатных анаэробов. В этот период снижается мышечный тонус твердых и мягких тканей, уменьшается выделение слюны и повреждается соединительная ткань. По мере того, как организм претерпевает физиологические изменения, связанные со старением, микробиота полости рта меняется. Микробиом полости рта взрослых отличается меньшим разнообразием и в большей степени зависит от привычек, связанных с гигиеной полости рта, чем у детей. Во время беременности общее количество микроорганизмов значительно возрастает, увеличивается относительное количество *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* и *Candida*, что способствует риску развития пародонтита [4].

Курение негативно влияет и может привести к изменению состава микробиома, колонизации патогенных микроорганизмов, ослаблению десен и образованию пародонтоза. Курение сигарет влияет на состав микробиоты полости рта посредством ряда различных механизмов, как прямых, так и косвенных. Бактерии содержатся в сигаретах и потенциально могут изменять микробиоту полости рта путем прямой инокуляции. микроорганизмы попадают в рот и легкие при вдыхании через фильтры и влияют на местный микробиом полости рта. Курение также может косвенно влиять на состав микробиоты полости рта, оказывая широкое иммунодепрессивное действие. Курение сигарет приводит к притуплению иммунного ответа на многих уровнях, что приводит к общему нарушению антимикробной защиты. Это, в свою очередь, может способствовать выживанию патогенных микроорганизмов в полости рта и дисбактериозу полости рта. У курильщиков наблюдаются повышенные концентрации *Streptococcus sanguinis* и *Streptococcus parasanguinis*, которые вызывают кариес. При курении воспроизводится больше бактериального налета, увеличивается накопление зубного камня и уменьшается поток слюны во рту [59].

Курильщики более склонны к развитию заболевания десен, таких как: покраснения, кровоточивость при чистке, расшатывание зубов, боль и не приятный запах изо рта [9].

Гигиена является важным фактором участвующим в формировании микробиома полости рта. Важной частью профилактики является индивидуальная гигиена полости рта, которая включает в себя тщательное и регулярное удаление пациентом зубных отложений с поверхностей зубов и десен с помощью различных средств. Основными средствами гигиены являются зубные пасты, гели, зубные щетки и нити.

Зубную щетку тоже необходимо выбирать правильно. Щетина должна быть средней жесткости. Такая щетка тщательно чистит зубы, и не раздражает десна. Менять зубную щетку рекомендовано раз в один-два месяца. Вовремя выявленные заболевания и их своевременное лечение,

периодические осмотры с последующим наблюдением так же входят в методы профилактики.

Прием антибиотиков пенициллинового ряда уменьшает общее видовое разнообразие. Восстановление состава микробиоты после приема антибиотиков наблюдается в срок от 2–4 недель до нескольких месяцев [14].

Нарушения состава и функционирования микрофлоры приводят к возникновению и развитию различных заболеваний. Установлено, что микроорганизмы, населяющие ротовую полость человека, могут вызывать различные инфекционные заболевания, включая кариес, периодонтит, тонзиллит, гингивит и другие.

Хотя гомеостаз хозяина и микробиоты полости рта, вероятно, находится во взаимовыгодном равновесии, внешние факторы, которые до конца не определены, могут запустить порочный круг самосохраняющегося дисбактериоза. Некоторые патологии полости рта, включая пародонтит, сами по себе не заразны, но являются результатом дисбактериоза микробиоты полости рта, при котором разрушение тканей, вызванное воспалением, приводит к образованию метаболитов, которые подпитывают патогенные микробы. Воспалительные заболевания слизистой оболочки полости рта — это патологии, которые поражают пациентов разного возраста. Воспалительная патология слизистой оболочки, как и другие заболевания полости рта, доставляет определенный дискомфорт больному человеку и нарушает привычный ритм жизни.

1.4. Меры профилактики сохранения нормальной микробиоты полости рта

Ротовая полость является входными воротами в организм человека, микробиом полости рта подвержен постоянным изменениям, возникающим из-за потребления пищи, поддержки гигиены полости рта и образа жизни, включая такие привычки, как курение и употребление алкоголя. Микробиом полости рта взрослого человека формируется как устойчивое сообщество в основном в течение первого года жизни и, благодаря иммунитету, создает состояние динамического гомеостаза с иммунной системой хозяина. Это иммунное распознавание резидентного микробиома и толерантность к нему, наряду с хорошо укоренившимися межбактериальными взаимодействиями, наделяет эту открытую экосистему относительным равновесием [2].

Гигиена полости рта является важнейшим фактором, формирования микробиома полости рта современного человека. Целью этих процедур является поддержание биопленки зубного налета в незрелом состоянии с высокой долей первых бактериальных колонизаторов, которые в основном являются аэробными или факультативными видами. На протяжении веков гигиена полости рта достигалась с помощью механической чистки зубов щеткой, чистки межзубных промежутков и хирургического лечения [8]. Однако эти методы развивались наряду с вышеупомянутыми традиционными взглядами, поддерживая концепцию о том, что удаление патогенных микроорганизмов из полости рта с помощью антисептических средств для полоскания рта также должно составлять основу хорошей гигиены полости рта [45].

Хлоргексидин. Многочисленные исследования продемонстрировали, что 0,01–0,2% хлоргексидина глюкоронат оказывает мощное бактерицидное действие на одновидовые и многовидовые культуры, содержащие *Streptococcus mitis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* и *Aggregatibacter actinomycetemcomians*. Хлоргексидин также уменьшает

разнообразие и жизнеспособность бактерий в слюне и на языке. Средства для полоскания рта с хлоргексидином уменьшают зубной налет и гингивит и хлоргексидин может использоваться в качестве дополнительного средства для лечения заболеваний пародонта. Хотя это можно было бы считать преимуществом в борьбе с микробным дисбактериозом, исследования на здоровых людях показывают, что некоторые виды, а именно *Veillonella*, *Actinomyces*, *Haemophilus*, *Rothia* и *Neisseria*, также ингибируются хлоргексидином. Эти полезные для здоровья бактерии полости рта в слюне выполняют важную функцию по превращению пищевых нитратов в нитриты, способствуя поддержанию здоровья сердечно-сосудистой системы за счет высвобождения оксида азота [23]. Из-за неспецифической природы его антимикробной активности ополаскиватели для рта с хлоргексидином, таким образом, могут свести на нет благотворное воздействие богатой нитратами диеты, которое опосредуется через ротовую полость.

Существует два основных механизма, обеспечивающих устойчивость к хлоргексидину. Первый – это насосы для множественного выведения лекарств, позволяющие микроорганизму выводить хлоргексидин и другие антибиотики из цитоплазмы и из клетки. Второй механизм заключается в изменениях клеточной мембранны, которые препятствуют связыванию хлоргексидина с участком-мишенью. Механизм, лежащий в основе перекрестной резистентности между хлоргексидином и антибиотиками, еще не определен, хотя плазмиды, содержащие гены резистентности, часто несут устойчивость как к хлоргексидину, так и к антибиотикам [28].

Перекись водорода. Перекись водорода — это отбеливающее и окисляющее средство, которое, как известно, обладает бактерицидными свойствами. Несколько исследований *in vivo* показывают, что 1,5%-ная перекись водорода снижает частоту возникновения гингивита и кровоточивости, но она менее эффективна в снижении уровня холестерина. В связи с этим 1%-ная перекись водорода незначительно снижала концентрацию в зубном налете облигатных анаэробов, которые связаны с

заболеваниями пародонта, таких как фузобактерии и вейлонеллы, в значительно меньшей степени, чем хлоргексидин. Очень слабое антимикробное действие наблюдалось в отношении *Streptococcus mutans*, организма, вызывающего кариес зубов. Однако, насколько нам известно, нет сообщений об исследованиях, изучающих глобальное воздействие перекиси водорода на микробиом полости рта [30].

Цетилпиридиния хлорид. Цетилпиридиния хлорид – это разновидность четвертичного аммиачного соединения и антимикробное соединение широкого спектра действия, содержащееся в жидкостях для полоскания рта, обычно в концентрации от 0,05% до 0,07%. Обладает противомикробной активностью в отношении грамположительных и в меньшей степени грамотрицательных бактерий. Был эффективен в снижении количества зубного налета и уровней анаэробных видов бактерий в зубном налете и слюне; однако данные исследований микробиома остаются ограниченными. В одном исследовании сообщалось, что уровни *Porphyromonas* spp., *Corynebacterium* spp., *Abiotrophia* spp. и другие известные патогены пародонта не увеличивали количество наддесневого налета в течение 21 дня индукции экспериментального гингивита в присутствии цетилпиридиния хлорида, с незначительным увеличением воспаления десен и кровоточивости по сравнению с исходным уровнем [54, 60].

Повидон-йод. Повидон-йод содержит полимер поливинилпирролидин и элементарный йод, которые вместе действуют как антимикробное средство путем окисления и разрушения жизненно важных клеточных компонентов. Концентрация 10% повидон-йода демонстрирует заметную бактерицидную активность в отношении *P. gingivalis*, *A actinomycetemcomitans*, *F nucleatum*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia* и *Streptococcus anginosus*, а также 3 штаммов грамположительных и 4 штаммов грамотрицательных бактерий *in vitro*. Однако в клиническом исследовании сообщалось об уменьшении количества зубного налета без существенных изменений в пропорциях

различных бактерий в микробиоме. Подводя итог, влияние повидон-йода на микробиом полости рта еще полностью не описано.

Эфирные масла. Эфирные масла — это фитопрепараты или соединения растительного происхождения, которые обладают такими полезными свойствами, как противовоспалительное, антибактериальное, противомикробное, противовирусное, бактериостатическое и бактерицидное действие. Многочисленные эфирные масла, используемые в ополаскивателях для рта, в частности карвакрол, тимол и эвгенол, продемонстрировали бактерицидное действие против патогенов полости рта. Смесь эфирных масел была способна уничтожать золотистый стафилококк и стрептококковые биопленки на гидроксиапатитовых дисках в большей степени, чем хлоргексидин [19]. Сообщается также, что эфирные масла уменьшают количество зубного налета и кровоточивости при использовании в качестве дополнения к чистке зубов. Однако при использовании в качестве дополнительного средства для лечения заболеваний пародонта количество зубного налета и кровоточивость при зондировании уменьшались не больше, чем при приеме плацебо, равно как и уровни *A. actinomycetemcomitans*, *P gingivalis*, *T forsythia*, *T denticola*, *P intermedia*, *Fusobacteriae* или *S mutans*. Эти результаты неоднозначны, и, по-видимому, нет исследований, изучающих влияние различных эфирных масел на микробиом полости рта.

Алкоголь. Алкоголь содержится во многих жидкостях для полоскания рта. Однако, поскольку это противомикробное средство, необходимо учитывать, влияют ли эфирные масла или этанол на микробиом полости рта. Существует общее мнение, что алкоголь убивает как “хорошие”, так и “плохие” бактерии в микробиоме полости рта независимо друг от друга. Действительно, похоже, что алкоголь может уменьшить численность комменсальных бактерий у сильно пьющих людей и увеличить численность *Actinomyces* spp., *Leptotrichia* spp. и *Neisseria* spp. Постепенно все больше безалкогольных ополаскивателей для рта становится доступным без рецепта,

одна из причин заключается в том, что алкоголь может повышать уровень ацетальдегида в слюне, что, возможно, связано с раком полости рта [23].

Фторид натрия. Жидкости для полоскания рта с фторидом натрия используются исходя из их умеренной антикариогенной. Фторид натрия предотвращал разрушение зубной эмали из-за утраты минералов, не влияя на состав и рост биопленки. Однако более низкие концентрации фторидного ополаскивателя для рта могут не влиять на количество зубного налета или воспаление десен *in vivo*. Ополаскиватель для рта с фторидом натрия также мало влиял на *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum* и *A actinomycetemcomitans* с использованием культур бактерий языка. Таким образом, необходим дальнейший метагеномный анализ, поскольку, несмотря на широкое применение для лечения кариеса зубов, в настоящее время влияние различных концентраций жидкости для полоскания рта с фторидом натрия на микробиом полости рта неизвестно [60].

Пробиотики. Пробиотики — это живые бактерии, которые вводятся в организм для поддержания здорового микробиома. Бактерии, обычно используемые в безрецептурных ополаскивателях для рта, включают лактобациллы и бифидобактерии. Фактические данные об эффективности пробиотиков в качестве средства для полоскания рта ограничены. NK02 в составе жидкости для полоскания рта приводил к уменьшению количества зубного налета и кровоточивости у пациентов с периодонтитом после 28 дней использования, наряду со снижением количества патогенных *A. actinomycetemcomitans* и увеличением количества комменсальных бактерий в слюне и жидкости десневой щели. Средство для полоскания рта, содержащее сублимированный порошок из видов *Lactobacillus rhamnosus* и *Bifidobacterium*, также уменьшало количество колоний *S mutans*, культивируемых из слюны; однако нет никаких доказательств эффективности пробиотиков и микробиома полости рта в целом, что могло бы стать интересной областью для будущих исследований.

Прополис. Прополис изготавливается из воскообразного вещества, которое пчелы используют для герметизации своих ульев. Сообщалось, что он проявляет антимикробную активность в отношении видов, которые преобладают при периодоните, гингивите, кариесе, зубном налете [23]. Однако сообщалось о более низких показателях образования зубного налета и кровоточивости и более низких уровнях *S mutans* в слюне при использовании жидкости для полоскания рта с прополисом, что свидетельствует о клинической эффективности. Пятидневное полоскание с 3%-ным этиловым экстрактом прополиса 3-го типа также снизило количество микроорганизмов-продуцентов летучих соединений серы, связанных с заболеваниями пародонта, но, как и в случае большинства других ополаскивателей для рта, имеется ограниченная информация о микробиоме полости рта.

Обладая бактерицидным и бактериостатическим действием против патогенных видов и клинической эффективностью против зубного налета и гингивита, безрецептурные жидкости для полоскания рта могут одновременно вызывать дисбактериоз микробиома полости рта. Большинство исследований клинической эффективности и антимикробных препаратов было проведено с использованием хлоргексидина, который, несмотря на клиническую эффективность, может также уменьшать разнообразие бактерий полости рта в различных нишах полости рта, потенциально убивая как полезные виды, связанные со здоровьем, так и вредные виды, связанные с болезнью.

Гораздо меньше известно о влиянии других доступных в настоящее время безрецептурных ополаскивателей для рта на микробиом полости рта. Таким образом, прежде чем можно будет выносить рекомендации, необходимы дальнейшие метрологические исследования. Вирусы и грибки также играют важную роль в здоровье и болезнях и могут подвергаться воздействию антисептиков. Существует также риск того, что чрезмерное использование некоторых антисептических средств для полоскания рта,

включая хлоргексидин, может способствовать развитию резистентности бактерий. Поэтому практикующие стоматологи должны стремиться рекомендовать антисептики, которые поддерживают “сбалансированный”, здоровый и разнообразный микробиом, когда они используются для лечения любых заболеваний полости рта, вызванных микроорганизмами [60].

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследования

Для проведения исследования была отобрана группа добровольцев в возрасте 20–22 лет. Критериями отбора были: отсутствие хронических соматических заболеваний, нормальная кислотность слюны, нормальная гигиена, отсутствие активных кариозных процессов.

2.2. Реактивы и материалы

В качестве профилактических средств были выбраны жвачка мятная Орбит и ополаскиватель от фирмы Evermex (рисунок 1).



Рисунок 1. Жевательная резинка от фирмы Orbit и ополаскиватель Evermex

2.3. Составы использованных сред

Полученный материал был рассеян на разные питательных среды: Эндо, MRS, ГМ-Ф-АГАР, кровяной агар (КА) (рисунок 2).

2.3.1. Приготовление среды Эндо

Состав среды Эндо в г/л:

| | |
|--------------------------------|-------|
| Питательный агар сухой..... | 26,5; |
| ЭКДА..... | 1,22; |
| Фуксин основной..... | 0,23; |
| Сахар молочный | 10,7; |
| Динатрия фосфат | 0,48; |
| Натрия сульфат безводный | 0,83; |
| Натрия карбонат..... | 0,03. |

Способ приготовления:

«Агар Эндо» в количестве 40 г тщательно размешивали в 1 л воды дистиллированной, кипятили 3 мин до полного расплавления агара, фильтровали через ватномарлевый фильтр и снова довели до кипения. Среду охладили до температуры 45–50 °C, перемешали и, соблюдая правила асептики, разлили в стерильные чашки Петри слоем 3–4 мм. После застывания среды чашки подсушивали при температуре 37 °C в течение 40–60 мин. Готовая среда в чашках Петри - прозрачная, розового цвета.

2.3.2. Приготовление среды MRS

Состав среды в г/л:

| | |
|--------------------------|--------|
| Протеозопептон..... | 10,00; |
| Мясной экстракт..... | 10,00; |
| Дрожжевой экстракт..... | 5,00; |
| Глюкоза (безводная)..... | 20,00; |
| Твин-80..... | 1,00; |
| Аммония цитрат..... | 2,00; |
| Натрия ацетат..... | 5,00; |
| Магния сульфат..... | 0,10; |

Марганца сульфат.....0,05;

Калия гидрофосфат.....2,00;

Способ приготовления:

Суспензировали 55,15 г среды в 1000 мл дистиллированной воды. Нагрели до кипения для растворения компонентов среды полностью. Стерилизовали автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 минут. Охладили до 45–50 °C, тщательно перемешали и разлили в стерильные чашки Петри.

2.3.3. Приготовление среды ГМ-Ф-АГАР

Состав среды в г/л:

Основа сухая (ГМФ-основа).....15,0;

Натрий хлористый.....8,0;

Агар бактериологический.....10,0 +3,0;

Способ приготовления:

36 г ГМФ-агара размешивали в 1 л дистиллированной воды, кипятили 2 мин до полного расплавления агара. Фильтровали через ватно-марлевый фильтр, разлили в стеклянные флаконы и стерилизовали автоклавированием при температуре 121 °C в течение 15 минут. Среду охладили до температуры 48°C, разлили в стерильные чашки Петри слоем 4–5 мм. После застывания среды, соблюдая правила антисептики, чашки подсушивали при температуре 37°C в течение 40–60 минут. В таком виде ГМФ-агар можно использовать в течение 7 суток при температуре хранения от 2 до 8°C.

2.3.4. Приготовление среды КА

Состав среды в г/л:

| | |
|------------------------------|------|
| Бактериологический агар..... | 15,0 |
| Мясной пептон..... | 10,0 |
| Хлорид натрия..... | 5,0 |
| Сердечная вытяжка..... | 10,0 |

Развести 40 г среды в 1 литре дистиллированной воды. Тщательно перемешать и нагреть. Часто помешивая, довести до кипения. Кипятить в течение минуты до полного растворения. Стерилизовать 15 минут при 121°C. Охладить до 45–50°C и добавить в стерильных условиях 5–10% стерильной дефибринированной крови, избегая образования пузырей. Гомогенизировать путем медленного вращения колбы и разлить в чашки Петри.

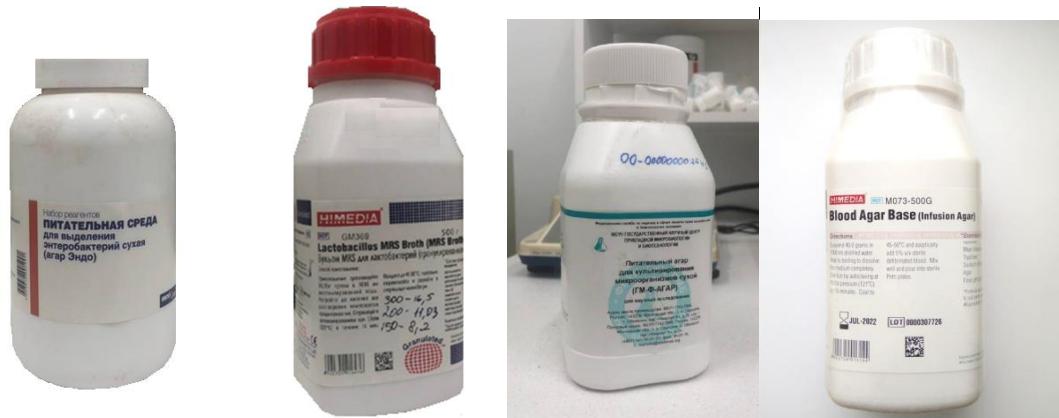


Рисунок 2. Питательные среды для выделения микроорганизмов

2.4. Посев бактерий

После того, как биоматериал берется бактериологической петлей открываем крышку чашки Петри. Чашки с твердой питательной средой должны находиться на рабочем столе крышкой вверху. Необходимо биоматериал аккуратно втирать бактериальной петлей на поверхность питательной среды параллельными штрихами.

В нашем исследовании в качестве биоматериала служил 1 мл физраствора и погруженного в него шпателя, после проведения им по поверхности языка, десен и соскоба зубного налета после приема пищи. Далее 200 мкл полученной суспензии втирали с помощью шпателя на поверхность твердой питательной среды. После этого образцы с микроорганизмами инкубируют в термостате при 37°C в течение 24–48 ч. Затем подсчитывали выросшие колонии, описывали их культуральные свойства и пересаживали на свежие питательные среды доводя до чистых культур.

2.5. Идентификация микроорганизмов, выросших на питательных средах

2.5.1. Окраска по методу Грама

На первичном этапе производили окраску по классической методике окраски по Граму, состоящую из следующих этапов:

1. На фиксированный мазок накладывают фильтровальную бумагу, пропитанную раствором генцианвиолета, капают 2 капли воды и оставляют на 1–2 мин.
2. Фильтровальную бумагу убирают, раствор смывают водой, добавляют раствор Люголя на 1–2 минуты, сливают, не промывая водой.
3. На 30–60 секунд на мазок наносят 96 % спирт для обесцвечивания мазка и промывают препарат водой

4. На мазок наносят фуксин на 1–2 минуты и затем промывают водой, высушивают и микроскопируют под иммерсией.

Далее готовые препараты микроскопировали и смотрели к каким группам можно отнести выросшие микроорганизмы.

2.5.2. MALDI-TOF масс-спектрометрия

Использование стандартизованных методик MALDI-TOF MS позволяет точно идентифицировать до вида большинство клинически значимых бактерий, поэтому в ходе работы выросшие микроорганизмы были рассмотрены с помощью масс-спектрометра Autof MS 2600 (Китай).

При использовании MALDI-анализа в клинической микробиологии исследуемые образцы культур микроорганизмов смешивают с матрицей, которая обладает оптической абсорбцией в диапазоне используемых длин волн [53]. Состав матрицы может меняться в зависимости от анализируемых биомолекул и типа используемого лазера [24]. Наиболее часто используемые матрицы — это α -циано-4-гидроксикоричная кислота и 2,4-гидрокси-фенилбензойная кислота; α -циано-4-гидроксикоричная кислота показала высокую эффективность для детекции биомаркеров протеинов [56], 2,4-гидрокси-фенил бензойная кислота показала преимущества при детекции гликопептидов и гликопротеинов [20].

На чашке с первичным посевом выбирается колония для идентификации, которая целиком, или частично переносится на участок пластины MALDI-TOF масс-спектрометра, сделанной, как правило, из нержавеющей стали (рисунок 3) или берутся образцы из свежих чистых культур.



Рисунок 3. Работа на масс-спектрометре масс-спектрометра Autof MS

Микроорганизм на пластине покрывается небольшим количеством матрицы, затем пластина высушивается (не более 5 минут). Идентификация микроорганизма, контроль контаминации и калибровка проходят на отдельных участках пластины. Пластина затем помещается в камеру MALDI-TOF масс-спектрометра.

Процесс после калибровки аппарата автоматизирован. Родство спектра тестируемого штамма с известными спектрами, хранящимися в системной библиотеке, определяется с использованием программного обеспечения. В результате микробиолог получает результат видовой идентификации с выраженным в баллах или процентах соответствием исследуемого микроорганизма референтной базе данных, что отражает степень достоверности идентификации [27].

Статистический анализ

На графиках представлены средние арифметические значения из n числа повторностей (где $n \geq 10$) и их стандартные отклонения. Для сравнения независимых выборок, подчиняющихся закону нормального распределения, использовали параметрический критерий Стьюдента, значения t -критерия находили для 95 % уровня значимости.

Результаты обработаны с использованием стандартных пакетов программы Microsoft Exel 2010.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

3.1. Исследование микробиома полости рта после еды с применением средств гигиены

Для проведения исследования через час после еды был взят соскоб с поверхности зубов и десен в качестве контроля. Затем после следующего приема пищи были применены профилактические меры: в первом случае тщательное полоскание полости рта водой, второй случай - жевание жвачки в течении 15 мин после еды, и в третьем варианте – полоскание полости рта ополаскивателем. Далее высевали соскоб на разные питательные среды и проводили описание и подсчет выросших колоний. Выросшие колонии описывали и окрашивали по Граму для определения к каким группам микроорганизмов относятся, выросшие бактерии (рисунок 1).

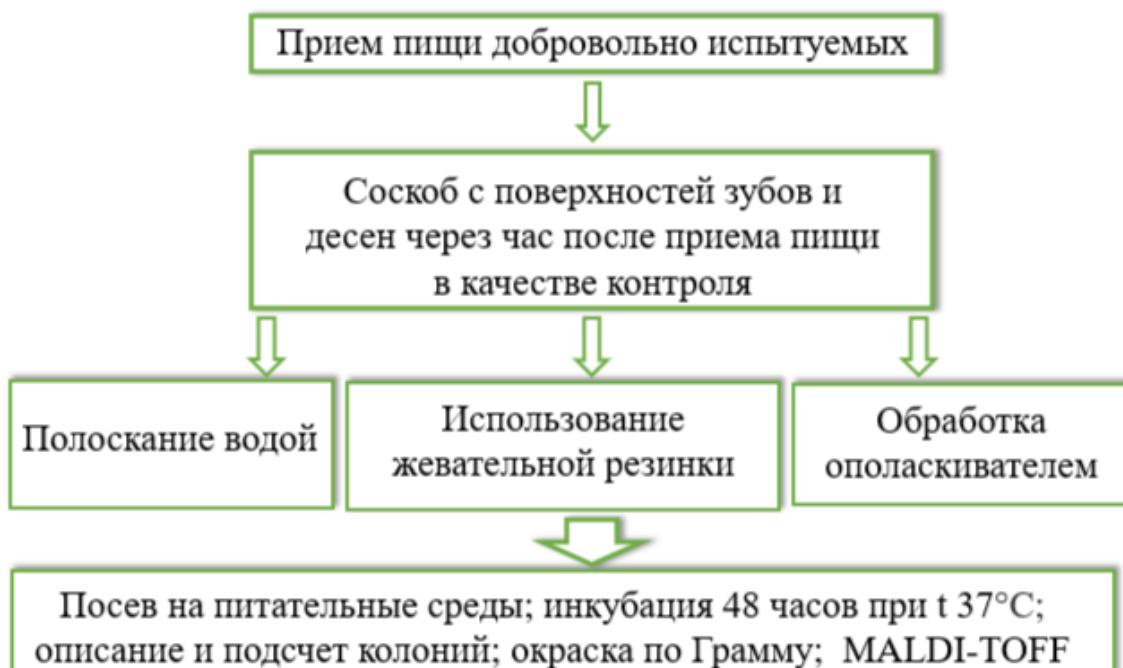
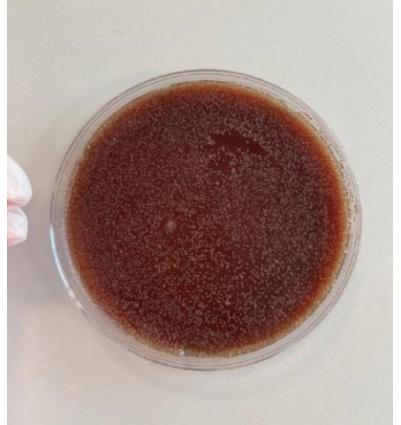
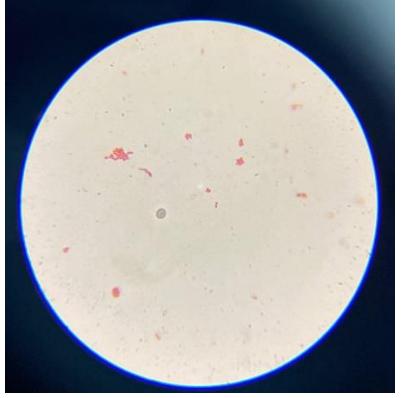
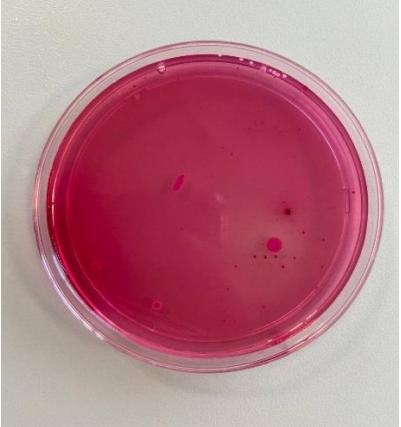


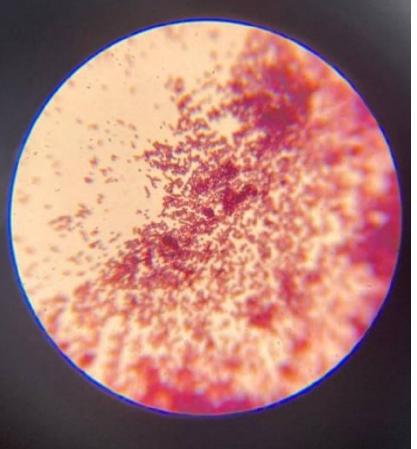
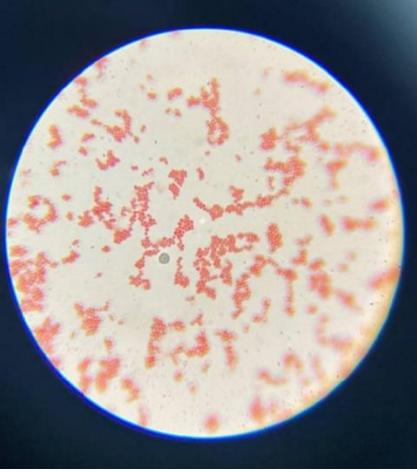
Рисунок 1. Последовательная схема исследования

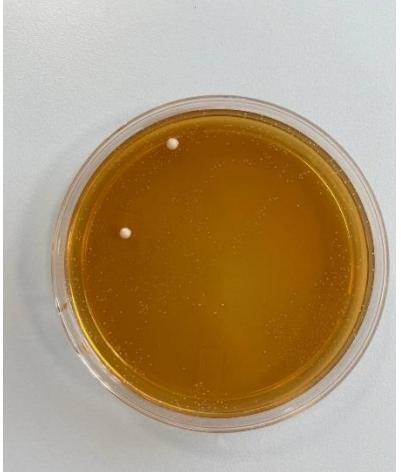
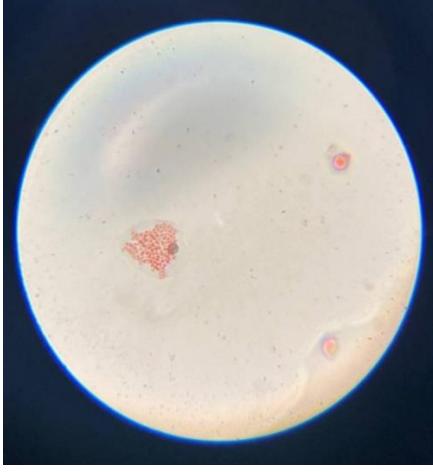
3.1.1. Анализ микробиоты ротовой полости после приема пищи

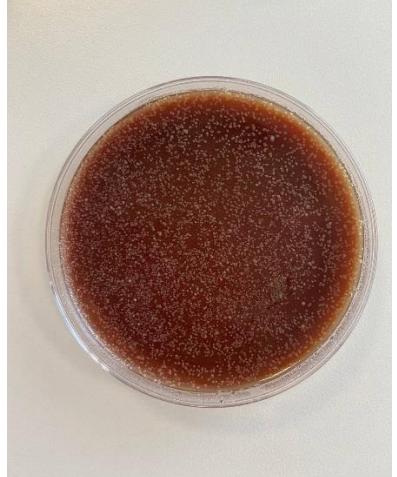
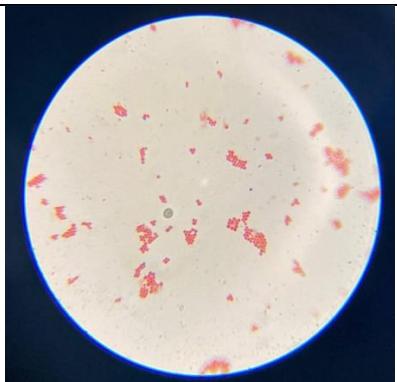
Для того, чтобы была возможность сравнить результаты применения профилактических средств, сперва была изучена нормобиота ротовой полости исследуемых добровольцев (таблица 1).

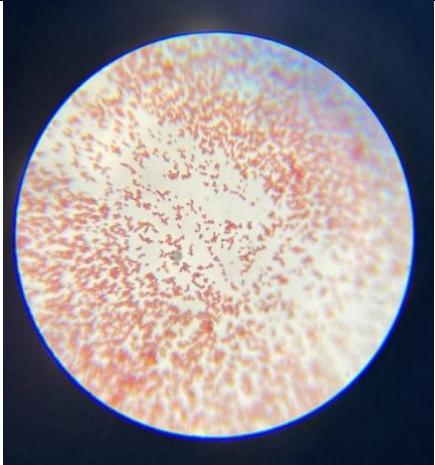
Таблица 1. Нормобиота ротовой полости через час после приема пищи

| | Среда | Описание колоний | Рост на чашках Петри / Окраска по Граму |
|-----|-------|---|---|
| TIO | КА | <p>Размер колоний – точечные;</p> <p>Форма – округлая;</p> <p>Цвет – белый;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – плоский;</p> <p>Край – ровный;</p> <p>Консистенция – вязкая;</p> <p>Структура – однородная;</p> <p>Количество – 2068;</p> <p>Масс-спектрометрия –</p> <p><i>Streptococcus sanguinis.</i></p> |   |
| TIO | Эндо | <p>Размер колоний – 0,4 мм;</p> <p>Форма – округлая;</p> <p>Цвет – розовый;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – выпуклый;</p> |  |

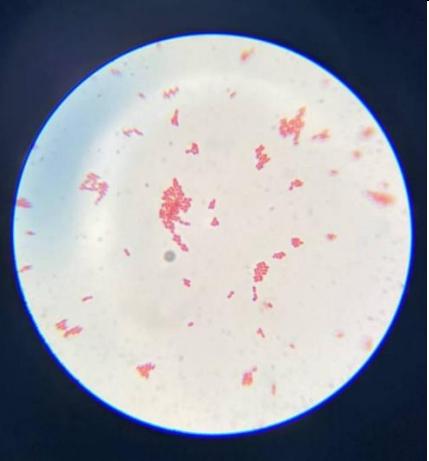
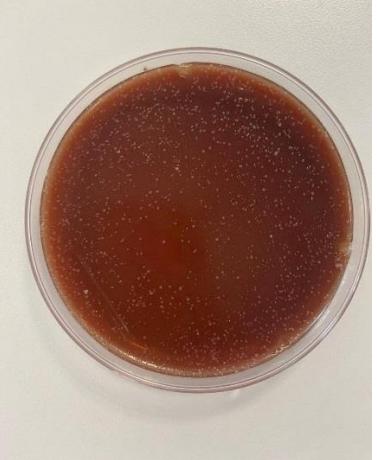
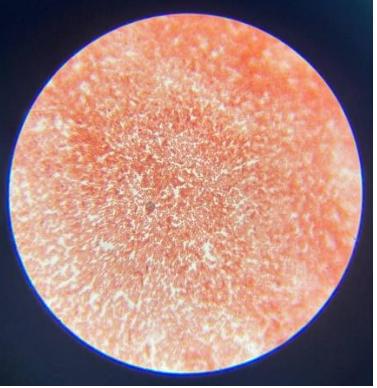
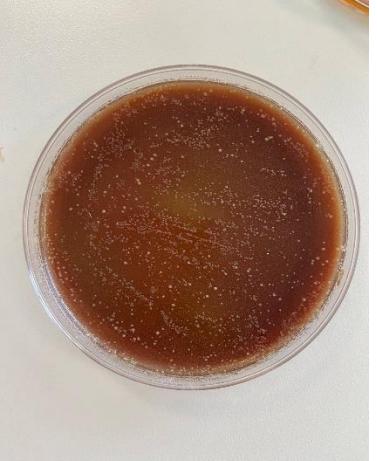
| | | | |
|----|-----|---|---|
| | | <p>Край – ровный; Консистенция – вязкая; Структура – однородная; Количество – 53; Масс-спектрометрия – <i>Escherichia coli</i>.</p> |  |
| ТЮ | MPC | <p>Размер колоний – 1,2 мм; Форма – округлая; Цвет – белый; Поверхность – гладкая; Оптические свойства – не прозрачные; Профиль – выпуклый; Край – ровный; Консистенция – вязкая; Структура – однородная; Количество – 22; Масс-спектрометрия – <i>Lactobacillus spp.</i> Размер колоний – точечные; Форма – округлая; Цвет – белый; Поверхность – гладкая; Оптические свойства – не прозрачные; Профиль – выпуклый; Край – ровный; Консистенция – однообразная;</p> |   |

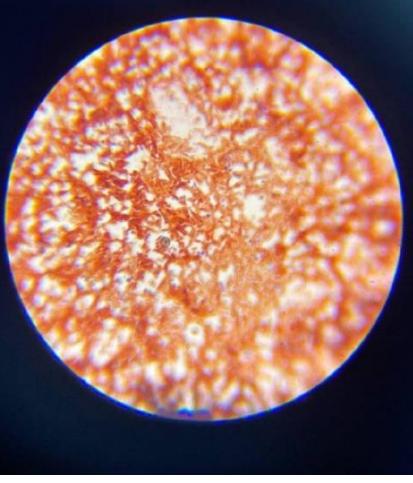
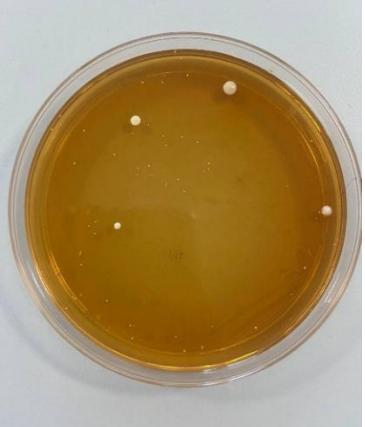
| | | | |
|----|-----|--|---|
| | | Структура – однородная; Количество – 87 Масс-спектрометрия – <i>Candida spp.</i> | |
| ГТ | MPC | <p>Размер колоний – 2,1 мм;</p> <p>Форма – округлая; Цвет – белый;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – выпуклый;</p> <p>Край – ровный;</p> <p>Консистенция – вязкая;</p> <p>Структура – однородная;</p> <p>Количество – 2;</p> <p>Масс-спектрометрия – <i>Lacotobacillus spp.</i></p> <p>Размер колоний – точечные;</p> <p>Форма – округлая;</p> <p>Цвет – желтоватые;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – плоский;</p> <p>Край – ровный;</p> <p>Консистенция – вязкая;</p> <p>Структура – однородная;</p> <p>Количество – 30;</p> <p>Масс-спектрометрия –</p> |   |

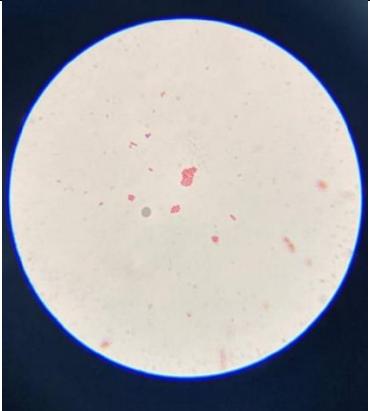
| | | | |
|----|----|---|---|
| | | <i>Neisseria</i> spp. | |
| ГТ | КА | <p>Размер колоний – точечные;</p> <p>Форма – округлая;</p> <p>Цвет – белый;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – плоский;</p> <p>Край – ровный;</p> <p>Консистенция – вязкая;</p> <p>Структура – однородная;</p> <p>Количество – 1704;</p> <p>Масс-спектрометрия –</p> <p><i>Streptococcus</i> spp.</p> |   |
| ИР | КА | <p>Размер колоний – 2 мм;</p> <p>Форма – округлая;</p> <p>Цвет – белый;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – полупрозрачные;</p> <p>Профиль – плоский;</p> |  |

| | | | |
|----|----|--|---|
| | | <p>Край – извилистый; Консистенция – вязкая; Структура – однородная; Количество – 1 366; Масс-спектрометрия – <i>Streptococcus spp.</i></p> <p>Размер колоний – 3 мм; Форма – неправильная; Цвет – желтоватый; Поверхность – гладкая; Оптические свойства – полупрозрачные; Профиль – плоский; Край – волнистый; Консистенция – вязкая; Структура – однородная; Количество – 10; Масс-спектрометрия – <i>Staphylococcus aureus.</i></p> |  |
| ЯР | КА | <p>Размер колоний – точечные; Форма – округлая; Цвет – белый; Поверхность – гладкая; Оптические свойства – не прозрачные; Профиль – плоский;</p> |  |

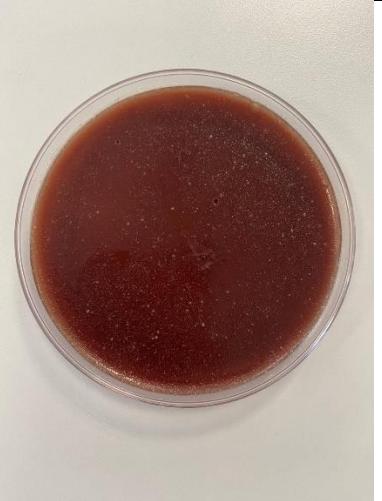
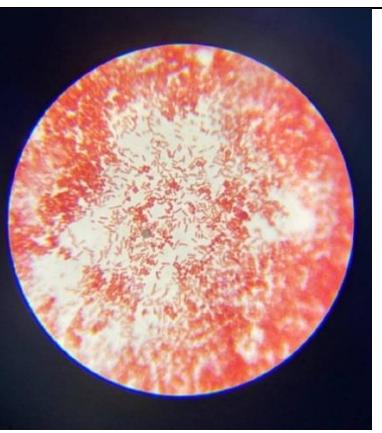
| | | | |
|----|-----|---|---|
| | | <p>Край – ровный; Консистенция – вязкая; Структура – однородная; Количество – 365; Масс-спектрометрия – <i>Streptococcus spp.</i> Профиль – плоский</p> <p>Размер колоний – 2 мм; Форма – неправильная; Цвет – белый; Поверхность – гладкая; Оптические свойства – не прозрачные; Край – волнистый; Консистенция – вязкая; Структура – однородная; Количество – 520; Масс-спектрометрия – <i>Candida spp.</i></p> |  |
| ЯР | MPC | <p>Размер колоний – точечные; Форма – округлая; Цвет – белый; Поверхность – гладкая; Оптические свойства – не прозрачные; Профиль – выпуклый;</p> |  |

| | | | |
|----|----|---|---|
| | | <p>Край – ровный; Консистенция – вязкая; Структура – однородная; Количество – 516; Масс-спектрометрия – <i>Lacotobacillus spp.</i></p> |  |
| МА | КА | <p>Размер колоний – точечные; Форма – округлая; Цвет – белый; Поверхность – гладкая; Оптические свойства – не прозрачные; Профиль – плоский; Край – ровный; Консистенция – вязкая; Структура – однородная; Количество – 796; Масс-спектрометрия – <i>Streptococcus spp.</i></p> |   |
| ХН | КА | <p>Размер колоний – точечные; Форма – округлая; Цвет – белый; Поверхность – гладкая; Оптические свойства – не прозрачные; Профиль – плоский;</p> |  |

| | | | |
|----|-----|--|---|
| | | <p>Край – ровный;</p> <p>Консистенция – вязкая;</p> <p>Структура – однородная;</p> <p>Количество – 406;</p> <p>Масс-спектрометрия – <i>Streptococcus spp.</i></p> <p>Размер колоний – 1,3 мм;</p> <p>Форма – округлая;</p> <p>Цвет – желтоватый;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – плоский;</p> <p>Край – ровный;</p> <p>Консистенция – вязкая;</p> <p>Структура – однородная;</p> <p>Количество – 326;</p> <p>Масс-спектрометрия – <i>Bacillus cereus</i>.</p> |  |
| XH | MPC | <p>Размер колоний – 3.1 мм;</p> <p>Форма – округлая;</p> <p>Цвет – белый;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – выпуклый;</p> <p>Край – ровный;</p> |  |

| | | | |
|----|----|--|---|
| | | <p>Консистенция – вязкая; Структура – однородная; Количество – 4; Масс-спектрометрия – <i>Lacotobacillus fermentum</i>.</p> |  |
| АП | КА | <p>Размер колоний – точечные; Форма – округлая; Цвет – белый; Поверхность – гладкая; Оптические свойства – не прозрачные; Профиль – плоский; Край – ровный; Консистенция – вязкая; Структура – однородная.</p> |  |

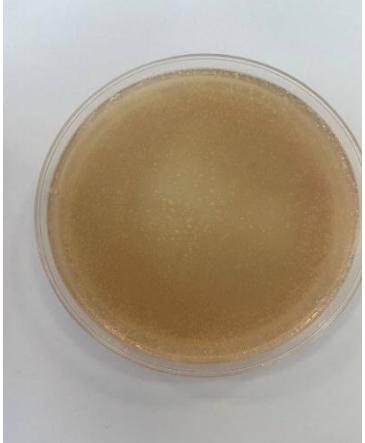
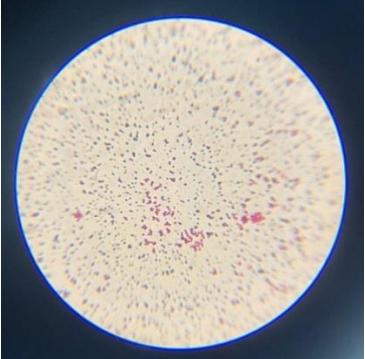
| | | | |
|----|-----|---|--|
| | | <p>Количество – 944.</p> <p>Масс-спектрометрия –</p> <p><i>Streptococcus sanguinis.</i></p> <p>Размер колоний – 4,8 см;</p> <p>Форма – амебовидная;</p> <p>Цвет – белый;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – полупрозрачная;</p> <p>Профиль – плоский;</p> <p>Край – извилистый;</p> <p>Консистенция – вязкая;</p> <p>Структура – однородная;</p> <p>Количество – 87</p> <p>Масс-спектрометрия –</p> <p><i>Streptococcus viridans.</i></p> | |
| АП | MPC | <p>Размер колоний – точечные;</p> <p>Форма – округлая;</p> <p>Цвет – белый;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – плоский;</p> <p>Край – ровный;</p> <p>Консистенция – вязкая;</p> <p>Структура – однородная;</p> <p>Количество – 154;</p> <p>Масс-спектрометрия –</p> <p><i>Lactobacillus fermentum.</i></p> | |

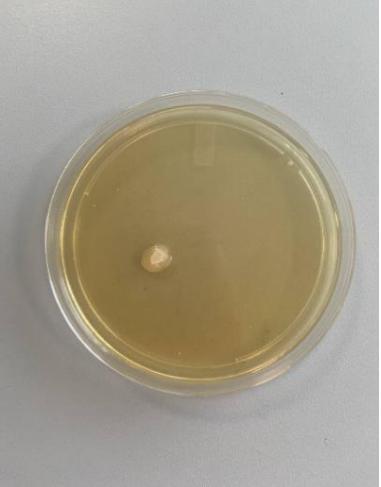
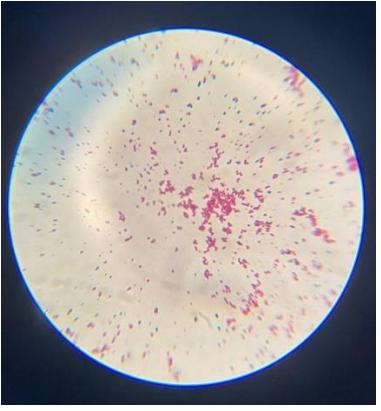
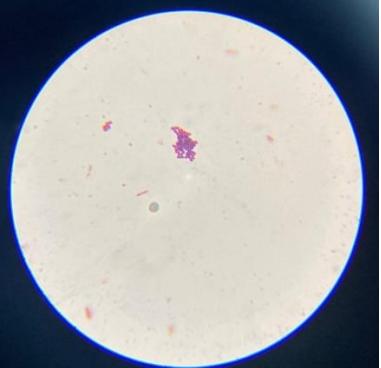
| | | | |
|----|----|---|---|
| ГК | КА | <p>Размер колоний – точечные;</p> <p>Форма – округлая;</p> <p>Цвет – белый;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – плоский;</p> <p>Край – ровный;</p> <p>Консистенция – вязкая;</p> <p>Структура – однородные;</p> <p>Количество – 948;</p> <p>Масс-спектрометрия – <i>Streptococcus spp.</i></p> <p>Размер колоний – точечные;</p> <p>Форма – округлая;</p> <p>Цвет – желтоватые;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – плоский;</p> <p>Край – ровный;</p> <p>Консистенция – вязкая;</p> <p>Структура – однородная;</p> <p>Количество – 356;</p> <p>Масс-спектрометрия – <i>Bacillus licheniformis</i></p> |   |
|----|----|---|---|

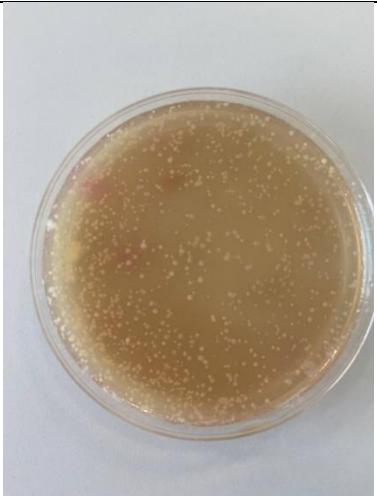
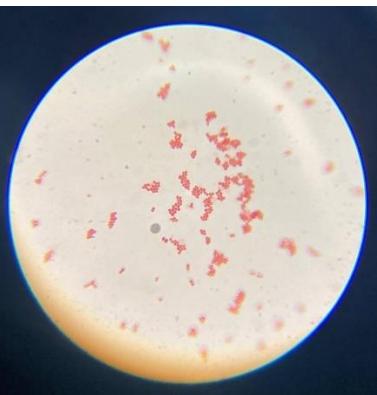
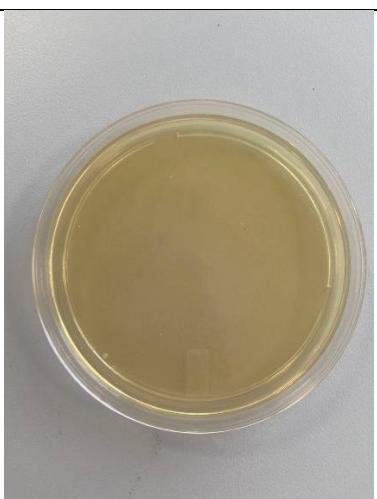
3.1.2. Анализ микробиоты ротовой полости после применения жевательной резинки

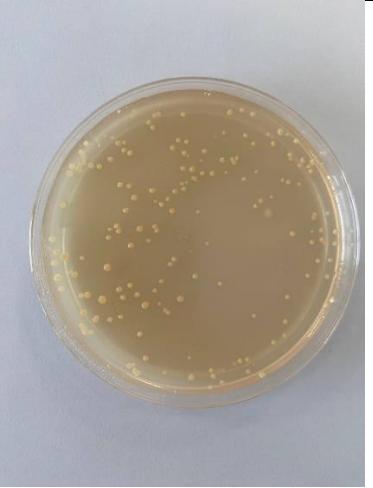
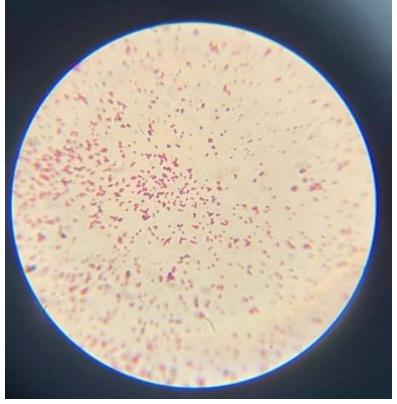
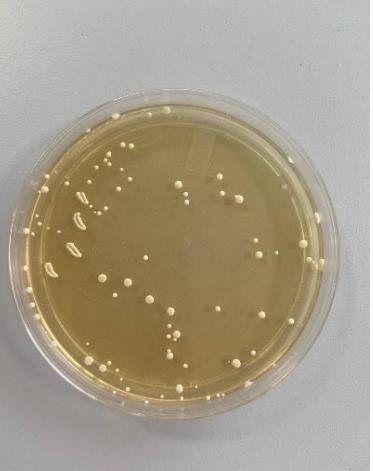
Далее после приема пищи добровольцы в качестве средства гигиены применили жевание жвачки в течение 15 мин. Затем также через час у них были взяты образцы и изучена нормобиота ротовой полости (таблица 2).

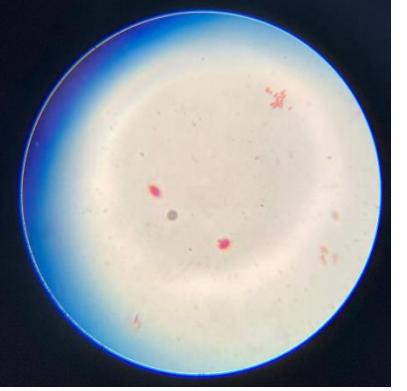
Таблица 2. Нормобиота ротовой полости после применения жвачки

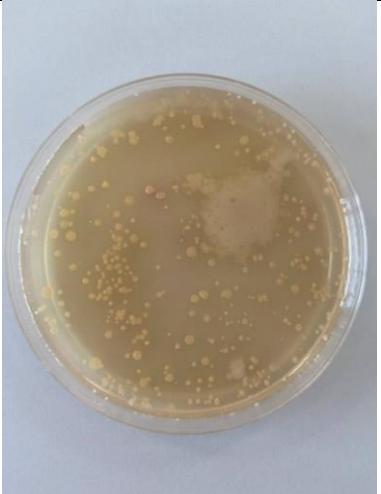
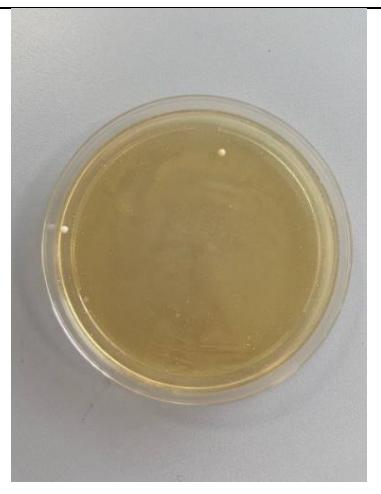
| Питательная среда | Описание колоний | Рост на чашках Петри / Окраска по Граму |
|-------------------|---|---|
| ТЮ ГМФ | Размер колоний – точечные; Форма – округлая; Цвет – желтоватые; Поверхность – гладкая; Оптические свойства – не прозрачные; Профиль – плоский; Край – ровный; Консистенция – вязкая; Структура – однородная; Количество – 1 148; Масс-спектрометрия – <i>Streptococcus spp.</i> |   |

| | | | |
|----|------|---|--|
| ТЮ | МРС | <p>Размер колоний – 1,3 см;</p> <p>Форма – неправильная;</p> <p>Цвет – белый;</p> <p>Поверхность – бугристая;</p> <p>Оптические свойства – полупрозрачные;</p> <p>Профиль – бугристая;</p> <p>Край – волнистый;</p> <p>Консистенция – вязкая;</p> <p>Структура – однородная;</p> <p>Количество – 1;</p> <p>Масс-спектрометрия – <i>Lactobacillus spp.</i></p> |   |
| ТЮ | Эндо | <p>Размер колоний – точечные;</p> <p>Форма – округлая;</p> <p>Цвет – розовый;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – плоский;</p> <p>Край – ровный;</p> <p>Консистенция – вязкая;</p> <p>Структура – однородная;</p> <p>Количество – 576;</p> <p>Масс-спектрометрия – <i>Streptococcus spp.</i></p> |   |

| | | | |
|----|-----|---|---|
| ЯР | ГМФ | <p>Размер колоний – 1,1 мм;</p> <p>Форма – округлая;</p> <p>Цвет – желтоватые;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – полупрозрачные;</p> <p>Профиль – плоский;</p> <p>Край – ровный;</p> <p>Консистенция – вязкая;</p> <p>Структура – однородная;</p> <p>Количество – 846;</p> <p>Масс-спектрометрия – <i>Streptococcus spp.</i></p> |   |
| ГТ | МРС | <p>Размер колоний – точечные;</p> <p>Форма – округлая;</p> <p>Цвет – желтоватые;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – плоский;</p> <p>Край – ровный;</p> <p>Консистенция – вязкая;</p> <p>Структура – однородная;</p> <p>Количество – 7;</p> <p>Масс-спектрометрия – <i>Neisseria spp.</i></p> |  |

| | | | | |
|----|-----|---|---|---|
| АП | ГМФ | <p>Размер колоний – 1.2 мм;</p> <p>Форма – округлая;</p> <p>Цвет – желтый;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – плоский;</p> <p>Край – ровный;</p> <p>Консистенция – вязкая;</p> <p>Структура – однородная;</p> <p>Количество – 189;</p> <p>Масс-спектрометрия – <i>Neisseria spp.</i></p> |  |  |
| АП | МРС | <p>Размер колоний – 1,3 мм;</p> <p>Форма – округлая;</p> <p>Цвет – белый;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – выпуклая;</p> <p>Край – ровный;</p> <p>Консистенция – вязкая;</p> <p>Структура – однородная;</p> <p>Количество – 96;</p> <p>Масс-спектрометрия – <i>Lacotobacillus rhamnosus</i></p> |  |  |

| | | | | |
|----|------|--|---|--|
| АП | Эндо | <p>Размер колоний – точечные;</p> <p>Форма – округлая;</p> <p>Цвет – ярко-розовый;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – выпуклый;</p> <p>Край – ровный;</p> <p>Консистенция – вязкая;</p> <p>Структура – однородная.</p> <p>Количество – 287.</p> <p>Масс-спектрометрия – <i>Streptococcus spp.</i></p> <p>Размер колоний – 3,4 мм;</p> <p>Форма – складчатая;</p> <p>Цвет – светло-розовый;</p> <p>Поверхность – складчатая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – выпуклый;</p> <p>Край – тестообразная;</p> <p>Консистенция – вязкая;</p> <p>Структура – однородная;</p> <p>Количество – 2;</p> <p>Масс-спектрометрия – <i>Neisseria spp.</i></p> |  |  |
|----|------|--|---|--|

| | | | |
|----|-----|--|---|
| ИР | ГМФ | <p>Размер колоний – 1,4 мм; Форма – округлая; Цвет – желтый; Поверхность – гладкая; Оптические свойства – не прозрачные; Профиль – плоский; Край – ровный; Консистенция – вязкая; Структура – однородная; Количество – 247; Масс-спектрометрия – <i>Neisseria spp.</i></p> |  |
| ИР | MPC | <p>Размер колоний – 1,1 мм; Форма – округлая; Цвет – белый; Поверхность – гладкая; Оптические свойства – не прозрачные; Профиль – выпуклый; Край – ровный; Консистенция – вязкая; Структура – однородная;</p> |  |

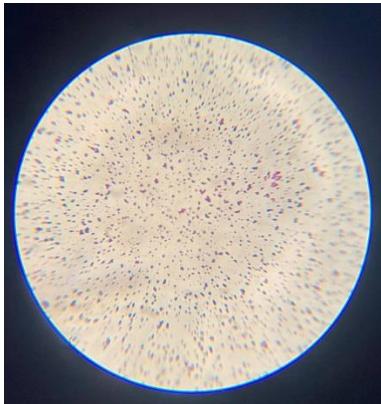
| | | | |
|----|------|--|------|
| | | Количество – 4; Масс-спектрометрия – <i>Lacotobacillus spp.</i> | |
| ИР | Эндо | Размер колоний – точечные; Форма – округлая; Цвет – свето-розовый; Поверхность – гладкая; Оптические свойства – не прозрачные; Профиль – выпуклый; Край – ровный; Консистенция – вязкая; Структура – однородная; Количество – 2; <i>Neisseria spp.</i> | |
| XН | ГМФ | Размер колоний – 3,9 см; Форма – неправильная; Цвет – белый; Поверхность – гладкая; Оптические свойства – полупрозрачные; Профиль – плоский; Край – неправильный; Консистенция – вязкая; | |

| | | | |
|----|-----|--|------|
| | | <p>Структура – однородная; Масс-спектрометрия – <i>Streptococcus spp.</i></p> | |
| XH | MPC | <p>Размер колоний – 1,3 мм; Форма – округлая; Цвет – белый; Поверхность – гладкая; Оптические свойства – не прозрачные; Профиль – выпуклый; Край – ровный; Консистенция – вязкая; Структура – однородная; Количество – 118; Масс-спектрометрия – <i>Lactobacillus spp.</i></p> | |

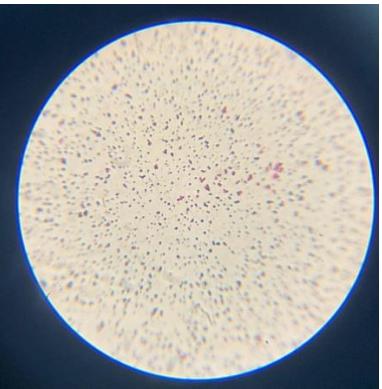
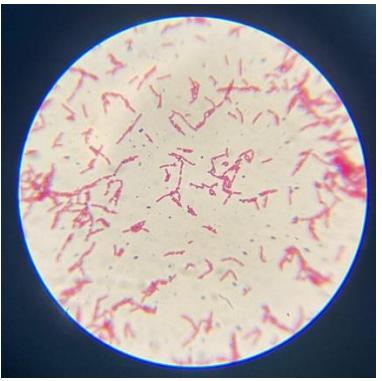
3.1.3. Анализ микробиоты ротовой полости после полоскания водой

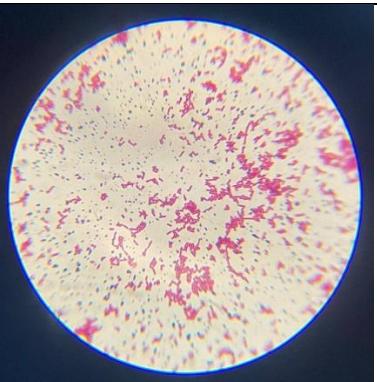
Далее после приема пищи добровольцы в качестве средства гигиены применили тщательное полоскание водой. Затем также через час у них были взяты образцы и изучена нормобиота ротовой полости (таблица 3).

Таблица 3. Нормобиота ротовой полости после полоскания водой

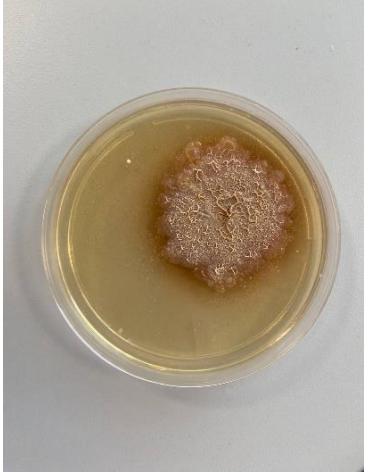
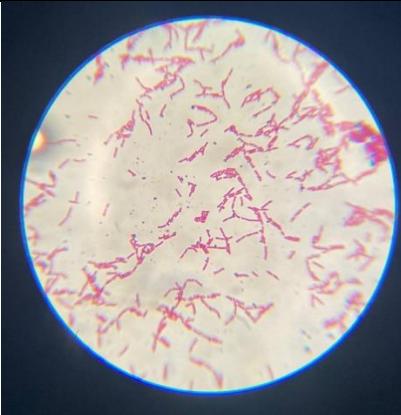
| | Среда | Описание колоний | Рост на чашках Петри / Окраска по Граму |
|----|-------|---|---|
| АП | КА | Размер колоний – 1,4 мм; Форма – округлая; Цвет – желтый; Поверхность – гладкая; Оптические свойства – не прозрачные; Профиль – выпуклый; Край – ровный; Консистенция – вязкая; Структура – однородная; Количество – 212; Масс-спектрометрия – <i>Streptococcus spp.</i> |   |

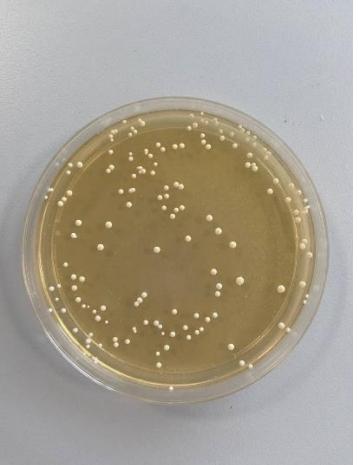
| | | | | |
|----|------|---|---|---|
| АП | МРС | <p>Размер колоний – 5,3 мм;</p> <p>Форма – округлая;</p> <p>Цвет – белый;</p> <p>Поверхность – шероховатая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – каплевидный;</p> <p>Край – ровный;</p> <p>Консистенция – тестообразная;</p> <p>Структура – однородная;</p> <p>Количество – 28;</p> <p>Масс-спектрометрия – <i>Lactobacillus spp.</i></p> |  |  |
| АП | Эндо | <p>Размер колоний – 1,2 мм;</p> <p>Форма – округлая;</p> <p>Цвет – розовый;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – плоский;</p> <p>Край – ровный;</p> <p>Консистенция – вязкая;</p> <p>Структура – однородная;</p> <p>Количество – 398;</p> <p>Масс-спектрометрия – <i>Neisseria spp.</i></p> |  |  |

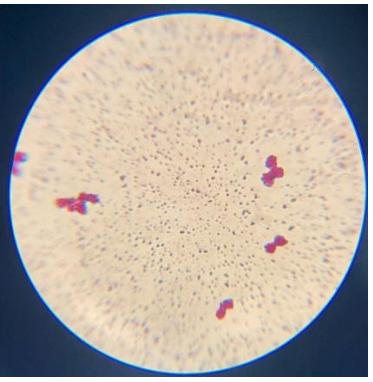
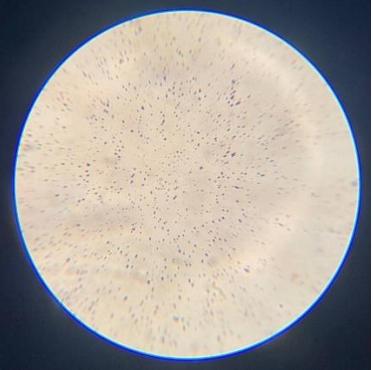
| | | | |
|----|-----|--|--|
| ГК | КА | <p>Размер колоний – мелкие;</p> <p>Форма – округлая;</p> <p>Цвет – белый;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – плоский;</p> <p>Край – ровный;</p> <p>Консистенция – вязкая;</p> <p>Количество – 167;</p> <p>Масс-спектрометрия –</p> <p><i>Streptococcus spp.</i></p> |   |
| ГК | MPC | <p>Размер колоний – 2,3 мм;</p> <p>Форма – неправильная;</p> <p>Цвет – белый;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – выпуклый;</p> <p>Край – волнистый;</p> <p>Консистенция – вязкая;</p> <p>Структура – однородная;</p> <p>Количество – 372;</p> <p>Масс-спектрометрия –</p> <p><i>Lactobacillus spp.</i></p> |   |

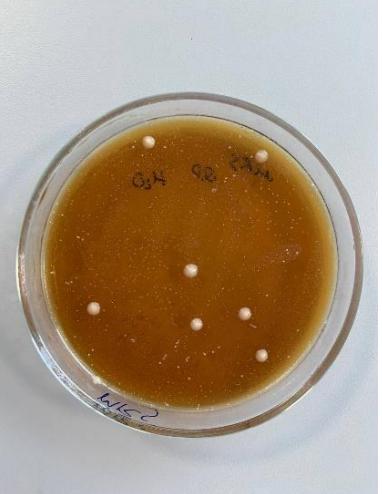
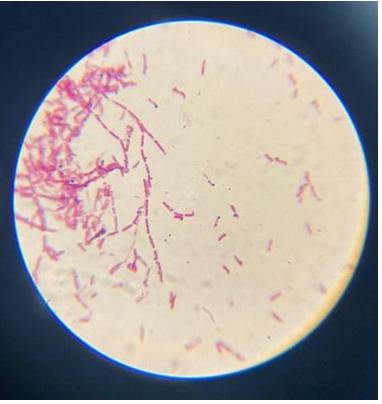
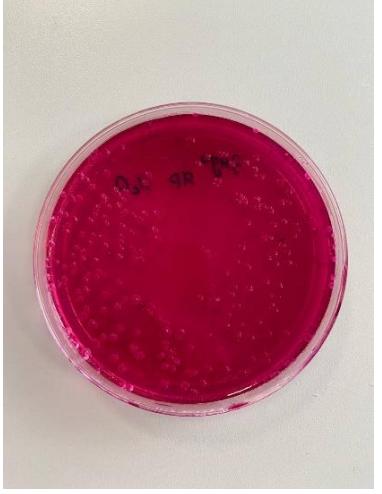
| | | | |
|----|-----|---|---|
| ИР | МРС | <p>Размер колоний – 2,6 мм;</p> <p>Форма – округлая;</p> <p>Цвет – белый;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – каплевидный;</p> <p>Край – ровный;</p> <p>Консистенция – вязкая;</p> <p>Структура – однородная;</p> <p>Количество – 73;</p> <p>Масс-спектрометрия – <i>Lacotobacillus spp.</i></p> |   |
| ИР | КА | <p>Размер колоний – 1,5 мм;</p> <p>Форма – неправильная;</p> <p>Цвет – коричневый;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – плоский;</p> <p>Край – волнистый;</p> <p>Консистенция – вязкая;</p> <p>Структура – однородная;</p> <p>Количество – 381;</p> |  |

| | | | |
|----|------|---|---|
| | | <p>Масс-спектрометрия – <i>Streptococcus spp.</i></p> <p>Размер колоний – 3,4 мм; Форма – неправильная; Цвет – белый; Поверхность – гладкая; Оптические свойства – не прозрачные; Профиль – плоский; Край – волнистый; Консистенция – вязкая; Структура – однородная; Количество – 315;</p> <p>Масс-спектрометрия – <i>Candida spp.</i></p> |  |
| ИР | Эндо | <p>Размер колоний – 1,6 мм; Форма – округлая; Цвет – розовый; Поверхность – гладкая; Оптические свойства – не прозрачные; Профиль – плоский; Край – ровный; Консистенция – вязкая; Структура – однородная; Количество – 482;</p> <p>Масс-спектрометрия – <i>Neisseria spp.</i></p> |  |

| | | | |
|----|-----|--|---|
| | | |  |
| ТЮ | MPC | <p>Размер колоний – 4,6 мм;</p> <p>Форма – складчатая;</p> <p>Цвет – белый;</p> <p>Поверхность – складчатая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – бугристый;</p> <p>Край – неправильный;</p> <p>Консистенция – тестообразная;</p> <p>Структура – однородная;</p> <p>Количество – 1</p> <p>Масс-спектрометрия –</p> <p><i>Candida spp.</i></p> <p>Размер колоний – точечная;</p> <p>Форма – округлая;</p> <p>Цвет – белый;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> |   |

| | | | |
|----|-----|--|---|
| | | <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – выпуклый;</p> <p>Край – ровный;</p> <p>Консистенция – вязкая;</p> <p>Структура – однородная;</p> <p>Количество – 2;</p> <p>Масс-спектрометрия –</p> <p><i>Lacotobacillus spp.</i></p> | |
| XH | MPC | <p>Размер колоний – 1,2 мм;</p> <p>Форма – округлая;</p> <p>Цвет – белый;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – выпуклый;</p> |  |

| | | | |
|----|----|---|--|
| | | <p>Край – ровный; Консистенция – вязкая; Структура – однородная; Количество – 118; Масс-спектрометрия – <i>Lacotobacillus spp.</i></p> |  |
| ЯР | КА | <p>Размер колоний – 1,2 мм; Форма – неправильная; Цвет – коричневый; Поверхность – гладкая; Оптические свойства – не прозрачные; Профиль – плоский; Край – волнистый; Консистенция – вязкая; Структура – однородная; Количество – 267; Масс-спектрометрия – <i>Streptococcus spp.</i></p> <p>Размер колоний – 2,9 мм; Форма – неправильная; Цвет – белый; Поверхность – гладкая; Оптические свойства – не прозрачные; Профиль – плоский; Край – волнистый; Консистенция – вязкая; Структура – однородная;</p> |    |

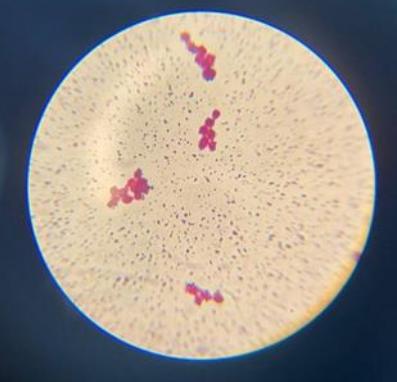
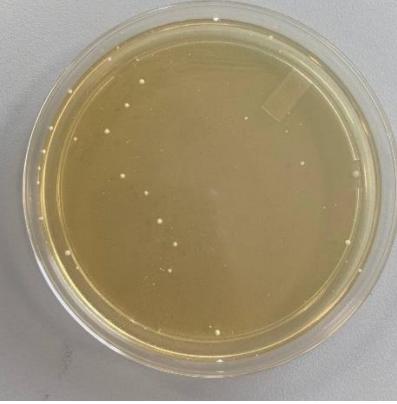
| | | | |
|----|------|---|---|
| | | Количество – 212; Масс-спектрометрия – <i>Candida spp.</i> | |
| ЯР | MPC | <p>Размер колоний – 0,6 мм;</p> <p>Форма – округлая;</p> <p>Цвет – белый;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – плоский;</p> <p>Край – ровный;</p> <p>Консистенция – вязкая;</p> <p>Структура – однородная;</p> <p>Количество – 7</p> <p>Масс-спектрометрия –</p> <p><i>Lactobacillus spp.</i></p> |   |
| ЯР | Эндо | <p>Размер колоний – 2,8 мм;</p> <p>Форма – округлая;</p> <p>Цвет – розовый;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – плоский;</p> <p>Край – ровный;</p> <p>Консистенция – вязкая;</p> <p>Структура – однородная;</p> <p>Количество – 136;</p> <p>Масс-спектрометрия –</p> |  |

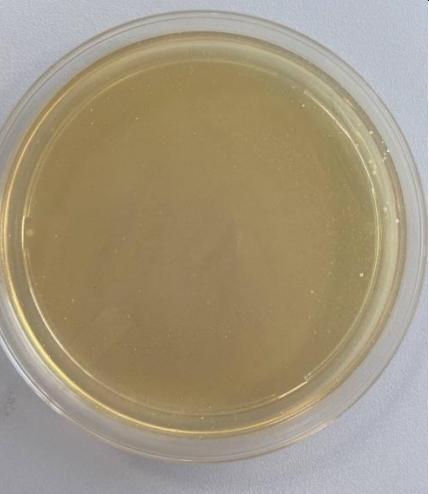
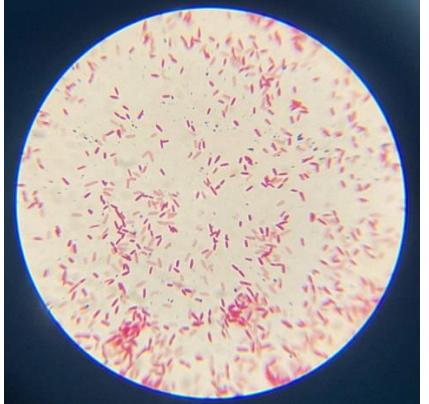
| | | |
|--|-----------------------|---|
| | <i>Neisseria spp.</i> |  |
|--|-----------------------|---|

3.1.4. Анализ микробиоты ротовой полости после применения ополаскивателя

Далее после приема пищи добровольцы в качестве средства гигиены применили тщательное полоскание специальным ополаскивателем. Затем также через час у них были взяты образцы и изучена нормобиота ротовой полости (таблица 4).

Таблица 4. Нормобиота ротовой полости после применения специального ополаскивателя.

| | Среда | Описание колоний | Рост на чашках Петри / Окраска по Граму |
|----|-------|--|---|
| ТЮ | Эндо | <p>Размер колоний – 2,8 мм;</p> <p>Форма – неправильная;</p> <p>Цвет – розовый;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – плоский;</p> <p>Край – волнистый;</p> <p>Консистенция – вязкая;</p> <p>Структура – однородная;</p> <p>Количество – 7;</p> <p>Масс-спектрометрия – <i>Candida spp.</i></p> |   |
| АП | MRS | <p>Размер колоний – 1,2 мм;</p> <p>Форма – округлая;</p> <p>Цвет – белый;</p> <p>Поверхность – гладкая;</p> <p>Оптические свойства – не прозрачные;</p> <p>Профиль – выпуклый;</p> |  |

| | | | |
|----|-----|--|---|
| | | <p>Край – ровный; Консистенция – вязкая; Структура – однородная; Количество – 27; <i>Lacotobacillus spp.</i></p> |  |
| XH | MRS | <p>Размер колоний – точечные; Форма – округлая; Цвет – белый; Поверхность – гладкая; Оптические свойства – не прозрачные; Профиль – выпуклый; Край – ровный; Консистенция – вязкая; Структура – однородная; Количество – 13; Масс-спектрометрия – <i>Lacotobacillus spp.</i></p> |   |

3.2. Анализ полученных данных и сравнение результатов, полученных от испытуемых после еды и применения средств гигиены

Полость рта представляет собой уникальную и многогранную среду обитания бактерий с четкими экологическими нишами, возникающими в результате наличия различных поверхностей для колонизации и различных условий из-за значительных колебаний параметров окружающей среды полости рта, таких как температура, pH, окислительно-восстановительный потенциал и доступность питательных веществ, которые, в сочетание с поведенческими аспектами человека-хозяина (например, гигиена полости рта, диета, курение), а также генетическая предрасположенность и общее состояние здоровья формируют состав резидентных микробных консорциумов [58]. Поверхности зубов, дорсальная и латеральная поверхности языка, пародонтальные карманы и остальные эпителиальные поверхности слизистой оболочки полости рта представляют собой места колонизации различными микробами. Было обнаружено, что стрептококки присутствуют на всех этих поверхностях и являются доминирующим родом в над- и поддесневых бляшках и на мягких тканях [16, 48].

Как и предполагалось, в наших исследованиях показано, что без применения профилактических средств было выделено больше всего 7 различных родов (рисунок 2). Чаще всего встречались представители рода *Streptococcus* (35%) и *Lactobacillus* (25%). По масс-спектрическим данным *Streptococcus* spp. был представлен видами *S. sanguis* и *S. viridans*. Данный род встречался у 100% испытуемых. Также обнаруживались бактерии из рода *Bacillus*, определенные у некоторых испытуемых до вида как *B. licheniformis* и *B. cereus*. Описаны штамм *B. licheniformis* ВКМ В-2712D, обладающий выраженным антагонизмом по отношению к *Salmonella typhi*, *S. aureus*, *Listeria monocytogenes* и резистентностью к антибиотикам стрептомицину и налидиксовой кислоте и может найти применение для создания пробиотических бактериальных препаратов в ветеринарии [5].

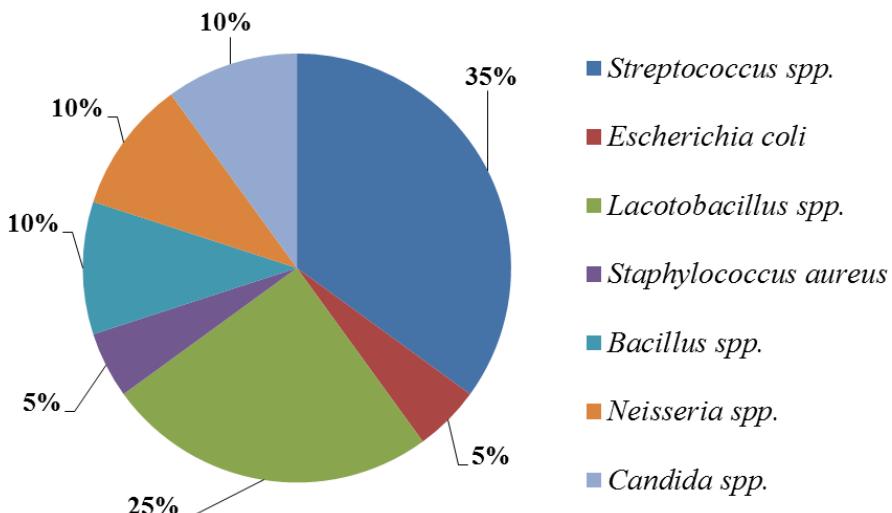


Рисунок 2. Микроорганизмы, выросшие после приема пищи

S. sanguinis — один из наиболее распространенных ранних колонизаторов зубной биопленки, признанный этиологическим агентом нескольких системных заболеваний, например, таких как инфекционный эндокардит [50]. На состояние здоровья полости рта может влиять относительный уровень *S. mutans* и *S. sanguinis*. В то время как преобладание *S. mutans* связано с лицами с высоким уровнем кариеса, преобладание *S. sanguinis* связано с лицами без кариозных поражений [25]. Оба вида сосуществуют в биопленке полости рта человека, однако они, по-видимому, имеют антагонистическую связь [57]. Стрептококки полости рта производят разнообразные противомикробные соединения, которые конкурируют за места адгезионного связывания на поверхности зубов и модулируют рост других видов. К таким соединениям относятся бактериоцины, пептидные токсины, образуемые *S. mutans*, и перекись водорода, вырабатываемая *S. sanguinis*. Экологический баланс в среде полости рта может меняться из-за уменьшения или увеличения количества кариесогенных бактерий, что приводит к различиям в pH, которые могут повлиять на прогрессирование кариеса [42].

Кариозные поражения или другие факторы, нарушающие целостность зуба, могут достигать пульпы зуба, которая в основном заключена в системе корневых каналов, подвергаясь воздействию бактерий, присутствующих в

полости рта. Бактериальная колонизация вызывает воспаление и некроз пульпы зуба, а также воспаление периапикальной области, что в итоге приводит к резорбции кости и образованию гранулем или кист [29]. Оральные стрептококки, такие как *S. oralis*, *S. anginosus*, *S. mitis*, *S. sanguinis* и *S. mutans* являются часто среди видов, обнаруживаемых при инфекциях корневых каналов [18, 49].

Пероральное носительство как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий, таких как *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *S. aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarralis*, особенно у детей, очень хорошо известно, но лишь в нескольких исследованиях сообщалось о пероральной колонизации грамнегативных бацилл [38, 39, 41]

Происхождение грамотрицательных бактерий в полости рта пока не ясно. Их присутствие может быть связано с употреблением загрязненной питьевой воды и продуктов питания или плохой личной гигиеной. Факторами риска также могут быть социально-экономический статус, время года, климат и подверженность загрязнению окружающей среды [51]. Некоторые исследования показали, что пероральная колонизация полости рта бактериями *Enterobacter* spp. была значимо связана с атопическим дерматитом и аллергическим ринитом [52]. Есть исследования, в которых бактерии *E. coli* обнаружены у 6,5% здоровых испытуемых. Но все-таки считается, что такие бактерии как *E. coli* и *S. aureus* попадают в полость рта транзиторно с едой и не задерживаются надолго.

При полоскании ротовой полости водой, представителей выросших микроорганизмов стало меньше – не определялись представители транзиторной микробиоты: *S. aureus* и *E. coli*. Также не определялись бактерии рода *Bacillus* (рисунок 3).

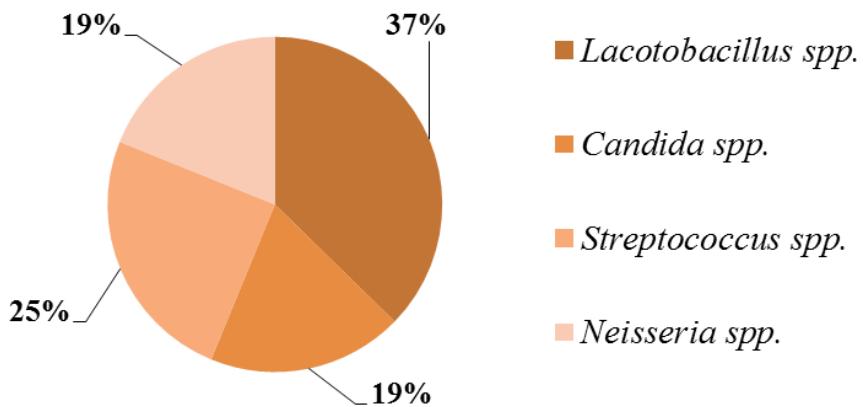


Рисунок 3. Микроорганизмы, выросшие после полоскания ротовой полости водой

Бактерии *Lacotobacillus spp.* встречались больше всего. С помощью масс-спектрометра были определены 2 вида: *L. rhamnosus* и *L. fermentum*.

Многие лактобактерии представляют собой комменсальную флору, обнаруженную в желудочно-кишечном тракте человека и женских мочеполовых путях. Они полезны для защиты от хронических заболеваний, таких как воспалительные заболевания кишечника, и являются важным членом микробиома кишечника и влагалища. Кроме того, поскольку большинство видов *Lactobacillus spp.* являются пробиотическими микроорганизмами, они производят ферменты, обладающие антибиотическими, противораковыми и иммунодепрессантными свойствами [44]. Одна существуют сведения, где описываются случаи про вред *L. rhamnosus* при применении у младенцев, у некоторых из них развивалась бактериемия и сепсис.

Виды *L. fermentum* чаще всего встречаются у здоровых людей. Исследования показали, что штамм *L. fermentum* ОК на 60% ингибиравал рост *S. mutans* (ассоциирован с кариесом зубов), также проявлял значительные ингибирующие действия в отношении роста пародонтопатогенов *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *S. gordonii* и *S. sanguinis*. Было показано, что *L. fermentum* ОК производит 1130 мкмоль/л перекиси водорода, эффективно агрегирует со *S. sobrinus*,

S. gordonii, *S. mutans*, *S. sanguinis* и *P. gingivalis* и уменьшает количество *S. mutans*, образующего искусственный зубной налет на 97,9 % [43].

Также в исследуемых образцах встречались грибы рода *Candida* (19 %).

В полости рта здоровых людей выявлено более 100 видов грибов. Виды из рода *Candida* приживаются в полости рта как комменсалы, но при определенных условиях могут стать вирулентными, вызывая поражения слизистой оболочки. *Candida albicans* является наиболее распространенным видом дрожжевых грибков во рту, обитает в поддесневых участках здорового организма, и его присутствие в поддесневой биопленке не связано с тяжестью заболеваний пародонта. Чтобы грибы выживали и росли в полости рта, они должны находиться в симбиотических отношениях с жилой бактериальной микробиотой и организмом хозяина. Абсолютное количество видов грибов в полости рта значительно ниже абсолютного числа видов бактерий. Тем не менее, из-за большего размера стрептококки и *C. albicans* могут образовывать плотные структуры в наддесневых бляшках. Кроме того, поскольку грибы могут образовывать гифы, они способны формировать структурную основу грибково-бактериальных бляшек [46]. Таким образом, грибы оказывают большее влияние на общую микробиоту полости рта, чем можно было бы ожидать при их относительно небольшом количестве. Роль *C. albicans* в заболеваниях пародонта не ясна, и необходимы дальнейшие исследования, чтобы продемонстрировать ее клиническое значение. Лишь несколько видов микроорганизмов, обычно встречающихся в пораженных десневых карманах, могут проникать на поверхность эпителия и провоцировать воспаление [32].

После применения **жевательной резинки** количество выросших колоний заметно снизилось, так же, как и разнообразие бактерий из разных родов (рисунок 4). Были обнаружены только *Streptococcus* spp., *Neisseria* spp. и *Lactobacillus* spp.

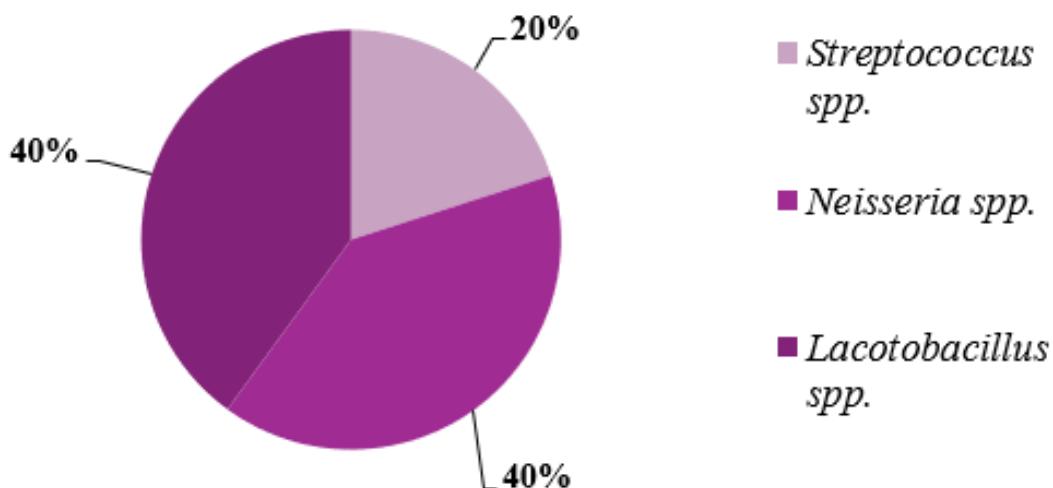


Рисунок 4. Микроорганизмы, выросшие после применения жевательной резинки

После **применения ополаскивателя** для полости рта роста микроорганизмов на питательных средах не наблюдалось при 57%. Лактобактерии выросли у 29 % и грибы у 14 % испытуемых (рисунок 5).

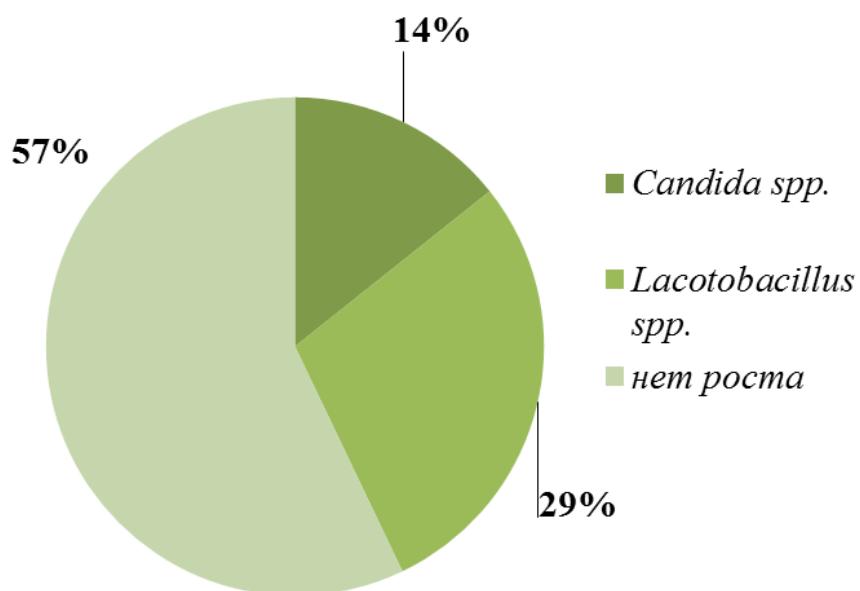


Рисунок 5. Микроорганизмы, выросшие после применения специального ополаскивателя

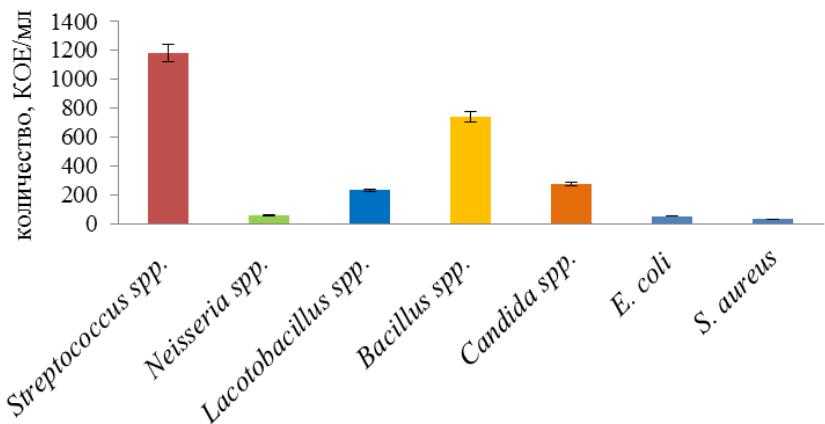
Виды *S. mutans* и *Lactobacillus* spp. традиционно считаются основными маркерами микробного риска и мишениями для профилактики кариеса [57],

недавние исследования роли видов *Candida* в развитии кариеса и их синергетического взаимодействия с *S. mutans* пролили новый свет на потенциальные подходы к раннему прогнозированию и последующей профилактике кариеса зубов. Обычно обнаруживается, что присутствие видов *Candida* в полости рта положительно коррелирует с плохой гигиеной полости рта и высоким потреблением углеводов [29]. Следующие научные данные подтверждают его потенциальную кариесогенную роль: (а) виды *Candida* (особенно *C. albicans*) часто обнаруживаются в более высоких концентрациях в полости рта у детей с кариесом по сравнению с детьми без кариеса и положительно коррелируют с тяжестью кариеса. Недавний метаанализ показал, что у детей с оральной инфекцией *C. albicans* вероятность развития кариеса в 5 раз выше, чем у детей без этого гриба [17].

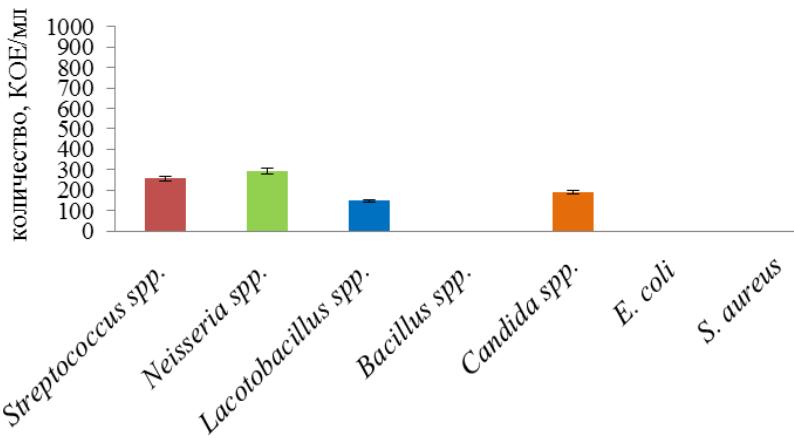
Наше исследование показывает, что ополаскиватели для полости рта могут дополнить механический контроль зубного налета в качестве дезинфицирующего средства, учитывая их антисептические, антибактериальные, противогрибковые и противокариесные свойства. Есть также заявления о противораковом потенциале и эффекте заживления ран слизистых оболочек с низкой токсичностью и минимальными побочными эффектами [22].

Подсчет количества выросших колоний каждого вида показал различия при использовании каждого из профилактических средств (рисунок 6).

после еды



после воды



после жевательной резинки

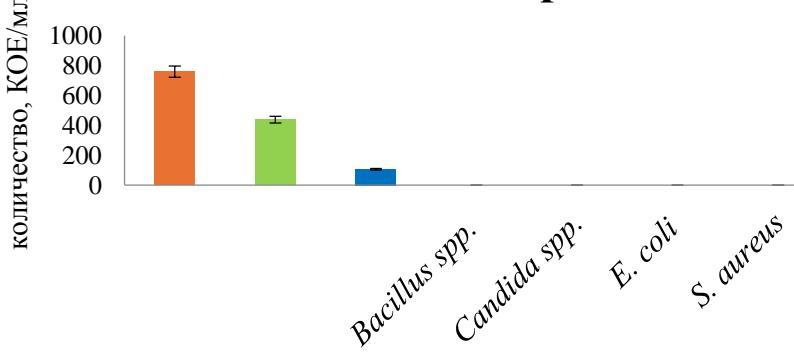




Рисунок 6. Количественное сравнение идентифицированных микроорганизмов

Наибольшее количество микроорганизмов насчитывалось без применения профилактических средств. В среднем насчитывалось бактерий *Streptococcus* spp. 1184 колоний в 1 мл полученной суспензии образцов. С применением профилактических средств количество бактерий существенно снижалось. Не встречались транзиторные бактерии. Однако *Candida* spp. оставались даже после полосканий, что говорит о том, что данные грибы у определенных испытуемых не относятся к оппортунистическим.

ВЫВОДЫ

1. Выделены чистые культуры 51 бактериального изолята, выросших из микробиологических посевов соскоба зубного налета от добровольных испытуемых после еды и применения предложенных профилактических средств.

2. Охарактеризованы все бактериальные изоляты, которые отнесены к 5 родам микроорганизмов: *Streptococcus*, *Neisseria*, *Lacotobacillus*, *Bacillus*, *Candida* и к 2 видам: *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*.

3. Ополаскиватель для полости рта показал наилучшую эффективность. После его применения вырастали незначительное количество колоний *Lacotobacillus* spp. и *Candida* spp. у 29% и 14 % испытуемых, соответственно, у 57% полностью отсутствовал рост микроорганизмов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ротовая полость человека является уникальной экологической системой для большого числа разнообразных микроорганизмов, составляющих постоянную микробиоту, которая выполняет важную роль при поддержании здоровья и в условиях развития патологий. В полости рта постоянные микроорганизмы участвуют в патогенезе распространённых стоматологических заболеваний – кариеса и болезней пародонта.

В нашем исследовании рассмотрены разные профилактические меры для поддержания гигиены полости рта. Наибольшее количество микроорганизмов насчитывалось без применения профилактических средств. В среднем насчитывалось бактерий *Streptococcus* spp. 1184 колоний в 1 мл полученной суспензии образцов. С применением профилактических средств количество бактерий существенно снижалось. Наилучший результат был при применении ополаскивателя для полости рта. При этом не наблюдалось роста микроорганизмов на питательных средах у 57% испытуемых.

Результаты, полученные в ходе исследования, позволяют сделать вывод, что самым эффективным средством для поддержания нормального микробиома ротовой полости после приема еды является специальный ополаскиватель. Далее свою эффективность показало полоскание ротовой полости водой. Вода является удобным и доступным средством, она не изменяет pH ротовой полости, не уничтожает симбионтные бактерии, способствует механическому удалению остатков пищи с поверхности зубов, десен и языка. Также наше исследование показало низкую эффективность жевания жевательной резинки, небольшой положительный эффект, скорее всего, связан с удалением частичек пищи из ротовой полости. Таким образом, в качестве профилактического средства, предупреждающего возникновение кариеса в условиях, когда нет возможности почистить зубы, может быть рекомендовано полоскание рта питьевой водой или специальным ополаскивателем после трапезы.

Список использованной литературы

1. Ахременко, Я. А. Микробиология полости рта / Я. А. Ахременко // Учебное пособие. Якутский государственный университет им. М. К. Аммосова. Якутск 2006, - 89 с.
2. Боровский, Е.В. Заболевания слизистой оболочки полости рта и губ / Е.В. Боровский, А.Л. Машкиллейсон // Учебное пособие. М. МЕДпресс, – 2001. – 320 с.
3. Воробьев, А.А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология / А. А. Воробьев // — М. Медицинское агентство. — 2004. — 685 с.
4. Зеновский, В. П. Заболевания слизистой оболочки полости рта в таблицах и схемах / В. П. Зеновский, Т. В. Вилова, Л. И. Токуева, Л. Н. Кузьмина // учебное пособие для студентов стоматологов. Архангельск, – 2006. – 207 с.
5. Иваненко, А.А. Штамм *Bacillus licheniformis*, обладающий выраженным антагонизмом по отношению к *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* и резистентностью к стрептомицину и налидиксовой кислоте / А. А. Иваненко, В. А. Самойленко, И.Ф. Пунтус // Патент № 2501851. 20.12.2013
6. Исхакова, М. К. Оценка эффективности средств гигиены полости рта / М. К. Исхакова, А. К. Шаймерденова, Е. А. Гречкин // Казахстанско-Российский Медицинский университет, г. Алматы. – С. 1–6.
7. Копецкий, И. С. Микробиом полости рта / И. С. Копецкий, Л.В. Побожьева, А.И. Копецкая, Ю.В. Шевелюк // Российский медицинский журнал. – 2021. – С. 365–372.
8. Леонов, Г.Е. Особенности микробиома ротовой полости при различных соматических заболеваниях / Г.Е. Леонов, Ю.Р. Вараева, Е.Н. Ливанцова, А.В. Стародубова // Вопросы питания. 2023, - 92 с.

9. Побожьева, Л.В. Роль биопленки в патогенезе воспалительных заболеваний полости рта и способы ее устранения / Л. В. Побожьева, И. С. Копецкий // М. – 2012. – С. 9–13.
10. Поздеев, О. К. Медицинская микробиология / О. К. Поздеев // М.: ГЭОТАР-Медиа, – 2010. – 768 с.
11. Правосудова, Н. А. Микробиология полости рта / Н. А. Правосудова, В. Л. Мельников// Пенза: Учебно-методическое пособие для студентов медицинских вузов. – 2013. – 89 с.
12. Правосудова, Н. А. Основы санитарной и фармацевтической микробиологии / Н. А. Правосудова, В. Л. Мельников, Л. В. Мельников // Учебное пособие. Пенза. Издательство ПГУ 2014, - 119 с.
13. Усова, Н.Ф. Воспалительные заболевания пародонта: патогенез, принципы комплексного лечения / Н. Ф. Усова // Сибирский медицинский журнал. 2013. № 1. С. 141–144.
14. Хафизов, Р. Г. Патоморфологические процессы и элементы поражения при заболеваниях слизистой оболочки полости рта / Р. Г. Хафизов, Ф. А. Хафизова, Н. В. Малышев, А.Р. Фасахов // учебно-методическое пособие. Казань, – 2019. – 54 с.
15. Царев, В. Н. Микробиология, вирусология и иммунология полости рта / В. Н. Царев// М.: – 2013. – 576 с.
16. Aas J. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity / Aas J. A., Paster B. J., Stokes L. N., Olsen I., Dewhirst F. E // Clin. Microbiol. – 2005. – Р. 571–575.
17. Aljaffary M. Effects of Nystatin oral rinse on oral Candida species and Streptococcus mutans among healthy adults. / Aljaffary M, Jang H, Alomeir N, Zeng Y, Alkhars N, Vasani S, Almulhim A, Wu T.T., Quataert S., Bruno J., Lee A., Xiao J. // Clin Oral Investig. – 2023. Р. 3557–3568.
18. Chávez de Paz L. Streptococci from root canals in teeth with apical periodontitis receiving endodontic treatment / Chávez de Paz L., Svensäter G., Dahlén G., Bergenholz G. // – 2005. – Р. 232–241.

19. Collins L. The surface area of the adult human mouth and thickness of the salivary film covering the teeth and oral mucosa. / Collins L.M., Dawes C. // Dent Res. – 1987. – P. 1300–1302.
20. Croxatto A. Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology / Croxatto A., Prod'hom G., Greub G. // — 2012. P. 315–328.
21. Curtis M. The role of the microbiota in periodontal disease / Curtis M.A., Diaz P.I., Van Dyke T.E. // Periodontol 2000. – 2020. – Vol. 83, N 1. P. 14–25.
22. Duane B. Alternatives and Future Directions. / Duane B., Yap T., Neelakantan P., Anthonappa R., Bescos R., McGrath C., McCullough M., Brookes Z. // Int Dent J. – 2023. – P. 89-97.
23. Emilson C. Effect of chlorhexidine on human oral streptococci. / Emilson C.G., Ericson T., Lilja J., Heyden G. // Periodontal Res. – 1972. – P. 189–191.
24. Fenselau C. Characterization of intact microorganisms by MALDI mass spectrometry / Fenselau C., Demirev P.A.// – 2001. – P. 29–31.
25. Ge Y. (2008) Streptococcus mutans and Streptococcus sanguinis colonization correlated with caries experience in children / Ge Y., Caufield P.W., Fisch G.S., Li Y. // Caries Res. – 2008. – P. 444–448.
26. Giannobile W. Salivary diagnostics: oral health and beyond / Giannobile W.V., Wong D.T. // Dent Res. – 2011. – P. 1153–1154.
27. Giebel R. Microbial fingerprinting using matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) applications and challenges / Giebel R., Worden C., Rust S. M. et al. // 2010. – P. 112–121.
28. Giertsen E. Effects of mouth rinses with xylitol and fluoride on dental plaque and saliva / Giertsen E., Emberland H., Scheie A.A. // Caries Res. – 1999. – P. 23–31.

29. Graves D. Review of osteoimmunology and the host response in endodontic and periodontal lesions. / Graves D. T., Oates T., Garlet G. P. // Oral Microbiol. – 2011. – P. 76–81.
30. Gusberti F. Microbiological and clinical effects of chlorhexidine digluconate and hydrogen peroxide mouthrinses on developing plaque and gingivitis / Gusberti F.A., Sampathkumar P., Siegrist B.E., Lang N.P. // Clin Periodontol. – 1988. – P. 60–71.
31. Hoare A. A cross-species interaction with a symbiotic commensal enables cell-density-dependent growth and in vivo virulence of an oral pathogen / Hoare A., Wang H., Meethil A., Abusleme L., Hong B.Y., Moutsopoulos N.M., et al. // ISME. – 2021. – P. 1490–1504.
32. Hussein N. Oral microbiota associated with gingiva of healthy, gingivitis and periodontitis cases / Hussein N.A., Soliman Z.S., Edrees M.F. // Microb Pathog. – 2022. – P. 456–457.
33. Jensen J. Adsorption of human salivary proteins to hydroxyapatite: a comparison between whole saliva and glandular salivary secretions / Jensen J.L., Lamkin M.S., Oppenheim F.G. // Dent Res. – 1992. – P. 1569–1576.
34. Kaplan C. The *Fusobacterium nucleatum* outer membrane protein RadD is an arginine-inhibitable adhesin required for inter-species adherence and the structured architecture of multispecies biofilm / Kaplan C.W., Lux R., Haake S.K., Shi W. // Mol Microbiol. – 2009. – P. 35–47.
35. Kilian M. The oral microbiome – friend or foe? / Kilian M. // Eur J Oral Sci. – 2018. – Vol. 126 Suppl 1, N. P. 5–12.
36. Kolenbrander P. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance / Kolenbrander P.E., Palmer R.J., Periasamy S. Jakubovics N.S. // Nat Rev Microbiol. – 2010. – P. 471–480.
37. Krishnan K. A practical guide to the oral microbiome and its relation to health and disease / Krishnan K., Chen T., Paster B.J. // Oral Dis. – 2017. – P. 276–286.

38. Le M. Oral colonisation by antimicrobial-resistant Gram-negative bacteria among long-term care facility residents: prevalence, risk factors, and molecular epidemiology / Le M. N., Kayama S., Yoshikawa M., Hara T., Kashiyama S., Hisatsune J., et al. // *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* – 2020. – P. 45–48.
39. Leão I. *Pseudomonadota* in the oral cavity: a glimpse into the environment-human nexus / Leão I., de Carvalho T. B., Henriques V., Ferreira C., Sampaio-Maia B., Manaia C. M. // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2023. – P. 517–534.
40. Li J. Identification of early microbial colonizers in human dental biofilm / Li J, Helmerhorst EJ, Leone CW, Troxler RF, Yaskell T, Haffajee AD, et al. // *Appl Microbiol.* – 2004. – P. 1311–1318.
41. Lima A. Nasopharyngeal Gram-Negative bacilli colonization in Brazilian children attending day-care centers / Lima A. B., de Oliveira Leão L. S., Oliveira L. S., Pimenta F. C. // *Braz. Microbiol.* – 2010. – P. 24–27
42. Mager D. Distribution of selected bacterial species on intraoral surfaces / Mager D. L., Ximenez-Fyvie L. A., Haffajee A. D., Socransky S. S. // *Clin. Periodontol.* – 2003. – P. 644–654.
43. Mann S. Isolation, Characterization and Biosafety Evaluation of *Lactobacillus Fermentum* OK with Potential Oral Probiotic Properties / Mann S., Park M.S., Johnston T.V., Ji G.E., Hwang K.T., Ku S. // *Probiotics Antimicrob Proteins.* – 2021. – P. 1363-1386.
44. Maria Remes Troche J. *Lactobacillus acidophilus* LB: A useful pharmabiotic for the treatment of digestive disorders / Maria Remes Troche J., Coss Adame E., Angel Valdovinos Diaz M., Gomez Escudero O., Eugenia Icaza Chavez M., Antonio Chavez-Barrera J., Zarate Mondragon F., et al. // *Ther. Adv. Gastroenterol.* – 2020. – P. 731–740.
45. Marinho V. Fluoride toothpastes for preventing dental caries in children and adolescents / Marinho V.C., Higgins JP, Sheiham A, Logan S. // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2003. – P. 34–39.

46. Mark Welch J. Geography of the oral microbiome: habitat and niche on a micro scale / Mark Welch J. L., Ramírez-Puebla S. T., Borisy G. G. // The microbe is a cellular host. – 2020. – P. 160–168.
47. Marsh P. Oral Microbiology / Marsh P., Martin M.V. // Wright Edinburgh. – 2003. – P. 544–550.
48. Mira A. Oral microbiome studies: potential diagnostic and therapeutic implications / Mira A. // Adv. Dent. Res. – 2018. – P. 71–77.
49. Narayanan L. Endodontic microbiology / Narayanan L. L., Vaishnavi C. // Conserv. Dent. – 2010. – P. 233–239.
50. Niven C. A study of streptococci associated with subacute bacterial endocarditis / Niven C.F., White J.C // Bacteriol. – 2001. – P. 70–73.
51. Osei M. Alarming levels of multidrug resistance in aerobic gram-negative bacilli isolated from the nasopharynx of healthy under-five children in Accra, Ghana / Osei M. M., Dayie N. T., Azaglo G. S. K., Tettey E. Y., Nartey E. T., Fenny A. P., et al. // Int. J. Environ. Res. Public Health. – 2022. – P. 109–110.
52. Paramita D. A., Kharina., Lubis N. Z. Bacterial colonization in atopic dermatitis / Paramita D. A., Kharina., Lubis N. Z. // Bali Med. J. – 2022. P. 1924–1925.
53. Patel R. MALDI-TOF Mass Spectrometry: Transformative Proteomics for Clinical Microbiology / Patel R. // – 2013. – P. 16–22.
54. Tezel U. Quaternary ammonium disinfectants: microbial adaptation, degradation and ecology / Tezel U., Pavlostathis S.G. // Curr Opin Biotechnol. – 2015. – P. 296–304.
55. Timur T. The effects of oral microbiota on health. Oral microbiota form complex biofilms that can affect local and systemic health. / Timur T., Koji Y., Kenya H. // – 2005. – P. 34–38.
56. Vaidyanathan S. Sample preparation in matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of whole bacterial cells and the detection of high mass proteins / Vaidyanathan S., Winder C.L., Wade S.C., et al. // – 2002. – P. 574–577.

57. Valdebenito B. In silico analysis of the competition between *Streptococcus sanguinis* and *Streptococcus mutans* in the dental biofilm / Valdebenito B., Tullume-Vergara P.O., González W., Kreth J., Giacaman R.A. // Mol Oral Microbiol. – 2017. – P. 168–180

58. Wade W. The oral microbiome in health and disease / Wade W.G. // Pharmacol Res. – 2013. – P. 137–143.

59. Zarco M. The oral microbiome in health and disease and the potential impact on personalized dental medicine / Zarco M.F., Vess T.J., Ginsburg G.S. // Oral Diseases. 2012. № 18. P. 109–120.

60. Zoe B. Mouthwash Effects on the Oral Microbiome: Are They Good, Bad, or Balanced / Zoe B., Leanne T., Fabian C., Purnima K. // – 2023. – P. 1–8.

СПРАВКА

о результатах проверки текстового документа
на наличие заимствований

Башкирский государственный медицинский
университет

ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.ВУЗ

Автор работы: Исхакова Р. И.

Самоцитирование

рассчитано для: Исхакова Р. И.

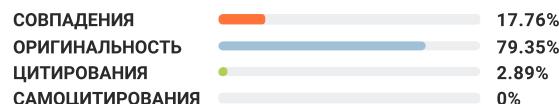
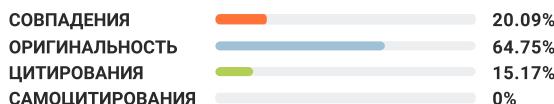
Название работы: АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ДЛЯ ПОДДЕРЖАНИЯ НОРМАЛЬНОГО МИКРОБИОМА ПОЛОСТИ РТА ПОСЛЕ ПРИЕМА ПИЩИ

Тип работы: Выпускная квалификационная работа

Подразделение: Башкирский Государственный Медицинский Университет

РЕЗУЛЬТАТЫ

■ ОТЧЕТ О ПРОВЕРКЕ КОРРЕКТИРОВАЛСЯ: НИЖЕ ПРЕДСТАВЛЕНЫ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕРКИ ДО КОРРЕКТИРОВКИ



ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 20.06.2024

ДАТА И ВРЕМЯ КОРРЕКТИРОВКИ: 21.06.2024 11:03

Структура документа: Проверенные разделы: библиография с.70-76, титульный лист с.1, содержание с.2-3, основная часть с.4-69

Модули поиска: Сводная коллекция ЭБС; Кольцо вузов (переводы и перефразирования); Интернет Плюс*; Шаблонные фразы; Цитирование; Переводные заимствования*; СПС ГАРАНТ: аналитика; ИПС Адилет; Библиография; Кольцо вузов; Коллекция НБУ; IEEE; Переводные заимствования по Интернету (EnRu); Переводные заимствования издательства Wiley; Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования); Перефразирования по Интернету (EN); Переводные заимствования IEEE; Перефразирования по коллекции IEEE; СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация; Публикации РГБ; Перефразирования по коллекции издательства Wiley; Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте; Диссертации НББ; Переводные заимствования (RuEn); Перефразирования по СПС ГАРАНТ;

Работу проверил: Банникова Ольга Сергеевна

ФИО проверяющего

Дата подписи:

Подпись проверяющего



Чтобы убедиться
в подлинности справки, используйте QR-код,
который содержит ссылку на отчет.

Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование
корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего.
Предоставленная информация не подлежит использованию
в коммерческих целях.