

Микробиологический мониторинг состояния биопленки зуба при применении хлоргексидина и ксилита в комплексном лечении кариеса у детей раннего возраста

Е.В. КИРИЛЛОВА, асп. каф. детской терапевтической стоматологии МГМСУ
В.Н. ЦАРЕВ, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии МГМСУ, д.м.н., проф.

Л.П. КИСЕЛЬНИКОВА, зав. кафедрой детской терапевтической стоматологии МГМСУ, д.м.н., проф.

В.О. АРТЕМОВА, младш. научн. сотр. лаборатории молекулярно-биологических исследований НИМСИ

Microbiological monitoring of a condition of a dental biofilm at application of chlorhexidine and xylitol in complex treatment of early childhood caries

E.V. KIRILLOVA, V.N. TSAREV, L.P. KISELNIKOVA, V.O. ARTEMOVA

86

Резюме

Высокая распространенность кариеса у детей раннего возраста предполагает необходимость применения лечебно-профилактических средств, воздействующих на ведущий фактор этиопатогенеза данного заболевания – патогенную микрофлору. В настоящем исследовании получены сравнительные данные противомикробной эффективности средств, содержащих ксилит и хлоргексидин, а также их влияние на состав микробиоценоза зубной биопленки.

Ключевые слова: кариес раннего детского возраста, микрофлора полости рта, ксилит, хлоргексидин.

Abstract

High prevalence of Early Childhood Caries (ECC) assumes necessity of application of the treatment-and-preventive means influencing on the leading factor of etiopathogenesis of given disease – pathogenic microflora. In this study the comparative data antibacterial efficiency of the means containing xylitol and chlorhexidine, and also their influence on structure of microbiocenosis of a dental biofilm is obtained.

Key words: early childhood caries, oral microflora, xylitol, chlorhexidine.

Несмотря на большое количество исследований по изучению этиопатогенеза, клиники, диагностики, лечения и профилактики кариеса у детей раннего возраста [1, 4, 15], эта проблема остается одной из самых важных в практике детского врача-стоматолога в связи с высокой распространенностью и интенсивностью данного заболевания во многих странах мира [1, 4, 15, 20].

Накопленный в последние десятилетия опыт свидетельствует, что

ведущая роль в возникновении кариеса, в том числе и у детей раннего возраста, принадлежит стрептококковой микрофлоре, в частности *Streptococcus mutans* [15]. Однако, учитывая сложный и меняющийся состав зубной бляшки, необходимо отметить, что некоторые другие микроорганизмы способны также вызывать кариес, хотя и в меньшей степени: *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus milleri*, *Lactobacillus*, *Actinomyces viscosus* [6].

Одним из важнейших биологических свойств *Streptococcus mutans* является их способность прикрепляться к гладким поверхностям зубов и образовывать молочную кислоту. Адгезия к зубам обеспечивает формирование зубных бляшек этими микроорганизмами, и это действие опосредованно синтезом глюкозных полимеров из сахарозы, присутствующей в пище. Образование глюкана вызывает межклеточную агрегацию *Str. mutans* и других бактерий, присутствующих

в бляшке. Липкий глюкановый матрикс зубной бляшки препятствует диффузии большого количества кислоты, образуемой микроорганизмами, что продлевает ее пребывание на поверхности зубов и ведет к деминерализации эмали, вызывая кариес зубов [6].

Доказано, что чаще всего инфицирование ребенка кариесогенной микрофлорой происходит преимущественно от матери или других людей, ухаживающих за ним [15]. Уменьшение уровня *Streptococcus mutans* у лиц, ухаживающих за ребенком, может снизить риск развития кариеса у детей раннего возраста. Поэтому родителям рекомендуется провести санацию полости рта и тщательно ухаживать за зубами, а в случае выявления высокого уровня обсемененности зубной биопленки кариесогенной микрофлорой местно использовать лечебно-профилактические препараты, подавляющие ее активность.

Возраст, в котором произошло инфицирование ребенка *Streptococcus mutans*, очень важен, так как чем раньше оно произошло, тем выше риск и интенсивность кариозного процесса [18, 19]. Ранее считалось, что колонизация кариесогенной микрофлоры в полости рта беззубых младенцев невозможна. Однако клинические исследования, проведенные в последние годы, показали, что *Streptococcus mutans* способен образовывать колонии в бороздках спинки языка еще до прорезывания зубов [23, 26, 27].

Вертикальная трансмиссия является не единственным способом передачи кариесогенной микрофлоры в человеческой популяции. Генотипический анализ *Streptococcus mutans*, выделенных из полости рта детей ясельного возраста (12-30 мес.), показал, что многие дети имеют идентичные генотипы *Streptococcus mutans* [22, 25]. Этот факт доказывает наличие горизон-

тальной трансмиссии как способа передачи кариесогенных микроорганизмов.

Поражения зубов у детей раннего возраста рассматриваются как клинический синдром, имеющий различные названия. Однако в последнее время в медицинской литературе для обозначения данной патологии используется термин *Early Childhood Caries* (ранний детский кариес).

При кариесе раннего детского возраста временные зубы поражаются практически сразу после их прорезывания. Первые кариозные поражения обычно обнаруживаются на вестибулярной поверхности резцов верхней челюсти в пришеечной области в виде участков меловидного цвета (очаговая деминерализация). Эти очаги очень быстро (за два-три месяца) приобретают светло-желтый цвет, затем на этом месте возникают кариозные дефекты (рис. 1).

Кариозный процесс характеризуется быстротой течения, распространением в ширину (плоскостной кариес), множественным поражением зубов в порядке их прорезывания (кроме резцов нижней челюсти). Редкое поражение нижних резцов при данной патологии объясняется лучшими возможностями самоочищения (из-за положения языка) и обильного омывания слюной.

Часто на резцах и клыках верхней челюсти преобладает циркулярный кариес, нередко приводящий к отлому коронки. Встречается также нетипичная небная локализация кариеса в пришеечной области верхних резцов и клыков.

У малышей с ранним детским кариесом в полости рта отмечается большое количество налета, нередко трудно снимающегося, с желтоватым оттенком, и связанные с ним проявления катарального гингивита, гиперемия и отечность десны альвеолярного отростка (рис. 2).

Получить стойкий положительный эффект при лечении кариеса раннего детского возраста можно только при использовании комплекса лечебно-профилактических мероприятий на все звенья этиопатогенеза заболевания, в том числе и на кариесогенную микрофлору [5].

Наиболее часто в клинической практике зарубежных авторов для подавления активности кариесогенной микрофлоры применяются препараты на основе хлоргексидина, йодида и их комбинации [15, 20, 28].

Также известно, что ксилит обладает специфическим противомикробным действием в отношении к наиболее кариесогенным микроорганизмам – *Streptococcus mutans*. Ферментативное расщепление сахаров является источником получения энергии для бактериальной клетки. Кариесогенные микроорганизмы поглощают ксилит в процессе своей жизнедеятельности, однако они не имеют специфических ферментов, перерабатывающих ксилит, что приводит к его переизбыточному накоплению в бактериальной клетке. Далее происходит либо гибель микроорганизмов [7], либо экскреция ксилита обратно в ротовую полость. В последнем случае, в результате так называемого «холостого цикла» кариесогенные микробы впустую расходуют энергию, что приводит к задержке их роста и размножения [8, 21].

Кроме того, ксилит снижает адгезию кариесогенных микроорганизмов к твердым тканям зубов, препятствует образованию зубной бляшки, что способствует лучшему гигиеническому состоянию полости рта [2, 14, 24].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сравнить эффективность противомикробных препаратов, относящихся к различным фармакологическим группам – антисептики (хлоргексидин) и сахарозаменители (ксилит), а также их влияние на состав микробиоценоза биопленки зуба.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Под нашим наблюдением в течение одного месяца находились 30 пациентов в возрасте от 12 до 36 месяцев с кариесом раннего детского возраста (18 мальчиков и 12



Рис. 1



Рис. 2

девочек). Клиническое обследование полости рта проводили по стандартной схеме с заполнением индивидуальной карты, определением значения индекса КПУз, КПУп. Для оценки гигиенического состояния полости рта использовали индекс для оценки зубного налета у детей раннего возраста (Кузьмина Э. М., 2000). Также визуально определяли наличие или отсутствие явлений катарального гингивита.

Все дети не предъявляли жалоб на боль, и по показаниям им был назначен следующий комплекс консервативных лечебно-профилактических мероприятий:

1. Улучшение гигиенического состояния полости рта.
2. Нормализация характера и режима питания (устранение углеводного фактора).
3. Местная противомикробная терапия (в домашних условиях).
4. Местная реминерализующая терапия с использованием кальций-фосфатсодержащих препаратов (в домашних условиях).
5. Аппликации фторидов местно один раз в месяц (в условиях стоматологического кабинета).
6. Герметизация фиссур временных моляров.
7. Общая эндогенная фторпрофилактика (при проживании в местности с пониженным содержанием фтора в питьевой воде).
8. Обследование у педиатра для выявления общесоматической патологии и возможной гипокальциемии.
9. Диспансерное наблюдение.

Слепым методом было произведено разделение пациентов на две группы, по 15 человек в каждой. Пациенты 1-й группы для проведения местной противомикробной и реминерализующей терапии в течение одного месяца использовали аппликационный высокоадгезивный гель *R.O.C.S. Medical Minerals*, содержащий глицерофосфат кальция, хлорид магния и ксилит (10%). Аппликации реминерализующего геля *R.O.C.S. Medical Minerals* было назначено проводить ежедневно после предварительной чистки зубов 4-5 раз в день.

Пациентам 2-й группы для проведения местной противомикробной терапии были назначены ежедневные одно-двухминутные аппликации 0,1% раствора хлоргексидина один раз в день в течение 7-10 дней. В ка-

честве реминерализующей терапии в течение одного месяца ежедневно применялся гель «Белгель Са/Р». Аппликации данным реминерализующим гелем было рекомендовано проводить после чистки зубов 4-5 раз в день.

Все вышеперечисленные процедуры проводили родители пациентов в домашних условиях после предварительного инструктирования.

Исходно и в конце назначенного лечебного курса всем пациентам провели бактериологические исследования и молекулярно-биологические исследования с применением мультиплексной полимеразной цепной реакции на базе лаборатории молекулярно-биологических исследований Научно-исследовательского медицинского стоматологического института (НИМСИ).

Для бактериологического исследования проводили забор материала зубной бляшки с вестибулярной поверхности центрального резца верхней челюсти (до применения химиотерапевтических препаратов или специальной гигиенической обработки).

Взятие материала проводили утром, до процедуры чистки зубов с помощью стерильного бумажного эндодонтического штифта стандартного размера (№30), который затем помещали в полужидкую питательную среду Стюарта для последующей транспортировки. До транспортировки транспортную систему держали при температуре 2-4°C. Транспортировку осуществляли в охлажденном состоянии в течение одного часа. Дальнейшее бактериологическое исследование проводили в соответствии с общепринятыми правилами клинической анаэробной микробиологии.

Далее проводили количественный секторальный посев на среды, предназначенные для культивирования стрептококков и других бактерий полости рта в аэробных и анаэробных условиях.

Чистые культуры облигатно- и факультативно-анаэробных бактерий в анаэробных условиях получали, используя 5% кровяной гемин-агар, приготовленный на основе *Brain-Heart Infusion* фирмы *Difco* с добавлением гемина (5 мкг/мл) и менадиона (0,1 мкг/мл), с обязательным помещением посевов в анаэроостаты с бескислородной газовой смесью, содержащей 80% азота, 10% водо-

рода, 10% углекислого газа. Для редукции остатков кислорода использовали палладиевый катализатор.

Результаты количественного исследования выражались в колониеобразующих единицах – КОЕ/мл.

Изолированные колонии бактерий в аэробных условиях получали используя:

- 5% кровяной агар на основе *Brain-Heart Infusion*,
- селективно-дифференциальный агар *mitis-salivarius*,
- хромогенную среду M1353 фирмы *Himedia*,
- хромогенную среду для дифференциации грибов фирмы *Himedia*.

После идентификации полученных изолированных колоний и подсчета их количества на скошенном *Brain-Heart Agar* или полужидкой среде АС получали чистые культуры бактерий. Культивирование в анаэробных условиях проводили до семи суток, в аэробных – до трех суток.

С помощью комплекса морфологических, культуральных и биохимических признаков устанавливали вид выделенных бактерий.

Биохимическую идентификацию чистых культур анаэробных бактерий, стрептококков и грамотрицательных бактерий проводили с помощью тест-систем фирмы *API* (Франция) и *Roche* (Германия).

Трактовку результатов делали, опираясь на нормы обсемененности.

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили с использованием тест-набора «МультиДент» (ООО «ГенЛаб», РФ) для выявления пяти основных видов пародонтопатогенных бактерий (мультиплексная ПЦР): *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus* и *Treponema denticola*.

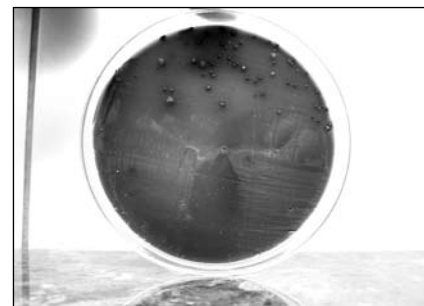


Рис. 3. Колонии кариесогенных альфа-зеленящих стрептококков *S. mitis* (крупные) и *S. sanguis* (мелкие) в посевах на 5% кровяном гемин-агаре материала зубной бляшки ребенка

Таблица 1.

Состав кариесогенной и резидентной микробной флоры зубной бляшки до и после применения реминерализующего геля *R.O.C.S. Medical Minerals* с ксилитом (n = 15)

Род, вид бактерий	Фон		После лечения		P
	M+m Ig CFU	I	M+m Ig CFU	I	
<i>Streptococcus mutans</i>	5,45 ± 0,25	73,3	4,45 ± 0,20*	40,0*	<0,05
<i>Streptococcus sanguis</i>	7,15 ± 0,26	100,0	6,52 ± 0,21*	100,0	<0,05
<i>S. salivarius</i>	4,67 ± 0,18.	60,0	4,38 ± 0,24	53,3	>0,05
<i>Enterococcus spp.</i>	5,92 ± 0,19	60,0	5,53 ± 0,14	86,7**	<0,05
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	5,14 ± 0,14	46,7	5,29 ± 0,28	46,7	>0,05
<i>Actinomyces spp.</i>	4,67 ± 0,23	60,0	5,00	33,3*	<0,05
<i>Veillonella parvula</i>	4,20 ± 0,09	33,3	4,00 ± 0,12	46,7**	<0,05

*значения достоверно ниже по сравнению с фоном до лечения; **значения достоверно выше по сравнению с фоном до лечения

Взятие проб для ПЦР-диагностики пародонтита проводили в соответствии с методическими рекомендациями Царева В. Н. с соавт. (2002) и использовали для идентификации выделенных культур ферментообразующих бактериоидов и актинобацилл.

Для выделения ДНК использовали вариант пробоподготовки с помощью набора реагентов для выделения ДНК из клинического материала с помощью набора реагентов ООО «ГенЛаб» (РФ), включающего:

- «Экстраген» – суспензию смеси гранул ионнообменников (1 флакон, 10 мл);
- «Энзимикс», протеолитический комплекс (1 пробирка с лиофилизированным содержимым);
- Растворитель «Энзимикса» (1 пробирка, 100 мкл).

Дальнейшее выделение и детекцию ДНК пародонтопатогенных бактерий осуществляли в соответ-

ствии с медицинской технологией ФС-2006/043-У, разработанной на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии МГМСУ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При клиническом обследовании полости рта пациентов 1-й группы установлен высокий уровень интенсивности кариеса временных зубов: среднее значение индекса КПУз – 5,9 ± 1,4, КПУп – 12,9 ± 3,1. Уровень гигиены полости рта оценивался как плохой: средний показатель индекса для оценки зубного налета у детей раннего возраста (Кузьмина Э. М., 2000) составил 0,75 ± 0,09. У 73,3% пациентов наблюдались явления катарального гингивита, у 53,3% – гиперемия и отечность десны альвеолярного отростка.

При исходном исследовании микробной флоры зубной бляшки у пациентов 1-й группы установлен

высокий уровень микробной контаминации (обсемененности) как резидентными, так и агрессивными видами кариесогенной и пародонтопатогенной групп (табл. 1).

Основной кариесогенный вид – *Streptococcus mutans* выделен у 73,3% пациентов, причем уровень обсемененности, выраженный через десятичный логарифм, составил 5,45 ± 0,25 (около 10⁵ CFU/ml). Высоким оказался также уровень обсемененности другим кариесогенным видом – *Streptococcus sanguis* (7,15 ± 0,26, то есть около 10⁷ CFU/ml) при частоте выделения у 100% пациентов (рис. 3). Представителей рода *Actinomyces spp.* которые также обладают высокой степенью адгезии к эмали зуба и выраженной кислотопродуцирующей функцией, определяли у 60% пациентов в умеренном количестве – 4,67 ± 0,23 (то есть около 10⁵ CFU/ml).

Таблица 2.

Состав вирулентной микробной флоры зубной бляшки до и после лечения с применением реминерализующего геля *R.O.C.S. Medical Minerals* с ксилитом (n = 15)

Род, вид бактерий	Фон		После лечения		P
	M+m Ig CFU	I	M+m Ig CFU	I	
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	н/опред.	0	н/опред.	0	–
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	5,45 ± 0,29	40,0	5,78 ± 0,25	40,0	>0,05
<i>Prevotella melaninogenica</i>	4,44 ± 0,23	60,0	5,40 ± 0,11**	33,3*	<0,05
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	5,33 ± 0,12	20,0	4,50 ± 0,14*	13,3*	<0,05
<i>Staphylococcus aureus</i>	н/опред.	0	4,00	6,7	>0,05
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4,50 ± 0,14	13,3	4,20 ± 0,09	33,3**	<0,05
<i>Candida albicans</i>	4,77 ± 0,37	20,0	н/опред.*	0*	<0,05

*значения достоверно ниже по сравнению с фоном до лечения; **значения достоверно выше по сравнению с фоном до лечения

Таблица 3.

Состав кариесогенной и резидентной микробной флоры зубной бляшки до и после местного применения 0,1% раствора хлоргексидина (n = 15)

Род, вид бактерий	Фон		После лечения		P
	M+m Ig CFU	I	M+m Ig CFU	I	
<i>Streptococcus mutans</i>	5,50 ± 0,32	66,7	4,90 ± 0,26*	66,7	<0,05
<i>Streptococcus sanguis</i>	6,97 ± 0,21	100,0	6,33 ± 0,29*	100,0	<0,05
<i>S. salivarius</i>	5,50 ± 0,11	40,0	5,52 ± 0,24	53,3	>0,05
<i>Enterococcus spp.</i>	6,33 ± 0,09	46,7	6,08 ± 0,15	26,7*	<0,05
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	4,96 ± 0,25	46,7	4,60 ± 0,42	33,3*	<0,05
<i>Actinomyces spp.</i>	5,14 ± 0,24	60,0	5,83 ± 0,08**	40,0*	<0,05
<i>Veillonella parvula</i>	4,50 ± 0,26	26,7	4,60 ± 0,23	33,3	>0,05

*значения достоверно ниже по сравнению с фоном до лечения; **значения достоверно выше по сравнению с фоном до лечения

Вместе с тем, обсемененность зубной бляшки *Veillonella parvula* была достоверно ниже, чем у представителей кариесогенных видов, и составляла 4,20 ± 0,09, причем частота выявления данного вида составляла 33,3%. Известно, что *Veillonella parvula* занимают особое место среди метаболических антагонистов кариесогенных видов, так как утилизируют и нейтрализуют кислоты, что позволяет рассматривать их как ведущий микробный фактор кариесорезистентности [11, 16].

Прочие резидентные виды также играют определенную роль с точки зрения торможения колонизации кариесогенных стрептококков, однако она является менее значимой. У пациентов 1-й группы степень обсемененности прочими резидентными видами колебалась в пределах 10⁴...10⁵ CFU/ml при частоте выявления 46,7-60,0%.

Представленная микробиологическая картина у пациентов 1-й группы, очевидно, соответствует развитию кариозного процесса.

Особый интерес представляло выявление бактерионосительства представителей пародонтопатогенных видов анаэробных бактерий (табл. 2).

У большинства пациентов выделяли от двух до трех видов пародонтопатогенов одновременно в количестве 10⁵...10⁶ CFU/ml, что соответствовало 5,0-6,0 в логарифмическом выражении (или диагностическому уровню полимеразной цепной реакции для большинства пародонтопатогенных видов).

Наиболее значительной была частота выделения представителей основного пародонтопатогена – *Porphyromonas gingivalis* (40,0%), а также вирулентного анаэробного вида *Prevotella melaninogenica* (60%). Прочие пародонтопатогенные и вирулентные виды –

Fusobacterium spp. и *Klebsiella spp.* выделяли у 20 и 13,3% пациентов соответственно. Довольно часто, у 20% пациентов, обнаруживали представителей дрожжеподобных грибов *Candida albicans* в значительном количестве (4,77 ± 0,37).

В результате клинического обследования полости рта пациентов 2-й группы также установлен высокий уровень интенсивности кариеса временных зубов: среднее значение индекса КПУз – 6,5 ± 1,5, КПУп – 14,2 ± 3,3. Гигиеническое состояние полости рта оценивалось как плохое: средний показатель индекса для оценки зубного налета у детей раннего возраста (Кузьмина Э. М., 2000) составил 0,78 ± 0,1. У 66,7% пациентов наблюдались явления катарального гингивита, у 46,7% – гиперемия и отечность десны альвеолярного отростка.

При исходном анализе частоты выделения представителей основ-

Таблица 4.

Состав вирулентной микробной флоры зубной бляшки до и после лечения с местным применением аппликаций 0,1% раствором хлоргексидина (n = 15)

Род, вид бактерий	Фон		После лечения		P
	M+m Ig CFU	I	M+m Ig CFU	I	
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	н/опред.	0	н/опред.	0	–
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	6,73 ± 0,05	20,0	6,48*	6,7*	<0,05
<i>Prevotella melaninogenica</i>	5,12 ± 0,19	33,3	4,65 ± 0,21*	40,0	<0,05
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	7,00	6,7	5,00 ± 0,14	33,3**	<0,05
<i>Staphylococcus aureus</i>	н/опред.	0	н/опред.	0	–
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4,50 ± 0,14	13,3	4,50 ± 0,43	13,3	>0,05
<i>Candida albicans</i>	5,50 ± 0,12	26,7	5,83 ± 0,08**	40,0**	<0,05

*значения достоверно ниже по сравнению с фоном до лечения; **значения достоверно выше по сравнению с фоном до лечения

ных кариесогенных видов и уровня обсемененности зубной бляшки у пациентов 2-й группы, которые в последующем проводили аппликацию 0,1% раствором хлоргексидина, установлено следующее (табл. 3).

Основной кариесогенный вид – *Streptococcus mutans* выделен у 2/3 пациентов (66,7%), причем уровень обсемененности, выраженный через десятичный логарифм, составил $5,50 \pm 0,32$ (то есть в пределах $10^5 \dots 10^6$ CFU/ml). Еще более высоким оказался уровень обсемененности другим кариесогенным видом – *Streptococcus sanguis* – $6,97 \pm 0,21$ (около 107 CFU/ml), при частоте выделения у 100% пациентов. И, наконец, *Actinomyces spp.*, которые также обладают высокой степенью адгезии к эмали зуба и выраженной кислотопродуцирующей функцией, определяли у 60% пациентов в умеренном количестве – $5,14 \pm 0,24$ (около 10^5 CFU/ml).

Таким образом, частота выделения основных кариесогенных видов несколько отличалась от таковой в 1-й группе, однако общая характеристика высокого уровня колонизации была идентична в обеих сравниваемых группах.

Что касается антагонистичной флоры, то обсемененность зубной бляшки *Veillonella parvula* в данной группе, так же как и в 1-й, была достоверно ниже, чем кариесогенными видами и составляла $4,50 \pm 0,24$, причем представителей рода *Veillonella* обнаруживали примерно у 1/4 пациентов (26,7%).

Прочие резидентные виды, которые играют определенную роль с точки зрения торможения колонизации кариесогенных стрептококков, выделялись с той же частотой и в тех же количествах, что и в 1-й группе.

У пациентов рассматриваемой группы степень обсемененности данными видами колебалась в пределах $10^5 \dots 10^6$ CFU/ml при частоте выявления 40-46,7%. Это соответствует литературным данным, согласно которым у практически здоровых лиц выделение перечисленных представителей резидентной группы обычно не превышает $10^4 \dots 10^6$ CFU/ml при частоте 50-60%. Именно этим видам принадлежит стабилизирующая роль в формировании нормального микробиоценоза полости рта [3, 12].

Описанная микробиологическая картина, очевидно, является важным фактором развития и поддержания кариеса зубов. Возникающий дисбаланс состава нормофлоры, выражающийся в резком увеличении колонизации кислотопродуцирующих стрептококков, а в 46,7% случаев – в ассоциации *Streptococcus mutans* с актиномицетами при недостаточном количестве антагонистичной флоры, в частности *Veillonella*, способствует прогрессирующей деминерализации эмали и развитию кариозного процесса.

У пациентов 2-й группы мы также анализировали бактерионосительство представителей пародонтопатогенных видов анаэробных бактерий (табл. 4).

Так же как и в 1-й группе, у обследованных пациентов выделяли от двух до трех видов пародонтопатогенов одновременно в количестве $10^4 \dots 10^5$ CFU/ml, что соответствовало 4-5,0 в логарифмическом выражении (или диагностическому уровню ПЦР для большинства пародонтопатогенных видов).

Наиболее значительной была частота выделения представителей вирулентного анаэробного вида – *Prevotella melaninogenica* (33,3%).

Несколько реже (у 20,0% пациентов) выделяли представителей основного пародонтопатогенного вида – *Porphyromonas gingivalis*. Прочие пародонтопатогенные и вирулентные виды – *Fusobacterium spp.*, *Klebsiella spp.*, выделяли у незначительного количества пациентов в пределах от 6,7% до 13,3% соответственно. Существенными были количество ($5,50 \pm 0,12$) и частота выделения грибов рода *Candida*.

При клиническом обследовании полости рта пациентов 1-й группы через месяц после назначенного комплекса консервативных лечебно-профилактических мероприятий мы отметили отсутствие прироста новых кариозных полостей и очагов деминерализации; на имеющихся меловидных пятнах происходило восстановление блеска, положительный симптом скольжения зонда. Среди других позитивных изменений следует отметить исчезновение признаков катарального гингивита и удовлетворительное гигиеническое состояние полости рта у всех пациентов (средний показатель индекса для оценки гигиены полости рта у детей раннего возраста (Кузьмина Э. М., 2000) составил $0,38 \pm 0,07$). Кроме того, мы отметили приостановление развития кариозных дефектов, пораженные твердые ткани уплотнились, отграничились от здоровых, то есть течение кариеса приобрело более компенсированный характер.

При повторном исследовании микробной флоры зубной бляшки у пациентов 1-й группы после применения реминерализующего геля *R.O.C.S. Medical Minerals* с ксилитом, мы наблюдали следующую картину (табл. 1, 2).

Выявлено достоверное снижение колонизации кариесогенными ви-

Таблица 5.

Сравнительная оценка изменения частоты выделения микробной флоры зубной бляшки после применения 0,1% хлоргексидина и реминерализующего геля R.O.C.S. Medical Minerals с ксилитом (10%)

Род, вид бактерий	0,1% хлоргексидин	R.O.C.S. medical minerals с ксилитом
<i>Streptococcus mutans</i>	без изменений	снижение на 45,4%
<i>Actinomyces spp.</i>	снижение на 33,3%	снижение на 44,5%
<i>Veillonella parvula</i>	увеличение на 24,7%	увеличение на 40,2%
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	снижение на 66,5%	без изменений
<i>Prevotella melaninogenica</i>	увеличение на 20%	снижение на 44,5%
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	увеличение в 4,8 раза	снижение на 33,5%
<i>Candida albicans</i>	увеличение на 49,8%	полное исчезновение

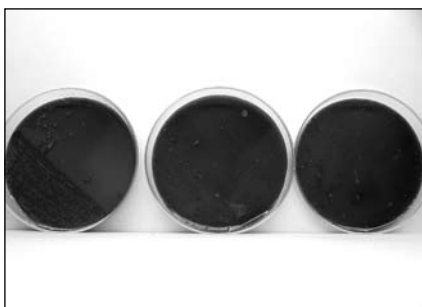


Рис. 4. Снижение обсемененности *Streptococcus mutans* у пациента в процессе применения реминерализующего геля «R.O.C.S. Medical Minerals» с ксилитом: 1-я чашка (до лечения) – 10^6 , 2-я чашка (сразу после окончания курса лечения) – 10^4 , 3-я чашка (через 1 нед. после окончания курса лечения) – 10^3 КОЕ.

дами – *Streptococcus mutans* (с 5,45 до 4,45 lg CFU/ml), *Streptococcus sanguis* (с 7,15 до 6,52 lg CFU/ml), а количество *Actinomyces spp.* практически не изменялось, но наблюдалось снижение частоты выделения с 60% до 33,3%, хотя последняя все равно оставалась значительной (рис. 4).

В то же время наблюдалось некоторое восстановление популяции *Veillonella parvula* у 46,7% пациентов, что можно рассматривать как важную тенденцию в увеличении кариесорезистентности [12, 16].

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о положительном влиянии реминерализующего геля *R.O.C.S. Medical Minerals* с ксилитом на соотношение кариесогенных и резидентных видов, выражающемся, в частности, в снижении обсемененности и частоты выделения *Streptococcus mutans* (с 73,3% до 40%), а также восстановлении популяции вейллонелл, как главно-

го антагониста кариесогенной флоры (рис. 5).

Заслуживает также внимания тот факт, что после применения реминерализующего геля *R.O.C.S. Medical Minerals* с ксилитом в течение одного месяца наблюдалось снижение частоты выделения одного из основных вирулентных анаэробных видов – *Prevotella melaninogenica* (без снижения среднего уровня обсемененности), а также достоверное снижение частоты выделения и уровня обсемененности другим анаэробным видом – *Fusobacterium nucleatum*. Уровень обсемененности *Porphyromonas gingivalis* и частота выделения данного пародонтопатогенного вида не менялась (40,0%).

Важной положительной характеристикой изменения состава микробиоценоза биопленки зуба, несомненно, является исчезновение грибов рода *Candida*.

Полученные данные позволяют заключить, что компоненты реминерализующего геля *R.O.C.S. Medical Minerals* оказывают положительное влияние на состав микробиоценоза биопленки зуба, нормализуя качественный (видовой) состав и количественную обсемененность бактериями кариесогенных и стабилизирующих резидентных видов. Кроме того, при использовании комплекса происходит исчезновение грибов рода *Candida* в биопленке зуба, а также снижение количества и частоты выделения некоторых представителей пародонтопатогенных видов анаэробных бактерий (табл. 5), однако полного устранения их присутствия в зубной бляшке достичь не удается [9, 10, 17].

При клиническом обследовании полости рта пациентов 2-й группы через месяц после назначенного лечения мы отметили отсутствие прироста новых кариозных полостей и очагов деминерализации; исчезновение признаков катарального гингивита у 80% пациентов (от числа имевших его исходно), удовлетворительное гигиеническое состояние полости рта у 73,3% пациентов (средний показатель индекса для оценки гигиены полости рта у детей раннего возраста (Кузьмина Э. М., 2000) составил $0,45 \pm 0,09$).

При исследовании микробной флоры зубной бляшки у пациентов 2-й группы через месяц после назначенного лечения мы наблюдали лишь некоторые позитивные сдвиги в соотношении кариесогенной и нормальной флоры – средние показатели обсемененности представителями вида *Streptococcus mutans* достоверно снижались, хотя и незначительно ($4,90 \pm 0,26$), но частота выявления не проявляла тенденции к снижению и оставалась значительной (66,7%). Другой кариесогенный вид – *Streptococcus sanguis* также проявлял тенденцию к снижению количества в зубной биопленке, хотя продолжал выделяться у всех пациентов (частота оставалась на уровне 100%). Количественные показатели колонизации актиномицетов достоверно не менялись, но наблюдали снижение частоты их выявления с 60% до 40% (табл. 3).

Не отмечали изменений показателей колонизации других резидентных видов, в том числе и вейллонелл, а количество энтерококков и частота их выявления достоверно снижались (с 46,7% до 26,7%).

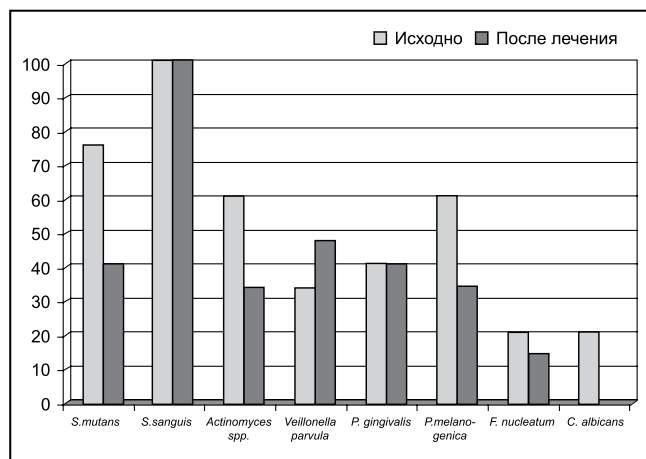


Рис. 5. Изменение частоты выделения микрофлоры зубной бляшки до и после применения геля *R.O.C.S. Medical Minerals* с ксилитом (10%)

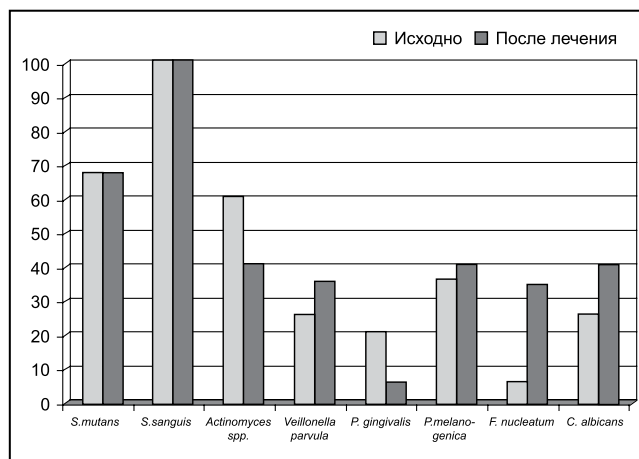


Рис. 6. Изменение частоты выделения микрофлоры зубной бляшки до и после применения 0,1% хлоргексидина

Полученные результаты свидетельствуют о весьма слабом влиянии хлоргексидина при использовании нами методики применения на соотношение кариесогенной и резидентной микрофлоры полости рта у больных кариесом зубов, так как мы отмечали слабую тенденцию к снижению количественных показателей обсемененности кариесогенными видами стрептококков и актиномицетов, а частота выявления основных видов стрептококков практически не менялась (рис. 6).

В то же время снижалось количество и частота выделения представителей резидентной группы бактерий – энтерококков. Восстановления популяции антагонистичного для кислотопродуцирующей флоры микроорганизма – вейллонел не наблюдалось.

Таким образом, можно заключить, что представленные данные свидетельствуют об иных механизмах кариесорезистентности по сравнению с теми, которые проявляются при местном применении реминерализующего геля *R.O.C.S. Medical Minerals* с ксилитом. Действие последнего, на наш взгляд, является более физиологичным с точки зрения регуляции соотношения кариесогенной и резидентной микрофлоры полости рта у пациентов.

Влияние местного применения раствора хлоргексидина на состав вирулентной микрофлоры проявлялось следующим образом: наблюдалось снижение частоты выделения *Porphyromonas gingivalis* в три раза и среднего количества *Prevotella melaninogenica* (табл. 4), но увеличение частоты выделения из биопленки зуба *Fusobacterium nucleatum* (с 6,7% до 33,3%).

Обращало на себя внимание также и то, что частота выявления дрожжеподобных грибов *Candida albicans* увеличилась с 26,7% до 40,0% (табл. 5). При этом наблюдалось достоверное увеличение обсемененности зубной бляшки грибами (до $5,83 \pm 0,08$ lg CFU/ml). Эти данные свидетельствуют о развитии дисбиоза при использовании хлоргексидина.

Выводы

1. Применение комплекса лечебно-профилактических мероприятий, действие которого направлено на все этиопатогенетические факторы возникновения кариеса у

детей раннего возраста, позволяет добиться стабилизации процесса в относительно короткие сроки.

2. Включение ксилита и хлоргексидина в качестве противомикробной терапии в комплексную схему лечения кариеса у детей раннего возраста приводит к снижению частоты выделения и уровня обсемененности кариесогенной и пародонтопатогенной флорой зубной бляшки.

3. Использование аппликаций 0,1% раствора хлоргексидина оказывает более грубое и нефизиологичное влияние на состав микробиоценоза зубной биопленки, по сравнению с реминерализующим гелем *R.O.C.S. Medical Minerals*, содержащим ксилит (10%).

4. Сочетание реминерализующего и противомикробного действия в аппликационном геле *R.O.C.S. Medical Minerals* позволяет сократить количество процедур в предложенной нами схеме лечения, что существенно облегчает ее выполнение у детей раннего возраста.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Арутюнов С. Д., Свердлова М. Г., Кузьмичевская М. В. Новые возможности профилактики и лечения начальных форм кариеса у детей младшего возраста // *Стоматология детского возраста и профилактика*. 2007. №3. С. 9-12.

2. Афиногенов Г. Е., Афиногенова А. Г., Доровская Е. Н., Матело С. К. Влияние ксилита в составе зубных паст на специфическую адгезию некоторых клинических штаммов микроорганизмов полости рта // *Стоматология детского возраста и профилактика*. 2008. №2. С. 73-78.

3. Барер Г. М. *Терапевтическая стоматология. Ч. 2. Болезни пародонта*. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 224 с.

4. Елизарова В. М., Смирнова Т. А., Рзаева Т. А., Фаддеева Е. Н., Чернухина Т. М. Проблема роста осложненного кариеса у детей младшего возраста // *Детская стоматология*. 1998. №1. С. 25-27.

5. Кисельникова Л. П., Зуева Т. Е., Кружалова О. А., Кириллова Е. В. Кариес временных зубов у детей раннего возраста: обоснование этиопатогенетических подходов к профилактическому лечению // *Стоматология детского возраста и профилактика*. 2007. №2. С. 19-22.

6. Кузнецов Е. А., Царев В. Н. и др. *Микробная флора полости рта и ее роль в развитии патологических процессов*. – М., 1996. – 74 с.

7. Петрович Ю. А., Зубцов В. А., Трусова Н. Ф., Вавилова Т. П. Сахарозаменители и профилактика кариеса (факторы, перспективы, недостатки) // *Стоматология*. 1991. №3. С. 76-79.

8. Соловьева А. М., Матело С. К., Купец Т. В. *Лечебно-профилактические аспекты употребления жевательной резинки*. – М., 2003.

9. Царев В. Н., Николаева Е. Н., Носик А. С. Применение новых молекулярно-генетических систем для диагностики воспалительных заболеваний слизистой оболочки рта и пародонта // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2006. №7. С. 69-73.

10. Царев В. Н., Николаева Е. Н., Плахтий Л. Я. Сравнительное изучение резистентности анаэробных пародонтопатогенных бактерий к антибиотикам в Москве и Владикавказе // *Образование, наука и практика в стоматологии*. – М., 2007. – С. 217-219.

11. Царев В. Н., Ушаков Р. В. *Антибактериальная терапия в стоматологии*. – М.: МИА, 2004. – 143 с.

12. Царев В. Н., Ушаков Р. В., Давыдова М. М. *Лекции по микробиологии полости рта*. – Иркутск, 1997. – 96 с.

13. Anderson M. H. Chlorhexidine: How useful is it in combating the bacterial challenge and dental caries? // *J CDA*. 2003. №31 (3). P. 211-216.

14. Badet M.C. Effect of xylitol on a model of oral biofilm IADR/AADR/CARD 85th General Session and Exhibition. – March 21-24, 2007.

15. Berkowitz R. J. Causes, treatment and prevention of early childhood caries: a microbiologic perspective // *J. of the Canadian Dental Association*. 2003. Vol. 69. P. 304-307.

16. Engelkirk P. G., Engelkirk J.-D., Dowell V. R. *Principles and practice of Clinical anaerobic bacteriology*. – Belmont-California: Star Publishing Company, 1992. – 462 p.

17. Ezzo P. J., Cutler C.W. Microorganisms as risk indicators for periodontal disease // *Periodontology*. 2000. 2003. V. 32. P. 24-35.

18. Grindejord M., Dahllof G., Nilsson B., Modeer T. Stepwise prediction of dental caries in children up to 3,5 years of age // *Caries Res*. 1995. №30 (4). P. 256-266.

19. Kohler B., Andreen I., Jons-son B. The earlier the colonization by mutans streptococci, the higher the caries prevalence at 4 years of age // *Oral Microbiol Immunol.* 1988. №3 (1). P. 14-17.
20. Laurence J. Platt, Martiza C. Cabezas Early childhood dental caries. – Los Angeles, 2000. – 32 p.
21. Lynch H., Milgrom P. Xylitol and dental caries: An overview for the clinicians // *J CDA.* 2003. №31 (3). P. 205-209.
22. Mattos-Graner R. O., Li Y., Caufield P. W., Duncan M., Smith D. J. Genotypic diversity of mutans streptococci in Brazilian nursery children suggests horizontal transmission // *J Clin Microbiol.* 2001. №39 (6). P. 2313-2316.
23. Ramos-Gomez F. J., Weintraub J. A., Gansky S. A., Hoover C. I., Featherstone J. D. Bacterial, behavioral and environmental factors associate with early childhood caries // *J Clin Pediatr Dent.* 2002. №26 (2). P. 165-173.
24. Soderling E. et al. Effect of xylitol and sorbitol on polysaccharide production by and adhesive properties of *Streptococcus mutans* // *Caries Res.* 1987. №21. P. 109-116.
25. Loveren van C., Buijs J. F., Cate ten J. M. Similarity of bacteriocin activity profiles of mutans streptococci within the family when the children acquire the strains after the age of 5 // *Caries Res.* 2000. №34 (6). P. 481-485.
26. Wan A. K., Seow W. K., Walsh L. J., Bird P., Tudehope D. I., Purdie D. M. Association of *Streptococcus mutans* infection and oral developmental nodules in pre-dentate infants // *J Dent Res.* 2001. №80 (10). P. 1945-1948.
27. Wan A. K., Seow W. K., Purdie D. M., Bird P. S., Walsh L. J., Tudehope D. I. Oral colonization of *Streptococcus mutans* in six-month-old pre-dentate infants // *J Dent Res.* 2001. №80 (12). P. 2060-2065.
28. Wan A. K., Seow W. K., Purdie D. M., Bird P. S., Walsh L. J., Tudehope D. I. A longitudinal study of *Streptococcus mutans* colonizations in Infants after tooth eruption // *J Dent Res.* 2003. №82. P. 504-508.

Поступила 31.03.2009