УДК 616.314-008.4-053.2:615.33
DOI https://doi.org/10.32782/2786-7684/2025-1-13

Ходзінська Ірина Романівна,
асистент кафедри стоматології дитячого віку,
Національний університет охорони здоров`я України імені П. Л. Шупика
ORCID ID: 0000-0003-3410-3043
м. Київ, Україна

Використання пробіотика Streptococcus salivarius штам К12 для корекції мікробіому порожнини рота у дітей з недосконалим остеогенезом

Актуальність. Мікробіом порожнини рота є життєво важливим для здоров'я дитини, оскільки є важливим регуляторним механізмом гомеостазу. Порушення балансу в цій екологічній ніші, спричинене в тому числі і таким серйозним системним захворюванням як недосконалий остеогенез, здатно призвести до розвитку цілого ряду стоматологічних захворювань. Пошук шляхів корекції дисбіозу порожнини рота та впливу на карієсогені та пародонтопатогенні бактерії у дітей із недосконалим остеогенезом є актуальною проблемою.

Мета дослідження: визначити ефективність пробіотичного штаму Streptococcus salivarius K12 в корекції мікробіому порожнини рота у дітей із недосконалим остеогенезом.

Матеріали і методи. Дослідження проводили за участю дітей віком від 2 до 17 років із встановленим діагнозом недосконалий остеогенез ІІІ типу, у яких визначено підвищений рівень обсемінення порожнини рота карієсогенними бактеріями Streptococcus mutans та пародонтопатогенами Porphyromonas gingivalis, Actinobacillus actinomycetemcomitans, Treponema denticola, Bacteroides forsythus, Prevotella intermedia. В якості препарату для корекції мікробіому порожнини рота використовувався пробіотичний штам Streptococcus salivarius K12.

Результати. У всіх дітей із недосконалим остеогенезом до початку прийому пробіотичний штам Streptococcus salivarius K12 виявлено граничний з високим рівень обсіменості Streptococcus mutans та наявність пародонтопатогенів першого порядку переважно у вигляді монокультур в доклінічній концентрації, що на фоні низької якості колагену у дітей із недосконалим остеогенезом, свідчить про достатньо високий ризик розвитку карієсу та захворювань тканин пародонта. Через 1 місяць після припинення прийому пробіотичного штаму Streptococcus salivarius K12 у всіх дітей в обох вікових групах рівень обсіменості Streptococcus mutans знизився до показників норми, а пародонтопатоген першого порядку Actinobacillus actinomycetemcomitans виявлено в доклінічній концентрації у однієї дитини молодшого віку.

Ключові слова: недосконалий остеогенез; ротова рідина; мікробіом порожнини рота, карієсогенні бактерії; пародонтопатогени; діти; пробіотики; Streptococcus salivarius K12.

Khodzinska Iryna Romanivna, Assistant at the Department of Pediatric Dentistry, P.L. Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Use of the probiotic Streptococcus salivarius K12 to correct the oral microbiome in children with osteogenesis imperfecta

Topicality. The oral microbiome is vital for a child's health, as it is an important regulatory mechanism of homeostasis. Disruption of the balance in this ecological niche, caused by such a serious systemic disease as osteogenesis imperfecta, can lead to some dental diseases. Finding ways to correct oral dysbiosis and influence cariogenic and periodontal pathogenic bacteria in children with osteogenesis imperfecta is a pressing problem.

The study aims to determine the effectiveness of the probiotic strain Streptococcus salivarius K12 in correcting the oral microbiome in children with osteogenesis imperfecta.

Materials and methods. The study was conducted with the participation of children aged 2 to 17 years with a diagnosis of osteogenesis imperfecta type III, in whom an increased level of oral cavity contamination with cariogenic bacteria Streptococcus mutans and periodontal pathogens Porphyromonas gingivalis, Actinobacillus actinomycetemcomitans, Treponema denticola, Bacteroides forsythus, Prevotella intermedia was determined. The probiotic strain Streptococcus salivarius K12 was used as a drug to correct the oral microbiome.

Results. In all children with osteogenesis imperfecta, before the start of taking the probiotic strain Streptococcus salivarius K12, a borderline to high level of Streptococcus mutans contamination and the presence of first-order periodontal pathogens were detected, mainly in the form of monocultures in preclinical concentrations, which, against the background of low collagen quality in children with osteogenesis imperfecta, indicates a fairly high risk of developing caries and periodontal tissue diseases. One month after discontinuation of the probiotic strain Streptococcus salivarius K12, the level of Streptococcus mutans contamination in all children in both age groups decreased to normal levels, and the first-order periodontal pathogen Actinobacillus actinomycetemcomitans was detected in preclinical concentrations in one young child.

Key words: osteogenesis imperfecta; oral fluid; oral microbiome, cariogenic bacteria; periodontal pathogens; children; probiotics; Streptococcus salivarius K12.

Вступ. Мікробіом ротової порожнини – це унікальний екологічний об'єкт, який містить різноманітні популяції бактерій, вірусів, архей, грибів та найпростіших, де бактерії є найбільш помітними. Як і інші мікробіоми в організмі людини, мікробіом порожнини рота є життєво важливим для здоров'я, оскільки встановлює складний екологічний баланс, запобігаючи розмноженню патогенних мікроорганізмів, підтримуючи здоров'я порожнини рота та регулюючи імунну відповідь господаря. Однак цей баланс може бути порушений багатьма факторами та призвести до локального дисбіозу мікробіому порожнини рота. Даний стан

характеризується надмірним ростом специфічних патогенних мікроорганізмів і виснаженням коменсалів, які тримають їх під контролем, що у свою чергу може призвести до різних захворювань і ускладнень [1–4].

У наших попередніх дослідженнях було з'ясовано, що у дітей з НО спостерігаються певні порушення мікробіому порожнини рота, що в комплексі іншими обтяжуючими факторами формують небепечну ситуацію щодо формування ризків розвитку карієсу та захворювань пародонта [5].

Оскільки мікробіом ротової порожнини формується в ранньому дитинстві і активно підтримується за допомогою різноманітних вроджених і поведінкових впливів, корекція дисбіотичних станів у дітей, які мають супутні соматичні патології, є особливо складним завданням. Тим не менш, цілеспрямовані втручання із використанням пробіотиків продемонстрували багатообіцяючі результати у відновленні балансу в мікробних спільнотах.

Багатьма дослідженнями доведено, що пробіотики чинять захисну дію на домінуючу мікробіоту шляхом конкурентного виключення патогенів, посилення бар'єрних функцій епітелію та імуномодуляції. Наприклад, найпоширеніші пробіотики, лактобактерії (LAB) виробляють такі метаболіти як органічні кислоти, перекис водню та бактеріоцини, які пригнічують ріст патогенів і посилюють бар'єрні функції епітелію шляхом регуляції щільних з'єднань [1, 4].

У рамках аналізу механізмів дії пробіотиків у нашу увагу привернула пробіотичний штам бактерії Streptococcus salivarius K12, яка є природним мешканцем ротової порожнини людини. Streptococcus salivarius K12 колонізує ротову порожнину протягом перших тижнів після народження дитини як індивідуальний комменсал, і зберігається протягом усього життя, становлячи близько 70% загальної культивованої флори здорових дорослих людей. Він відіграє кілька важливих ролей у підтримці збалансованого мікробіому, включаючи адгезію до поверхонь ротової порожнини за рахунок поверхневого білка саліваріус групи адгезину A (SadA), модуляцію імунної системи за допомогою імунобіотичних властивостей, заснованих на наявності рецепторів TLR-2 і TLR-4 в присутності полісахаридної капсули саліваріус (SPS), який діє як PAMP, та протизапальних властивостей бактеріоцину 1 (sal292), а також вироблення бактеріоцинів, які пригнічують ріст багатьох патогенних мікроорганізмів, таких як BLIS K12 [1, 3, 5].

На сьогоднішній день ефективність пробіотиків S. salivarius K12 у покращенні здоров'я ротової порожнини у дітей була оцінена в двох рандомізованих клінічних випробуваннях та одному рандомізованому пілотному дослідженні. Ці дослідження показали, що пробіотики значно знижують пероральне носійство S. mutans і, меншою мірою, S. sobrinus. Одне з досліджень проводилося виключно у дітей з високим рівнем карієсу та оцінювало додаткові результати, такі як вплив пробіотика на pH і буферну здатність. У цьому огляді узагальнено поточні знання щодо профілактичних ефектів пробіотиків S. salivarius K12 на карієс зубів у дітей на основі наявних клінічних досліджень [2, 3, 6].

Тому метою нашого дослідження стало визначення здатності пробіотичного штаму Streptococcus salivarius K12 корегувати зміни мікробіому порожнини рота у дітей з недосконалим остеогенезом но основі молекулярно-генетичних методів. Для досягнення цієї мети поставлені наступні завдання: дослідити ефективність обраного пробіотика S. salivarius K12 у корекції дисбіозу біотопу порожнини рота у дітей з НО та розробити методологічні засади застосування даного пробіотику для посилення нормальної мікрофлори мікробіому порожнини рота у даної групи дітей.

Матеріали та методи. У проведені клінічних досліджень брали участь 18 дітей віком від 2 до 4 років та 14 дітей віком 11–14 років із встановленим діагнозом недосконалого остеогенезу III типу, які знаходились на лікуванні у ДУ Інститут патології хребта та суглобів ім. професора М.І. Ситенко, НАМН України (м. Харків) та ДУ Інститут травматології та ортопедії НАМН України (м. Київ).

Клініко-лабораторні дослідження проводили з урахуванням вимог Хельсенської декларації Всесвітньої міжнародної асоціації для лікарів по проведенню біометричних досліджень на людях [7].

Вивчення основної пародонтопатогенної та карієсогенної флори проводилося за допомогою бактеріологічних та молекулярно-біологічних досліджень із застосуванням мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції.

Визначення карієсогенних бактерій відбувалось шляхом аналізу концентрації в ротовій рідині Streptococcus mutans. Рівень концентрації Streptococcus mutans в ротовій рідині вищий за $5x10^5$ колоніє-утворюючих одиниць на міллілітр ротової рідини (КУО/мл) та наявність кількості лактобактерій $<10^5$ КУО/мл і більше трактувалось як ознака високого ризику розвитку карієсу.

Біологічний матеріал (ротова рідина) забирався відповідно до рекомендацій лабораторії в стерильні одноразові ємності в першій половині дня в стані спокою протягом 7–10 хвилин в обсязі 5–10 мл, після чого його поміщали в термоконтейнер з охолоджуючими елементами й перевозили в лабораторію протягом 3 годин. Дослідження проводились на базі лабораторії мікробіології та хіміотерапії ДУ «ІТО НАМНУ», молекулярно-генетичної лабораторії Державного закладу «Референс-центр з молекулярної діагностики МОЗ України», лабораторії Інституту патології хребта та суглобів ім. професора М. І. Ситенко НАМН України та лабораторії «Діла» м. Харків.

Визначення пародонтопатогенних бактерій Prevotella intermedia, Bacteroides forsythus, Treponema denticola, Actinobacillus actinomycetemcomitans та Porphyromonas gingivalis відбувалось шляхом виявлення геномної ДНК в ході молекулярно-генетичного дослідження із використанням діагностичних систем "Мультиген" (GenLab) та "Мультидент-5" (GenLab).

Лабораторні дослідження виконувались до призначення пробіотичного штаму S. salivarius K12 та через 1місяць після припинення вживання даного препарату.

В якості орального пробіотика призначався пробіотичний штам S. salivarius K12 протягом 30 днів.

Таблиця 1

Результати молекулярно-генетичної діагностики пародонтопатогенів у дітей із недосконалім остеогенезом до та після призначення пробіотичного штаму S. salivarius K12

№ зразків	До лікування					Після лікування				
	Pin	**Bfo**	**Td**	**Aac**	**Pgi**	**Pin**	**Bfo**	**Td**	**Aac**	**Pgi**
	Діти із НО віком 2-4 роки (n=18)									
1	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*	+	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
2	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	+	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
3	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	+	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
4	Не виявлено	*Не виявлено*	+	++	+	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*	+	Не виявлено
5	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	+	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
6	Не виявлено	*Не виявлено*	+	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
7	Не виявлено	*Не виявлено*	+	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
8	Не виявлено	*Не виявлено*	+	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
9	Не виявлено	*Не виявлено*	+	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
10	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*	+	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
11	Не виявлено	*Не виявлено*	+	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
12	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	+	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
13	Не виявлено	*Не виявлено*	+	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
14	Не виявлено	*Не виявлено*	+	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
15	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	+	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
16	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	+	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
17	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	+	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
18	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	+	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
Всього	**-**	**-**	**8/44,44%**	**7/38,88%**	**5/27,77%**	**-**	**-**	**-**	**1/5,55%**	**-**
	Діти із НО 11-17 років (n=14)									
19	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
20	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
21	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*	+	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
22	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*	+	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*	+	Не виявлено
23	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
24	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	+	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
25	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
26	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	+	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
27	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
28	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	+	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
29	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	+	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
30	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
31	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*	+	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
32	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	+	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	*Не виявлено*
Всього	**-**	**-**	**-**	**8/57,14%**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**
Разом	**-**	**-**	**8/25,0%**	**15/46,87%**	**5/15,62%**	**-**	**-**	**-**	**1/3,12%**	**-**

1 таблетка містить пробіотик Streptococcus salivarius K12 (не менше 1х109 CFU (КУО) (не менше одного мільярду життєздатних колонієутворюючих одиниць в 1 таблетці) – 50 mg (мг). Призначався по 1 таблетці на добу ввечері перед сном, після чистки зубів. Таблетку слід розсмоктувати у ротовій порожнині до повного розчинення. Для дітей, які не можуть розсмоктувати, слід подрібнити таблетку до порошкоподібної форми та нанести на ясна, не запиваючи рідиною. Після вживання препарату не рекомендовано споживати їжу або воду протягом щонайменше 30 хвилин.

Проведення лабораторних досліджень здійснювали за інформованою згодою дітей і батьків.

Результати дослідження та обговорення. За результатами мікробіологічного дослідження ротової рідини до призначення пробіотичного штаму S. salivarius K12 у 100% дітей молодшої групи 2–4 років та дітей старшої вікової групи 11–17 років виділено Streptococcus mutans із ступенем обсіменості $<10^5$ КУО/ мл, що свідчить про достатньо високий ризик розвитку карієсу у дітей із НО.

Через 1 місяць після останнього прийому пробіотичного штаму S. salivarius K12 рівень обсімінення Streptococcus mutans у дітей як молодшої, так і старшої вікових груп склав $<10^4$ КУО/ мл, що свідчить про зниження ризику розвитку карієсу у дітей із НО.

Результати вивчення пародонтопатогенів в порожнині рота дітей із НО на етапі до призначення пробіотичного штаму S. salivarius K12 та через 1 місяць після останнього прийому пробіотику наведено в таблиці 1. Слід зазначити, що досліджувані мікроорганізми належать до пародонтопатогенів першого порядку, які відіграють значну роль у виникненні швидкоплиного агресивного пародонтиту [8, 9].

За даними проведених лабораторно-діагностичних досліджень на етапі до призначення пробіотичного препарату визначено, що у однієї дитини з групи дітей молодшого віку виявлено пародонтопатоген Actinobacillus actinomycetemcomitans у клінічно значимій концентрації (++), а також Treponema denticola та Porphyromonas gingivalis в доклінічній концентрації (+). У досліджуваних дітей обох вікових груп виявлено монокультури пародонтопатогенів у доклінічній концентрації. Так, у групі дітей 2–4 років Treponema denticola виявлено у 7 обстежених (38,88%), Actinobacillus actinomycetemcomitans – у 6 (33,33%) та Porphyromonas gingivalis – у 4 (22,22%). У групі пацієнтів старшого віку у 8 (57,14%) обстежених виявлено монокультуру Actinobacillus actinomycetemcomitans в докліничній концентрації.

Через 1 місяць після останнього прийому пробіотичного штаму S. salivarius K12 лише у однієї дитини з вікової групи 2–4 роки виявлено ДНК Actinobacillus actinomycetemcomitans у доклінічній концентрації (табл 1).

Висновки. Представлені результати дослідження вказують на значні зміни у складі мікробіоти порожнини рота у дітей із недосконалим остеогенезом внаслідок 30 днів застосування пробіотику Streptococcus salivarius K12, підтверджують перспективність використання данного препарату для корекції мікробіому ротової порожнини та доцільність залучення його до комплексної схеми профілактики та лікування основних стоматологічних захворювань у вищезазначеної категорії пацієнтів.

REFERENCES

1. Di Pierro F, Donato G, Fomia F, Adami T, Careddu D, Cassandro C, Albera R. Preliminary pediatric clinical evaluation of the oral probiotic Streptococcus salivarius K12 in preventing recurrent pharyngitis and/or tonsillitis caused by Streptococcus pyogenes and recurrent acute otitis media. Int J Gen Med. 2012;5:991-7. doi: 10.2147/IJGM.S38859. Epub 2012 Nov 30. PMID: 23233809; PMCID: PMC3516470.
2. Inchingolo F, Inchingolo AM, Malcangi G, et al. The Benefits of Probiotics on Oral Health: Systematic Review of the Literature. Pharmaceuticals (Basel). 2023;16(9):1313. Published 2023 Sep 16. doi: 10.3390/ph16091313
3. Nguyen T, Brody H, Radaic A, Kapila Y. Probiotics for periodontal health-Current molecular findings. Periodontol 2000. 2021;87(1):254-267. doi: 10.1111/prd.12382
4. Sedghi L, DiMassa V, Harrington A, Lynch SV, Kapila YL. The oral microbiome: Role of key organisms and complex networks in oral health and disease. Periodontol 2000. 2021;87(1):107-131. doi: 10.1111/prd.12393
5. Trubka, I., & Khodzinska, I. (2024). Microbiological aspects of dental health in children with osteogenesis imperfecta. Oral and General Health, 5(2), 49–52. https://doi.org/10.22141/ogh.5.2.2024.190
6. Van Holm W, Carvalho R, Delanghe L, et al. Antimicrobial potential of known and novel probiotics on in vitro periodontitis biofilms. NPJ Biofilms Microbiomes. 2023;9(1):3. Published 2023 Jan 21. doi:10.1038/s41522-023-00370-y
7. Salim HP, Mallikarjun SB, Raju S, Surendranath AR. Randomized Clinical Trial of Oral Probiotic *Streptococcus salivarius* M18 on Salivary *Streptococcus mutans* in Preprimary Children. Int J Clin Pediatr Dent. 2023;16(2):259-263. doi: 10.5005/jp-journals-10005-2527 Available from: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/990_005
8. Curtis MA, Diaz PI, Van Dyke TE. The role of the microbiota in periodontal disease. Periodontol 2000. 2020 Jun;83(1):14-25. doi: 10.1111/prd.12296. PMID: 32385883.
9. Belibasakis GN, Belstrøm D, Eick S, Gursoy UK, Johansson A, Könönen E. Periodontal microbiology and microbial etiology of periodontal diseases: Historical concepts and contemporary perspectives. Periodontol 2000. 2023 Jan 20. doi: 10.1111/prd.12473. Epub ahead of print. PMID: 36661184.