



R-PHARM
Innovative
health
technologies

ДентоБЛИС: научная и медицинская информация

www.r-pharm.com



БАД, не является лекарственным средством



Характеристика основных свойств

Streptococcus salivarius M18

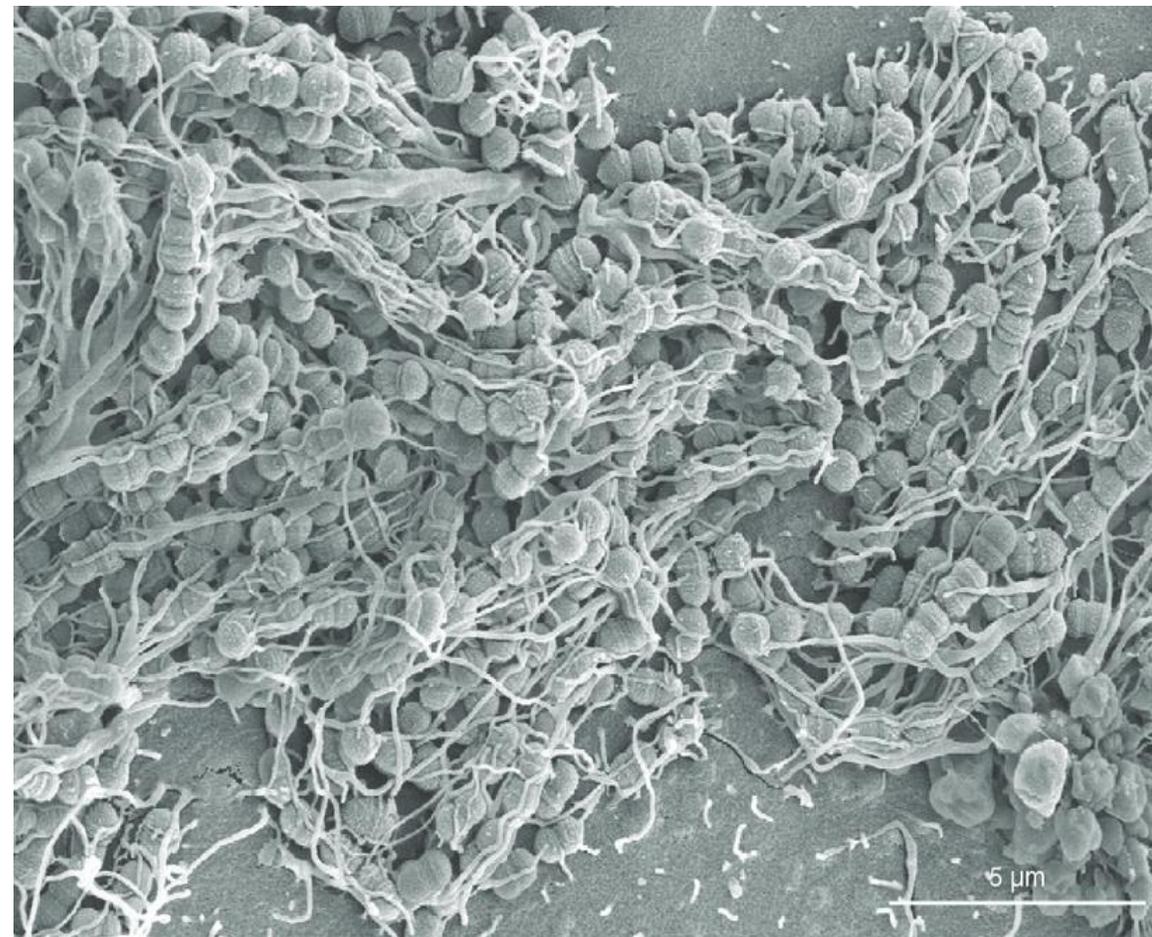
(SsM18)

S. salivarius - грамположительные, оксидазо - и каталазонегативные стрептококки

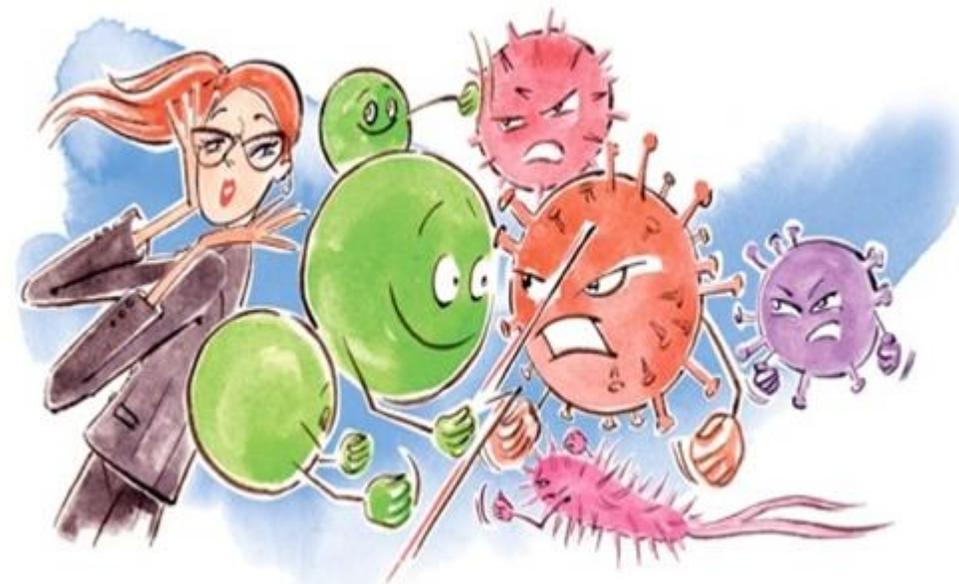
S. salivarius – один из первых микроорганизмов, колонизирующий слизистые оболочки ротовой полости и носоглотки человека

S. salivarius заселяет спинку языка и слизистую оболочку глотки новорожденных, которые получают эти бактерии от матери в течение 2 дней после рождения

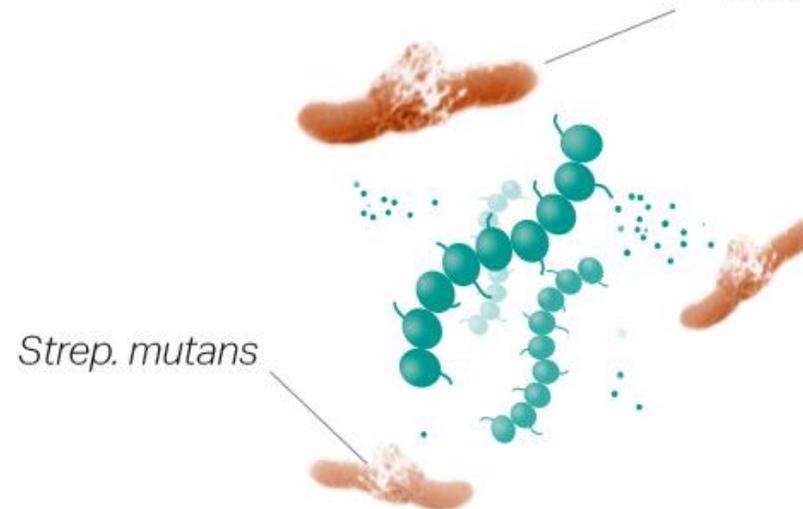
Два наиболее хорошо изученных штамма *S. salivarius* K12 и M18 в настоящее время используются в качестве пробиотиков



- ***Streptococcus salivarius M18*** – представитель нормальной микрофлоры ротовой полости
- ***S. salivarius M18*** эффективно колонизирует полость рта, а так же вырабатывает **саливарцины** – антибактериальные вещества местного действия, которые способны подавлять рост возбудителей инфекций полости рта, а именно ***Streptococcus spp.*, *Porphyromonas spp.*, *Actinomyces spp.*, *Aggregatibacter spp.***
- ***S. salivarius M18*** вырабатывает **декстраназу** (фермент, способствующий разрушению зубного налета) и **уреазу** (фермент, помогающий нейтрализовать кислотность полости рта)

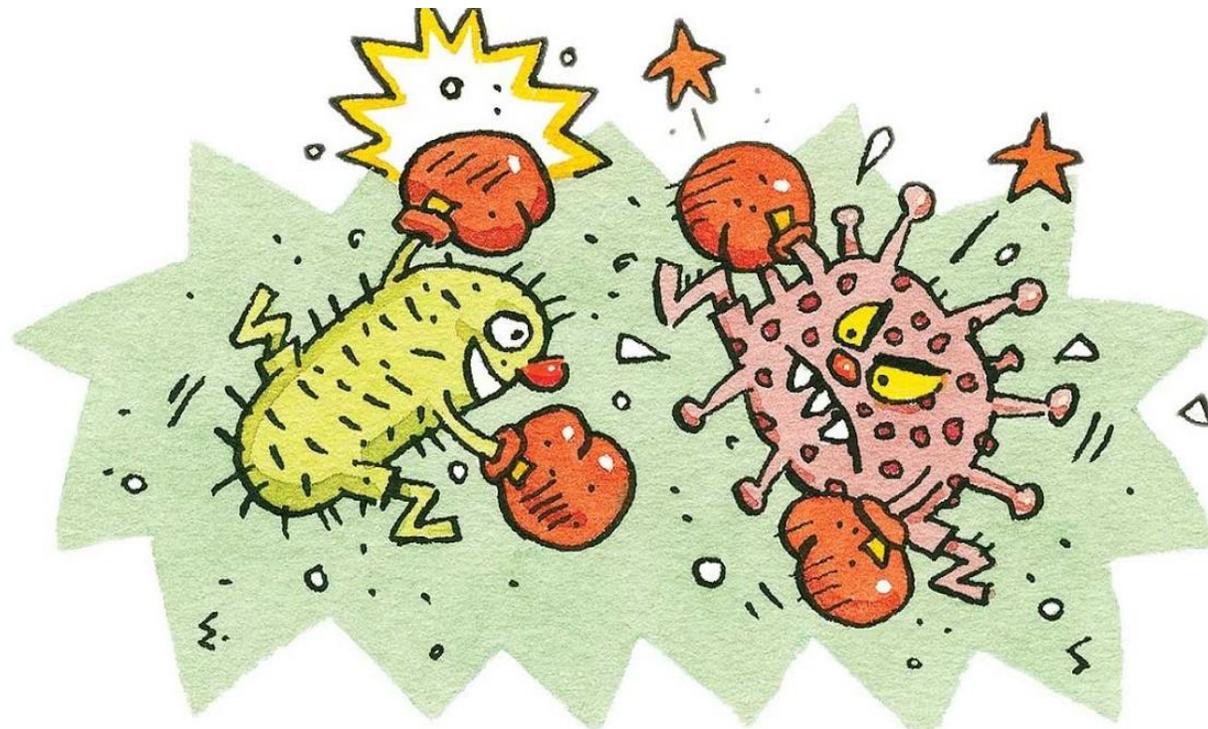


Act. naeslundii



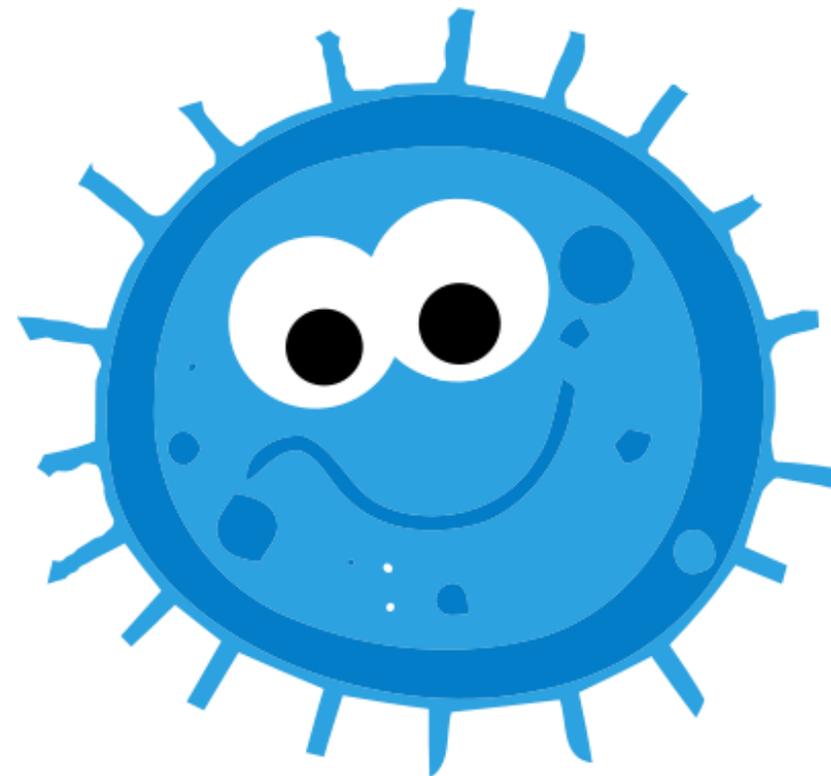
Strep. mutans

- ✓ **Отсутствие детерминант вирулентности**
- ✓ **Способность к колонизации**
- ✓ **Способность конкурентного вытеснения патогенного возбудителя**



Burton J.P., Drummond B.K., Chilcott C.N., Tagg J.R., Thomson W.M., Hale J.D.F., Wescombe P.A. Influence of the probiotic *Streptococcus salivarius* strain M18 on indices of dental health in children: a randomized double-blind, placebo-controlled trial. J Med Microbiol. 2013 Jun;62(Pt 6):875-884.

- На текущий момент нет данных об инфекциях, вызванных штаммом *S. salivarius* M18, у человека в связи с достаточно низким патогенным потенциалом у этого пробиотического штамма для инициации инфекционного процесса.
- Данные различных исследований показывают, что *S. salivarius* безопасен для здоровья человека



- Геном *S. salivarius* M18 был полностью секвенирован. Не было найдено какой-либо нуклеотидной последовательности, в которой бы содержалась информация о факторах патогенности и вирулентности
- Этиология кариеса многокомпонентная: *Streptococcus mutans* (один из главных компонентов) и *Streptococcus sobrinus* (оба микроорганизма являются кислотопродуцирующими), а так же различные индивидуальные факторы (состав слюны, воздействие фтора, диетические и гигиенические привычки) могут способствовать снижению *pH* ротовой полости и образованию зубного налета
- *S. salivarius* M18 не может способствовать снижению *pH* ротовой полости и образованию зубного налета исходя из своего природного набора ферментов. Одними из таких ферментов являются уреаза и декстраназа:
 - уреаза расщепляет мочевину, что способствует восстановлению *pH* до физиологических величин
 - декстраназа расщепляет декстран (основа зубного налета и питательный компонент для *S. mutans*), что способствует прекращению образования зубного налета
- Кроме того, *S. salivarius* M18 обладает антимикробной активностью против *S. mutans* и других возбудителей инфекций полости рта *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* и *F. nucleatum*
Данная активность *S. salivarius* M18 обусловлена продукцией им специфических антимикробных веществ – саливарицинов M, A2, 9 и MPS

Stowik, Turner. (2016). Contribution of Probiotics *Streptococcus salivarius* Strains K12 and M18 to Oral Health in Humans: A Review./ Стоуик, Тернер. (2016). Вклад пробиотиков *Streptococcus salivarius* K12 и M18 в здоровье полости рта у людей: обзор.

Heng N.C., Haji-Ishak N.S., Kalyan A., Wong A.Y., Lovric M., Bridson J.M., Artamonova J., Stanton J.A., Wescombe P.A., Burton J.P., Cullinan M.P., Tagg J.R.

Genome sequence of the bacteriocin-producing oral probiotic *Streptococcus salivarius* strain M18. J Bacteriol. 2011 Nov;193(22):6402-3.

Хенг Н.С., Хаджи-Исхак Н.С., Кальян А., Вонг А.Ю., Ловрич М., Бридсон Дж. М., Артамонова Дж., Стэнтон Дж. А., Уэскомб П. А., Бертон Дж. П., Куллинан М. П., Тагг Дж. Р. Последовательность генов у бактериоцин-продуцирующего перорального пробиотического штамма *Streptococcus salivarius* M18. Журнал бактериологии. 2011 ноябрь; 193 (22)

Pierro F.D., Zanvit A., Nobili P., Risso P., Fornaini C. Cariogram outcome after 90 days of oral treatment with *Streptococcus salivarius* M18 in children at high risk for dental caries: results of a randomized, controlled study. Clinical, Cosmetic and Investigational Dentistry. 2015; 7: 107-113 / Пьерро Ф.Д., Занвит А., Нобили П., Риссо П., Форнаини К. Результаты кариограммы после 90 дней пероральной терапии пробиотическим штаммом *Streptococcus salivarius* M18 у детей с высоким риском зубного кариеса: результаты рандомизированного контролируемого исследования. Клиническая, косметическая и исследовательская стоматология. 3 октября 2015, номер 2015:7 107—113

Staat RH, Gawronski TH, Schachtele CF. Detection and preliminary studies on dextranase-producing microorganisms from human dental plaque. Infect Immun. 1973 Dec;8(6):1009-16/

Стаат Р.Х., Гавронски Т.Х., Шахтеле Ч.Ф. Выявление и предварительное исследование микроорганизмов, продуцирующих декстраназу, из зубного налета человека. Инфекции и Иммунитет. 1973 Декабрь ;8(6):1009-16/

Burton J.P., Drummond B.K., Chilcott C.N., Tagg J.R., Thomson W.M., Hale J.D.F., Wescombe P.A. Influence of the probiotic *Streptococcus salivarius* strain M18 on indices of dental health in children: a randomized double-blind, placebo-controlled trial. J Med Microbiol. 2013 Jun;62(Pt 6):875-884. Бертон Дж. П., Драммонд Б. К., Чилкотт К. Н., Тагг Дж. Р. Томсон У. М., Хейл Дж. Д. Ф., Уэскомб Ф. А. Влияние пробиотического штамма *Streptococcus salivarius* M18 на показатели здоровья зубов у детей: рандомизированное, двойное слепое, плацебо-контролируемое исследование. Журнал медицинской микробиологии (2013), 62, 875–884.

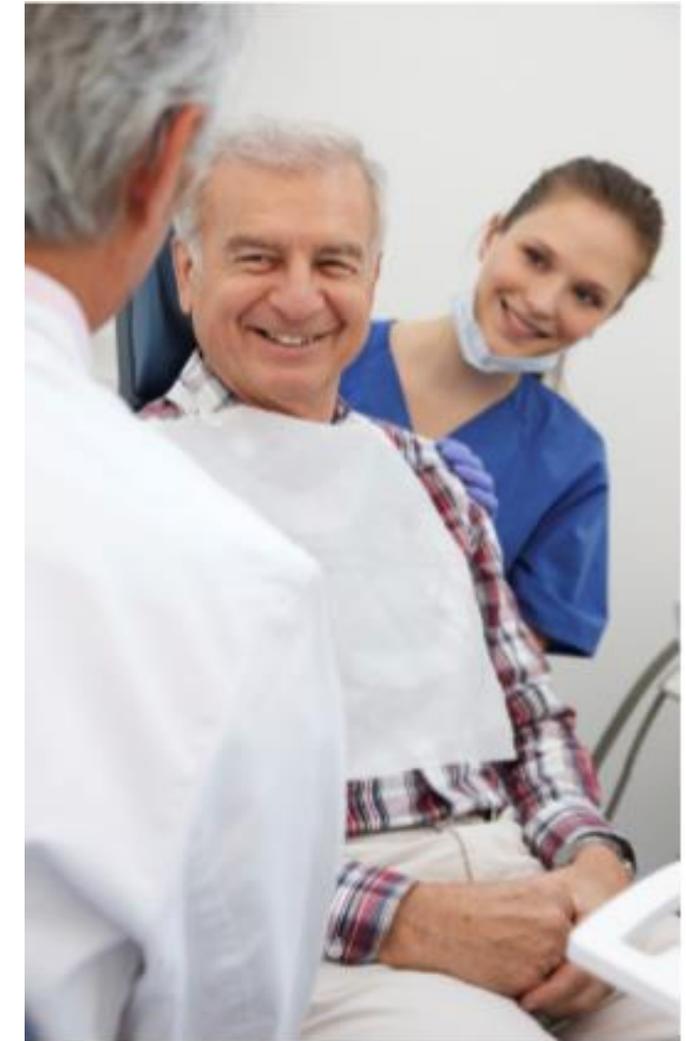
МОЖЕТ ЛИ *Streptococcus salivarius* M18 НЕГАТИВНО ВЛИЯТЬ НА ЗДОРОВЬЕ ЧЕЛОВКА?

Штамм *Streptococcus salivarius* M18 включен в коллекции:

American Type Culture Collection (ATCC BAA-2593): проведенная экспертиза показала отсутствия отрицательного действия на организм человека.

Администрацией США по пищевым продуктам и лекарственным средствам (FDA) продукту присвоен статус GRAS (Generally Regarded As Safe – общепризнан как **безопасный**)

Н.В. Любые пробиотики не рекомендуются к приему для людей с тяжелыми заболеваниями, например при наличии иммунодефицита или при приеме иммуносупрессивных препаратов, исключая прием под контролем врача.



Штамм *S. salivarius* M18 имеет другой спектр бактериоцинов (A2, 9, MPS и M) по сравнению со спектром бактериоцинов штамма *S. salivarius* K12 (A и B2).

Т.к. *S. salivarius* M18 способен подавлять активность возбудителей кариеса и других заболеваний полости рта, он был разработан в качестве пробиотика для предотвращения проблем со здоровьем зубов.

N.B.: *S. salivarius* M18 не обладает сектором антимикробной активности против *Candida albicans*, который имеется у *S. salivarius* K12, однако обладает активностью против *S. mutans* и других бактерий, вызывающих кариес.



- Прежде чем штаммы *S. salivarius* K12 и M18 смогут оказывать благотворное воздействие на здоровье полости рта, им сначала необходимо эффективно колонизировать полость рта.
- Для оказания должного положительного эффекта на здоровье полости рта при помощи *S. salivarius* M18 необходимо применять большие дозы пробиотиков (10^8 - 10^9 КОЕ). В этом случае большое количество бактерий сохраняется в течение определенного периода времени. Однако, при постоянном назначении низких доз (10^6 КОЕ и ниже) кумулятивного увеличения концентрации *S. salivarius* M18 в полости рта не происходит.
- Экспериментальные данные подтверждают клиническую безопасность штамма *S. salivarius* M18: после колонизации ротовой полости *S. salivarius* M18 значимые изменения в исходном нормальном микробиоме ротовой полости у здоровых людей практически отсутствуют и видовые соотношения бактерий изменяются незначительно.
- У штамма *S. salivarius* M18 имеется потенциал к реализации большого количества полезных эффектов для здоровья человека, которые были подтверждены в клинических исследованиях, а так же в исследованиях *in vitro* и *in vivo*.

Streptococcus mutans и *Streptococcus sobrinus*, а так же различные индивидуальные факторы (состав слюны, воздействие фтора, диетические и гигиенические привычки) могут способствовать снижению *pH* ротовой полости и образованию зубного налета

Различные исследования показывают, что *S. salivarius* M18:

- обладает антимикробной активностью против *S. mutans* и других возбудителей инфекций полости рта *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* и *F. nucleatum*
- снижает количество зубного налета (за счет продукции фермента декстраназы)
- восстанавливает уровень *pH* ротовой полости (за счет продукции фермента уреазы)



- Гингивит – воспаление десен без нарушения целостности зубодесневого соединения
- Пародонтит – более тяжелая форма заболевания десен, при котором десна отделяется от зуба

Эти заболевания могут быть вызваны несколькими видами бактерий такими, как *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* и *Fusobacterium nucleatum*.

Эти бактерии поражают десны, что приводит к инициации воспалительной реакции и увеличению продукции ИЛ-6 и ИЛ-8. Кроме того, зубной налет, образовавшийся возле десны, вносит существенный вклад в развитие воспалительных заболеваний ротовой полости

- Штамм *S. salivarius* M18 способен снижать количество ИЛ-6 и ИЛ-8, выработка которых ассоциирована с патогенными бактериями полости рта, что, в свою очередь, приводит к снижению интенсивности воспалительной реакции
- Применение *S. salivarius* M18 может снизить количество зубного налета (за счет выработки им декстраназы), что также приведёт к уменьшению воспаления десен

ДентоБЛИС – биологически активная добавка к пище

Форма выпуска – таблетки для рассасывания

Состав – пробиотический штамм *Streptococcus salivarius M18*, витамин D3

Количество пробиотика – не менее 5×10^8 КОЕ

БАД **ДентоБЛИС** рекомендуется как источник живых пробиотических бактерий *S. salivarius M18*, которые способствуют:

- *Установлению и поддержанию функциональной микрофлоры полости рта*
- *Уменьшению количества патогенных бактерий, которые вызывают кариес, гингивит, стоматит*
- *Уменьшению зубного налета*
- *Нормализации кислотности ротовой полости*



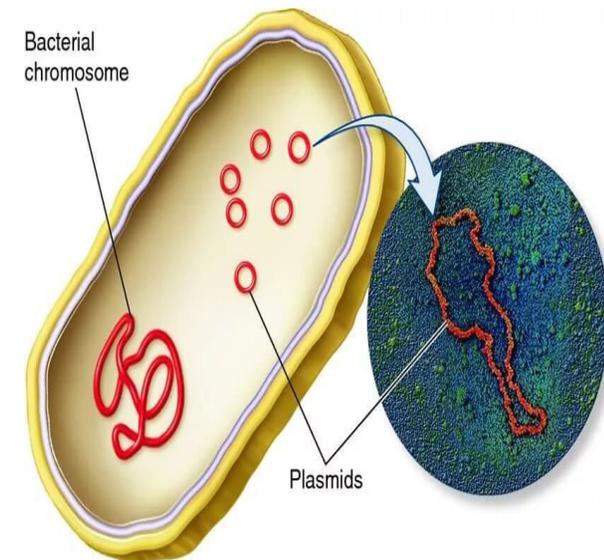
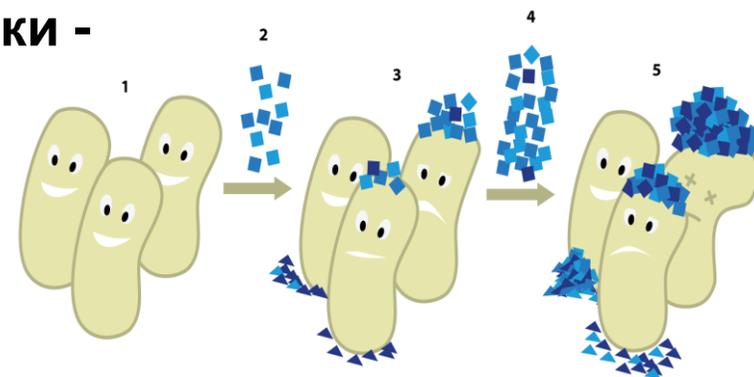
- **После чистки зубов:**
 - восстановление и поддержка здоровой микрофлоры полости рта
- **После лечения зубов:**
 - восстановление и поддержка здоровой микрофлоры полости рта, профилактика нового развития кариеса
- **Во время путешествий:**
 - при отсутствии необходимых условий или времени для ежедневной гигиены полости рта
- **Взрослым и детям от 3 лет**
- **1 таблетка в сутки; рассасывать до полного растворения**
- **После чистки зубов и проведения всех гигиенических процедур**
- **Желательно перед сном**
- **После приема ДентоБЛИС не рекомендуется пить воду и принимать пищу в течении как минимум часа**

Генетическая основа пробиотических свойств

Streptococcus salivarius M18

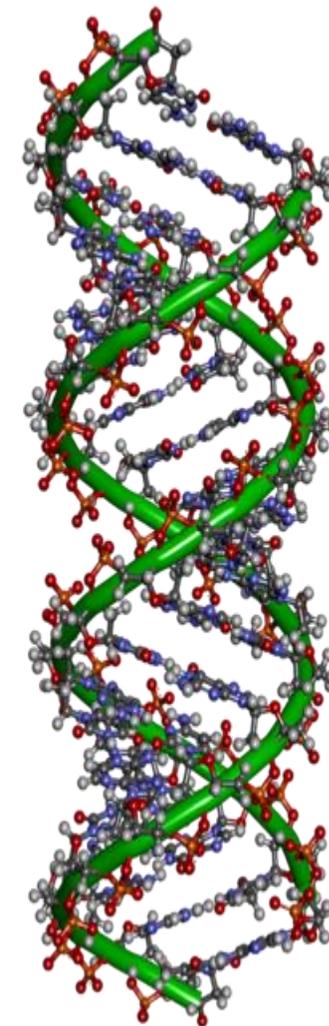
(SsM18)

- Многие штаммы *S. salivarius* продуцируют белковые антибиотики - бактериоцины, синтезируемые на бактериальных рибосомах, информация о которых закодирована в локусах мегаплазмид
- Несколько бактериоциногенных штаммов *S. salivarius* с подтверждённой безопасностью были разработаны как пробиотики
- Штамм *S. salivarius* M18 представляет собой пероральный пробиотик, который проявляет ингибирующую активность широкого спектра в отношении многих патогенных стрептококков, например, против *Streptococcus mutans*, который является возбудителем кариеса



Для установления генетической основы факторов, определяющих пробиотический потенциал *S. salivarius* M18 (спектр бактериоцинов, факторов ответственных за колонизацию, а также для установления степени независимости данного штамма от факторов вирулентности и факторов устойчивости к антибиотикам), геном *S. salivarius* M18 был секвенирован полногеномным методом «дробовика» на геномном секвенаторе Roche GS-FLX



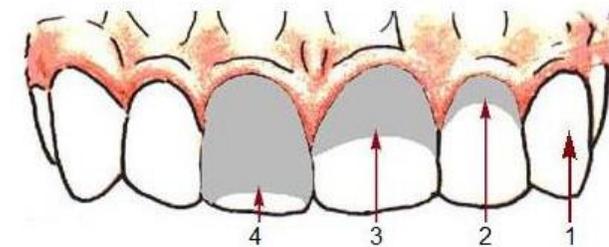


- Некоторые геномные участки *S. salivarius* M18 содержат множественные копии больших генов, кодирующих высокоповторяющиеся серинсодержащие белки, схожие с Hsa-адгезином *Streptococcus gordonii*. Последние могут помочь *S. salivarius* в колонизации полости рта
- Кроме того, в составе генома *S. salivarius* есть локус (*slm*), ответственный за выработку лантибиотика – бактериоцина, имеющего антибактериальную активность против *S. mutans*, который называется саливарицин M
- В составе мегаплазмиды были обнаружены 172 кодирующие последовательности, в которых содержится генетическая информация о саливарицинах A2, 9 и MPS

Исследование эффективности и безопасности
***Streptococcus salivarius* M18**
(SsM18) №1

- Пациенты со средне-тяжелым и тяжелым гингивитом, и средне-тяжелым пародонтитом (n=28) были разделены на 4 группы:
 - 1 группа: 7 мужчин, получавших пробиотик *S. salivarius* M18
 - 2 группа: 7 женщин, получавших пробиотик *S. salivarius* M18
 - 3 группа: 7 мужчин, не получавших пробиотик (контроль)
 - 4 группа: 7 женщин, не получавших пробиотик (контроль)
- Таблетки для рассасывания с *S. salivarius* M18 применялись с 1 по 30 день исследования
- Проводилась оценка индекса зубного налета, индекс гингивита, модификационного индекса кровоточивости и др. показателей до начала исследования и на 15, 30, 45 и 60 дни исследования

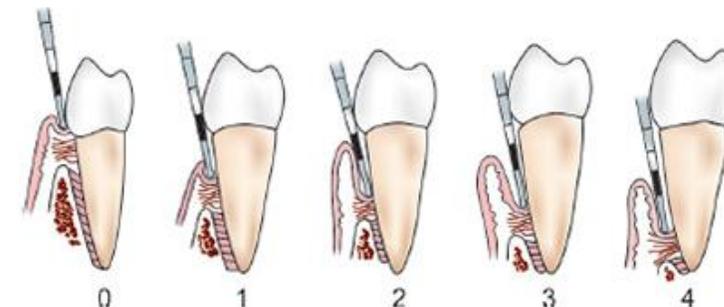
Индекс зубного налета (PI – Plaque Index) – индекс, отражающий по 4-х балльной системе уровень накопления мягкого и твердого налета на 4 поверхностях каждого зуба – щечной, язычной и 2 проксимальных поверхностях.



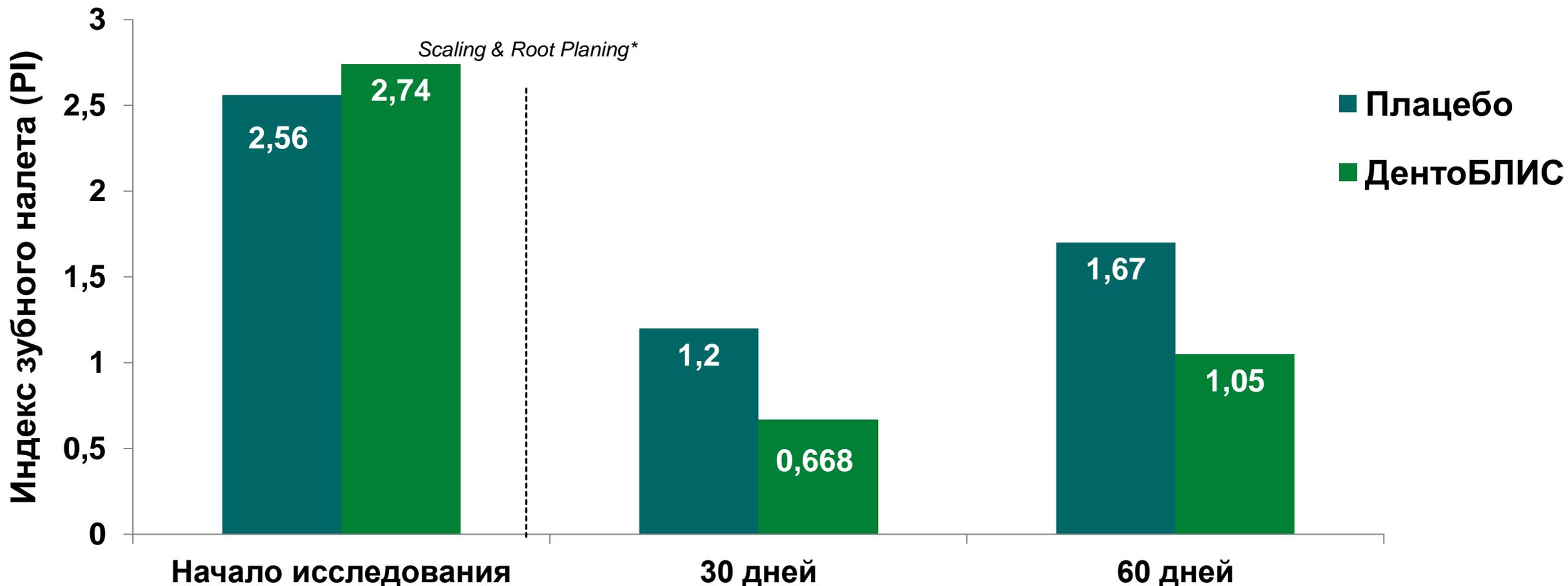
Индекс гингивита (GI - Gingival Index) – индекс, использующийся для оценки степени тяжести гингивита, при определении которого осматривают десну в области 6 зубов и оценивают состояние десны в области каждого зуба на 4 участках: дистальном, медиальном, в центре вестибулярного и в центре язычного отдела.



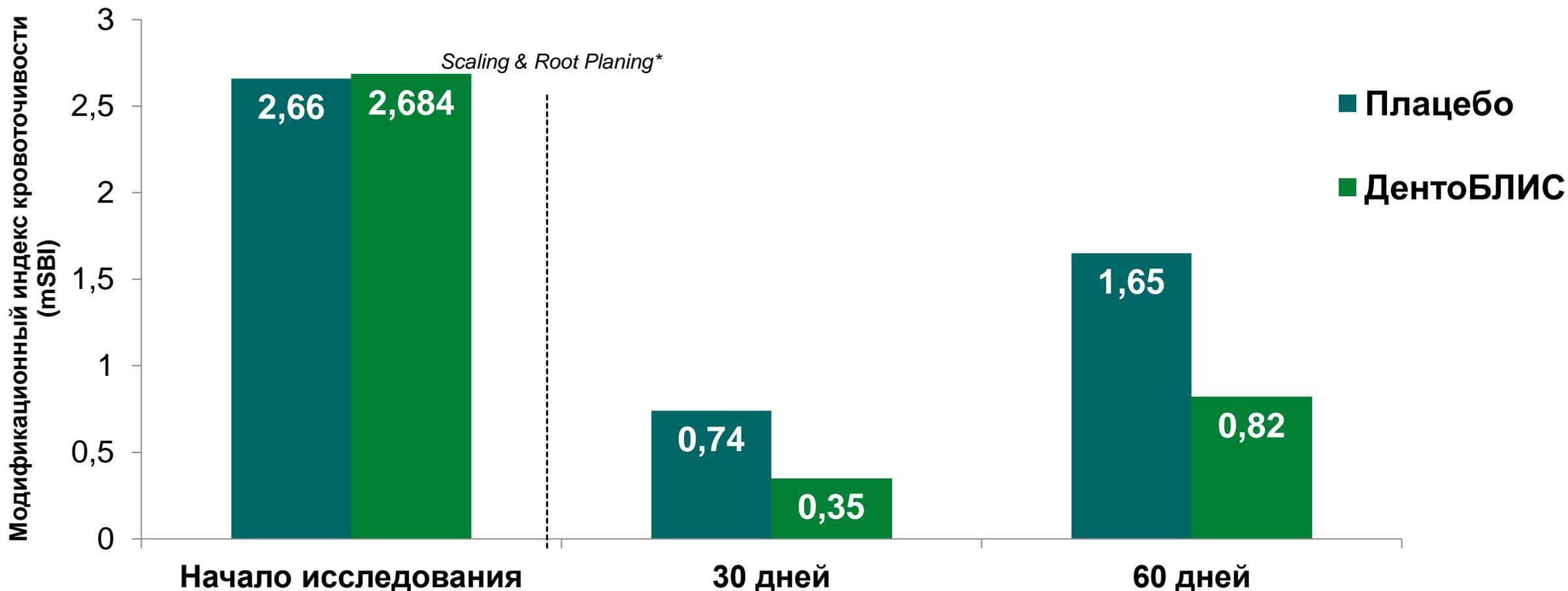
Модификационный индекс кровоточивости (mSBI - Modified Sulcular Bleeding Index) – индекс, использующийся для оценки степени кровоточивости десен, определение которого представляет из себя осторожное зондирование края исследуемой десны.



Уменьшение количества зубного налета после комплекса процедур Scaling & Root Planing*



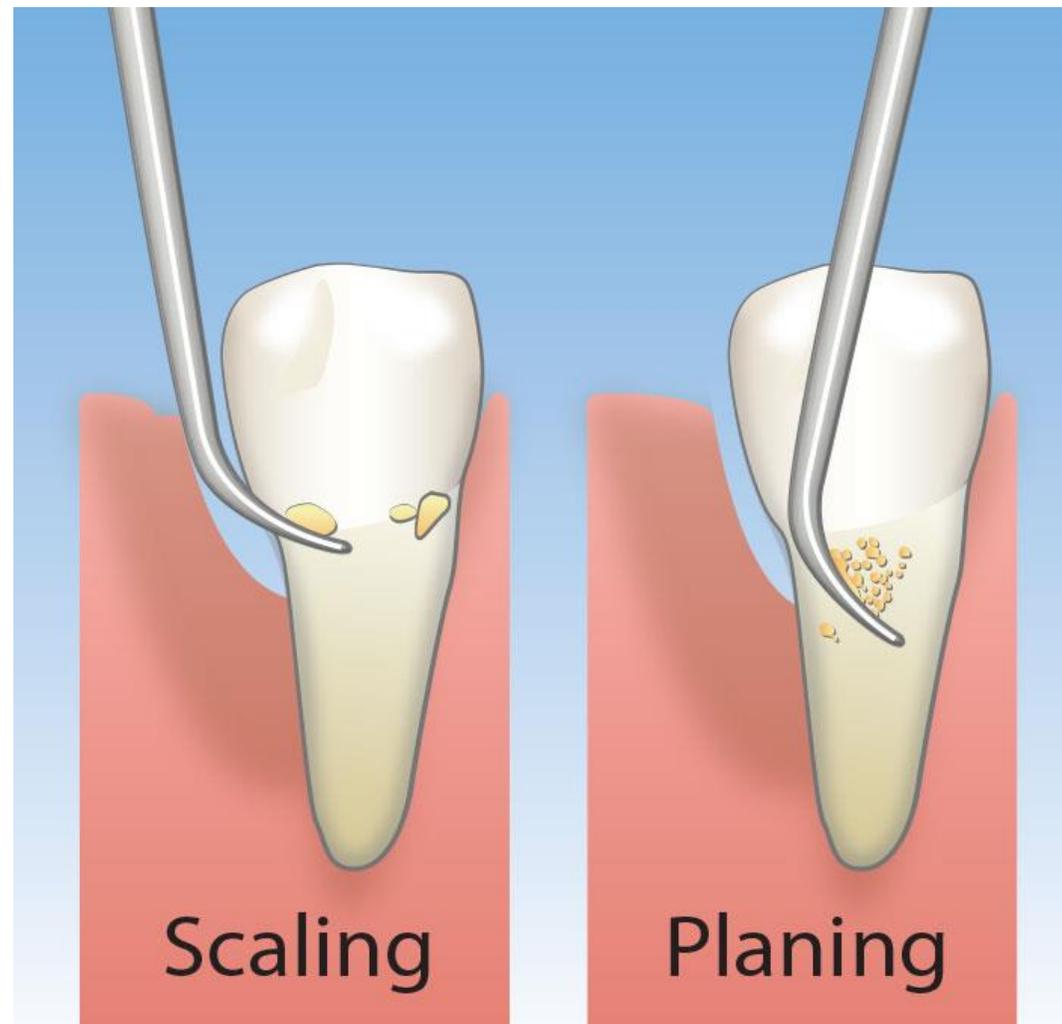
Уменьшение кровоточивости после комплекса процедур *Scaling & Root Planing**



*SCALING & ROOT PLANING

Процедуры рутплэнинга и скейлинга качественно очищают поверхность корня зуба и улучшают состояние пародонта

- Рутпленинг — метод нехирургического пародонтального лечения, снимающий воспаление десневых тканей и изменяющий состав микрофлоры под десной
- Скейлинг — процедура очистки поверхности зубного корня, эффективная мера профилактики пародонтита и средство сохранения здоровья десен



- У пациентов с заболеваниями пародонта, которые находились в исследуемой группе и получали пробиотик *S. salivarius* M18 (после комплекса процедур Scaling & Root Planing*) на 30 день исследования наблюдалось:
 - уменьшение показателей индекса зубного налета
 - уменьшение показателей индекса гингивита
- У пациентов в контрольной группе после комплекса процедур Scaling & Root Planing* также снизились показатели индекса зубного налета и индекса гингивита, однако это снижение было гораздо менее выраженным по сравнению с показателями у пациентов в исследуемой группе
- Данное исследование подтверждает, что применение пробиотика *S. salivarius* M18 в качестве биологически активной добавки может быть потенциально полезно для улучшения и укрепления здоровья полости рта у пациентов, имеющих заболевания пародонта.

Исследование эффективности и безопасности

Streptococcus salivarius M18

(SsM18) №2

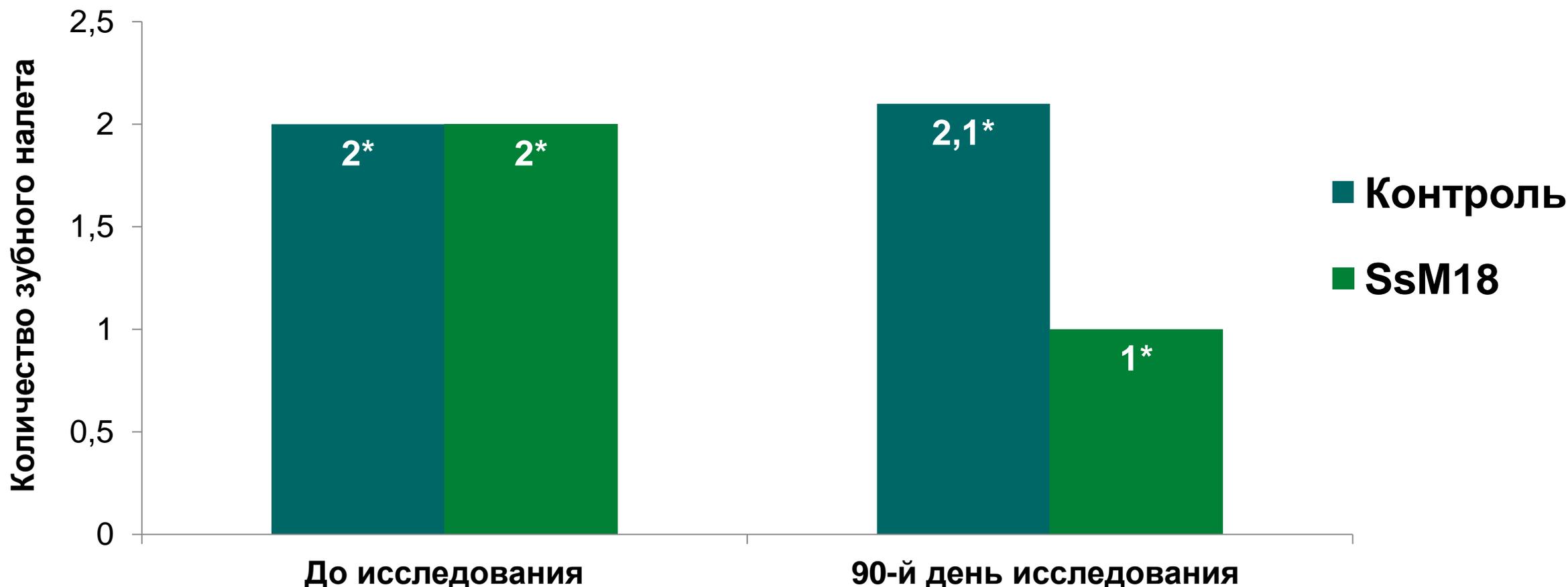
- Кислотопродуцирующие, обитающие в зубном налёте, бактерии *Streptococcus mutans* – один из этиологических факторов кариеса
- Бактериоцины, выделяемые пробиотиком *Streptococcus salivarius* M18 могут эффективно противодействовать *S. mutans*
- *S. salivarius* M18 после колонизации слизистой оболочки полости рта человека начинает продуцировать ферменты **декстраназу** и **уреазу**, которые способны противодействовать образованию зубного налета и уменьшению кислотности слюны



- Рандомизированное контролируемое исследование
- Дети (n=76) от 6 до 17 лет с высоким риском возникновения кариеса* получали пробиотик *Streptococcus salivarius* M18 в течение 90 дней (n=38), либо не получали пробиотик (n=38)
- Каждые 15 дней на протяжении исследования все включенные пациенты осматривались стоматологом для оценки их медицинского состояния и специфических параметров исследования, таких как: переносимость пробиотиков и приверженность режимам дозирования, а так же документирования побочных эффектов, связанных с лечением
- Пробиотик назначался каждый вечер перед сном в форме таблеток для рассасывания в полости рта

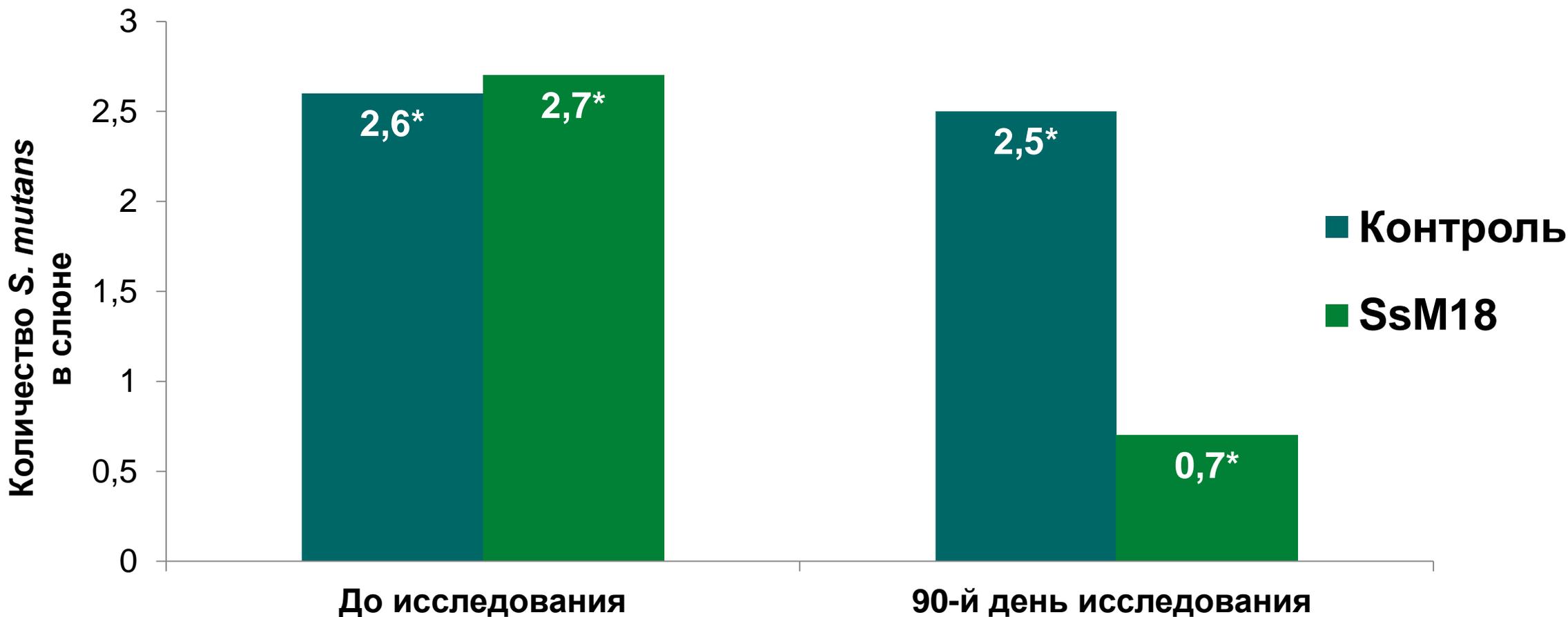
* высокий риск кариеса определялся на основании результатов компьютерной программы прогнозирования кариозной болезни «Кариограмма» (вероятность возникновения новых кариозных полостей <25)

Уменьшение количества зубного налета у детей



*данные выражены как среднее значение

Уменьшение количества бактерий, вызывающих кариес у детей



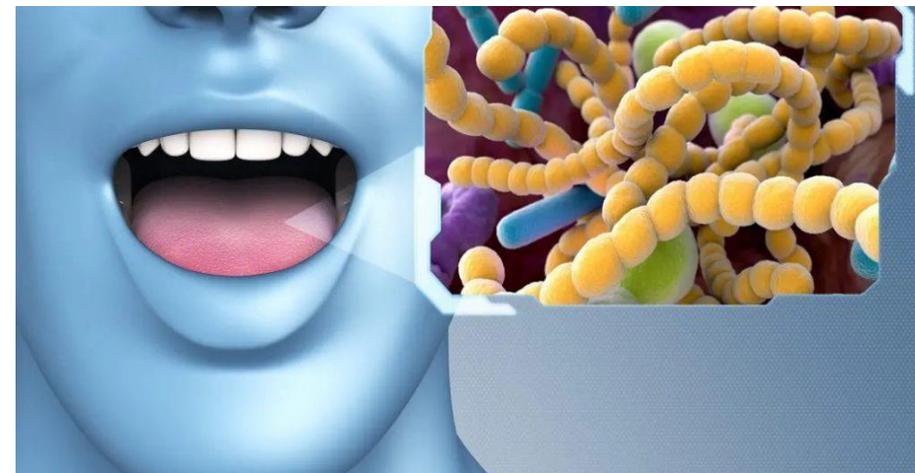
*данные выражены как среднее значение

Исследование эффективности и безопасности
***Streptococcus salivarius* M18**
(SsM18) №3

- Причиной неприятного запаха изо рта (галитоза) в 80-90% случаев являются грамотрицательные анаэробные бактерии *Porphyromonas gingivalis* и *Treponema denticola*, которые продуцируют летучие серосодержащие соединения
- *P. gingivalis* и *T. denticola* также являются возбудителями воспалительных заболеваний пародонта
- Возможно ли ингибировать рост *P. gingivalis* и *T. denticola*, а так же продукцию ими летучих соединений серы использованием пробиотического штамма *S. salivarius* M18?

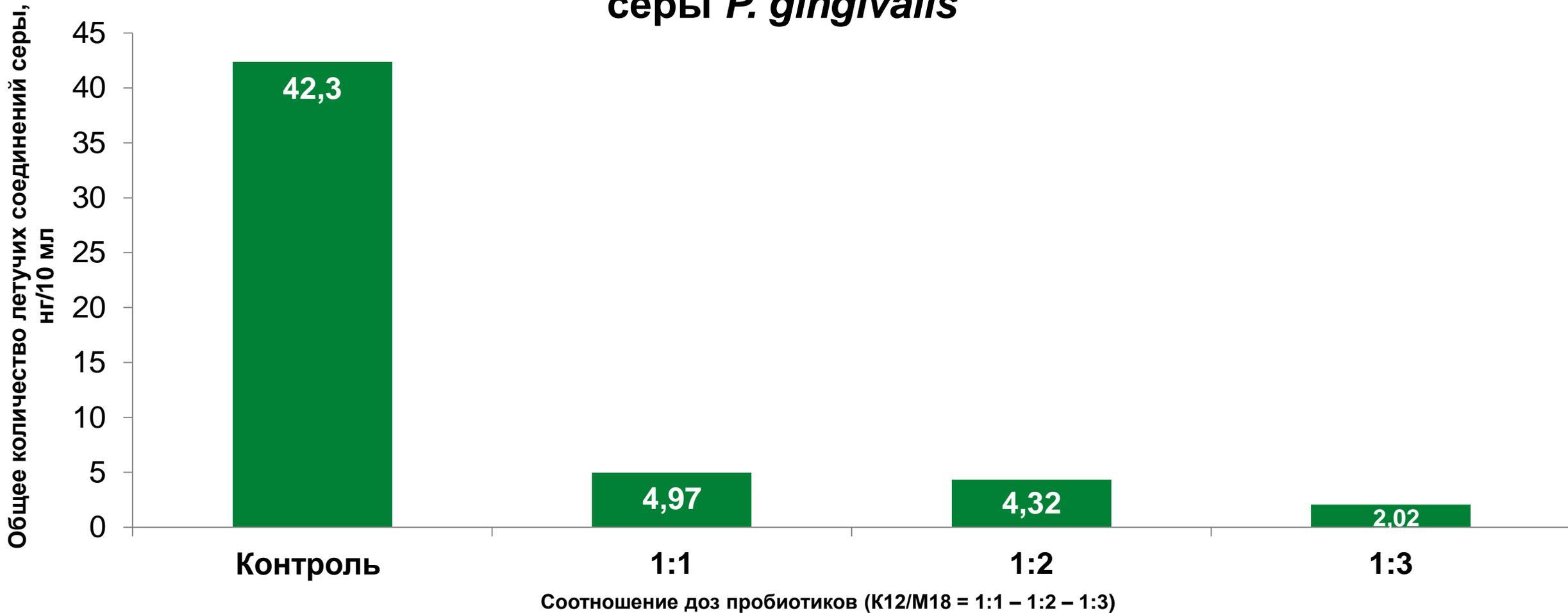


- После того, как штаммы *P. gingivalis* и *T. denticola* (ATCC 33277 и ATCC 35405) культивировались с или без *S. salivarius* K12 и M18, проводилось измерение продукции летучих соединений серы (H_2S , CH_3SH и $(CH_3)_2S$) с помощью хроматографического анализатора Oral Chroma
- С целью анализа механизма возможного контроля неприятного запаха изо рта проводилась оценка антимикробной активности *S. salivarius* K12 и M18 против *P. gingivalis* и *T. denticola*

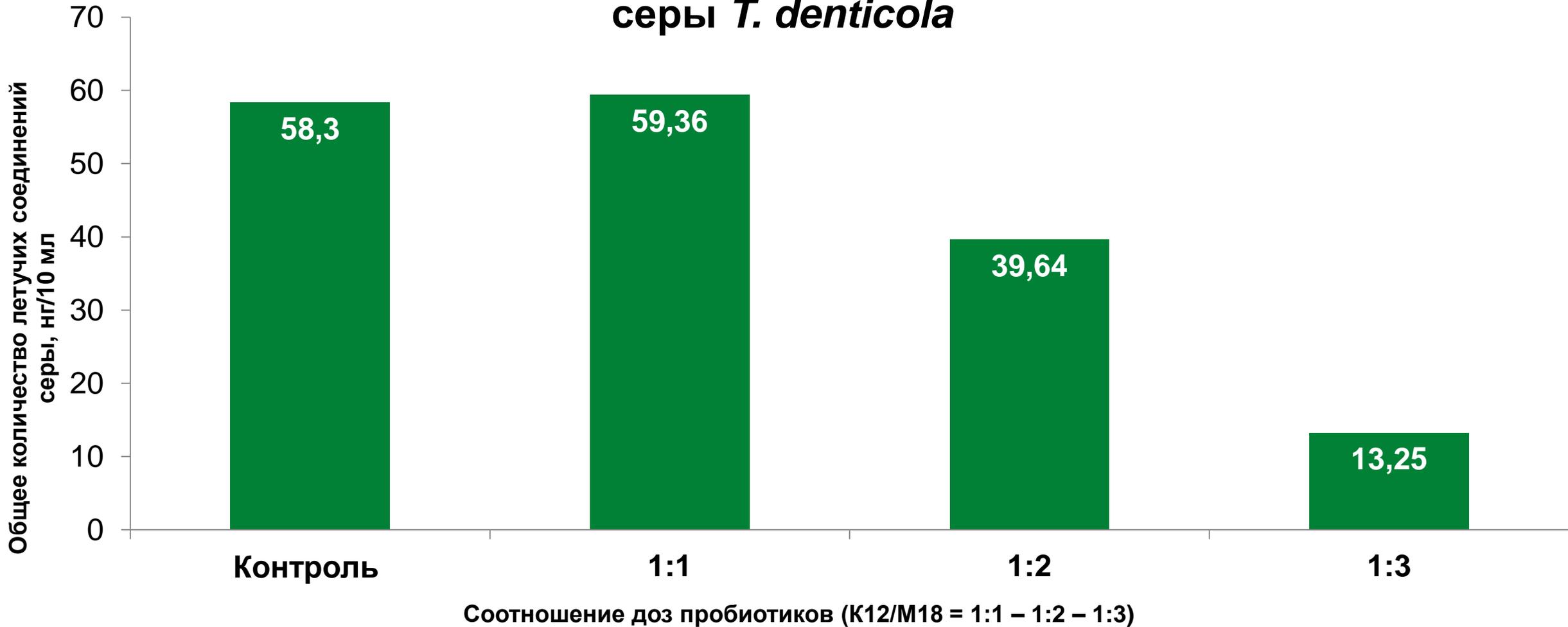


Анализ влияния *S. salivarius* K12 и M18 на
продукцию летучих соединений
серы (H_2S , CH_3SH и $(CH_3)_2S$)
бактериями *P. gingivalis* и *T. denticola*

Влияние *S. salivarius* K12 и M18 на продукцию летучих соединений серы *P. gingivalis*

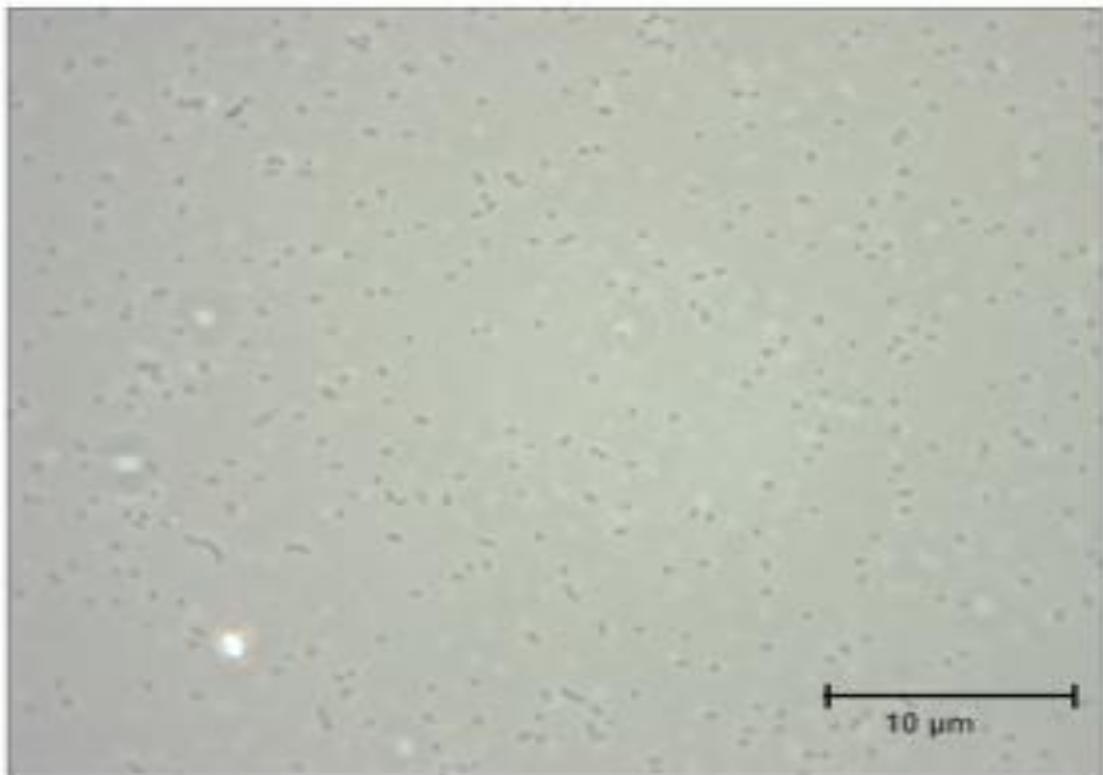


Влияние *S. salivarius* K12 и M18 на продукцию летучих соединений серы *T. denticola*

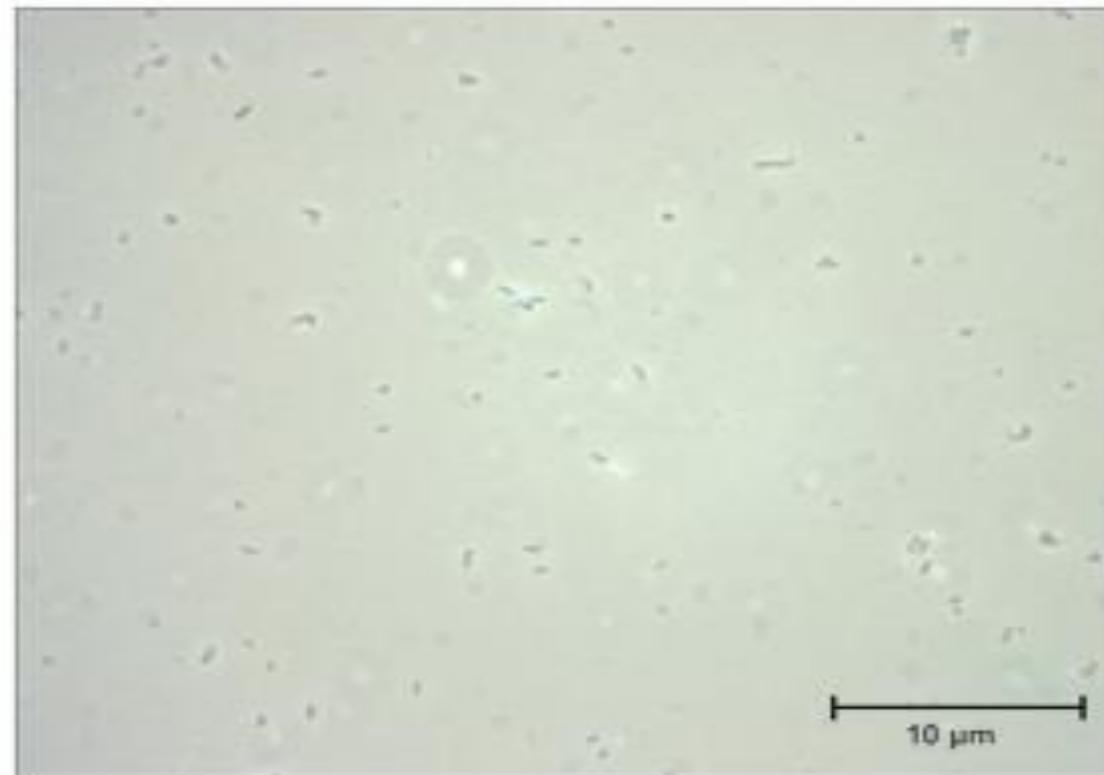


Анализ антибактериальной активности *S. salivarius* K12 и M18 против бактерий *P. gingivalis* и *T. Denticola*, продуцирующих летучие соединения серы (H_2S , CH_3SH и $(CH_3)_2S$)

Антимикробная активность *S. salivarius* K12 и M18 против бактерий, вызывающих неприятный запах изо рта

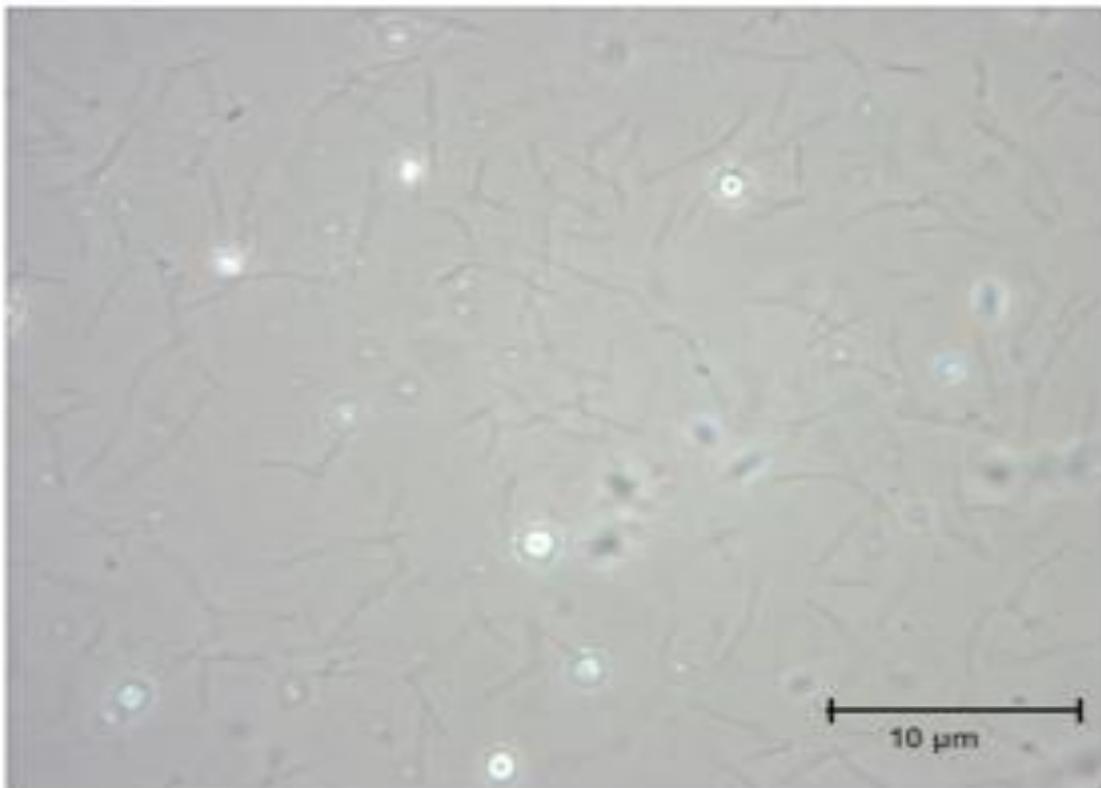


***P. gingivalis*, которые культивировались
без *S. salivarius***

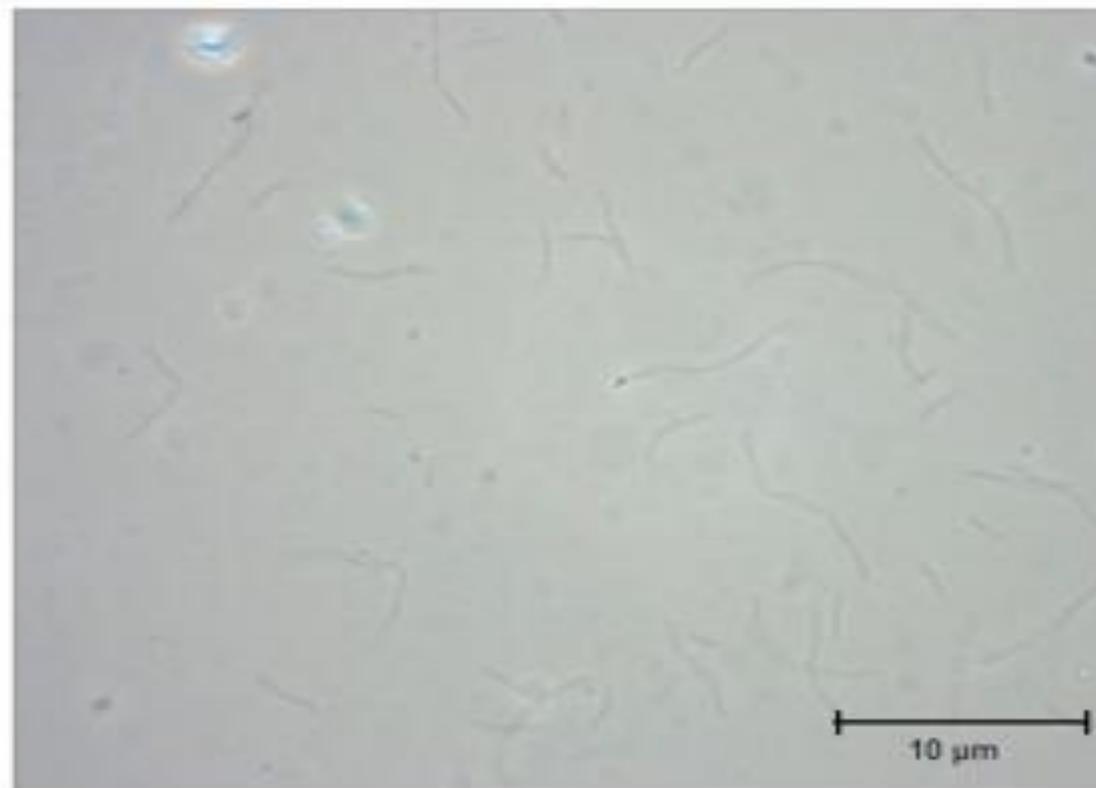


***P. gingivalis*, которые культивировались
совместно с *S. salivarius***

Антимикробная активность *S. salivarius* K12 и M18 против бактерий, вызывающих неприятный запах изо рта



***T. denticola*, которые культивировались без
*S. salivarius***



***T. denticola*, которые культивировались
совместно с *S. salivarius***

- Результаты показали, что применение пробиотиков *S. salivarius* K12 и M18 снизило продукцию летучих соединений серы (H_2S , CH_3SH и $(CH_3)_2S$) бактериями *P. gingivalis* и *T. Denticola* (статистически достоверно).
- Кроме того, пробиотики *S. salivarius* K12 и M18 обладают спектром антимикробной активности против *P. gingivalis* и *T. Denticola* (статистически достоверно).
- Из результатов исследования можно сделать вывод о том, что *S. salivarius* демонстрирует превосходный эффект снижения выраженности неприятного запаха изо рта за счет антимикробной активности против бактерий, вызывающих этот запах, и нейтрализации летучих соединений серы посредством колонизации ротовой полости.

Исследование эффективности и безопасности
***Streptococcus salivarius* M18**
(SsM18) №4

- Многие исследования указывают на многокомпонентную этиологию кариеса, однако ацидогенные бактерии *S. mutans*, населяющие зубной налет, все еще считаются основной этиологической причиной при большинстве кариозных поражений.
- Лечение, которое включает в себя использование антибиотиков с активностью против стрептококков, может быть эффективно только в краткосрочной перспективе (снижение количества *S. mutans* и, как результат, уменьшение количества зубного налета).
- Однако многие антибиотики имеют широкий спектр антибактериальной активности и, соответственно, уничтожают как патогенные микроорганизмы, так и бактерии-комменсалы, создавая популяционный дисбаланс микрофлоры.
- Кроме того, отмечаются сложности с применением ряда антибиотиков у маленьких детей (вопросы безопасности, комплаентности и пр.), в связи с чем у детей особенно сложно достичь положительных результатов лечения.

Burton J.P., Drummond B.K., Chilcott C.N., Tagg J.R., Thomson W.M., Hale J.D.F., Wescombe P.A. Influence of the probiotic *Streptococcus salivarius* strain M18 on indices of dental health in children: a randomized double-blind, placebo-controlled trial. J Med Microbiol. 2013 Jun;62(Pt 6):875-884.

- У штамма *S. salivarius* M18, который первоначально выделен от здорового взрослого человека, были обнаружены бактериоцино-подобные ингибирующие вещества (BLIS) или бактериоцины, которые обладают относительно высокой активностью против *S. mutans*.
- Бактериоцины – это белки, синтезируемые на бактериальных рибосомах, имеющие определенный спектр антибактериальной активности, направленный в основном против относительно близкородственных бактерий.
- Пробиотический штамм *S. salivarius* M18, который продуцирует бактериоцины, обладающие антибактериальной активностью против *S. mutans*, в настоящее время рассматривается в качестве варианта заместительной терапии для контроля кариеса.

Burton J.P., Drummond B.K., Chilcott C.N., Tagg J.R., Thomson W.M., Hale J.D.F., Wescombe P.A. Influence of the probiotic *Streptococcus salivarius* strain M18 on indices of dental health in children: a randomized double-blind, placebo-controlled trial. J Med Microbiol. 2013 Jun;62(Pt 6):875-884.

- Пациенты (n=100) в возрасте 5-10 лет с кариесом в анамнезе (по меньшей мере, 3 эпизода лечения кариеса, из них один – в предшествующие 12 месяцев)
- У каждого пациента получали 2 образца слюны и определяли с интервалом 2 недели количественное содержание *S. mutans* и бактериоцин-продуцирующих *S. salivarius*
- Критериями включения в лечебную фазу исследования было:
 - 1) отсутствие в слюне *S. salivarius* с высоким уровнем продукции бактериоцинов
 - 2) содержание *S. mutans* более 10^4 КОЕ/мл¹ хотя бы в одном образце слюны до лечения
- Пациенты были разделены на две группы
 - 1 группа (n=40) получала пробиотик *S. salivarius* в течение 3 месяцев
 - 2 группа (n=43) получала плацебо
- Исследование длилось в течение 7 месяцев

Burton J.P., Drummond B.K., Chilcott C.N., Tagg J.R., Thomson W.M., Hale J.D.F., Wescombe P.A. Influence of the probiotic *Streptococcus salivarius* strain M18 on indices of dental health in children: a randomized double-blind, placebo-controlled trial. J Med Microbiol. 2013 Jun;62(Pt 6):875-884.

- **Спектр антимикробной активности *S. salivarius* M18 *in vitro* оценивали с помощью метода отсроченного антагонизма (следующие слайды с бактериальными культурами)**
- **Все бактерии (как пробиотические, так и патогенные) культивировались по всем необходимым требованиям микробиологических исследований**
- **Бактериологическое исследование слюны проводилось по всем стандартам микробиологических исследований**
- **Оценка состояния здоровья полости рта у пациентов проводилась при помощи Индекса гингивита (GI - Gingival Index) и Упрощенного индекса гигиены полости рта (Oral Hygiene Index-Simplified - OHI-S)**
- **Для гигиены полости рта пациенты использовали фторсодержащую пасту, которая не имела в составе никаких антибактериальных компонентов**

Burton J.P., Drummond B.K., Chilcott C.N., Tagg J.R., Thomson W.M., Hale J.D.F., Wescombe P.A. Influence of the probiotic *Streptococcus salivarius* strain M18 on indices of dental health in children: a randomized double-blind, placebo-controlled trial. J Med Microbiol. 2013 Jun;62(Pt 6):875-884.

Результаты оценки антимикробной активности *S. salivarius* M18 против патогенов, вызывающих инфекции полости рта, при помощи метода отсроченного антагонизма

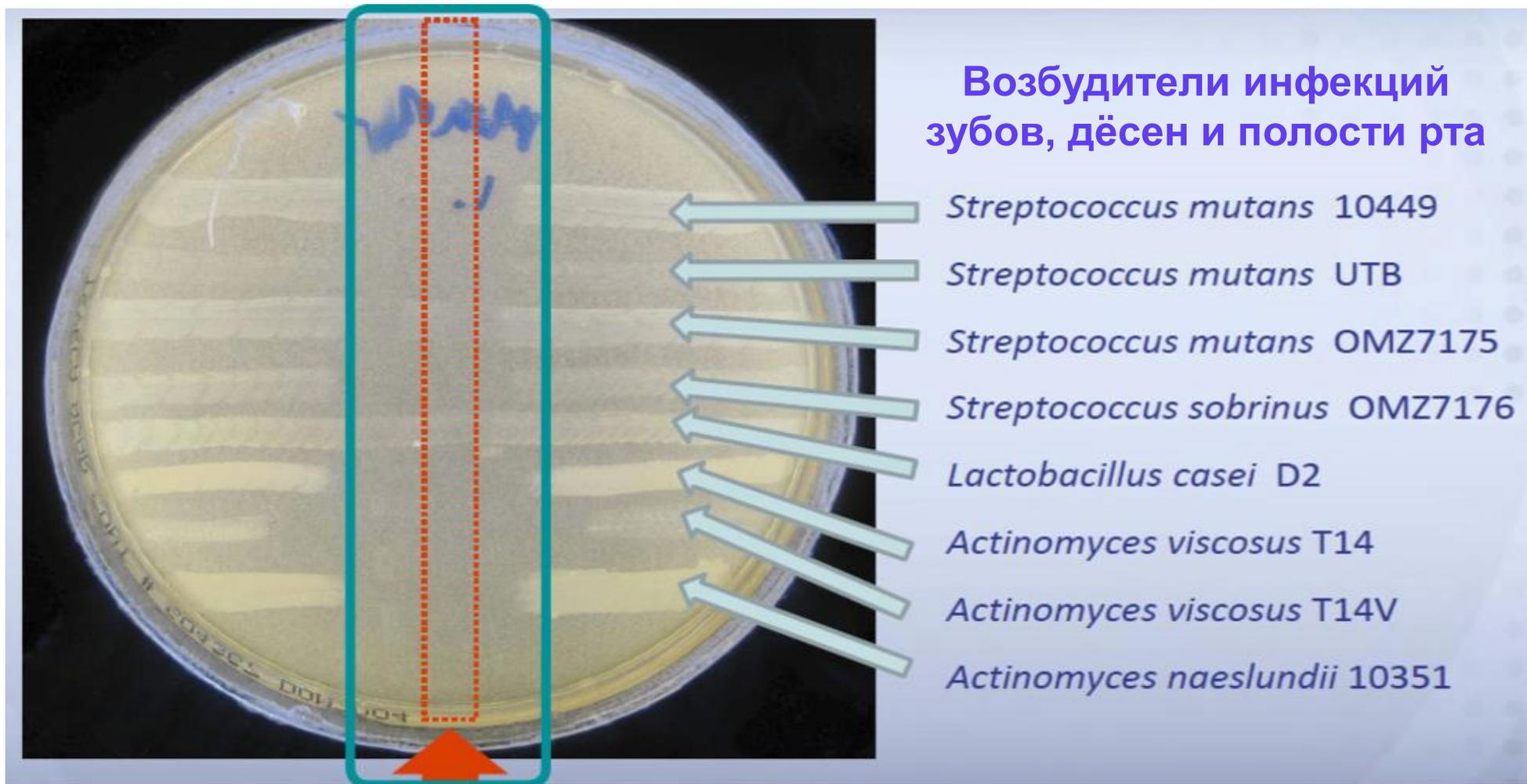
Burton J.P., Drummond B.K., Chilcott C.N., Tagg J.R., Thomson W.M., Hale J.D.F., Wescombe P.A. Influence of the probiotic *Streptococcus salivarius* strain M18 on indices of dental health in children: a randomized double-blind, placebo-controlled trial. J Med Microbiol. 2013 Jun;62(Pt 6):875-884.

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ *S. salivarius* M18 В ОТНОШЕНИИ РАЗЛИЧНЫХ ПАТОГЕНОВ *IN VITRO*

Индикаторный вид м/о	Количество ингибируемых штаммов / общее количество исследуемых штаммов
• <i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1/1
• <i>Haemophilus influenzae</i>	2/3
• <i>Listeria monocytogenes</i>	5/5
• <i>Staphylococcus aureus</i>	3/6
• <i>Staphylococcus cohnii</i>	2/2
• <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2/2
• <i>Streptococcus agalactiae</i>	2/2
• <i>Streptococcus mitis</i>	1/1
• <i>Streptococcus mutans</i>	11/11
• <i>Streptococcus pneumoniae</i>	8/8
• <i>Streptococcus pyogenes</i>	8/8
• <i>Candida albicans</i>	0/3

Burton J.P., Drummond B.K., Chilcott C.N., Tagg J.R., Thomson W.M., Hale J.D.F., Wescombe P.A. Influence of the probiotic *Streptococcus salivarius* strain M18 on indices of dental health in children: a randomized double-blind, placebo-controlled trial. J Med Microbiol. 2013 Jun;62(Pt 6):875-884.

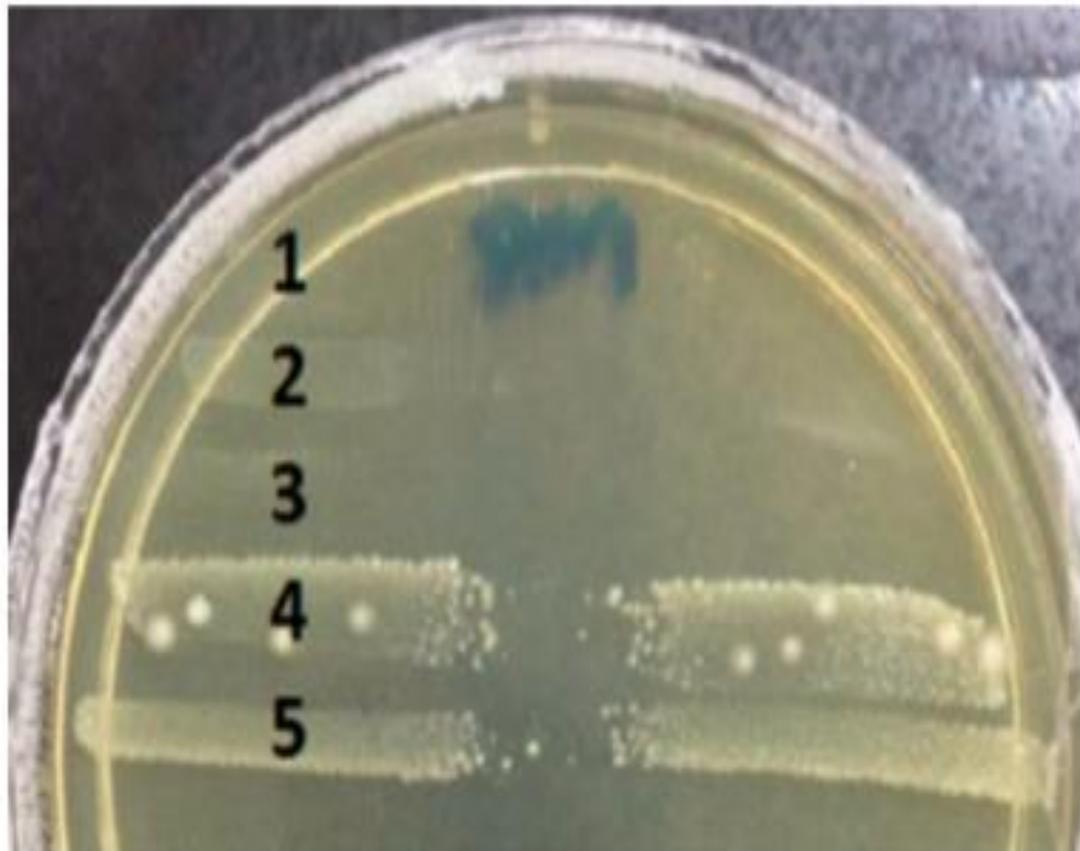
ОЦЕНКА АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ *S. salivarius* M18 *in vitro* ПРИ ПОМОЩИ МЕТОДА ОТСРОЧЕННОГО АНТОГОНИЗМА



Зона ингибирования патогена

Burton J.P., Drummond B.K., Chilcott C.N., Tagg J.R., Thomson W.M., Hale J.D.F., Wescombe P.A. Influence of the probiotic *Streptococcus salivarius* strain M18 on indices of dental health in children: a randomized double-blind, placebo-controlled trial. J Med Microbiol. 2013 Jun;62(Pt 6):875-884.

ОЦЕНКА АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ *S. salivarius* M18 *in vitro* ПРИ ПОМОЩИ МЕТОДА ОТСРОЧЕННОГО АНТОГОНИЗМА



Возбудитель инфекций полости рта	Ингибирование <i>S. salivarius</i> M18
1 - <i>Porphyramonas gingivalis</i> (n=3)	++ (3/3)
2 - <i>Prevotella intermedia</i> (n=3)	+++ (3/3)
3 - <i>Fusobacterium nucleatum</i> (n=2)	++ (2/2)

Burton J.P., Drummond B.K., Chilcott C.N., Tagg J.R., Thomson W.M., Hale J.D.F., Wescombe P.A. Influence of the probiotic *Streptococcus salivarius* strain M18 on indices of dental health in children: a randomized double-blind, placebo-controlled trial. J Med Microbiol. 2013 Jun;62(Pt 6):875-884.

**Результаты оценки состояния полости рта до и
после применения пробиотика
S. salivarius M18 при помощи
Индекса гингивита (GI - Gingival Index) и
Упрощенного индекса гигиены полости рта
(Oral Hygiene Index-Simplified - OHI-S)**

Burton J.P., Drummond B.K., Chilcott C.N., Tagg J.R., Thomson W.M., Hale J.D.F., Wescombe P.A. Influence of the probiotic *Streptococcus salivarius* strain M18 on indices of dental health in children: a randomized double-blind, placebo-controlled trial. J Med Microbiol. 2013 Jun;62(Pt 6):875-884.

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИКА *S. salivarius* M18 НА ПОКАЗАТЕЛИ ИНДЕКСА ЗУБНОГО НАЛЕТА ОHI-S* У ДЕТЕЙ

Время оценки	Значение индекса зубного налета ОHI-S* (SD)		Значение P
	Исследуемая группа (n=40)	Контрольная группа (n=43)	
Начало исследования	6,0 (3,3)	6,9 (3,2)	0,182
1 месяц	3,4 (2,1)	4,1 (2,6)	0,175
3 месяца	5,3 (3,2)	7,0 (4,1)	0,022
7 месяцев	4,7 (2,7)	4,4 (2,9)	0,852

*Oral Hygiene Index-Simplifite - Упрощенный индекс гигиены полости рта, который подразумевает оценку площади поверхности зуба, покрытой налетом и/или зубным камнем.

Burton J.P., Drummond B.K., Chilcott C.N., Tagg J.R., Thomson W.M., Hale J.D.F., Wescombe P.A. Influence of the probiotic *Streptococcus salivarius* strain M18 on indices of dental health in children: a randomized double-blind, placebo-controlled trial. J Med Microbiol. 2013 Jun;62(Pt 6):875-884.

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИКА *S. salivarius* M18 НА ПОКАЗАТЕЛИ ИНДЕКСА ГИНГИВИТА* У ДЕТЕЙ

Время оценки	Значение индекса гингивита*(SD)		Значение P
	Исследуемая группа (n=40)	Группа, получающая плацебо (n=43)	
Начало исследования	2,2 (1,9)	2,0 (1,4)	0,328
1 месяц	1,5 (1,7)	1,7 (1,9)	0,641
3 месяца	2,1 (2,6)	2,3 (3,1)	0,548
7 месяцев	2,4 (2,2)	1,8 (1,9)	0,354

*Индекс гингивита (GI - Gingival Index) – индекс, использующийся для оценки степени тяжести гингивита, при определении которого осматривают десну в области 6 зубов и оценивают состояние десны в области каждого зуба на 4 участках: дистальном, медиальном, в центре вестибулярного и в центре язычного отдела.

Burton J.P., Drummond B.K., Chilcott C.N., Tagg J.R., Thomson W.M., Hale J.D.F., Wescombe P.A. Influence of the probiotic *Streptococcus salivarius* strain M18 on indices of dental health in children: a randomized double-blind, placebo-controlled trial. J Med Microbiol. 2013 Jun;62(Pt 6):875-884.

- Результаты оценки антимикробной активности *S. salivarius* M18 показали, что данный пробиотик:
 - имеет антибактериальную активность *in vitro* в отношении большинства патогенов, вызывающих инфекции полости рта
 - не имеет антибактериальной активности *in vitro* в отношении *Candida albicans*
- Применение *S. salivarius* M18 в исследуемой группе привело к статистически значимому снижению показателей зубного налета на 1-й и 3-й месяц исследования по сравнению с контрольной группой
- Применение *S. salivarius* M18 в исследуемой группе привело к статистически незначимым различиям показателей гингивита по сравнению с контрольной группой
- В данном исследовании были представлены доказательства, которые подтверждают целесообразность использования *S. salivarius* M18 в качестве пробиотика для поддержания здоровья полости, т.к. данный штамм имеет широкий спектр антимикробной активности в отношении патогенов, вызывающих инфекции полости рта и способен уменьшать количество зубного налета

Burton J.P., Drummond B.K., Chilcott C.N., Tagg J.R., Thomson W.M., Hale J.D.F., Wescombe P.A. Influence of the probiotic *Streptococcus salivarius* strain M18 on indices of dental health in children: a randomized double-blind, placebo-controlled trial. J Med Microbiol. 2013 Jun;62(Pt 6):875-884.

Исследование эффективности и безопасности

Streptococcus salivarius M18

(SsM18) №5

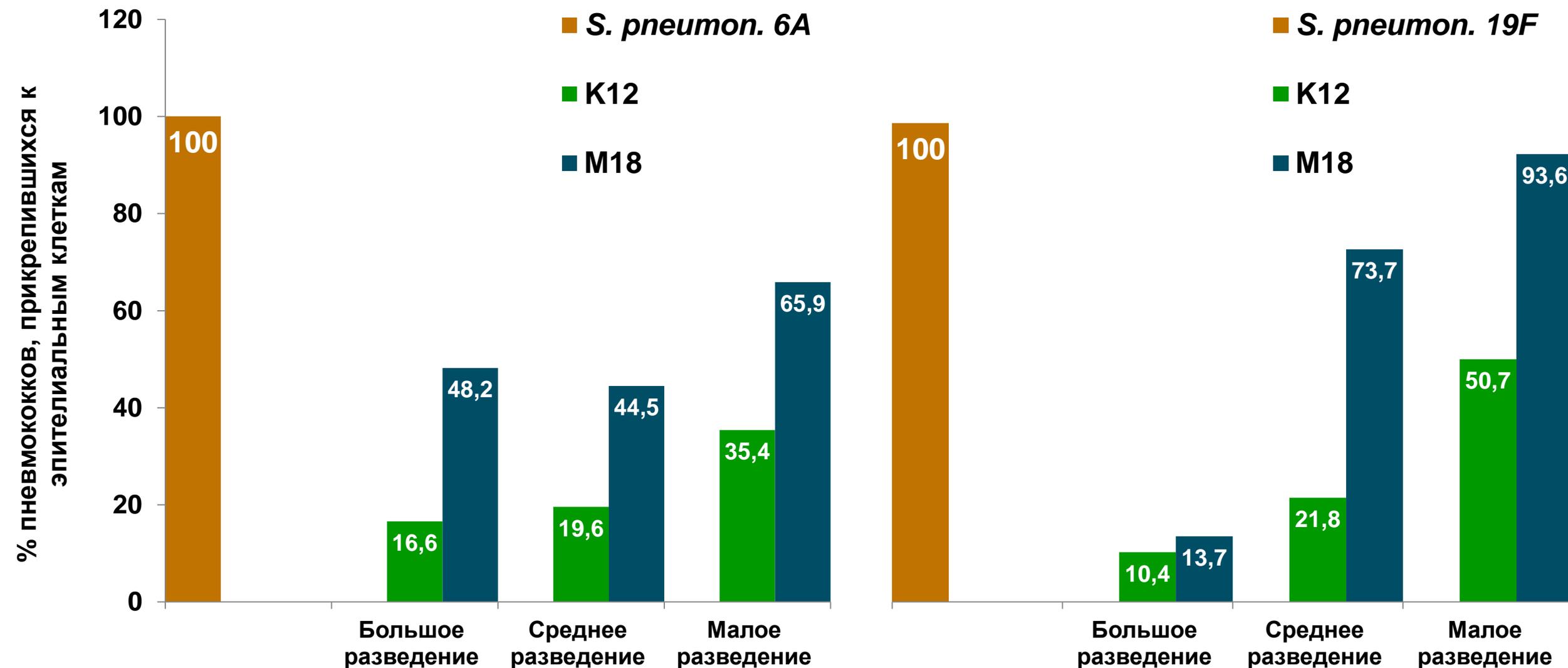
- ***Streptococcus pneumoniae*** (пневмококк) обычно колонизирует носоглотку здоровых людей, часто носоглотку маленьких детей. Диссеминация пневмококков из носоглотки в другие органы и участки тела может вызывать такие заболевания, как менингит, сепсис, пневмонию и средний отит
- Небольшое количество клинических исследований показывают, что применение ***S. salivarius* K12 и M18** могут снизить количество случаев тонзиллитов и средних отитов, а также снизить количество зубного налета
- Результаты несколько исследований показывают, что применение ***S. salivarius*** может предотвратить рост респираторных патогенов, включая пневмококков, за счет продукции бактериоцинов и бактериоцин-подобных ингибирующих веществ (BLIS).

Manning J, Dunne E.M., Wescombe P.A., Hale J.D., Mulholland E.K., Tagg J.R., Robins-Browne R.M., Satzke C. Investigation of *Streptococcus salivarius*-mediated inhibition of pneumococcal adherence to pharyngeal epithelial cells. BMC Microbiol. 2016 Sep 29;16(1):225.

- В исследовании оценивалась ингибирующая активность различных изолятов *S. salivarius* в отношении адгезии различных изолятов и серотипов пневмококков к эпителиальным клеткам человека *in vitro*.
- В качестве клеточной культуры были использованы эпителиальные клетки глотки человека (Детройт 562 - клеточная линия эпителиальной карциномы глотки).
- Сначала все бактерии культивировались на питательных средах, после чего колонии были разведены в физиологическом растворе до достижения необходимых концентраций бактериальной культуры в растворе. Далее раствор с бактериальной культурой переносили в лунки планшета, в которых содержались клетки Детройт 562.
- Кроме того, оценивалась антимикробная активность *S. salivarius* в отношении пневмококков при помощи метода отсроченного антагонизма.

Manning J, Dunne E.M., Wescombe P.A., Hale J.D., Mulholland E.K., Tagg J.R., Robins-Browne R.M., Satzke C. Investigation of *Streptococcus salivarius*-mediated inhibition of pneumococcal adherence to pharyngeal epithelial cells. BMC Microbiol. 2016 Sep 29;16(1):225.

Результаты оценки ингибирования
пробиотиками *S. salivarius* M18 и K12
адгезии *S. pneumoniae* (серотипы 6A и 19F)
к эпителиальным клетками



**Результаты оценки антимикробной
активности *S. salivarius* M18 и K12
против различных штаммов и серотипов
S. pneumoniae при помощи метода
отсроченного антагонизма**

ОТЛОЖЕННЫЙ АНТАГОНИЗМ ШТАММОВ *S. salivarius* ПРОТИВ ШТАММОВ ПНЕВМОКОККА

Штамм пневмококка	Серотип пневмококка	<i>S. salivarius</i> K12	<i>S. salivarius</i> K12 mp-*	<i>S. Salivarius</i> M18	<i>S. Salivarius</i> M18 mp-*
PMP1086	7F	+	-	+	-
PMP296	9V	+	-	+	-
PMP130	14	+	-	+	-
PMP222	18C	+	-	+	-
PMP292	19A	+	-	+	-
PMP843	19F	+	-	+	-
PMP283	22F	+	-	+	-

* Штамм *S. salivarius*, у которого отсутствует мегаплазида

ОТЛОЖЕННЫЙ АНТАГОНИЗМ ШТАММОВ *S. salivarius* ПРОТИВ ШТАММОВ ПНЕВМОКОККА

Штамм пневмококка	Серотип пневмококка	<i>S. salivarius</i> K12	<i>S. salivarius</i> K12 mp-*	<i>S. Salivarius</i> M18	<i>S. Salivarius</i> M18 mp-*
PMP1081	1	+	-	+	-
PMP278	3	+	-	+	-
PMP241	4	+	-	+	-
PMP812	5	+	-	+	-
PMP1043	6A	+	-	+	-
PMP17	6A	+	-	+	-
PMP434	6B	+	-	+	-
PMP437	6C	+	-	+	-

* Штамм *S. salivarius*, у которого отсутствует мегаплазида

- *S. salivarius* реализует свою антибактериальную активность против *S. pneumoniae* за счет:
 - снижения адгезии пневмококков к эпителиальным клеткам
 - активности бактериоцинов, информация о которых закодирована в мегалазмидах
- Штаммы *S. salivarius*, которые имеют мегаплазмиды, кодирующие информацию о бактериоцинах, *in vitro* имели антимикробную активность против всех исследуемых штаммов и серотипов *S. pneumoniae*
- Штаммы *S. salivarius*, лишенные мегаплазмид, не показали антимикробного эффекта против исследуемых штаммов и серотипов *S. pneumoniae*
- Ингибирование адгезии *S. pneumoniae* 6A и 19F пробиотиками *S. salivarius* M18 и K12 зависело от дозы применения пробиотиков

