
ASSOCIATION BETWEEN THE PRESENCE OF LACTOBACILLUS IN SALIVA AND DENTAL CARIES IN CHILDREN WITH PERMANENT DENTITION

Naskova SanjaFaculty of medical science, “Goce Delcev” University, Stip, R. N. Macedonia
sanja.naskova@ugd.edu.mk**Dimova Cena**Faculty of medical science, “Goce Delcev” University, Stip, R.N. Macedonia,
cena.dimova@ugd.edu.mk**Zlatanovska Katerina**Faculty of medical science, “Goce Delcev” University, Stip, R. N.Macedonia
katerina.zlatanovska@ugd.edu.mk

Abstract Despite the scientific and technological evolution, dental caries is still one of the leading health concerns throughout the world that affects population groups from all ages, especially school children. There are numerous etiological factors for dental caries, from which most are confirmed etiological factors, but still many remain to be researched to their full extend. The purpose of this paper is to investigate whether there is a significant inverse association between the intensity of dental caries and the bacterial strains of Lactobacillus. Lactobacilli were the first microorganisms to be linked and mentioned as causes of dental caries. Numerous authors have suggested that the number of lactobacilli in saliva is a better criterion than that of Streptococcus mutans, although it is considered to be closely correlated with caries. The randomly selected children from the primary schools in the city of Stip were observed for the realization of the goals. In our examination we included 71 examiners from both genders at the age of 12 years (permanent dentition) of which 31 examiners were with DMFT = 0 (control group) and 40 examiners were with DMFT (study group). We selected an age group of 12 years following WHO recommendations that recommends that age for global dental caries monitoring and applies only to children with permanent dentition. In the study we used the generally accepted index of the presence or absence of a Klein - Palmer index caries process, designated as DMFT. According to the clinical trial data, we determined the intensity (presence / absence) of dental caries (WHO, Geneve, 1997). Lactobacilli in saliva were determined by diagnostic test CRT-bacteria (Vivadent, Schaan, Lihtenstein). Between the existence of Lactobacillus in the saliva and the existence of dental caries there is a significant correlation ($p < 0,01$). The parameters which we included in the study can give a scientific contribution in the preparation of strategies for the individual assessment of the dental caries risk, from which the dentists can act on solving the problem with actions focused on the individual risk factors responsible for dental caries, while using methods which include assessment of the clinical criteria in the detection of the early phases of evolution of dental caries and designing protocols that can be used in dental caries preventive and interceptive measures based on the dental caries status which implies educative, chemical and minimally invasive procedures. We can conclude that most of the salivary parameters can be successfully used for caries screening and that they are the most appropriate means of providing good oral care that feeds the children to healthy life.

Keywords: dental caries, Lactobacillus, saliva, permanent dentition

ПОВРЗАНОСТ ПОМЕЃУ ПРИСУСТВО НА ЛАКТОБАЦИЛУС ВО ПЛУНКА И ДЕНТАЛЕН КАРИЕС КАЈ ДЕЦА СО ТРАЈНА ДЕНТИЦИЈА**Нашкова Сања**Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип,
Република С. Македонија, sanja.naskova@ugd.edu.mk**Димова Цена**Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип,
Република С. Македонија, cena.dimova@ugd.edu.mk**Златановска Катерина**Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип,
Република С. Македонија, katerina.zlatanovska@ugd.edu.mk

Резиме Без разлика на напредокот во науката и техниката сепак денталниот кариес сеуште останува постојан и голем здравствен проблем низ целиот свет и ги опфаќа сите популациони групи и возрасти, а особено децата кај кои се јавува се почесто. Како етиолошките фактори за неговата појава се многубројни повеќе од нив потврдени но сепак голем број до крај сеуште остануваат предмет на истражувања. Целта на овој труд е да се испита дали постои значајна инверзна врска помеѓу интензитетот на денталниот кариес и бактериските соеви на *Lactobacillus*. Лактобацилите биле првите микроорганизми кои биле поврзани и споменати како причинители за дентален кариес. Бројни автори посочиле дека бројот на лактобацилите во плунката е подобар критериум од онаа на *Streptococcus mutans* иако тој се смета дека е во тесна корелација со појава на кариес. За реализација на поставените цел опсервирани се деца по случаен избор од основните училишта во градот Штип. Во истражувањето се вклучени 71 дете (26 од женски и 45 од машки пол) на возраст од 12 години. Возрасната група од 12 години ја избравме по препораките на СЗО кој ја препорачува таа возраст за глобален мониторинг за забниот кариес и се однесува само на деца со постојана дентиција. Испитаниците беа поделени во две групи: контролна група-31 испитаник без кариес, пломби и екстракции (КЕП=0) и експериментална група-40 испитаници со кариес, пломби и екстракции на забите. Во истражувањето го користевме општо прифатениот индекс на присуство или отсуство на кариозен процес Klein – Palmer – ов индекс, кој се означува како DMFT. Според добиените податоци од клиничкиот преглед, го одредувавме интензитетот (присуството/отсуството) на денталниот кариес (WHO, Geneva, 1997). Лактобацилите во плунката ги одредувавме со дијагностички тест CRT-bacteria (Vivadent, Schaan, Lihtenstein). Помеѓу присуството на *Lactobacillus* во плунката и присуството на денталниот кариес постои значајна поврзаност ($p < 0,01$). Параметрите кои ги вклучивме во студијата можат да дадат научен придонес при подготовката на стратегии за индивидуална проценка на дентален кариес ризик, од кој стоматолозите можат да дејствуваат на решавање на проблемот со фокусирање на индивидуалните фактори на ризик одговорни за забниот кариес, со користење на методи кои вклучуваат проценка на клиничките критериуми за откривање на раните фази на еволуција на забниот кариес и дизајнирање протоколи што можат да се користат при забен кариес, превентивни и интерцептивни мерки засновани на статус на забен кариес, што подразбира едукативни, хемиски и минимално инвазивни процедури. Можеме да констатираме дека најголемиот дел од саливарните параметри успешно може да се користат за кариес скрининг и како најадекватно средство за заокружување на доброто орално здравје кое ќе ги води децата кон здрав живот.

Клучни зборови: дентален кариес, *Lactobacillus*, плунка, трајна дентиција

1. ВОВЕД

Без разлика на напредокот во науката и техниката сепак денталниот кариес сеуште останува постојан и голем здравствен проблем низ целиот свет и ги опфаќа сите популациони групи и возрасти, а особено децата кај кои се јавува се почесто. Како етиолошките фактори за неговата појава се многубројни повеќе од нив потврдени но сепак голем број до крај сеуште остануваат предмет на истражувања. Целта на овој труд е да се испита дали постои значајна инверзна врска помеѓу интензитетот на денталниот кариес кариес и бактериските соеви на *Lactobacillus*. Лактобацилите биле првите микроорганизми кои биле поврзани и споменати како причинители за дентален кариес. Бројни автори посочиле дека бројот на лактобацилите во плунката е подобар критериум од онаа на *Streptococcus mutans* иако тој се смета дека е во тесна корелација со појава на кариес. Микроорганизмите играат важна улога во развојот и прогресијата на кариесот. Вообичаено, бактериите во оралната празнина се во рамноотежа. Ризикот од кариес се зголемува ако бројот на одредени бактерии (стр.мутанс, лактобацили) се зголемува значително, додека заштитните фактори не функционираат нормално. Утврдено е дека најголемиот број на кариогени бактерии се од групата на стрептококи, особено *S. mutans* и *S. sobrinus* и лактобацилите. Мутанс стрептококите се сметаат за значителни детерминанти за кариогеноста на плакот и се во главно поврзани со иницијалниот развој на кариесот, додека бројот на лактобацилите се зголемува за време на прогресијата на кариес.

Без оглед на метаболичкиот метод кои се користи од страна на лактобацилите, тоа резултира со киселост на животната средина. Бројни студии покажале не само ацидоген капацитет на лактобацилите, но и нивна киселинска толеранција. Овие бактерии може да предизвикаат намалување на рН вредности помали од 4,5. Некои видови се способни да преживеат во рН вредност до 2,2.

Во текот на последните петнаесет години, родот на *Lactobacillus* бил подложен на бројни испитувања за негова верификација и во моментот вклучува повеќе од 80 видови, од кои некои биле пронајдени само во усната шуплина. Користењето на молекуларната биологија и нејзините суптилни алатки, дале можност да се изрази сомневање во текот на конвенционалните класификации. Таксономијата на лактобацилите не е лесна,

бидејќи многу различни Грам + бацили се групирани заедно во рамките на оваа име (GC % 32-53 %). Анализата на ARNr 6S секвенци на различни видови покажува дека тие припаѓаат на три филогенетски одделни групи во зависност од нивните морфолошки и физиолошки карактеристики.

2. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДОЛОГИЈА

За реализација на поставените цел опсервирани се деца по случаен избор од основните училишта во градот Штип. Во истражувањето се вклучени 71 дете (26 од женски и 45 од машки пол) на возраст од 12 години. Возрасната група од 12 години ја избравме по препораките на СЗО кој ја препорачува таа возраст за глобален мониторинг за забниот кариес и се однесува само на деца со постојана дентиција. Испитаниците беа поделени во две групи: контролна група-31 испитаник без кариес, пломби и екстракции (КЕП=0) и експериментална група-40 испитаника со кариес, пломби и екстракции на забите. Во истражувањето го користевме општо прифатениот индекс на присуство или отсуство на кариозен процес Klein – Palmer – ов индекс, кој се означува како DMFT. Според добиените податоци од клиничкиот преглед, го одредувавме интензитетот (присуството/отсуството) на деналниот кариес (WHO, Geneve, 1997). Лактобацилите во плунката ги одредувавме со дијагностички тест CRT-bacteria (Vivadent, Schaan, Lihtenstein).

Земање мостри од плунка

Земањето мостри од плунката го правевме наутро минимално еден час после последниот оброк и миеење на забите, со отсуство на испитаниците да се во тек на припрема на лекување на забите.

За одредување на саливарните параметри користевме нестимулирана плунка која ја собиравме од испитаниците, по цваќање стерилни парафин таблети во големина од 0.5см. во време од една минута а потоа со плуќање собиравме 2.5мл/плунка во стаклена стерилна етикетирани епрувета во време од 1 минута за да се избегне ефектот на стимулација. Стимулирана плунка ја собиравме со продолжено цваќање на децата уште 5 минути а потоа плунката ја собиравме во стерилни градуирани епрувети.

Лактобацилите во плунката ги одредувавме со дијагностички тест CRT-bacteria (Vivadent, Schaan, Lihtenstein).



Слика1. 2. 3. 4Ставање tabl.Bacitracin,Светол агар заЛВ, Инкубатор , Резултати за ЛВ,Сите 4 нивоа на ЛВ (густината на колониите)

Системот вклучува, парафин таблета за стимулација на секрецијата на плунката, Бацитрацин да го спречи растот на други бактерии освен лактобацили кој го додававме во плунката најмалку 15 минути пред употреба, трака со селективен агар за лактобацили, шема за евалуација на колониите (број на ЛБ во мл / плунка), чаша и дополнително инкубатор во лабораторија. Со плунка добро го навлажуваме желатинскиот тест од двете страни, без да ги допираме површините заради контаминација. Потоа тестерот го стававме во пластична епрувета која добро ја затваравме и ја стававме во инкубатор на 37 ° С 4 дена. По инкубација од 4 дена, добиената густината на колониите на ЛБ (бројот на лактобацилите во мили литар плунка), ја споредувавме со тест-лентата со класифициран дијаграм за проценка.

Добиените вредности од тестот за Lactobacillus ги толкуваме по препораките на производителот и тоа :

0: Многу мало консумирање на кариогена храна и < 103 (CFU) / ml (формирани колонии со број на Lactobacillus)

1: Мало консумирање на ферментирани јаглени хидрати и кариогена исхрана 104 CFU/ ml (формирани колонии со број на Lactobacillus)

2: Умерено консумирање на ферментирани јаглени хидрати и кариогена исхрана 105 CFU /ml (формирани колонии со број на Lactobacillus)

3: Консумирање на високо ферментирани јаглени хидрати и несоодветна исхрана > 106 CFU / ml (формирани колонии со број на Lactobacillus)

3. РЕЗУЛТАТИ

Резултатите од испитувањето кои се однесуваат на проценката на лактобацили во плунката кај децата со трајни заби прикажани се на следната табела:

Табела 1. КЕП индекс / Lactobacillus

	Консумирање на ЈХ и кариогена храна		КЕП индекс		Total
			Да	Не	
Lactobacillus	Мало консумирање	Count	18	20	38
		% of Total	25,4%	28,2%	53,5%
	Умерено консумирање	Count	16	11	27
		% of Total	22,5%	15,5%	38,0%
	Многу и несоодветна исхрана	Count	6	0	6
		% of Total	8,5%	,0%	8,5%
Total		Count	40	31	71
		% of Total	56,3%	43,7%	100,0%

Во експерименталната група од вкупно 40(56,30%) деца, кај 18(25,40%) деца регистрирано е мало консумирање на ферментирани јаглени хидрати и кариогена храна (< 104 (CFU) / ml (формирани колонии со број на Lactobacillus), кај 16(22,50%) деца било умерено (105 CFU / ml) а кај 6(8,50%) деца регистрирано е консумирање на високо ферментирани јаглени хидрати и несоодветна исхрана (> 106 CFU / ml). Во контролната група од вкупно 31(43,70%) деца, кај 20(28,20%) деца регистрирано е мало консумирање на ферментирани јаглени хидрати и кариогена храна (< 104 (CFU) / ml (формирани колонии со број на Lactobacillus) а кај 11(15,50%) деца регистрирано е умерено (105 CFU / ml). Во прикажаната дистрибуција на податоци кои се однесуваат на проценката на лактобацили во плунката кај децата со трајни заби, за Fisher's Exact Test=6,00 и p<0,05(p=0,04 / 0,036-0,047) постои значајна разлика помеѓу двете групи.

Резултатите кои се однесуваат на предиктивните вредности на Lactobacillus во плунката на децата со трајна дентиција за присуството на дентален кариес (КЕП индекс) прикажани се на табела 2.

Табела 2. КЕП индекс / Lactobacillus

Lactobacillus								95% C.I.for EXP(B)	
Step 1 ^a		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	Lower	Upper
	Умерено кон.ф.ј.х.(1)	,48	,51	,890	1	,346	1,616	,60	4,38
	Кон.висо.ф.ј.х.(2)	21,31	1640,8,71	,000	1	,999	1,795E9	,00	
	Constant	-,10	,325	,105	1	,746	,900		

a. Variable(s) entered on step 1: Lactobacillus.

4. ДИСКУСИЈА

Помеѓу присуството на Lactobacillus во плунката и присуството на денталниот кариес за Pearson Chi-square=11,88 и p<0,01(p=0,003) постои значајна поврзаност. При утврдувањето на значајноста на придонесот за присуство на дентален кариес на секоја компонента, утврдено е дека поголемо незначајно влијание има умереното консумирање на ферментирани јаглени хидрати и кариогена исхрана (Wald=0,89 /p>0,05(p=0,35) а консумирањето на високо ферментирани јаглени хидратати и кариогена исхрана (Wald=0,00 /p>0,05(p=0,99) / има незначајно предиктивно влијание / (Exp(B)=1,996E9)(95%CI:0,000). Како референтна

категија земено е мало конзумирање на ферментирани јаглени хидрати и кариогена исхрана. Децата кои имаат умереното конзумирање на ферментирани јаглени хидрати и кариогена исхрана во однос на децата кои имаат мало конзумирање на ферментирани јаглени хидрати и кариогена исхрана имаат за 1,62 пати ($\text{Exp}(B)=1,62$)(95% CI:0,60-4,38) поголема веројатност за присуство на дентален кариес, меѓутоа укажувањето не е значајно за $p>0,05$ ($p=0,35$).

5. ЗАКЛУЧОК

Параметрите кои ги вклучивме во студијата можат да дадат научен придонес при подготовката на стратегии за индивидуална проценка на дентален кариес ризик, од кој стоматолозите можат да дејствуваат на решавање на проблемот со фокусирање на индивидуалните фактори на ризик одговорни за забниот кариес, со користење на методи кои вклучуваат проценка на клиничките критериуми за откривање на раните фази на еволуција на забниот кариес и дизајнирање протоколи што можат да се користат при забен кариес, превентивни и интерцептивни мерки засновани на статус на забен кариес, што подразбира едукативни, хемиски и минимално инвазивни процедури. Можеме да констатираме дека најголемиот дел од саливарните параметри успешно може да се користат за кариес скрининг и како најадекватно средство за заокружување на доброто орално здравје кое ќе ги води децата кон здрав живот.

ЛИТЕРАТУРА

- Animireddy D., Reddy Bekkem V.T., Vallala P., Kotha S.B., Ankireddy S., Mohammad N. (2014). Jul Evaluation of pH, buffering capacity, viscosity and flow rate levels of saliva in caries-free, minimal caries and nursing caries children: An in vivo study. *Contemp Clin Dent*. 5(3):324-8.
- American Academy of Pediatric Dentistry. Policy on a dental home. (2011). *Pediatr Dent*, 33(special issue):24-5.
- Ayna B., Celenk S., Atakul F., Sezgin B., Ozekinci T. (2003). Evaluation of clinical and microbiological features of deep carious lesions in primary molars. *J DentChild*. 70(1):15-8. [PubMed]
- Bardow A., Moe D., Nyvad B., Nauntofte B. (2000). The buffer capacity and buffer systems of human whole saliva measured without loss of CO₂. *Arch Oral Biol* 45:1-12.
- Badet M.C., Richard B., Dorignac G. (2001). An in vitro study of the pH-lowering potential of salivary lactobacilli associated with dental caries. *J Appl Microbiol*. 90(6):1015-1018. [PubMed]
- Chhour K.L., Nadkarni M.A., Byun R., Martin F.E., Jacques N.A., et al. (2005). Molecular analysis of microbial diversity in advanced caries. *J Clin Microbiol* 43:843-849.
- Coeuret V, Dubernet S. (2003). Isolation Characterisation and identification of Lactobacilli focusing mainly on cheeses and other dairy products. *Lait*. 83:269-306.
- El-Nadeef H., Hassab E., Al-Hosani E. (2010). National survey of the oral health of 5-year-old children in the United Arab Emirates Eastern Mediterranean Health J 16(1) :51-55
- Edelstein B. (2006). The dental caries pandemic and disparities problem. *BMC Oral Health* 15 (Suppl 1):S2.
- Harrington, J., Perry, I., Lutomski, J., Morgan, K., McGee H., Shelley E., Watson D. and Barry, M. (2008) SLÁN (2007). Survey of Lifestyle, Attitudes and Nutrition in Ireland. Dietary Habits of the Irish Population, Department of Health and Children. Dublin: The Stationery Office.
- Hodbell M., Petersen P.E., Clarkson J., Johnson N. (2003). Global goals for oral health 2020. *International Dental Journal* 53(5): 285-8.
- Horowitz A. (2004). A Report on the NIH Consensus Development Conference on Diagnosis and Management of Dental Caries Throughout Life. *J Dent Res*, 83 (Spec Iss C):C15-C17
- Mahjoub S., Ghasempour M., Gharage A., Bijani A. (2014). Masrouroudsari Comparison of total antioxidant capacity in saliva of children with severe early childhood caries and caries-free children. *J. Caries Res*. 48(4):271-5.
- Malamud D., Rodriguez-Chavez I.R. (2011). Saliva as a diagnostic fluid. *Dent Clin North Am*. 55(1):159-178.
- Nagler R.M. (2004). Salivary glands and the aging process: mechanistic aspects, health-status and medicinal-efficacy monitoring. *Biogerontology*. 5:223-33
- National Survey on Oral Health and Nutritional Status in the Philippines. (2006). Philippine Department of Education.
- Nishide S., et al. *J. Dent Sci*. (2019). Daily life habits associated with eveningness lead to a higher prevalence of dental caries in children.
- Jong-Lenters M., Van Dommelen P., Schuller A. A., Verrips E. H. W. (2015). Body mass index and dental caries in children aged 5 to 8 years attending a dental paediatric referral practice in the Netherlands *BMC Research Notes* December 8:738

- Jairo C. O., Libia S. (2014). Evaluation of oral hygiene In Pre-School Children Through Bacterial Plaque Supervision By Parents Rev Fac Odontol Univ Antioq vol.25 no.2 Medellín.
- Kamecka-Białowarczuk E.A., Dąbrowska E. (2009). Oxidoreduction balance in oral cavity environment. Part 2. Antioxidative possibilities in oral cavity. Dentico 2 (22): 58–68.
- Pahumunto N., et al. (2019). Increasing salivary IgA and reducing *Streptococcus mutans* by probiotic *Lactobacillus paracasei* SD 1: A double-blind, randomized, controlled study.
- Pickett K.E., Wilkinson R.G. (2007). Child wellbeing and income inequality in rich societies: ecological cross sectional study, BMJ, 335:1080 .
- Ranganath L., Shet R., Rajesh A. (2012). Saliva: a powerful diagnostic tool for minimal intervention dentistry. J Contemp Dent Pract ;13(2):240–245