

УДК: 576.852.29:616-078.839-031:611.311:616-002.18:616-008.853.1]-092.4

## ВПЛИВ ЛІЗОЦИМУ І СЛИНИ НА АДГЕЗІЙНІ ВЛАСТИВОСТІ *C. albicans*, ВИДІЛЕНИХ З РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ, В ДОСЛІДАХ IN VITRO

**І.В. Тимчук<sup>1</sup>, М.А. Панас<sup>1</sup>, С.Є. Лещук<sup>1</sup>, О.Т. Нарепеха<sup>1</sup>, О.П. Корнійчук<sup>1</sup>,  
В.В. Данилейченко<sup>1</sup>, М.І. Панас<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Кафедра мікробіології, вірусології та імунології (зав. - проф. О.П. Корнійчук)

Кафедра стоматології дитячого віку (зав. - доцент, д.мед.н. Е.В. Безвушко)

<sup>2</sup> Львівський обласний клінічний діагностичний центр (головний лікар - Р.М. Пукаляк)

### Реферат

Адгезія *Candida* на клітинах людського організму є початковим процесом колонізації даних мікроорганізмів, на який впливає низька чинників та потребує прицільного вивчення.

**Метою** дослідження є порівняльне вивчення адгезійних властивостей *C.albicans*, виділених з ротової порожнини практично здорових осіб та від осіб з запальними процесами в ротовій порожнині (стоматитами та карієсом) та встановлення впливу лізоциму і слини на адгезію грибів на букальних епітеліоцитах людини.

**Матеріал і методи.** Адгезійні властивості культур вивчали за їхньою здатністю адгезуватися на букальному епітелію людини. Визначали середній показник адгезії, коефіцієнт участі епітелійних клітин в адгезійному процесі, індекс адгезійності мікроорганізму. Для дослідження адгезійності відібрано 7 штамів *C. albicans*, виділених з ротової порожнини практично здорових осіб в концентрації  $10^1$ - $10^2$  КУО/мл та 7 штамів *C.albicans*, виділених у осіб з запальними процесами у ротовій порожнині (стоматити, гінгівіти у поєднанні з карієсом), в концентрації  $10^5$ - $10^7$  КУО/мл. Кількість лізоциму в слині визначали методом дифузії в агар. Для дослідження впливу цільної слини та лізоциму на адгезію грибів роду *Candida* на епітеліоцитах, нами відібрано штамп *C.albicans* виділений з ротової порожнини від пацієнта із стоматитом та карієсом, який володіє високою адгезійністю.

**Результати й обговорення.** При дослідженні ізолятів *C.albicans*, виділених з ротової порожнини, встановлено статистично значущу різницю ( $p < 0,001$ ) в адгезійній активності при порівнянні середніх значень показників СПА ( $2,44 \pm 0,15$ ) та ІАМ ( $3,28 \pm 0,19$ ) у групі здорових осіб та у групі хворих осіб СПА ( $7,11 \pm 0,25$ ) та ІАМ ( $8,49 \pm 0,28$ ). У всіх дослідах, у групі з високою ( $2,76 \pm 0,67$  мкг/мл) та у групі з низькою ( $0,72 \pm 0,07$  мкг/мл) лізоцимною активністю слини, при взаємодії на *C.albicans* різних факторів (цільна слина, лізоцим) виявлено однонаправлене вірогідне ( $p < 0,05$ ) зниження адгезійних показників грибів. Таким чином, на основі отриманих даних, можна стверджувати, що слина володіє вираженим антиадгезійним ефектом у системі "*C.albicans* - букальні епітеліоцити", знижуючи адгезійну активність грибів і тим самим перешкоджає прикріпленню і активному розмноженню *C.albicans* на слизовій оболонці ротової порожнини. Частина антиадгезійного потенціалу слини належить лізоциму.

**Висновки.** Встановлено, що усі штами *C. albicans*, виді-

лені при запальних процесах в ротовій порожнині, характеризуються високою адгезійністю, яка забезпечує їх проліферацію, у порівнянні з *C. albicans*, виділених у практично здорових осіб, для яких встановлено в основному середній і низький рівень адгезійної активності, що є недостатнім для їх проліферації і визначає їх висівання у незначній кількості. Виявлено значний вплив лізоциму на адгезійність *C.albicans*, що свідчить про його важливу роль в місцевому неспецифічному імунітеті, яка позначається і на представниках нормальної мікробіоти. Необхідно враховувати вплив внутрішніх і зовнішніх чинників на процеси салівації, як важливий фізіологічний механізм захисту, що попереджає розвитку кандидозу та інших патологічних станів ротової порожнини.

**Ключові слова:** *Candida albicans*, букальні епітеліоцити, слина, лізоцим

### Abstract

INFLUENCE OF LYSOZYME AND SALIVA ON ADHESION PROPERTIES OF *C.albicans*, ISOLATED FROM THE ORAL CAVITY, IN VITRO EXPERIMENTS

I.V. TYMCHUK<sup>1</sup>, M.A. PANAS<sup>1</sup>, S.Y. LESHCHUK<sup>1</sup>,  
O.T. NAREPEHA<sup>1</sup>, O.P. KORNIYCHUK<sup>1</sup>,  
V.V. DANYLEYCHENKO<sup>1</sup>, M.I. PANAS<sup>2</sup>

<sup>1</sup> The Danylo Halytsky National Medical University in Lviv

<sup>2</sup> Regional Clinical Diagnostic Center in Lviv

Adhesion of *Candida* on human cells initiates a process of colonization of the microorganisms, which affects a number of factors and requires specific studies.

**Aim** of research is a comparative study of the adhesive properties of *C.albicans*, isolated from the oral cavity of healthy individuals versus individuals with inflammatory processes of the mouth (stomatitis and caries), and determining the influence of lysozyme and saliva on the adhesion of fungi to human buccal epitheliocytes.

**Material and Methods.** Adhesive properties of cultures were examined by their ability for adhesions on human buccal epithelium. We determined average grandstanding of adhesion, coefficient of participation in epithelial cell adhesion process, the index of adhesion by microorganism. For adhesion studies, 7 strains of *C.albicans*, isolated from the oral cavity of healthy individuals at concentrations of  $10^1$ - $10^2$  CFU/ml and 7 strains of *C. albicans*, isolated in

patients with inflammatory processes of the mouth (stomatitis, gingivitis, combined with caries) at a concentration of  $10^5$ - $10^7$  CFU/ml were selected. Levels of lysozyme in saliva were determined by agar diffusion. To study the impact of saliva and lysozyme on the adhesion of *Candida* to epithelial cells, a highly adhesive *C.albicans* strain isolated from the oral cavity of patients with caries and stomatitis was selected.

**Results and Discussion.** Studies of *C.albicans*, isolated from the oral cavity, found a statistically significant difference ( $p < 0.001$ ) in the adhesive activity when comparing the mean values of parameters AIA ( $2,44 \pm 0,15$ ) and IAM ( $3,28 \pm 0,19$ ) in the group of healthy subjects and in patients AIA ( $7,11 \pm 0,25$ ) and IAM ( $8,49 \pm 0,28$ ). In all experiments, the group with high ( $2,76 \pm 0,67$  mg/ml) and the low ( $0,72 \pm 0,07$  mg/ml) lysozyme activity of saliva, the interaction of various factors on *C.albicans* (saliva, lysozyme) found unidirectional significant ( $p < 0.05$ ) reduction in adhesion performance of fungi. Thus, based on the data obtained, it can be argued that saliva has a marked effect of in the anti adhesive system "*C.albicans* - buccal epithelial cells", reducing the adhesive activity of fungi and thereby prevents attachment and active multiplication of *C.albicans* on the oral mucosa. Part of the antiadhesive potential of saliva belongs to lysozyme.

**Conclusions.** It was found that all strains of *C.albicans* isolated in inflammatory processes in the oral cavity are characterized by high adhesiveness that provides their proliferation, compared with *C. albicans* isolated in healthy individuals, for which mainly medium and low adhesive activity was determined, which is insufficient for their proliferation and causes their seeding in small quantities. A significant effect of lysozyme on the adhesiveness of *C.albicans* is the evidence of its important role in the local nonspecific immunity, which affects the representatives of normal microbiota. It is necessary to consider the influence of internal and external factors on the process of salivation as an important physiological defense mechanism that prevents candidiasis and other pathological conditions of the oral cavity.

**Key words:** *Candida albicans*, buccal epithelial cells, saliva, lysozyme

## Вступ

Ротова порожнина, як природна мікроекологічна система з її різноманітними підсистемами і достатнім запасом поживних речовин, сприяє необмеженому формуванню природних мікробних біоплівки. Оральні мікробні спільноти є одними з найскладніших мікробних асоціацій в організмі людини, що складаються з більш ніж 700 різних видів бактерій [4, 8]. Порушення рівноваги цієї складної екосистеми призводить до надмірного росту умовно-патогенних видів, які сприяють виникненню та прогресуванню найбільш поширених захворювань порожнини рота - карієсу і за-

хворювань пародонту [12]. Гриби роду *Candida* відносяться саме до таких мікроорганізмів, що здатні виживати в різноманітних умовах зовнішнього середовища і людського організму, наділені різними захисними структурними та біохімічними властивостями, що дозволяють оптимізувати механізми паразитування, що в свою чергу збільшує їх патогенні властивості [16].

Адгезія *Candida spp.* на клітинах людського організму є початковим процесом колонізації даних мікроорганізмів, як етап розвитку кандидозу [5]. Адгезини - ділянки поверхні дріжджоподібних грибів, які беруть участь в прикріпленні останніх до клітин господаря (епітеліоцити, ендотеліоцити), мікроорганізмів нормальної мікрофлори, інертних полімерів, зубної емалі та окремих білків біологічних рідин. При цьому, на реалізацію адгезійного потенціалу в системі "кандиди - епітеліоцити" можуть впливати багато факторів, як з боку кандид, так і з боку організму господаря. До останніх, зокрема, належать секреторні продукти ротової порожнини (антитіла, гуморальні фактори).

У сироватці і слині містяться температурозалежні фактори, що викликають незворотні зміни адгезинів *C.albicans* утворюючи антиадгезійний ефект [7]. Проте відсутні дані, щодо впливу лізоциму на адгезію *C.albicans*.

Слина відіграє вирішальну роль у ротовій порожнині. Складові слини, які відіграють роль в підтримці здоров'я ротової порожнини, включають буфери, муцини і глікопротеїни (зволоження та змазування епітеліальних поверхонь), і антибактерійні фактори, до яких належить лізоцим [6]. Лізоцим (муромідаза) - муколітичний фермент, що відноситься до неспецифічних факторів захисту організму (вродженого імунітету). Він виробляється фагоцитами, а потім потрапляє в природні рідини організму - кров, слину, сльози, секреторну рідину. Лізоцим перешкоджає проникненню антигенів у внутрішнє середовище організму: стимулює фагоцитоз, підсилює кооперативні функції Т-субпопуляцій лімфоцитів та бактеріологічні властивості секреторного IgA (sIgA). Досить висока концентрація лізоциму в слині стабілізує порушені клітинні мембрани нейтрофілів, що значно зменшує "імунне" запалення.

Лізоцим руйнує клітинну стінку бактерій, що негативно впливає на коадгезію між *C.albicans* і

бактеріями ротової порожнини, особливо із *S. Mutans*, та має вирішальне значення для колонізації *C. albicans* [3, 14]. Для забезпечення адгезії *C. albicans*, стрептококи продукують лактат, який може виступати в якості джерела вуглецю для росту дріжджів, які в свою чергу зменшують рівень кисню до рівня, необхідного стрептококам і забезпечують стимулюючі фактори для росту бактерій [3]. Бактерії в біоплівці є метаболічно активними і викликають коливання рН і втрату мінералів у зубах, що в кінцевому рахунку, призводить до розчинення твердих тканин зуба і формування уражень, відомих як зубного карієсу [9, 13]. За даними досліджень, ураженість карієсом зубів у дітей позитивно корелює з частотою орального кандидозу [15], а забезпечуючи експериментальні докази в природних умовах, виявлено, що *C. albicans* здатна з високою швидкістю призвести до оклюзійного карієсу у щурів [10].

Таким чином, присутність *C. albicans* в середовищі ротової порожнини можна вважати додатковим фактором, який необхідно враховувати при оцінці ризику розвитку карієсу [1]. Зниження адгезії кандид, може бути перешкоджаючим фактором у формуванні мікробних біоплівок, що пов'язані із захворюваннями порожнини рота.

Метою дослідження є порівняльне вивчення адгезійних властивостей *C. albicans*, виділених з ротової порожнини практично здорових осіб та від осіб з запальними процесами в ротовій порожнині (стоматитами та карієсом) та встановлення впливу лізоциму і слини на адгезію грибів на букальних епітеліоцитах людини.

### Матеріал і методи

Адгезійні властивості культур вивчали за їхньою здатністю адгезуватися на букальному епітелію людини. Гриби культивували на середовищі Сабуро при 37°C 24 год, після чого центрифугували та осаджували ресуспендуванням у буфері (г/мл: NaCl-0,85; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-1,42, рН 7,2-7,3). Використовуючи стандарт мутності МакФарланда, одержували суспензію мікроорганізмів у кількості 10<sup>9</sup> кл/мл. Епітелійні клітин двічі промивали в буфері і змішували у концентрації 10<sup>8</sup> кл/мл із суспензією грибів у рівних об'ємах та інкубували при 37°C протягом 30 хв. Після інкубації готували мазок, забарвлений за Грамом, та підраховували під мікроскопом кількість адгезованих до епітелійних

клітин м/о (підраховували 150 еукаріотичних клітин кожного зразка епітелію).

Визначали середній показник адгезії - середня кількість м/о, що прикріпились до однієї епітелійної клітини (СПА). Коефіцієнт участі епітелійних клітин в адгезійному процесі - відсоток клітин, що мають на своїй поверхні адгезовані мікроби (К). Індекс адгезійності мікроорганізму (ІАМ) - середню кількість м/о на одній епітелійній клітині, що бере участь у процесі адгезії - визначали за формулою ІАМ=(СПА×100)/К. Адгезійність вважалась нульовою при СПА=0-1,0; низькою - при СПА=1,01-2,0; середньою - при 2,01-4,0 та високою - вище 4,0. Мікроорганізм вважався неадгезійним при ІАМ≤1,75; низькоадгезійним - при показниках 1,76-2,5; середньо-адгезійним-2,51-4,0 та високоадгезійним при ІАМ>4,0.

Для дослідження адгезійності відібрано 7 штамів *C. albicans*, виділених з ротової порожнини практично здорових осіб в концентрації 10<sup>1</sup>-10<sup>2</sup> КУО/мл та 7 штамів *C. albicans*, виділених у осіб з запальними процесами у ротовій порожнині (стоматити, гінгівіти у поєднанні з карієсом), в концентрації 10<sup>5</sup>-10<sup>7</sup> КУО/мл.

Донорами епітеліоцитів були студенти добровольці (20 чоловіків у віці 17-20 років). Епітелійні клітини збирали ватним тампоном зі слизової щочки безпосередньо перед постановкою тесту. Досліди проводили з одним сумарним пулом епітелійних клітин, що дозволяє достовірно порівнювати дані між ізолятами кандид, які виділені від практично здорових осіб та від пацієнтів із запальними процесами з одного місця локалізації.

Для вивчення впливу слини та лізоциму на адгезійний процес букальний епітелій та слину відібрано з ротової порожнини 10 практично здорових чоловіків у віці 20-25 років. Досліди проводили окремо на епітеліоцитах від різних донорів.

Для визначення кількості лізоциму в слині, розчинили 10 мг кристалічного лізоциму в 50 мл дистильованої води, потім 2 мл розчину внесли в 48 мл води. Із вихідного розчину, що містить 8 мкг лізоциму в 1 мл, приготували робочі розчини. Слину розводили розчином хлориду натрію в 10 раз. У застиглому біфталатному агарі, в чашках Петрі, зробили 6 лунок діаметром 6-8 мм. Половину лунок заповнили робочим розчином лі-

зоциму, а другу половину досліджуваним матеріалом (цілним і розведеним). Чашки інкубували при 37°C 24 год. За допомогою калібрувальної кривої (по осі ординат діаметри зон лізису в мм, а по осі абсцис-концентрацію лізоциму в мкг) визначали кількість лізоциму в слині.

Для приготування біфталатного агару 20,42 г біфталату калію розчинили в дистильованій воді (1 л) і довели рН до 6,2, добавляючи 8-10 мл гідроксида натрію в концентрації 0,1 моль/мл. До 100 мл розчину біфталата калію внесли 1 г агару Дифко, суміш нагріли до кипіння і стерилізували в автоклаві при 115°C протягом 15 хв. Завісину ацетонового порошку *Micrococcus lysodeicticus* (150 мг) розмішали в фарфоровій ступці з 10 мл розчину біфталата калію (0,1 моль/л). Одержану суміш змішати з 100 мл розплавленого біфталатного агару, охолодженого до 45°C, і розлити по 15 мл в чашки.

Отримані результати оброблені за допомогою статистичних методів з визначенням середнього (M), помилки середнього (m). Рівень вірогідності (p) аналізували за допомогою критерію Стьюдента.

### Результати й обговорення

При дослідженні ізолятів *C.albicans*, виділених з ротової порожнини, встановлено статистично значущу різницю (p<0,001) в адгезійній активності при порівнянні середніх значень показників СПА (2,44±0,15) та ІАМ (3,28±0,19) у групі здорових осіб та у групі хворих осіб СПА (7,11±0,25) та ІАМ (8,49±0,28). У групі здорових виявлено за показником СПА 14,3% штамів з низькою адгезійністю, 85,7% із середньою адгезійністю, за показником ІАМ 85,7% середньоадгезійні та 14,3%

високоадгезійні. У групі із запальними процесами в ротовій порожнині за показником СПА 100% з високою адгезійністю, та за показником ІАМ 100% - високоадгезійні. Висліди подано на рис. 1.

Встановлено, що *C.albicans*, які виділені від осіб з запальними процесами в ротовій порожнині в концентрації 10<sup>5</sup>-10<sup>7</sup> КУО/мл володіють вищим адгезійним потенціалом у порівнянні з *C.albicans* виділених у практично - здорових осіб в концентрації 10<sup>1</sup>-10<sup>2</sup> КУО/мл. Схожі результати, які свідчать, що індекс адгезійності штампів *C.albicans*, виділених від хворих кандидозом, є вищим, ніж у штампів, що виділені від носіїв цього виду грибів, трапляються у літературі [11].

Для дослідження впливу цільної слини та лізоциму на один із перших етапів розвитку кандидозної інфекції - адгезію грибів роду *Candida* на епітеліоцитах, ми відібрали штам *C.albicans* виділений із ротової порожнини від пацієнта із стоматитом та карієсом, який мав високу адгезійність. Показники адгезії із пулом епітеліоцитів від різних донорів становили ІАМ 7,47; К - 82,67%; СПА - 4,62±0,06.

На першому етапі визначали кількість лізоциму у слині практично-здорових студентів і за результатами досліджень створили дві групи по 5 осіб. У I групу ввійшли особи з високою лізоцимною активністю слини (2,76±0,67 мкг/мл), у II групу ввійшли особи із низькою лізоцимною активністю слини (0,72±0,07 мкг/мл). У донорів з обох груп було взято букальний епітелій, на якому проводилося вивчення адгезійних властивостей. Було поставлено одночасно 3 проби: 1 - букальні епітеліоцити з суспензією грибів; 2 - букальні епітеліоцити з суспензією грибів та слиною донора; 3 - букальні епітеліоцити з сус-

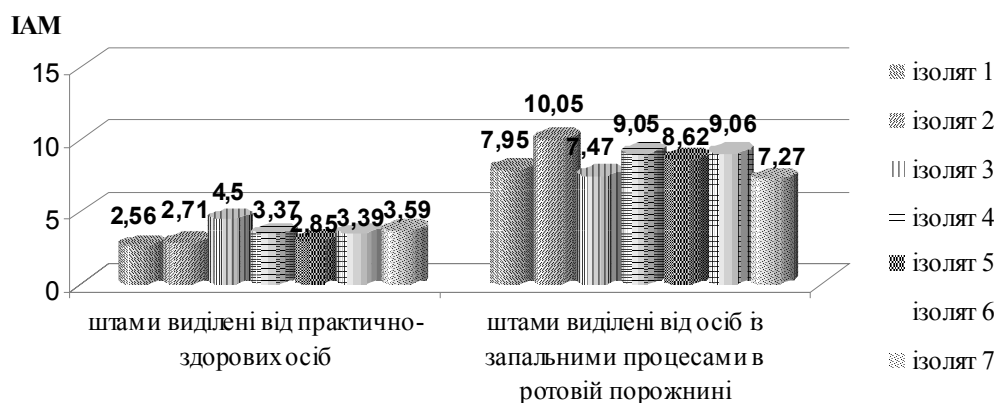


Рис. 1

Індекс адгезійності *C. albicans* ізольованих від здорових та хворих осіб

Показники адгезійної активності *Candida albicans* на клітинах букального епітелію в осіб з високою (I група) та низькою (II група) лізоцимною активністю слини

Показники адгезії		Б.Е.+Candida (контроль)	Б.Е. + Candida + слина	Б.Е. + Candida + лізоцим
I група	СПА	4,26±0,12	3,27±0,12 (p<0,01)*	3,52±0,08(p<0,01)*;(p>0,05)**
	IAM	5,11±0,16	3,86±0,13 (p<0,01)*	4,31±0,09(p<0,05)*;(p<0,05)**
II група	СПА	5,70±0,15	5,31±0,10 (p>0,05)*	4,65±0,13(p<0,01)*;(p<0,05)**
	IAM	6,80±0,16	6,59±0,11 (p>0,05)*	6,04±0,11(p<0,05)*;(p<0,05)**

Б.Е. - букальний епітелій;

\* - при порівнянні з контролем;

\*\* - при порівнянні дії слини та лізоциму

пензією грибів та лізоцимом (2 мкг/мл).

За результатами досліджень встановлено зниження показників адгезії *C. albicans* в першій групі у порівнянні із другою групою, що становило статистично значущу різницю (p<0,01). При оцінці впливу слини та лізоциму на адгезійність грибів було встановлено, що слина та лізоцим мають значний вплив на здатність грибів до адгезії в обох групах (p<0,05). Виявлено, що слина впливає на пригнічення адгезійного процесу з вищою ефективністю, ніж лізоцим (p<0,05). Висліди подано у таблиці.

Антибактерійні речовини, які присутні в слині, діляться на дві категорії: (I) чинники, які надають пряму бактерицидну або бактериостатичну дію на цільові мікроорганізми; і (II) чинники, які можуть заважати прикріплення мікроорганізмів в тканинах порожнини рота і таким чином в кінцевому підсумку призвести скорочення чисельності мікроорганізмів. Основними факторами, які належать до першої групи належать лізоцим, лактопероксидаза, лактоферин. Секреторний імуноглобулін А (IgA) і кров групи реактивних муцинозних глікопротеїнів є основним складовими слини у другій групі [6].

Оцінюючи результати проведених досліджень нами встановлена протекторна дія не тільки слини, але і лізоциму на першу ланку розвитку кандидозної інфекції - прикріплення до епітеліальних клітин. Антибактерійна дія лізоциму пов'язана з здатністю лізувати пептидоглікан, що міститься в клітинній стінці бактерій, в той час, як у грибів, клітинна стінка представлена хітином та глюканами.

У всіх дослідах при взаємодії на *C. albicans* різних факторів (цільна слина, лізоцим) виявлено однонаправлене достовірне зниження адгезійних показників грибів. Таким чином, на основі отриманих даних, можна стверджувати, що сли-

на володіє вираженим антиадгезійним ефектом в системі "*C. albicans* - букальні епітеліоцити", знижуючи адгезійну активність грибів і тим самим перешкоджає прикріпленню і активному розмноженню *C. albicans* на слизовій оболонці ротової порожнини. Частина антиадгезійного потенціалу слини належить лізоциму.

У клінічних дослідженнях [2], доведена ефективність застосування препаратів, як містять лізоцим при запальних процесах ротової порожнини для профілактики кандидозів так і для монотерапії кандидозної інфекції слизової оболонки ротової порожнини.

## Висновок

Встановлено, що усі штами *C. albicans*, виділені при запальних процесах в ротовій порожнині, характеризуються високою адгезійністю, яка забезпечує їх проліферацію, у порівнянні з *C. albicans*, виділених у практично здорових осіб, для яких встановлено в основному середній і низький рівень адгезійної активності, що є недостатнім для їх проліферації і визначає їх висівання у незначній кількості.

Виявлено значний вплив лізоциму на адгезійність *C. albicans*, що свідчить про його важливу роль в місцевому неспецифічному імунітеті, яка позначається і на представниках нормальної мікробіоти. Наявність додаткових активних факторів у слині сприяє її антиадгезійним властивостям.

Необхідно враховувати вплив внутрішніх і зовнішніх чинників на процеси саливації, як важливий фізіологічний механізм захисту, що попереджає розвитку кандидозу та інших патологічних станів ротової порожнини.

## Література

1. Barbieri DdS'AV, Vicente VA, Fraiz FC, Lavoranti OJ, Svidzinski TIE, et al. (2007) Analysis of the in vitro

- adherence of *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. Braz J Microbiol 2007, 38: 624-663.
2. Bezkorovayniy B.O., SIrotchenko T.A. Etiotropna terapiya ta profilaktika poverhneвого kanidozu rotovoyi porozhnini u novonarodzhenih ta ditey rannogo viku. Klinicheskaya pediatriya 2007; №1(4): 87-89. Ukrainian (Безкоровайний Б.О., Сіротченко Т.А. Етіотропна терапія та профілактика поверхневого кандидозу ротової порожнини у новонароджених та дітей раннього віку. Клиническая педиатрия 2007; №1(4): 87-89).
  3. Brogden KM, Guthmiller JM, editors Polymicrobial diseases. Washington: ASM Press 2008.
  4. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner ACR, et al. The human oral microbiome. J Bacteriol 2010; 192: 5002-5017.
  5. Dombrovskaya I.V., Zhalko-Titarenko V.P. Struktura i biologicheskaya aktivnost bakterialnih polimerov. Adgezini mikroorganizmov; rol v patogeneze infektsii i mikroekologii cheloveka. VPTs "Kievskiy universitet" 2003:177-195. Russian (Домбровская И.В., Жалко-Титаренко В.П. Структура и биологическая активность бактериальных полимеров. Адгезины микроорганизмов; роль в патогенезе инфекции и микроэкологии человека. ВПЦ "Киевский университет" 2003:177-195).
  6. Germaine G R. Simple and procedure for the selective removal of lysozyme from human saliva / G R Germaine, L M Tellefson // Infection and Immunity 1979; V.26(3): 991 - 995.
  7. Golubka O.V., Savinova E.M., Loshko G.A, Zhuravleva I.V. Faktoryi patogennosti gribov roda *Candida*. Klinichna ta eksperimentalna patologiya: nauk.-med. zhurn 2011; Tom 10, N 4: 109-112. Ukrainian (Голубка О.В., Савинова Е.М., Лошко Г.А, Журавлева И.В. Факторы патогенности грибов рода *Candida*. Клінічна та експериментальна патологія: наук.-мед. журн 2011; Том 10, N 4: 109-112).
  8. Jenkinson HF, Lamont RJ Oral microbial communities in sickness and in health. Trends Microbiol 2005; 13: 589-595.
  9. Kidd EAM, Fejerskov O What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. J Dent Res 2004; 83: C35-C38.
  10. Klinke T, Guggenheim B, Klimm W, Thurnheer T Dental caries in rats associated with *Candida albicans*. Caries Res 2011; 45: 100-106.
  11. Kornev N.R., Velichko E.V. Raspredelenie epiteliotsitov po chislu adgezirovannyih na nih kletok *Candidaalbicans* i otsenka intensivnosti adgezii v teste in vitro. Zhurnal mikrobiologii epidemiologii i immunobiologii 1987; №5:28-32. Russian (Корнев Н.Р., Величко Е.В. Распределение эпителиоцитов по числу адгезированных на них клеток *Candidaalbicans* и оценка интенсивности адгезии в тесте in vitro. Журнал микробиологии эпидемиологии и иммунобиологии 1987; №5:28-32).
  12. Kuboniwa M, Tribble GD, Hendrickson EL, Amano A, Lamont RJ, et al. Insights into the virulence of oral biofilms: discoveries from proteomics. Expert Rev Proteomics 2012; 9: 311-323.
  13. Lemos JA, Quivey RG Jr, Koo H, Abranches J (2013) *Streptococcus mutans*: a new Gram-positive paradigm. Microbiology 2013; 159: 436-45.
  14. Metwalli KH. Streptococcus mutans, Candida albicans, and the Human Mouth: A Sticky Situation / KH. Metwalli, SA. Khan, BP. Krom, MA. Jabra-Rizk // PLoS Pathog 2013; 9(10): e1003616.
  15. Raja M, Hannan A, Ali K Association of oral candidal carriage with dental caries in children. Caries Res 2010; 44: 272-276.
  16. Zelenova E.G. Zaslavskaya M.I., Mahrova T.V. Kandidi: ekologiya, morfofunktsionalnyie osobennosti i faktori patogennosti. Nizhegorodskiy meditsinskiy zhurnal 2002; №1: 15 - 18. Russian (Зеленова Е.Г. Заславская М.И., Махрова Т.В. Кандиди: экология, морфофункциональные особенности и факторы патогенности. Нижегородский медицинский журнал 2002; №1: 15-18).