ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

УДК 615.46.03:616.314-001-084].076.7:796

Т. И. Ибрагимов, В. Н. Царев, А. В. Хан

ИЗУЧЕНИЕ ПЕРВИЧНОЙ АДГЕЗИИ ШТАММОВ ПАРОДОНТОПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ И ДРОЖЖЕПОДОБНЫХ ГРИБОВ К МАТЕРИАЛАМ, ИСПОЛЬЗУЕМЫМ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ЗАЩИТНЫХ СПОРТИВНЫХ КАПП

Кафедра ортопедической стоматологии ФПДО, кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования Московский государственный медико-стоматологический университет Росздрава (127473, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20/1)

В настоящее время основным средством профилактики травм челюстно-лицевой области является защитная спортивная каппа. Однако, находясь длительное время в полости рта, защитная каппа может стать местом образования и роста колоний различных патогенных микроорганизмов, что в целом может повлиять на стоматологический статус спортсмена. С целью изучения влияния защитных капп на микробиоценоз полости рта было проведено исследование первичной адгезии к конструкционным материалам индивидуальных защитных спортивных капп.

Ключевые слова*: профилактика травм челюстно-лицевой области, защитная спортивная каппа, адгезия микроорганизмов*

THE STUDY OF PRIMARY ADHESION OF CERTAIN STRAINS OF PERIODONTOGENIC BACTERIA AND YEAST-LIKE FUNGI TO THE MATERIALS USED FOR THE FABRICATION OF CUSTOM-MADE ATHLETIC MOUTHGUARDS

Ibragimov T.I., Tsarev V.N., Khan A.V.

Custom-fabricated mouthguards for sports are currently considered to be the most efficacious devices for the prevention of oral and facial injuries. However, remaining in the mouth during rather a long time, they provide a good substrate for the colonization by and growth of a variety of pathogenic microorganisms that may potentially affect the stomatological status of the athlete. The present work was designed to study the influence of custom-made protective mouthpieces on the microbiocenosis of the oral cavity. It was focused on the evaluation of primary adhesion of certain strains of periodontogenic bacteria and yeast-like fungi to the constructional material of the sports mouthguards.

Key words*: prevention of orofacial injuries, sports mouthguards, adhesion of microorganisms*

В современном обществе отмечается тенденция к увеличению числа людей, занимающихся различными видами спорта. Это в свою очередь приводит к увеличению числа травм челюстно-лицевой области (ЧЛО). По статистике травматизм ЧЛО составляет от 4 до 30% в зависимости от вида спорта [1, 10]. В настоящее время основным средством профилактики травм ЧЛО является защитная спортивная каппа. Однако из всех представленных на современном рынке видов спортивных капп наиболее эффективными и соответствующими всем требованиям являются индивидуальные защитные спортивные каппы. Основными конструкционными материалами таких капп на сегодня являются полиуретан и этиленвинилацетат [3].

Состояние здоровья спортсменов, причины и особенности течения заболевания у них продолжает оставаться одной из центральных проблем спортивной медицины. Нерезко выраженные компенсированные субклинические формы заболевания, присущие главным образом спортсменам, представляют более серьезную опасность для них, чем для лиц, не занимающихся спортом. Это связано с воздействием большой физической нагрузки, стрессовых факторов, соревнований, переохлаждения. Исследования ряда авторов показали, что высококвалифицированные спортсмены, имеющие очаги хронической инфекции, характеризуются напряженной адаптацией, с нередким ее срывом, и снижением местного иммунитета [4—6].

Защитная спортивная каппа, длительное время находящаяся в полости рта спортсмена, при неадекватном гигиеническом уходе может послужить местом образования и роста патогенных бактерий, что в свою очередь может стать причиной развития воспалительных заболеваний пародонта, поражения твердых тканей зубов, обострения хронических очагов инфекции [2, 7, 9].

Для изучения способности образования колоний патогенных микроорганизмов на конструкционных материалах индивидуальных защитных капп было проведено исследование первичной адгезии пародонтопатогенных и дрожжеподобных грибов к данным материалам.

Материалы и методы

Для исследования были взяты 2 основных конструкционных материала для изготовления индивидуальных защитных

Хан Александр Владиславович — асп. каф., тел. 8(926)009-99-00, e-mail:shurakya@mail.ru

спортивных капп: на основе полиуретана и этиленвинилацетата.

Образцы полиуретана изготавливали из материала, разработанного учеными-химиками ОАО "Научно-исследовательский институт резиновых и латексных изделий". Данный материал был специально разработан для изготовления защитных спортивных капп, прошел тщательную токсикологическую и санитарно-химическую экспертизу и выпускается под общей торговой маркой Денталур. Образцы этиленвинилацетата изготавливали из стандартных фабричных пластин, предназначенных для изготовления индивидуальных защитных спортивных капп методом термовакуумформования.

Защитная спортивная каппа после изготовления имеет 2 поверхности: внутреннюю и внешнюю. Внешняя имеет гладкую поверхность, а внутренняя — шероховатую, так как в процессе изготовления она соприкасается с гипсовой поверхностью рабочей модели. Для исследования изготовлено по 8 образцов материалов с гладкой поверхностью (вариант А) и по 8 образцов с шероховатой (вариант Б). Всего изготовлены 32 образца круглой формы с площадью поверхности примерно 1 см^2.

Для постановки эксперимента моделирования первичной адгезии микробов к образцам материалов использовали культуры *Streptococcus sanguis* как показатель основной стабилизирующей флоры полости рта, пародонтопатогенных видов микробов, выделенных из полости рта больных пародонтитом средней степени тяжести — *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, а также возбудителей неспецифических стоматитов (в том числе протезных) — *Enterococcus faecalis* и дрожжеподобных грибов *Candida albicans*.

Все исследования выполняли в бактериологической лаборатории (разрешение главного государственного санитарного врача № 77.01.16.000.М.015177.11.09, г. Москва от 18.11.09) кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии ГОУ ВПО МГМСУ. Для идентификации выделенных штаммов использовали идентификационные тест-системы API 20 A фирмы "БиоМирье" (Франция) и основные методические приемы, рекомендованные для анаэробной бактериологической лаборатории, а также ПЦР-диагностики (Царев В. Н., 2009).

Исследуемые образцы материалов помещали во взвесь суточной тест-культуры микроорганизмов. Количество бактерий в 1 мл взвеси составляло $3 \cdot 10^6$ КОЕ/мл в соответствии со стандартом мутности 0,5 McFarland; грибов — $1 \cdot 10^6$ КОЕ/мл. Экспозиция 40 минут в анаэростате при 37ºС (для анаэробных и микроаэрофильных бактерий), а для грибов — в обычных условиях при комнатной температуре.

Удаление микроорганизмов с образцов осуществлялось поэтапно. Сначала образцы отмывали трижды 5 мл стерильного физиологического раствора для удаления неприлипших микробных клеток. Затем каждый материал помещали в пробирку, содержащую 1 мл физиологического раствора. Эти пробирки с исследуемыми образцами подвергали обработке в ультразвуковой ванне Ultrasonis (НПФ "Геософт", РФ) при частоте 60 кГц в течение 10 мин, что позволяло удалить микроорганизмы, которые вступили в адгезию на поверхности образца.

Далее из полученной взвеси с образцов осуществляли посев методом отпечатков на кровяной агар Columbia с последующим распределением микроорганизмов по поверхности питательной среды стерильной платиновой бактериологической петлей. Посевы инкубировали в анаэробных условиях при 37ºС (для анаэробных и микроаэрофильных бактерий) и в обычных условиях при комнатной температуре — для дрожжеподобных грибов.

После завершения культивирования с помощью стереомикроскопа ("Nikon", Япония) подсчитывали количество колоний, выросших на питательных средах; определяли десятичный логарифм этой величины и рассчитывали индекс адгезии для каждой из исследуемых тест-культур по формуле, предложенной В. Н. Царевым и соавт. (1997):

$$Ia = \mathrm{Ig}A/\mathrm{Ig}N,$$

где *Ia* — индекс адгезии, *A* — число прилипших бактерий, *N* — количество бактерий взвеси.

На основании изучения адгезии тест-культур к данным материалам в соответствии с существующими рекомендациями выделены 4 степени интенсивности адгезии:

низкая — 0—0,30 (на образце реставрационного материала адгезировалось не более 30% микроорганизмов из нанесенной взвеси тест-культуры);

умеренная — 0,30—0,50 (на образце адгезировалось от 31 до 50% микроорганизмов из нанесенной взвеси тест-культуры);

высокая — 0,50—0,70 (на образце материала адгезировалось от 51 до 70% бактерий от нанесенной взвеси тест-культуры);

очень высокая — свыше 0,70 (на образце материала адгезировалось 71% и более бактерий от нанесенной взвеси тест-культуры).

Результаты и обсуждение

Результаты исследования представлены в табл. 1.

Представленные данные свидетельствуют о существенных различиях индексов адгезии к исследуемым материалам в зависимости от вида микробов и характера поверхности. Так, значение индексов адгезии низкой степени выявилось у образцов этиленвинилацетата с гладкой поверхностью (вариант А) для всех тест-штаммов бактерий и грибов (от 0,15 ± 0,03 у *Enterococcus faecalis* до 0,24 ± 0,04 у *Candida albicans*), кроме наиболее вирулентного пародонтопатогенного вида *Porphyromonas gingivalis* (0,68 ± 0,04, $p < 0,05$). Однако в образцах того же материала с шероховатой поверхностью (вариант Б) индексы адгезии достовер-

Таблица 1

Сравнительная характеристика адгезии представителей микрофлоры полости рта к образцам материалов в эксперименте *in vitro*

Образец материала	*Streptococcus Sanguis*	*Enterococcus faecalis*	*Fusobacterium nucleatum*	*Porphyromonas gingivalis*	*Candida albicans*
Этиленвинилацетат — гладкая поверхность (вариант А)	0,20 ± 0,03	0,15 ± 0,03	0,20 ± 0,04	0,68 ± 0,04	0,24 ± 0,04
Этиленвинилацетат — шероховатая поверхность (вариант Б)	0,40 ± 0,04*	0,45 ± 0,03*	0,62 ± 0,04*	0,75 ± 0,04*	0,85 ± 0,05*
Полиуретан — гладкая поверхность (вариант А)	0,40 ± 0,02**	0,29 ± 0,03**	0,20 ± 0,04	0,62 ± 0,04	0,29 ± 0,03
Полиуретан — шероховатая поверхность (вариант Б)	0,50 ± 0,03*++	0,65 ± 0,03*++	0,60 ± 0,05*	0,73 ± 0,03*	0,63 ± 0,05*+
Контроль	1,00 ± 0,03	1,00 ± 0,03	1,00 ± 0,03	1,00 ± 0,03	1,00 ± 0,03

Примечание. * — значения достоверно выше, чем в предыдущей строке ($p < 0,05$); ** — значения достоверно выше, чем в сравниваемой строке А ($p < 0,05$); ++ — значения достоверно выше, чем в сравниваемой строке Б ($p < 0,05$); + — значения достоверно ниже, чем в сравниваемой строке Б ($p < 0,05$).

но возрастали примерно в 2 раза у *Streptococcus sanguis* и в 3 раза у *Enterococcus faecalis*, *Fusobacterium nucleatum* и грибов *Candida albicans*. Адгезия у вирулентного пародонтопатогенного вида *Porphyromonas gingivalis* и дрожжеподобных грибов *Candida albicans* к шероховатой поверхности этиленвинилацетата была максимальной — индекс составлял 0,75 ± 0,04 и 0,85 ± 0,05 соответственно ($p < 0,05$).

При оценке первичной адгезии бактерий и дрожжеподобных грибов к образцам полиуретана получены следующие данные. Как и в предыдущем случае, преимущественно индексы адгезии низкой степени выявлены к образцам полиуретана с гладкой поверхностью (вариант А) для тест-штаммов *Enterococcus faecalis*, *Fusobacterium nucleatum* и дрожжеподобных грибов *Candida albicans* (от 0,20 до 0,29), а у *Streptococcus sanguis* — средней степени 0,40 ± 0,02.

Как и в случае с образцами этиленвинилацетата наиболее вирулентный пародонтопатогенный вид *Porphyromonas gingivalis* давал максимально высокий уровень адгезии (0,62 ± 0,04), который, однако, у образцов полиуретана был достоверно ниже ($p < 0,05$).

При использовании шероховатых образцов (вариант Б), индексы адгезии достоверно (примерно в 1,5—2,5 раза) возрастали у *Enterococcus faecalis* и грибов *Candida albicans*, в 3 раза — у *Fusobacterium nucleatum* и на ¼ — у стабилизирующего вида *Streptococcus sanguis*. Адгезия у *Porphyromonas gingivalis* к шероховатым образцам полиуретана оказалась максимальной — индекс составлял 0,73 ± 0,03 ($p < 0,05$).

Сравнивая полученные результаты адгезии разных видов микробов к материалам с разными поверхностями, следует подчеркнуть, что шероховатый полиуретан давал более низкую адгезию дрожжеподобных грибов *Candida albicans* по сравнению с винилацетатом. Полиуретан с гладкой поверхностью по степени адгезии практически не отличался от винилацетата — в обоих случаях индекс адгезии расценивали как низкую степень. Исключение составляли *Streptococcus sanguis*, которые являются основным стабилизирующим видом резидентной флоры полости рта. Среднюю степень адгезии, которую давал полиуретан, можно расценивать как положительный признак с точки зрения восстановления нормального микробиоценоза полости рта и протезной биопленки.

Выводы

1. Материалы, используемые для изготовления индивидуальных защитных капп, существенно различаются по степени адгезии стабилизирующих и вирулентных пародонтопатогенных видов бактерий, а также дрожжеподобных грибов Candida albicans, что определяется их физико-химическими параметрами. Степень адгезии микробов разных таксономических групп к таким материалам варьирует в широких пределах: индексы адгезии к образцам материалов составляют от 0,15 до 0,85. Адгезия к более шероховатым образцам материалов *in vitro* достоверно выше, чем у гладких образцов обеих групп.

2. Этиленвинилацетат и полиуретан — оптимальные материалы для клинического применения с точки зрения сохранности нормального микробиоценоза протезной биопленки и профилактики протезных стоматитов, так как имеют низкую степень адгезии тест-штаммов микробов полости рта.

3. Преимуществом материала на основе полиуретана является его более высокая аффинность (сродство) к важнейшему стабилизирующему виду микрофлоры полости рта *Streptococcus sanguis*, но достоверно более низкая к тест-штаммам вирулентных видов микробов и дрожжеподобных грибов — возбудителей воспалительных процессов в полости рта.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Добровольский В. К.* Профилактика повреждений, патологических состояний и заболеваний при занятиях спортом. — М., 1967.
2. *Кузнецов Е. А.* Микробная флора полости рта и ее роль в развитии патологических процессов. — М., 1996.
3. *Ланг Б., Филиппи А.* // Endodontie. — 2003. — Т. 12, № 1. — С. 39—51.
4. *Орехова Л. Ю., Левин М. Я., Калинин В. И.* // Новое в стоматол. — 1996. — № 3. — С. 17—21.
5. *Ратницына И. Л.* // Стоматология. — СПб., 1996. — С. 23—24.
6. *Суздальницкий Р. С., Левандо В. А.* // Теор. и практ. физ. культуры. — 2000. — № 1. — С. 18—22.
7. *Царев В. Н., Абакаров С. И., Умарова С. Э.* // Стоматология. — 2000. — № 1. — С. 24—28.
8. *Царев В. Н., Ибрагимов Т. И., Трефилов А. Г.* // Стоматолог. — 2008. — № 2. — С. 45—46.
9. *Шубик В. М., Левин М. Я.* Иммунитет и здоровье спортсменов. — М., 1985.
10. *Beachy G.* // J. Athlet. Train. — 2004. — N 4. — P. 310—315.

Поступила 26.07.11