

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 615.28.03:616.31

Е.В. Ипполитов¹, З.В. Хасигова², Ф.Е. Дзицкоева³, Е.С. Лащенко⁴, С.Д. Арутюнов¹**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ НОВЫХ БЕЗАЛЬДЕГИДНЫХ ХИМИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ДЛЯ ДЕЗИНФЕКЦИИ ОТТИСКОВ ЗУБОВ**¹ ГБОУ ВПО Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова Минздрава России, 127473, Москва; ²стоматологическая поликлиника, Москва; ³ГБУЗ ДГП №148 ДЗМ, 109387, г. Москва; ⁴ГМУ Орловская областная стоматологическая поликлиника, 302030, г. Орел

Изучена антибактериальная и фунгицидная активность дезинфицирующих средств (ДС) Zeta3 и Zeta7 в сравнении с аналогами групп ПВК/ЧАС (окаdez, септабик, катамин АБ) по отношению к кариесогенной, пародонтопатогенной и грибковой флоре полости рта. Установлено, что антимикробная активность исследуемых ДС Zeta3 и Zeta7 создается в растворах с 0,001–0,0001% концентрациями препарата, как в отношении бактерий (включая анаэробные виды), дрожжевых и плесневых грибов. В большинстве случаев активность Zeta3 и Zeta7 существенно превосходит активность традиционных ДС из группы ЧАС или не отличается от активности двух препаратов сравнения – септабика и катамина АБ. Имеющийся запас надежности позволяет предложить данные препараты для клинического применения в ЛПУ стоматологического профиля в качестве новых ДС.

Ключевые слова: стоматологические оттиски; химические дезинфицирующие средства; физические и микробиологические характеристики оттисков

E.V. Ippolitov¹, Z.V. Khasigova², F.E. Dzitstsoeva³, E.S. Laschenko⁴, S.D. Arutyunov¹**MICROBIOLOGICAL RATIONALE FOR THE USE OF NEW WITHOUT ALDEHYDE CHEMICALS FOR DESINFECTION IMPRESSIONS OF THE TEETH**¹A.I. Evdokimov Moscow state medical dental University Ministry of health of Russia; ²dental clinic, Moscow; ³city children's polyclinic 148 MBT, Moscow; ⁴“Oryol regional dentists polyclinic”, 302030, Oryol

The article presents the results of a study of the antibacterial and fungicidal activity of disinfectants (DS) Zeta3 and Zeta7 compared to similar groups of STC/HOUR (Okadez, Septabic, Katamin) in relation to кариесогенной, пародонтопатогенной and fungal flora of the oral cavity. It is established that the antimicrobial activity of the studied DS Zeta3 and Zeta7 is created in solutions with 0,001 to 0,0001 % of the concentrations of the drug, as against bacteria, including anaerobic species of yeast and fungi. In most cases, activity Zeta3 and Zeta7 considerably exceeds activity of traditional DS from the group H, or not much different from the two drugs comparison - Septabic and Katamin AB. Stockpile reliability allows us to offer these drugs for clinical use in the health facilities of dental profile as a new DS.

Key words: dental impressions; chemical disinfectant products; physical and microbiological characteristics impressions

Повышенный риск передачи инфекции в лечебно-профилактических учреждениях (ЛПУ) стоматологического профиля определяется прежде всего тем, что наибольшая концентрация инфекционных агентов – бактерий, грибов и вирусов – выявляется в крови и секретах организма, в частности в ротовой жидкости (смешанной слюне), с которой врачи-стоматологи имеют постоянный контакт. Установлено, что содержание микробов в слюне колеблется от 10^5 до 10^{10} в 1 мл, причем до половины этого количества может быть представлено вирулентными видами [7, 8].

Это определяет актуальность дальнейшей разработки методов дезинфекции и в первую очередь химических дезинфектантов и химиопрепаратов, имеющих различные механизмы преодоления резистентности микроорганизмов на генетическом уровне [12].

За последние годы ассортимент дезинфицирующих средств (ДС) для обработки стоматологических инструментов значительно расширился за счет препаратов на основе альдегидов, катионных поверхностно-активных веществ (ПАВ) – четвертичных аммониевых соединений (ЧАС), солей аминов и других. Однако средства на основе альдегидов, обладая широким спектром действия, токсичны при ингаляционном

воздействии и требуют особых условий при использовании и хранении [10, 11].

При выборе ДС существенное значение имеет преобладающая микрофлора, которая является объектом дезинфекции. Так, представители стрептококковой и большинство беспоровой анаэробной флоры более чувствительны к низким концентрациям дезинфектантов, чем актиномицеты, порфиромонас, туберкулезная палочка и спорообразующие анаэробы. Более высоких концентраций дезинфектантов требуют также дрожжевые (кандида) и плесневые грибы [3, 4, 9].

В связи с этим поиск новых эффективных средств химической дезинфекции оттисков, которые, с одной стороны, обеспечивали бы высокую надежность деконтаминации, а с другой – отрицательно не воздействовали бы на геометрические параметры и физико-химические характеристики оттисков, и в настоящее время актуален. Подобные свойства выявлены у дезинфицирующих средств (ДС), относящихся к группе ЧАС и некатационных ПАВ.

Целью нашего исследования являлось повышение эффективности химической дезинфекции стоматологических оттисков (слепков) путем научно обоснованного применения ДС группы Zeta, включающих многоатомные спирты, ЧАС и некатационные ПАВ.

Материалы и методы исследования

Изучали дезинфицирующую активность безальдегидных ДС Zeta3 и Zeta7 (Zermak, Италия), на основе ЧАС/ПАВ в отношении представителей микрофлоры рта и физические параметры оттисков зубов.

Для получения сравнительных данных о микробиологических свойствах дезинфектантов мы проводили параллельную постановку эксперимента с другими препаратами, близкого состава – аналогами из группы ЧАС/ПАВ:

1. «Катамин АБ» (бензалкония хлорид, ОАО «Синтез», Россия),
2. «ПВК» – катамин АБ с перекисью водорода (ОАО «Синтез», Россия),
3. «Септобик» – катамин АБ с перборатом («Абик», Израиль),
4. «Аламинол» – катамин АБ с глиоксалем (ГНЦ «НИОПИК», Россия).

Все микробиологические исследования проводили в соответствии с существующим методическими рекомендациями [1, 8].

Для эксперимента с аэробными и факультативно-анаэробными микробами использовали 5% кровяной агар или среду Сабуро (для грибов), а с облигатно-анаэробными – 5% кровяной гемин-агар. В последнем случае культивирование осуществляли в анаэробных условиях (80% азота, 10% водорода, 10% углекислого газа) в анаэрокате Himedia (Индия).

В качестве тест-штаммов использованы клинические изоляты анаэробных бактерий и грибов кандиды из коллекции кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии МГМСУ им. А.И. Евдокимова: *Actinomyces naeslundii*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mutans*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Prevotella intermedia*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida glabrata*.

Такое разнообразие использованных тест-штаммов определялось тем, что они имеют различную устойчивость к факторам внешней среды и дезинфицирующим веществам, т.е. обладают различной степенью чувствительности к воздействию химических ДС. В частности, были использованы представители кариесогенной (актиномицеты, стрептококки) и пародонтопатогенной микробной флоры (актинобациллы, превотеллы, бактерии), а также грибы.

Экспериментальные исследования выполняли на плотных питательных средах: 5% кровяном гемин-агаре (для всех микроаэрофильных факультативно-анаэробных и облигатно-анаэробных видов) на основе Columbia Agar (Oxoid). Культивирование анаэробных бактерий осуществляли в анаэробных условиях (80% азота, 10% водорода, 10% углекислого газа) в анаэрокате Himedia. Для выделения и культивирования грибов использовали хромогенные среды (Himedia, Индия). Учет результатов проводили визуально с использованием исследовательского бинокулярного стереомикроскопа (Nikon, Япония) после двух суток культивирования при температуре 37°C.

Для определения оптимальной концентрации ДС использовали кассетный микрометод определения чувствительности микроорганизмов. Для эксперимента с аэробными и факультативно-анаэробными

микробами использовали стандартную среду для определения чувствительности или среду Сабуро (для грибов), а с облигатно-анаэробными – 5% кровяной гемин-агар.

В процессе исследования также оценивали геометрические параметры оттисков разными методами в эксперименте *in vitro*.

Геометрические параметры оттисковых материалов разных классов изучали с помощью микроскопа – компаратора горизонтального ИЗА-2 (Россия) с пределами измерений 0–200 мм и точностью измерений 0,001 мм параметрических характеристик образцов. Исследования деформации оттисковых материалов проводили путем сравнения временных зависимостей изменений размеров образцов в воде и в исследуемом дезинфектанте.

Для проведения исследования *in vitro* готовили образцы из оттисковых материалов:

силиконовых

– Speedex Putty (базовый слой) и “Speedex light body” (корректирующий слой) фирмы Coltene, Швейцария;

– “Optosil Putty” (базовый слой) и “Xantopren L-blue” (корректирующий слой) фирма Heraeus-Kulzer, Германия;

– “Bisico S1” (базовый слой), Bisico S4 (корректирующий слой в тубах), “Bisico S4” (корректирующий слой в картриджах), Bisico S4i (картридж), фирма Bisico, Германия,

альгинатных:

– «Bisico Chrominat» (фирма Bisico, Германия);

– «Alligat» (фирма Heraeus-Kulzer, Германия);

– «Phase Thixotropic» (фирма Zhermack, Италия).

В каждой серии было по 10 образцов, размером 3×3 мм.

Исследование точности воспроизведения геометрических размеров оттисков осуществляли в соответствии с ISO 4823 “Эластомерные оттисковые материалы”. Для проведения испытания был использован испытательный блок из нержавеющей стали. Сущность определения линейной усадки оттисковых материалов состоит в измерении расстояния между двумя точками или параллельными линиями, нанесенными на верхнюю поверхность испытательного блока [2].

Линейные размерные изменения подсчитывали по формуле:

$$\Delta L_n = (L_1 - L_2/L_1) 100, \%$$

где: ΔL_n – изменение размера образца оттискового материала в %; L_1 – расстояние на металлическом испытательном блоке; L_2 – расстояние на образце оттискового материала.

После определения начальных размеров образцов оттисковых материалов, полученных сразу после снятия оттиска с поверхности испытательного блока, их погружали в воду (контрольная серия образцов) или в растворах ДС Zeta3 и Zeta7 (испытуемая серия образцов). Изменение размеров образцов определяли после их выдержки в воде ($\Delta L_{\text{вода}}$) и растворе дезинфектанта ($\Delta L_{\text{ок}}$) в течение 15 мин в соответствии с приведенной выше методикой.

Кроме того, были проведены исследования на гипсовых моделях. Измерения проводили с помощью

Таблица 1. Результаты определения чувствительности кризогенных бактерий к ДС Zeta3 и Zeta7 по сравнению с аналогами (степень разведения, %)

Микроорганизм	Zeta3	Zeta7	ПВК	Окаdez	Септабик	Катамин АБ
Actinomyces naeslundii	1:10 000	1:10 000	1:1000	1:1000	1:10 000	1:1000
	0,0001	0,0001	0,001	0,001	0,0001	0,001
Streptococcus mutans	1:10 000	1:10 000	1:1000	1:1000	1:10 000	1:1000
	0,0001	0,0001	0,001	0,001	0,0001	0,001
Streptococcus sanguis	1:1000	1:1000	1:100	1:100	1:1000	1:1000
	0,001	0,001	0,01	0,01	0,001	0,001

Таблица 2. Результаты определения чувствительности пародонтопатогенных видов бактерий к ДС Zeta3 и Zeta7 по сравнению с аналогами (степень разведения, %)

Микроорганизм	Zeta3	Zeta7	ПВК	Окаdez	Септабик	Катамин АБ
Aggregatibacter actinomycetemcomitans	1:1000	1:1000	1:100	1:100	1:1000	1:100
	0,001	0,001	0,01	0,01	0,001	0,01
Fusobacterium nucleatum	1:10 000	1:10 000	1:1000	1:1000	1:10 000	1:1000
	0,0001	0,0001	0,001	0,001	0,0001	0,0001
Peptostreptococcus anaerobius	1:1000	1:1000	1:1000	1:1000	1:1000	1:1000
	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Prevotella intermedia	1:1000	1:1000	1:100	1:100	1:100	1:100
	0,001	0,001	0,01	0,01	0,01	0,01

Таблица 3. Результаты определения чувствительности грибковой микрофлоры к ДС Zeta3 и Zeta7 по сравнению с аналогами (степень разведения, %)

Микроорганизм	Zeta3	Zeta7	ПВК	Окаdez	Септабик	Катамин АБ
Candida albicans	1:1000	1:1000	1:100	1:100	1:1000	1:1000
	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Candida Krusei	1:1000	1:1000	1:10	1:100	1:1000	1:1000
	0,001	0,001	0,01	0,001	0,001	
Candida glabrata	1:100	1:100	1:10	1:10	1:100	1:100
	0,01	0,01	0,01	0,01	0,001	0,01
Aspergillus niger	1:1000	1:1000	1:100	1:100	1:1000	1:100
	0,001	0,001	0,01	0,0001	0,001	0,01

цифрового стоматологического штангенциркуля &2 (Ershine Dental, США).

Сравнение статистической достоверности разницы проводили с использованием критерия Стьюдента. При сравнении расчетного значения критерия Стьюдента с табличным для вероятности $p < 0,05$ делали вывод о достоверности полученной разницы в размерных изменениях образцов оттисковых материалов при воздействии на них дезинфицирующего раствора, ($t_T > t_p$ – разницa в размерных изменениях статистически достоверна). Расчеты проводили по программе “Statgraphics”.

Результаты экспериментальных исследований

Анализ сравнительных результатов активности изучаемых дезинфектантов по отношению к тест-штаммам – представителям разных групп микробной флоры полости рта – показал высокую чувствительность последних. МБК находилась в диапазоне от 10 до 100 мг/л. Однако МБК разных ДС из группы ЧАС существенно различались.

В табл. 1 приведены сравнительные результаты активности препаратов Zeta3 и Zeta7 и сравниваемых аналогов из группы ЧАС по отношению к представителям грамположительных бактерий микроаэрофильной группы (кариесогенные стрептококки и актиномицеты).

Наиболее высокая чувствительность этих тест-штаммов (особенно для Actinomyces naeslundii и Streptococcus mutans – в разведении 1:10 000) выявлена у ДС Zeta3 и Zeta7, которая достоверно не отличалась от данных, полученных для наиболее активного дезинфектанта Септабик. Более устойчивым к действию ДС был вид Streptococcus sanguis: Zeta3, Zeta7, Септабика и катамина АБ были эффективны в разведении 1:1000, а ПВК и Окаdez – в 10 раз больше – 1:100.

Полученные данные позволяют заключить, что для достижения бактерицидной активности в отношении кариесогенной группы микроорганизмов достаточно создавать 0,0001–0,001% растворы Zeta3 и Zeta7, “Септабика” и катамина АБ и более концентрированные – 0,01% – ПВК и Окадеза.

Результаты сравнительного изучения влияния Zeta3 и Zeta7 и аналогов из группы ЧАС на облигатно-анаэробную (в том числе, пародонтопатогенную) флору полости рта представлены в табл. 2.

Чувствительность *Fusobacterium nucleatum* и *Peptostreptococcus anaerobius* к дезинфектантам Zeta3 и Zeta7, Септабик и катамин АБ проявлялась на одном уровне (концентрация растворов в диапазоне 0,001–0,0001%). Представители основных пародонтопатогенных видов – *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* и *Prevotella intermedia* оказались в 10 раз более устойчивыми в отношении препаратов Zeta3 и Zeta7 и в 100 раз – для большинства аналогов.

Противогрибковую активность ДС Zeta3 и Zeta7 изучали в отношении тест-штаммов *S.albicans*, *S. krusei*, *S. glabrata* и *Aspergillus niger*.

При этом были установлены существенные различия чувствительности штаммов разных видов и разных препаратов (табл. 3).

Дезинфектанты Zeta3 и Zeta7 показали высокую активность в отношении штаммов *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Aspergillus niger*, что статистически достоверно не отличалось от активности Септабика и катамина АБ. Штамм *Candida glabrata* показал более высокий уровень устойчивости – для гибели требовалось использование 0,01% растворов Zeta3 и Zeta7, Септабика и катамина АБ. Полученные данные позволяют сделать заключение, что противогрибковая активность исследуемых ДС Zeta3 и Zeta7 создается в растворах с 0,001–0,0001% концентрациями препарата как в отношении дрожжеподобных, так и плесневых грибов и в ряде случаев существенно превосходит активность традиционных дезинфектантов из группы ЧАС, которые были использованы в качестве аналогов для сравнения.

Результаты изучения антибактериальной и фунгицидной (противогрибковой) активности исследуемых препаратов Zeta3 и Zeta7 по сравнению с аналогами ПВК и ЧАС (Окадез, Септабик, катамин АБ) позволяют сделать заключение, что антибактериальная и фунгицидная активность исследуемых дезинфектантов Zeta3 и Zeta7 создается в растворах с 0,001–0,0001% концентрациями препарата, как в отношении бактерий, включая анаэробные виды, дрожжевых и плесневых грибов. Наиболее устойчивыми ко всем ДС оказались представители грибов кандиды – *S. glabrata*. В большинстве случаев установлено, что активность Zeta3 и Zeta7 существенно превосходит активность традиционных ДС из груп-

пы ЧАС или не отличается от активности двух сравниваемых препаратов – Септабика и катамина АБ, которые были использованы в качестве аналогов для сравнения.

Таким образом, полученные данные позволяют заключить, что препараты Zeta3 и Zeta7 имеют высокий “запас надежности” с учетом нейтрализующего действия на ДС биологических жидкостей и материалов. Это делает возможным их использование для клинического применения для дезинфекции и стерилизации материалов и оборудования в ЛПУ стоматологического профиля.

ЛИТЕРАТУРА

1. Давыдова М.М., Плахтий Л.Я., Царёв В.Н. Методы микробиологического исследования, применяемые в стоматологии. В кн.: Царев В.Н., ред. Микробиология, вирусология и иммунология полости рта. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013: 223–66.
2. Камилов Р.И. Химическая дезинфекция стоматологических отливок с применением нового дезинфектанта «Окадез М»: Дисс. М.; 2004.
3. Венцель Р., Бревер Т., Бутцлер Ж.-П., ред. Руководство по инфекционному контролю в стационаре. Международное общество по инфекционным болезням (ISID): Пер. с англ. Смоленск: МАКМАХ; 2003.
4. Сбойчаков В.Б. Уничтожение микробов в окружающей среде. В кн.: Зверев В.В., Бойченко М.Н., ред. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа; ...: 145–52.
5. Царев В.Н., Абакаров С.И., Умарова С.Э. Динамика колонизации микробной флорой полости рта различных материалов, используемых для зубного протезирования. Стоматология. 2000; 1: 55–7.
6. Ценов Л.М., Николаев А.И. Проблемы здоровья, нормы, качества жизни и патологии в стоматологии (обзор литературы). Пародонтология. 2001; 3 (21): 25–9.
7. Fenno J.C., Coulter W.A., Lopatin D.E. Профилактика инфекций в стоматологии. В кн.: Ламант Р.Дж., Берне Р.А., Лебланк Д.Дж., ред. Микробиология и иммунология для стоматологов. М.: Практическая медицина; 2010: 475–500.
8. Gunnar D. Microbiological diagnostics in oral diseases. Acta Odontol. Scand. 2006; 64(3): 164–8.
9. Jagger R. Lack of evidence about the effectiveness of the different denture cleaning methods. Evid Based Dent. 2009; 10(4): 109.
10. Pavarina A.C., Machado A.L., Giampaolo E.T. Effects of chemical disinfectants on the transverse strength of denture base acrylic resins. J. Oral Rehabil. 2003; 30(11): 1085–9.
11. Ribeiro D.G., Pavarina A.C., Machado A.L. Flexural strength and hardness of relined and denture base acrylic resins after different exposure times of microwave disinfection. Quintessence Int. 2008; 39(10): 833–40.
12. Tsarev V., Chuvilkin V., Ippolitov E. Susceptibility of oral anaerobic bacteria to fluoroquinolones of various generations and molecular characterization of resistant strains. Int. J. Infect. Dis. 2008; 12(1): 309–10.

Поступила 21.11.13