

DOI: 10.37988/1811-153X\_2023\_3\_125

[В.Н. Царев](#)<sup>1</sup>,

д.м.н., профессор, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии, директор НИМСИ

[А.Н. Акавов](#)<sup>2</sup>,

аспирант кафедры ортопедической стоматологии

[В.М. Карпова](#)<sup>1</sup>,

к.м.н., доцент кафедры пропедевтики стоматологических заболеваний

[Е.В. Царева](#)<sup>1</sup>,

к.м.н., ассистент кафедры пропедевтики стоматологических заболеваний

[А.А. Ласточкин](#)<sup>1</sup>,

к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии

<sup>1</sup> МГМСУ им. А.И. Евдокимова, 127473, Москва, Россия<sup>2</sup> Дагестанский ГМУ, 367012, Махачкала, Россия**ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:**

Царев В.Н., Акавов А.Н., Карпова В.М., Царева Е.В., Ласточкин А.А. Экспериментальное микробиологическое обоснование дезинфекционных мероприятий как составляющей инфекционной безопасности в практике работы стоматолога-ортопеда. — *Клиническая стоматология*. — 2023; 26 (3): 125—133. DOI: 10.37988/1811-153X\_2023\_3\_125

## Экспериментальное микробиологическое обоснование дезинфекционных мероприятий как составляющей инфекционной безопасности в практике работы стоматолога-ортопеда

**Реферат.** Считается, что в среднем от 6 до 9% пациентов стационаров ежегодно страдают от развития и тяжелого течения инфекционных осложнений, вызванных возбудителями инфекции, связанной с оказанием медицинской помощи. Решение вопросов инфекционной безопасности, в том числе в практической работе врача-стоматолога, представляет собой крайне актуальную проблему. **Цель исследования** — экспериментальное обоснование выбора препаратов, обладающих антибиопленочным действием, для оптимизации дезинфекции оттисков зубного ряда. **Материалы и методы.** Анализировали микробиоту на 34 силиконовых оттисках зубов. Затем в эксперименте *in vitro* оценивали влияние препаратов из группы четвертичных аммониевых соединений (ЧАС), рекомендованных для проведения химической дезинфекции (бензалкония хлорид, цетилпиридиния хлорид и бензилдиметил[3-(миристоиламино)пропил]аммония хлорид) на экспериментальную биопленку с применением сканирующего электронного микроскопа. **Результаты.** Наиболее значимый уровень микробной контаминации, превышающий верхнюю границу известных нормативов нормобиоты рта ( $10^4 \pm 10^2$  КОЕ/мл) был зарегистрирован для *Streptococcus spp.*, *S. sanguis*, *Corynebacterium spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Enterococcus spp.*, *Porphyromonas gingivalis* (в пределах  $10^5$ — $10^7$  КОЕ/мл). Это позволило определить приоритетные патогены для эксперимента формирования смешанной биопленки и визуального контроля ее деструкции при использовании ЧАС. Предложенные модели эксперимента могут быть использованы для выбора оптимального антисептика в диапазоне 0,05—0,1%. Полная эрадикация патогенов экспериментальной биопленки и планктонных форм происходила при применении 0,1%-ных растворов биоцидных препаратов. **Заключение.** ЧАС вызывают деструкцию экспериментальной биопленки. Более выраженную активность в отношении исследуемых штаммов анаэробной микробиоты продемонстрировал мирамистин при концентрации 0,05%.

**Ключевые слова:** инфекционные осложнения, дезинфекция погружением, оттиски зубов, четвертичные аммониевые производные, бензилдиметил[3-(миристоиламино)пропил]аммония хлорид

[V.N. Tsarev](#)<sup>1</sup>,

PhD in Medical Sciences, full professor of the Microbiology, virology, immunology department, director of the Medico-dental research Institute

[A.N. Akavov](#)<sup>2</sup>,

postgraduate at the Prosthodontics Department

[V.M. Karpova](#)<sup>1</sup>,

PhD in Medical sciences, associate professor of the Dentistry diseases propaedeutics Department

[E.V. Tsareva](#)<sup>1</sup>,

PhD in Medical Sciences, assistant professor of the Dentistry diseases propaedeutics Department

[A.A. Lastochkin](#)<sup>1</sup>,

PhD in Medical Sciences, associate professor of the Microbiology, virology, immunology Department

## Experimental microbiological justification of disinfection measures as a component of infectious safety in the practice of an orthopedic dentist

**Abstract.** It is estimated that, on average, 6 to 9% of hospitalized patients suffer from the development and severe course of infectious complications caused by healthcare-associated pathogens each year. Solving the problems of infection safety, including in the practical work of a dentist, is an extremely urgent problem. **The aim of the study** was to experimentally substantiate the choice of preparations with antibiofilm action for optimizing the disinfection of dental impressions. **Materials and methods.** The microbiota of 34 silicone dental impressions was analyzed. Subsequently, the effect of preparations from the group of quaternary ammonium compounds (QAC) recommended for chemical disinfection (benzalkonium chloride, cetylpyridinium chloride, and benzyltrimethyl[3-(myristoylamino)propyl]ammonium chloride) on the experimental biofilm was evaluated in an *in vitro* experiment using a scanning electron microscope. **Results.** The most significant level of microbial contamination exceeding the upper limit of known oral norms ( $10^4 \pm 10^2$  CFU/mL) was registered for *Streptococcus spp.*, *S. sanguis*, *Corynebacterium spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Enterococcus spp.*, *Porphyromonas gingivalis* (in the range of  $10^5$ — $10^7$  CFU/mL).

<sup>1</sup> Moscow State University of Medicine and Dentistry, 127473, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Dagestan State Medical University, 367012, Makhachkala, Russia

This made it possible to identify priority pathogens for the experiment of mixed biofilm formation and visual control of its destruction using QAC. The proposed experimental models can be used to select the optimal antiseptic in the range of 0.05—0.1%. Complete eradication of experimental biofilm pathogens and planktonic forms occurred when 0.1% solutions of biocidal agents were applied. **Conclusion.** QAC causes destruction of experimental biofilm. Miramistin at a concentration of 0.05% showed more pronounced activity against the strains of anaerobic microbiota studied.

**Key words:** infection complication, disinfection by immersion, dental impressions, quaternary ammonium derivatives, miramistin

**FOR CITATION:**

Tsarev V.N., Akavov A.N., Karpova V.M., Tsareva E.V., Lastochkin A.A. Experimental microbiological justification of disinfection measures as a component of infectious safety in the practice of an orthopedic dentist. *Clinical Dentistry (Russia)*. 2023; 26 (3): 125—133 (In Russian). DOI: 10.37988/1811-153X\_2023\_3\_125

## ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на многочисленные мероприятия в области инфекционной безопасности и профилактики инфекционной заболеваемости, в том числе в учреждениях стоматологического профиля, инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП), сохраняют свои позиции, а в ряде случаев отмечается рост заболеваемости [1]. Решение вопросов инфекционной безопасности, в том числе в практической работе врача-стоматолога, представляет собой крайне актуальную проблему, требующую постоянного контроля и совершенствования, что определяется требованиями нормативных документов как отечественного, так и международного уровня [2—4]. Так, установлено, что в среднем от 6 до 9% пациентов стационаров ежегодно страдают от развития и тяжелого течения инфекционных осложнений, вызванных возбудителями внутрибольничной инфекции [5—9]. Причиной такого состояния проблемы, согласно многочисленным исследованиям, проведенным в нашей стране, и по данным зарубежных авторов являются документально подтвержденные случаи элементарного невыполнения мероприятий по дезинфекции и стерилизации материалов и устройств медицинского назначения, в том числе в лечебно-профилактических учреждениях (ЛПУ) стоматологического профиля [8—10].

Для ЛПУ стоматологического профиля и зуботехнических лабораторий важным направлением обеспечения практической работы является внедрение инновационных подходов не только к проведению асептических и антисептических мероприятий, но и разработка способов предстерилизационной очистки или деконтаминации — многие исследователи расценивают это как эффективный подход к минимизации риска развития ИСМП [9, 11, 12].

Применение биополимеров, в частности альгинатов и силиконов, используемых для изготовления оттисков (слепков) зубов, — важное направление биофармацевтических разработок в настоящее время. Химические методы стерилизации в значительной степени определяются концентрацией действующего начала и экспозицией, соответственно, они могут иметь ограничения, связанные с инактивацией и деградацией основы

материалов в агрессивной окислительной среде, что совершенно не приемлемо. Для получения оттисков, отвечающих достаточно жестким требованиям по критическому уровню стерильности, важно, чтобы химическая дезинфекция не меняла механических и физических характеристик образцов, способствовала сохранению их функциональности. Это относится к таким коммерчески доступным биополимерам, как коллаген, хитозан, альгинаты и силикон [13, 14].

В практической работе врача — стоматолога-ортопеда следует выделять несколько основных механизмов передачи инфекционных агентов; одним из них является изготовление слепков (оттисков) зубных рядов, что сопряжено с неизбежной контаминацией оттисковых материалов. Благодаря этому происходит попадание вирулентных возбудителей в зуботехническую лабораторию, в зону профессиональной деятельности зубного техника. Это, в свою очередь ведет к инфицированию всего оборудования, включая изготавливаемые зубочелюстные, зубные протезы и ортодонтические аппараты. Поэтому дезинфекция этих изделий является вторым важным узлом в деятельности врача — стоматолога-ортопеда и зубного техника.

Поставленные проблемные вопросы определяют актуальную задачу совершенствования лабораторного контроля эффективности дезинфекционных мероприятий. В частности, необходимость обеспечения уровня стерильности SAL6 межгосударственных ISO, направленная на максимальное снижение риска распространения инфекций, — это важнейшая составляющая данного процесса [7, 12]. В связи с этим для регламентации деятельности врача — стоматолога-ортопеда разработаны соответствующие методологические приемы и алгоритмы, которые описаны в руководствах по дезинфектологии и в методических рекомендациях [15, 16].

При деконтаминации оттисков (слепков) из силикона или альгинатов, а также самих протезов из акриловых полимеров, особенно постоянных, которые подвержены образованию микробных биопленок, предполагается следующая этапность обработки, которая включает:

- предстерилизационную очистку — механическое удаление частиц биологических жидкостей и слизи, твердых частиц, на которых присутствует

микробная биопленка, содержащая жизнеспособные микроорганизмы;

- дезинфекцию — как правило, химическое воздействие, приводящее к гибели большинства патогенов, но не обеспечивающее полную стерильность обрабатываемого материала, объекта;
- стерилизацию — полное обеспложивание материала, объекта, с уничтожением вегетативных кислотоустойчивых и спорообразующих форм, обеспечивающую полную стерильность (эрадикацию микроорганизмов) [15–17].

Таким образом, выбор варианта мероприятий деонтаминации и эрадикации контаминирующей микробиоты, равно как и подбор соответствующей аппаратуры для дезинфекции и стерилизации, безусловно, является главным направлением обрыва путей передачи возбудителей ИСМП [17–19].

Однако задача оценки влияния дезинфектантов на микробиоту и обоснование выбора препаратов для обработки оттисков зубного ряда и самих протезов остается открытой и нуждается в тщательном изучении. Так, например, действие химических препаратов группы четвертичных аммониевых производных (ЧАС) на смешанные микробные биопленки, образованные представителями оральной микробиоты, изучено недостаточно, несмотря на их широкое практическое применение.

**Цель исследования** — экспериментальное микробиологическое обоснование выбора препаратов, обладающих антибиопленочным действием, для оптимизации дезинфекции оттисков зубного ряда с применением моделирования микробной биопленки и сканирующей электронной микроскопии.

## МАТЕРИАЛЫ

### Культуральное исследование

Предполагало проведение смывов с силиконовых оттисков зубных протезов стандартным ватным тампоном в 10 мл 0,1%-ной модифицированной среды Эймса с нейтрализаторами дезинфицирующих средств, которые помещали в транспортные пробирки объемом

20 мл (Himedia Laboratories, Индия). Методика проведения смывов соответствовала методическим указаниям «Методы санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды, воздуха и контроля стерильности в лечебных организациях» (МУК 4.2.2942-11) [19]. Дальнейшее исследование выделенных культур микробиоты проводили с учетом требований к культивированию анаэробной микробиоты челюстно-лицевой области [20].

Для первичных посевов смывов с силиконовых оттисков зубных протезов использовали дифференциально-диагностические и селективные питательные среды (Himedia Laboratories, Индия): для выделения клинических изолятов *S. aureus*; *S. epidermidis* — M521 (желточно-солевой стафилококковый агар N110); *Corynebacterium spp.*, *S. sanguis* и *E. faecalis* — M144 (колумбийский агар с 5% дефибрированной крови и селективной добавкой для выделения стрептококков), *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum*, *A. israelii*, *A. naeslundii* — M144 (колумбийский кровяной агар с 5% дефибрированной крови и селективной добавкой гемина, менадион для выделения неспорных анаэробов); *Candida spp.* — M1297 (хромогенный агар с селективной добавкой хлорамфеникола 0,50 г/л). Посевы помещали в термостат при температуре 37°C для бактериальной микробиоты и 25,0°C — для грибковой. Результат роста культур учитывали через 48 ч (рис. 1).

Количественное изучение микробиоты проводили путем подсчета числа колоний с помощью автоматического счетчика Scan 500 (Interscience, Франция). Дальнейшую идентификацию полученных культур осуществляли с учетом биохимических свойств в тестах Biochemical Identification Test Kits (Himedia Laboratories, Индия). В процессе инкубирования проявляется метаболическая активность микроорганизмов, которая влечет изменение цвета среды, видимые сразу или после добавления соответствующих реагентов.

### Штаммы микроорганизмов

В процессе проведения экспериментального микробиологического исследования для формирования

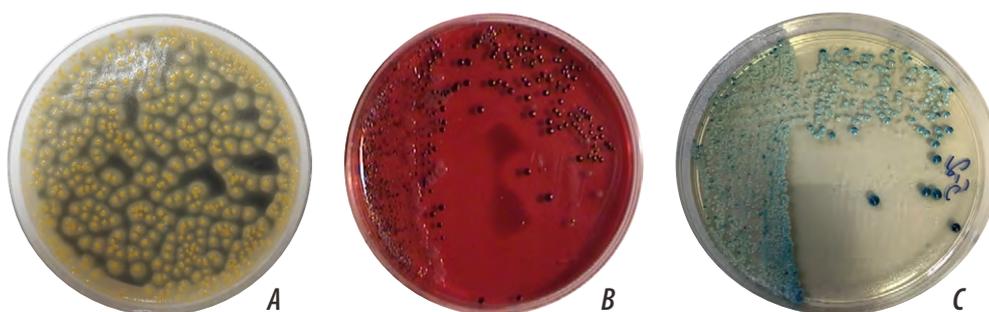


Рис. 1 Изолированные колонии тест-штаммов микроорганизмов на основных питательных средах: А) *Staphylococcus aureus* — среда M521; В) *Porphyromonas gingivalis* — 5%-ный кровяной гемин-агар на основе M144; С) *Candida albicans* — среда M1297

Fig. 1. Isolated colonies of test strains of microorganisms on the main nutrient media: А) *Staphylococcus aureus* — medium M521; В) *Porphyromonas gingivalis* — 5% blood gemin agar based on M144; С) *Candida albicans* — medium M1297

смешанной трехкомпонентной биопленки *in vitro* использовали следующие штаммы — клинические изоляты: *Streptococcus sanguis*, *Porphyromonas gingivalis*; *Fusobacterium nucleatum*.

### Дезинфицирующие вещества

В работе использовали препараты из группы ЧАС, рекомендованные для химической дезинфекции: бензалкония хлорид, цитилпирдиния хлорид и бензилдиметил[3-(миристоиламино)пропил]аммония хлорид (мирамистин) в виде сухой навески (любезно предоставленные НПФ «ВладМива», Белгород). Перечисленные ЧАС представляют собой микробицидные препараты широкого спектра, обладающие в рабочих концентрациях способностью не только ингибировать рост большинства видов бактерий и грибов, но и вызывать их гибель [13, 15, 16]. Механизм их действия заключается в формировании неконтролируемых осмотических каналов в клеточной мембране; при больших концентрациях и увеличении экспозиции происходит деструкция элементов клеточной стенки и проявляется спороцидное действие [19].

### МЕТОДЫ

Для моделирования микробной биопленки *in vitro* использовали патентованную методику [Ипполитов Е.В., Царев В.Н. и др. Способ формирования смешанной биопленки пародонтопатогенных анаэробных бактерий в условиях текучих сред *in vitro*. — Патент на изобретение RU2619169, действ. с 20.11.2015] формирования смешанной (трехкомпонентной) микробной биопленки на основе полиакрилата в жидкой фазе при постоянном токе жидкости сердечно-мозгового бульона (ВНИ), создаваемом шейкером-биокультиватором [21].

Последовательную колонизацию образцов материала проводили тест-штаммами *S. sanguis*, *F. nucleatum*, *P. gingivalis* с интервалом в 24 ч, а затем добавляли исследуемые биоцидные препараты в рабочих концентрациях (в параллелях).

Культивирование проводили в течение 7 суток в параллелях (положительный контроль — без дезинфектанта), а затем образцы готовили для проведения сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Проводили фиксацию 10%-ным раствором нейтрального формалина в течение 1 ч, после чего поверхность образцов с образовавшейся микробной биопленкой исследовали на двулучевом сканирующем электронном микроскопе Quanta 200 3D (FEI, США) в режиме высокого вакуума, с предварительным напылением золотом (999) в установке SPI-Module Sputter/Carbon Coater System (SPI, США).

После проведения процедуры культивирования в течение 7 суток делали контрольные высевы для



Рис. 2. Силиконовые оттиски протезов с имплантатами, полученные методом закрытой ложки  
Fig. 2. Silicone impressions of prostheses with implants obtained by the closed spoon method

определения полной (или частичной) эрадикации микробных клеток используемых видов под действием биоцидных препаратов в разных концентрациях.

При статистической обработке результатов для сравнения количественных параметров микробной обсемененности (микробного числа) использовали критерий Манна—Уитни.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате проведенного нами микробиологического исследова-

ния получены следующие данные о составе микробиоты силиконовых зубных оттисков, изготовленных для верхней и нижней челюстей (15 и 17 образцов соответственно), с целью последующего изготовления мостовидных зубных протезов с имплантатами. Изготовление оттисков выполняли методом закрытой ложки (рис. 2).

При бактериологическом исследовании в смывах с силиконовых оттисков доминировали представители *Streptococcus sanguis* (91,2%), *Enterococcus spp.* (82,4%), *Corynebacterium spp.* (85,3%), а также анаэробных возбудителей — *Fusobacterium spp.* (70,6%) и *Porphyromonas gingivalis* (64,8%). Несколько реже, но практически у каждого второго пациента, определяли дрожжевые грибы *Candida* (суммарно у 52,9%), причем преобладали представители вида *C. albicans* (табл. 1).

Таблица 1. Микробная обсемененность оттисков зубного ряда  
Table 1. Microbial contamination of dental impressions

Род, вид	Кол-во оттисков (n=34)		Микробное число (КОЕ/мл)
	абс.	%	
<i>Streptococcus sanguis</i>	31	91,2	10 <sup>7</sup> ±10 <sup>2</sup> *
<i>Streptococcus spp.</i>	15	44,1	10 <sup>6</sup> ±10 <sup>2</sup> *
<i>Enterococcus spp.</i>	28	82,4	10 <sup>6</sup> ±10 <sup>2</sup> *
<i>Actinomyces naeslundii</i>	16	47,1	10 <sup>4</sup> ±10 <sup>2</sup>
<i>A. israelii</i>	9	26,5	10 <sup>3</sup> ±10 <sup>2</sup>
<i>Corynebacterium spp.</i>	29	85,3	10 <sup>5</sup> ±10 <sup>2</sup> *
<i>Fusobacterium spp.</i>	24	70,6	10 <sup>5</sup> ±10 <sup>2</sup> *
<i>Prevotella intermedia</i>	14	41,2	10 <sup>4</sup> ±10 <sup>2</sup>
<i>Prevotella spp.</i>	9	26,5	10 <sup>3</sup> ±10 <sup>2</sup>
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	22	64,8	10 <sup>6</sup> ±10 <sup>2</sup> *
<i>Enterobacterium spp.</i>	11	32,4	10 <sup>4</sup> ±10 <sup>2</sup>
<i>Lactobacillus spp.</i>	27	79,4	10 <sup>4</sup> ±10 <sup>2</sup>
<i>Leptotrichia buccalis</i>	11	32,4	10 <sup>3</sup> ±10 <sup>2</sup>
<i>Candida albicans</i>	13	38,2	10 <sup>4</sup> ±10 <sup>2</sup>
<i>Candida spp.</i>	5	14,7	10 <sup>3</sup> ±10 <sup>2</sup>
<b>Всего штаммов</b>	<b>255</b>	<b>100</b>	—

Примечание. \* — достоверная разница по сравнению со средним нормативом микробной обсемененности слизистой рта 10<sup>4</sup>±10<sup>2</sup> (p<0,05).

Количественные параметры микробной обсемененности оттисков существенно варьировали, однако наиболее значимый уровень, превышающий верхнюю границу известных нормативов микробной обсемененности  $10^4 \pm 10^2$  КОЕ/мл [20], был зарегистрирован для *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Enterococcus spp.*, *Porphyromonas gingivalis* (в пределах  $10^5$ – $10^7$  КОЕ/мл). Это позволило нам определить круг возможных агентов, необходимых для формирования смешанной микробной биопленки *in vitro*.

Соответственно для решения этой задачи были выбраны штаммы *S. sanguis*, *F. nucleatum*, *P. gingivalis*, которые в то же время соответствовали описанной выше патентованной методике [21]. Микробные биопленки, полученные через 7 суток культивирования в условиях движения жидкой фазы в биокультиваторе использовали для формалиновой фиксации и последующей СЭМ. При проведении СЭМ установлено, что в контрольных образцах наблюдался рост смешанной микробной биопленки, в то время как в экспериментальных сериях с добавлением исследуемых биоцидных препаратов отмечалось ингибирование образования биопленок.

Так, в контрольных образцах через 7 суток культивирования выявлено наличие микробного консорциума, по своей структуре соответствующего понятию смешанной биопленки (рис. 3А), а при большем увеличении (12 000) были отчетливо видны преимущественно кокковые, бактериоидные и удлиненные формы микроорганизмов с выраженными пластами сохранившейся мантии (рис. 3В).

При проведении электронно-микроскопического контроля эффективности дезинфекции с использованием биоцидных препаратов выявлено однотипное влияние ЧАС на микробные биопленки, зависящее

от концентрации. Первоначально, после добавления препаратов (бензалкония хлорид, цитилпиридиния хлорид, мирамистин) в систему культивирования биопленки, как и в первом случае, сохранялись микробные клетки (рис. 4), однако преимущественно кокковой и бактериоидной формы. Фузобактерии во всех образцах отсутствовали, по-видимому, как более чувствительный компонент консорциума. В приведенном примере с мирамистином в концентрации 0,1% при увеличении 12 000 видно почти полное отсутствие мантии на скоплениях микробных клеток (рис. 4А). При применении в концентрации 0,5% разрушение биопленки более выражено. При этом наблюдалось не только полное отсутствие мантии на скоплениях микробных клеток, также видно большое количество разрушенных, поврежденных бактерий (обломки клеточных стенок) и межклеточного детрита (рис. 4В).

В сериях экспериментов с добавлением в систему культивирования биопленки исследуемых антисептических препаратов группы ЧАС наблюдали признаки деструкции микробной биопленки разной степени выраженности. Из проб биопленки, обработанных 0,05%-ными растворами бензалкония хлорида, удалось выделить жизнеспособные клетки *Streptococcus sanguis* в незначительном количестве (100 КОЕ/мл) и единичные — *Porphyromonas gingivalis* (10 КОЕ/мл), в концентрации 0,1% — результаты высевов были отрицательными (табл. 2). При использовании 0,05% растворов цитилпиридиния хлорида и мирамистина выделены единичные клетки *Streptococcus sanguis* (10 КОЕ/мл), в концентрации 0,1% результаты высевов были отрицательными. Достоверная разница по сравнению с контрольными пробами наблюдалась для всех значений ( $p < 0,025$ ).

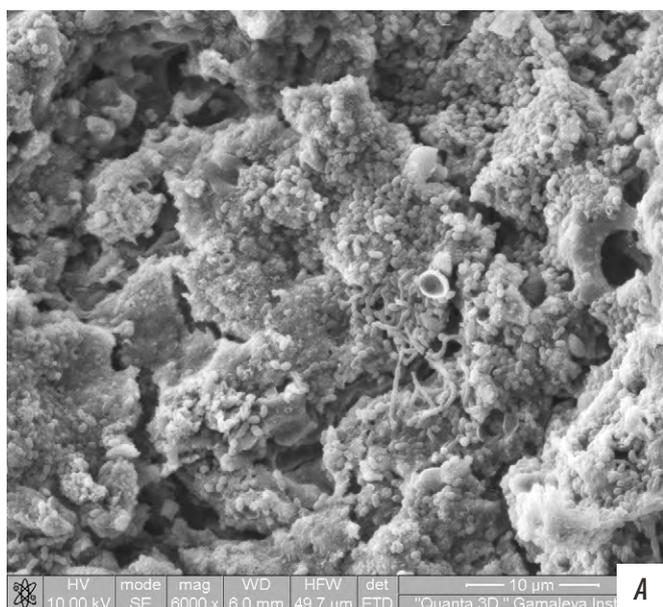


Рис. 3. Моделирование смешанной биопленки *in vitro*. Фрагмент с выраженной мантией и свободно лежащими бактериальными клетками на СЭМ: А — ув. 6000; В — ув. 12000

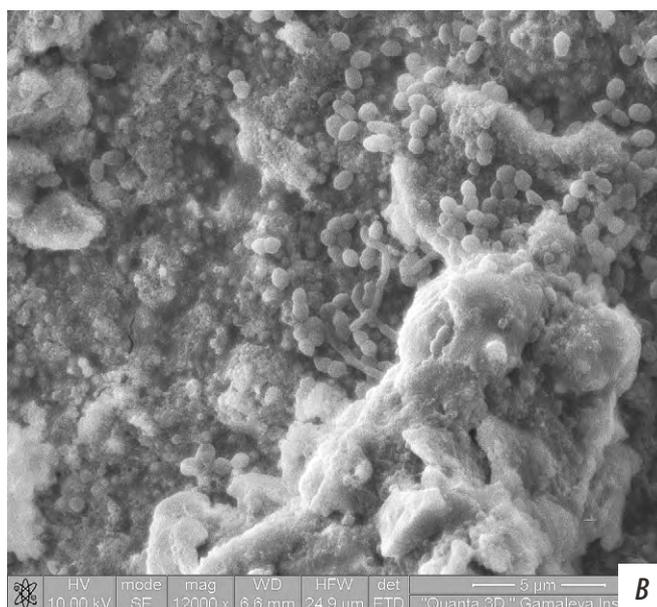


Fig. 3. Modeling of a mixed biofilm *in vitro*. A fragment with a pronounced mantle and free-lying bacterial cells on the SEM: A — mag. x6000, B — mag. x12000

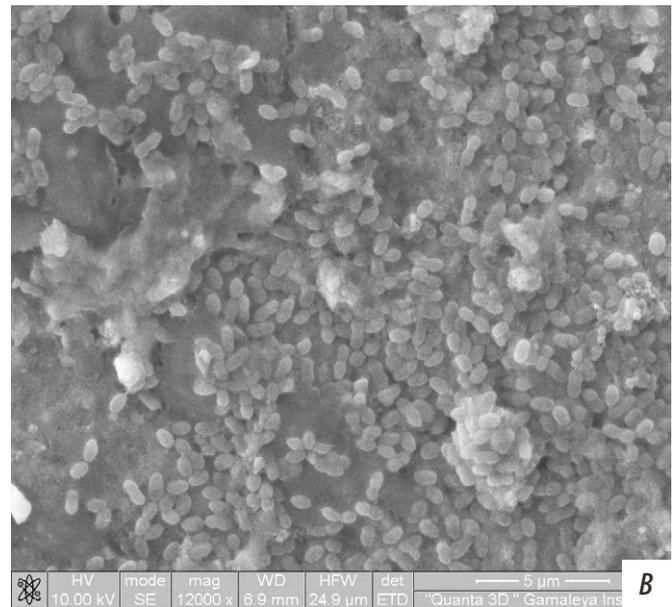
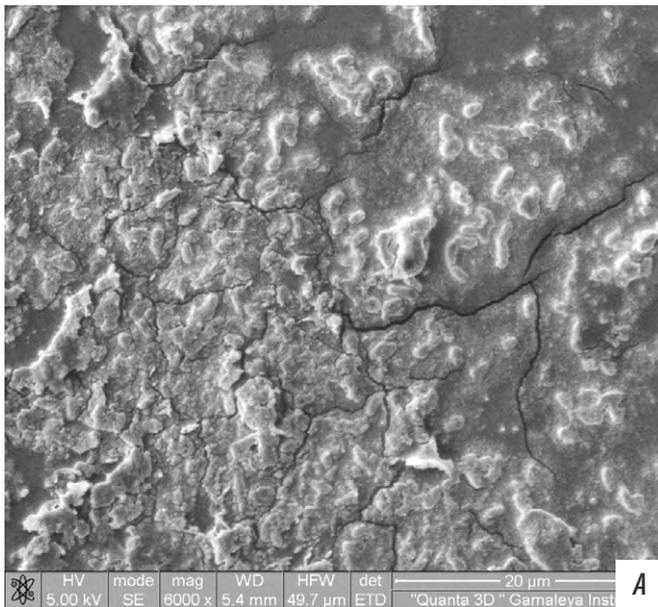


Рис. 4. Результаты действия мирамистина при моделировании биопленки *in vitro* (СЭМ, ув. 12 000): А — при обработке 0,1% раствором виден фрагмент биопленки с остатками мантии в верхнем левом квадранте; В — при обработке 0,5% раствором — полная деструкция биопленки, видны контуры единичных разрушенных микробных клеток

Fig. 4. The results of the action of miramistin in modeling biofilm *in vitro* (SEM x12 000): A — when treated with 0.1% solution, a fragment of biofilm with mantle remains in the upper left quadrant is visible; B — when treated with 0.5% solution, complete destruction of biofilm is visible, the contours of single destroyed microbial cells are visible

Следовательно, можно заключить, что биопленка как структурное сообщество микробов разрушалась при концентрации 0,05% биоцидных препаратов, а представители наиболее устойчивых видов — стрептококки *S. sanguis* — при этом сохранялись в виде отдельных жизнеспособных клеток. Полная эрадикация происходила при применении 0,1%-ных растворов данных препаратов. При этом несколько более выраженную эффективность продемонстрировал бензилдиметил[3-(миристоиламино)пропил]аммония хлорид (мирамистин).

**Таблица 2. Сравнительные результаты выделения тест-штаммов из смешанной биопленки без обработки (положительный контроль) и после обработки дезинфектантами в разных концентрациях (КОЕ/мл)**

Table 2. Comparative results of isolation of test strains from mixed biofilm without treatment (positive control) and after treatment with disinfectants in different concentrations (CFU/ml)

Род, вид	<i>S. sanguis</i>	<i>F. nucleatum</i>	<i>P. gingivalis</i>
Бензалкония хлорид 0,05%	100	0	10
Цитилпиридиния хлорид 0,05%	100	0	10
Мирамистин 0,05%	10	0	0
Бензалкония хлорид 0,1%	0	0	0
Цитилпиридиния хлорид 0,1%	0	0	0
Мирамистин 0,1%	0	0	0
Положительный контроль	$10^7 \pm 10^2$	$10^5 \pm 10^2$	$10^6 \pm 10^2$

Примечание. Все отличия от контрольной пробы статистически достоверно значимы ( $p < 0,025$ ).

### ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное в данной работе исследование по сравнительной микробиологической оценке деконтаминации в экспериментальных условиях позволило подтвердить значение формирования микробных биопленок на оттисках и конструкционных материалах. Ключевой характеристикой микробной биопленки является ее неоднородный состав, который может значительно отличаться в разных условиях окружающей среды. Это связано с тем, что их фенотип изменен по сравнению с одиночными микроорганизмами (планктонными формами). По мнению исследователей, принципиальное значение при формировании биопленки имеет то, что бактерии могут изменять параметры роста и экспрессию специфических генов [22–24].

При использовании метода химической дезинфекции применяют различные химические вещества. По механизму действия можно выделить следующие группы: деструктивный механизм с литическим или денатурирующим эффектом, окислительный механизм, мембраноатакующий механизм, антиферментный механизм [19]. При этом активность определенного дезинфектанта различна для микроорганизмов и зависит от температуры, pH и прочих условий. В качестве контрольных микроорганизмов обычно используют штаммы представителей видов *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* [5–7]. Для использования в амбулаторных и стационарных ЛПУ стоматологического профиля рекомендуют использовать также штаммы микроаэрофильных стрептококков *Streptococcus sanguis*, энтерококков *Enterococcus*

*faecalis*, актиномицетов *Actinomyces israelii* и анаэробов пародонтопатогенной группы *Porphyromonas gingivalis* [17–19].

Считается, что ЧАС являются наиболее перспективными дезинфицирующими агентами, так как они одновременно отвечают стандартам бактерицидности и щадящим действием на материал [6, 13, 18].

Как показали недавние исследования Г.А. Фролова с соавт. (2023), бактерицидная активность дезинфицирующих композиций антисептиков цетилпиридиния хлорида и бензалкония хлорида с наночастицами соединений меди может быть доказана бактериологическим методом и результатами электронной микроскопии. Безопасность обеих композиций выявлена при экспериментальном псевдотуберкулезе у белых мышей [23]. По мнению члена-корреспондента РАН, профессора С.Ю. Иванова применение наноконпозиций можно рассматривать как возможный механизм усиления биоцидной активности антибактериальных средств [25].

Очевидно, что при выборе оптимального дезинфектанта и метода дезинфекции оттисков зубного ряда следует учитывать типичное микробное загрязнение и устойчивость чувствительных соединений/материалов к тепловой, химической и радиационной обработке, а также агрегатное нахождение материала. Для медицинского оборудования и устройств стерилизационная обработка должна обеспечивать уровень стерильности ISO SAL6 до их использования, чтобы снизить риск развития инфекций [9, 10]. В зависимости от состава материала и срока его службы используются различные методы стерилизации, но во всех случаях должны выполняться одни и те же юридические требования. Как отмечает профессор Ф.Ф. Лосев с соавт. (2023), ключевыми недостатками в обеспечении безопасности медицинской деятельности являются снижение возможности применения новейших технологий из-за недостаточного

финансирования и ухудшение эпидемиологической ситуации в мире [26].

## ВЫВОДЫ

1. Предложенную модель трехкомпонентной смешанной микробной биопленки можно рассматривать как инновационный метод для выбора оптимальных микробицидных препаратов и определения эффективной рабочей концентрации, в том числе для проведения химической дезинфекции зубных оттисков.
2. С применением сканирующей электронной микроскопии и контрольных высевов из 7-дневных культивируемых биопленок установлено, что биопленка как структурное сообщество микробов разрушалась при концентрации 0,05% биоцидных препаратов группы ЧАС, причем представители наиболее устойчивых видов — стрептококки *S. sanguis* — при этом сохранялись в виде отдельных жизнеспособных клеток до 100 КОЕ/мл.
3. Полная эрадикация патогенов экспериментальной биопленки и планктонных форм всех представленных видов происходила при применении 0,1%-ных растворов биоцидных препаратов — бензалкония хлорида, цетилпиридиния хлорида, бензилдиметил[3-(миристоиламино)пропил]аммония хлорид (мирамистин). Более выраженную активность в отношении исследуемых штаммов по сравнению с другими ЧАС продемонстрировал мирамистин уже в концентрации 0,05%.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

**Поступила:** 27.07.2023      **Принята в печать:** 07.08.2023

**Conflict of interests.** The authors declare no conflict of interests.  
**Received:** 27.07.2023      **Accepted:** 07.08.2023

## ЛИТЕРАТУРА:

1. Ковалева Е.П. Социально-экономическая значимость внутрибольничных инфекций. — В кн.: Лабинская А.С., Волина Е.Г., Ковалева Е.П. (ред.) Руководство по медицинской микробиологии. Кн. III, т. 2. Оппортунистические инфекции: клинико-эпидемиологические аспекты. — М.: Бином, 2014. — С. 21—34.
2. Приказ Минздрава России № 1108н «Об утверждении порядка проведения профилактических мероприятий, выявления и регистрации в медицинской организации случаев возникновения инфекционных болезней, связанных с оказанием медицинской помощи, подлежащих выявлению и регистрации в медицинской организации» от 29.11.2021.
3. Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней. — СанПин 3.36-86-21.
4. Стерилизация медицинских изделий. Микробиологические методы. Часть 2. Испытания на стерильность, проводимые при валидации процессов стерилизации. — ГОСТ ISO 11737-2-2011, действ. с 2013.01.01.

## REFERENCES:

1. Kovaleva E.P. Socio-economic significance of nosocomial infections. In: Labinskaya A.S., Volina E.G., Kovaleva E.P. (eds.) Handbook of Medical microbiology. Book III, vol. 2. Opportunistic infections: clinical and epidemiological aspects. Moscow: Binom, 2014. Pp. 21—34 (In Russian).
2. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 1108n "On approval of the procedure for preventive measures, detection and registration in a medical organization of cases of infectious diseases associated with the provision of medical care that are subject to detection and registration in a medical organization", November 29, 2021 (In Russian).
3. Sanitary and epidemiological requirements for the prevention of infectious diseases. Sanitary rules and regulations 3.36-86-21 (In Russian).
4. Sterilization of medical devices. Microbiological methods. Part 2. Sterility tests carried out during the validation of sterilization processes. Interstate standard GOST ISO 11737-2-2011, effective from 2013.01.01 (In Russian).

5. Орлова О.А., Тутельян А.В., Замятин М.Н., Акимкин В.Г. Эпидемиологическая диагностика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, на современном этапе. — *Медицинский алфавит*. — 2019; 32 (407): 5—10. [eLibrary ID: 42386061](#)
6. Арутюнов С.Д., Хасигова З.В., Камилев Р.И., Царев В.Н., Ипполитов Е.В. Сравнительная оценка влияния новых химических дезинфицирующих средств на физические и микробиологические характеристики стоматологических оттисков. — *Российский стоматологический журнал*. — 2013; 5: 34—38. [eLibrary ID: 21184249](#)
7. Храпунова И.А., Шестопалов Н.В. Роль дезинфекционных мероприятий в профилактике инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (по материалам новых нормативных и методических документов). — *Дезинфекционное дело*. — 2022; 2 (120): 30—37. [eLibrary ID: 48659621](#)
8. Rutala W.A., Weber D.J. Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities. — Atlanta (USA): CDC, 2019. — Pp. 240—264.
9. Haque M., Sartelli M., McKimm J., Abu Bakar M. Health care-associated infections — an overview. — *Infect Drug Resist.* — 2018; 11: 2321—2333. [PMID: 30532565](#)
10. Rutala W.A., Weber D.J. Disinfection and sterilization in health care facilities: An overview and current issues. — *Infect Dis Clin North Am.* — 2016; 30 (3): 609—37. [PMID: 27515140](#)
11. Ofstead C.L., Wetzler H.P., Snyder A.K., Horton R.A. Endoscope reprocessing methods: a prospective study on the impact of human factors and automation. — *Gastroenterol Nurs.* — 2010; 33 (4): 304—11. [PMID: 20679783](#)
12. Крюков Е.В., Черкашин Д.В., Реутский И.А., Солнцев В.Н., Буценко С.А., Соболев А.Д., Леваньков Б.В., Дмитриев М.В., Ефимов С.В., Кутелев Г.Г. Дифференцированный подход к проведению профилактических и противоэпидемических мероприятий среди военнослужащих на основе шкалы оценки рисков заболевания COVID-19. — *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. — 2021; 2 (37): 31—38. [eLibrary ID: 46275696](#)
13. Панкратова Г.П., Бидевкина М.В. Применение дезинфицирующих средств на предприятиях пищевой и перерабатывающей промышленности. — *Дезинфекционное дело*. — 2022; 2 (120): 5—11. [eLibrary ID: 48659618](#)
14. Bernhardt A., Wehrl M., Paul B., Hochmuth T., Schumacher M., Schütz K., Gelinsky M. Improved sterilization of sensitive biomaterials with supercritical carbon dioxide at low temperature. — *PLoS One*. — 2015; 10 (6): e0129205. [PMID: 26067982](#)
15. Царев В.Н., Покровский В.Н., Ласточкин А.А., Завадский Р.В., Николаева Е.Н. Основы микробиологии и дезинфектологии. — М.: МГМСУ, 2017. — 85 с.
16. Переверзева Е.В., Мельничук В.И. Дезинфекция. Стерилизация: методические рекомендации. — Минск: БГМУ, 2019. — 16 с.
17. Арутюнов С.Д., Янушевич О.О., Корсунский А.М., Подпорин М.С., Салимон И.А., Романенко И.И., Царев В.Н. Сравнительный анализ эффективности современных методов стерилизации инструментов и место газодинамической обработки диоксидом углерода. — *Российская стоматология*. — 2022; 1: 12—19. [eLibrary ID: 48470527](#)
5. Orlova O.A., Tutelyan A.V., Zamyatin M.N., Akimkin V.G. Epidemiological diagnosis of infections associated with provision of medical care at current state. *Medical alphabet*. 2019; 32 (407): 5—10 (In Russian). [eLibrary ID: 42386061](#)
6. Arutyunov S.D., Khsigova Z.V., Kamilov R.I., Tsarev V.N., Ippolitov E.V. Comparative evaluation of the impact of new chemical disinfectants to physical and microbiological characteristics dental impressions. *Russian Journal of Dentistry*. 2013; 5: 34—38 (In Russian). [eLibrary ID: 21184249](#)
7. Khrapunova I.A., Shestopalov N.V. The role of disinfection measures in the prevention of infections associated with the provision of medical care teased on the materials of new regulatory documents). *Disinfection Affairs*. 2022; 2 (120): 30—37 (In Russian). [eLibrary ID: 48659621](#)
8. Rutala W.A., Weber D.J. Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities. Atlanta (USA): CDC, 2019. Pp. 240—264.
9. Haque M., Sartelli M., McKimm J., Abu Bakar M. Health care-associated infections an overview. *Infect Drug Resist.* 2018; 11: 2321—2333. [PMID: 30532565](#)
10. Rutala W.A., Weber D.J. Disinfection and sterilization in health care facilities: An overview and current issues. *Infect Dis Clin North Am.* 2016; 30 (3): 609—37. [PMID: 27515140](#)
11. Ofstead C.L., Wetzler H.P., Snyder A.K., Horton R.A. Endoscope reprocessing methods: a prospective study on the impact of human factors and automation. *Gastroenterol Nurs*. 2010; 33 (4): 304—11. [PMID: 20679783](#)
12. Kryukov E.V., Cherkashin D.V., Reutskiy I.A., Solntsev V.N., Bucenko S.A., Sobolev A.D., Levankov B.V., Dmitriev M.V., Efimov S.V., Kutelev G.G. Differentiated approach to the implementation of preventive and anti-epidemic measures among military personnel based on the COVID-19 disease risk assessment scale. *Infectious Diseases: News, Views, Education*. 2021; 2 (37): 31—38 (In Russian). [eLibrary ID: 46275696](#)
13. Pankratova G.P., Bidevkina M.V. Application of disinfectants in the food and processing industry. *Disinfection Affairs*. 2022; 2 (120): 5—11 (In Russian). [eLibrary ID: 48659618](#)
14. Bernhardt A., Wehrl M., Paul B., Hochmuth T., Schumacher M., Schütz K., Gelinsky M. Improved sterilization of sensitive biomaterials with supercritical carbon dioxide at low temperature. *PLoS One*. 2015; 10 (6): e0129205. [PMID: 26067982](#)
15. Tsarev V.N., Pokrovsky V.N., Lastochkin A.A., Zavadsky R.V., Nikolaeva E.N. Fundamentals of microbiology and disinfection. Moscow: MSMDU, 2017. 85 p. (In Russian).
16. Pereverzeva E.V., Melnichuk V.I. Disinfection. Sterilization: Methodological recommendations. Minsk: BSMU, 2019. 16 p. (In Russian).
17. Arutyunov S.D., Yanushevich O.O., Korsunsky A.M., Podporin M.S., Salimon I.A., Romanenko I.I., Tsarev V.N. Comparative analysis of the effectiveness of modern methods of sterilization of instruments and the place of gas-dynamic treatment with carbon dioxide. *Russian Stomatology*. 2022; 1: 12—19 (In Russian). [eLibrary ID: 48470527](#)

18. Salimon A.I., Statnik E.S., Kan Yu., Yanushevich O.O., Tsarev V.N., Podporin M.S., Arutyunov S.D., Skripnichenko P.Yu., Galstyan M.S., Korsunsky A.M. Comparative study of biomaterial surface modification due to subcritical CO<sub>2</sub> and autoclave disinfection treatments. — *The Journal of Supercritical Fluids*. — 2022; 191: 105789. DOI: [10.1016/j.supflu.2022.105789](https://doi.org/10.1016/j.supflu.2022.105789)
19. Зверев В.В., Бойченко М.Н. Медицинская микробиология: учебник для медицинских вузов. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2023. — С. 137—170.
20. Царев В.Н. Лабораторная диагностика анаэробной (неклостридиальной) инфекции. — В кн.: Лабинская А.С., Волина Е.Г., Ковалева Е.П. (ред.) Руководство по медицинской микробиологии. Кн. III, т. 1. Оппортунистические инфекции: возбудители и этиологическая диагностика. — М.: Бином, 2013. — С. 439—453.
21. Ипполитов Е.В. Мониторинг формирования микробной биопленки и оптимизация диагностики воспалительных заболеваний пародонта: автореф. дис. ... д.м.н. — М.: Сеченовский Университет, 2016. — 48 с.
22. Царев В.Н., Ипполитов Е.В., Николаева Е.Н. Распространение генетических маркеров резистентности к антибиотикам у биопленко-формирующих штаммов облигатных и факультативных анаэробов. — *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. — 2017; 2: 74—80. eLibrary ID: [37330862](https://elibrary.ru/37330862)
23. Фролов Г.А., Абдукадиров угли А.А., Лундовских И.А., Миронина А.Ю., Гурин К.И., Погорельский И.П., МIRONIN A.B., Гаврилов К.Е. Экспериментальная оценка в опытах in vitro и in vivo чувствительности бактерий *Yersinia pseudotuberculosis* к антимикробным композициям на основе наночастиц меди. — *Дезинфекционное дело*. — 2023; 1 (123): 5—23. eLibrary ID: [50451660](https://elibrary.ru/50451660)
24. Ипполитов Е.В., Царев В.Н., Автандилов Г.А., Царева Е.В., Диденко Л.В. Микробные биопленки на поверхности стоматологических полимерных материалов как основной фактор персистенции микроорганизмов при патологии зубов и пародонта. — *Российская стоматология*. — 2016; 1: 92—93. eLibrary ID: [26005922](https://elibrary.ru/26005922)
25. Иванов С.Ю., Карасенков Я.Н., Латута Н.В., Джатдаев В.В., Егоров Е.А., Тарасова Е.К., Козлова Э.В., Козлов П.А. Нанотехнологии в стоматологии: гидрозолы наночастиц металлов — перспективные антибиотики. — *Клиническая стоматология*. — 2023; 1: 158—163. eLibrary ID: [50465583](https://elibrary.ru/50465583)
26. Лосев Ф.Ф., Смирнова Л.Е. Оценка функциональных направлений деятельности в медицинской организации в условиях внедрения системы контроля качества и безопасности медицинской деятельности. — *Клиническая стоматология*. — 2022; 3: 126—131. eLibrary ID: [49514214](https://elibrary.ru/49514214)
18. Salimon A.I., Statnik E.S., Kan Yu., Yanushevich O.O., Tsarev V.N., Podporin M.S., Arutyunov S.D., Skripnichenko P.Yu., Galstyan M.S., Korsunsky A.M. Comparative study of biomaterial surface modification due to subcritical CO<sub>2</sub> and autoclave disinfection treatments. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2022; 191: 105789. DOI: [10.1016/j.supflu.2022.105789](https://doi.org/10.1016/j.supflu.2022.105789)
19. Zverev V.V., Boychenko M.N. Medical microbiology: textbook for medical schools. Moscow: GEOTAR-Media, 2023. Pp. 137—170. (In Russian).
20. Tsarev V.N. Laboratory diagnostics of anaerobic (non-clostridial) infection. In: Labinskaya A.S., Volina E.G., Kovaleva E.P. (eds.) Handbook of Medical microbiology. Book III, vol. 1. Opportunistic infections: clinical and epidemiological aspects. Moscow: Binom, 2013. Pp. 439—453 (In Russian).
21. Ippolytov E.V. Monitoring of microbial biofilm formation and optimization of the diagnosis of inflammatory periodontal diseases: dissertation abstract. Moscow: Sechenov University, 2016. 48 p. (In Russian).
22. Tsarev V.N., Ippolitov E.V., Nikolaeva E.N. Prevalence of genetic markers of resistance to antibiotics in biofilm-forming strains of obligate and elective anaerobes. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2017; 2: 74—80 (In Russian). eLibrary ID: [37330862](https://elibrary.ru/37330862)
23. Frolov G.A., Abdulkadirov A.A., Lundovskikh I.A., Mironina A.Y., Gurin K.I., Pogorelsky I.P., Mironin A.V., Gavrilov K.E. Experimental evaluation of *Yersinia pseudotuberculosis* bacteria sensitivity to antimicrobial compositions based on copper nanoparticles in in vitro and in vivo experiments. *Disinfection Affairs*. 2023; 1 (123): 5—23 (In Russian). eLibrary ID: [50451660](https://elibrary.ru/50451660)
24. Ippolitov E.V., Tsarev V.N., Avtandilov G.A., Tsareva E.V., Didenko L.V. Microbial biofilms on the surface of dental polymeric materials as the main factor of microbial persistence in dental and periodontal pathology. *Russian Stomatology*. 2016; 1: 92—93 (In Russian). eLibrary ID: [26005922](https://elibrary.ru/26005922)
25. Ivanov S.Yu., Karasenkova Ya.N., Latuta N.V., Dzhatdaev V.V., Egorov E.A., Tarasova E.K., Kozlova E.V., Kozlov P.A. Nanotechnology in dentistry: hydrosols of metal nanoparticles are promising antibiotics. *Clinical Dentistry (Russia)*. 2023; 1: 158—163 (In Russian). eLibrary ID: [50465583](https://elibrary.ru/50465583)
26. Losev F.F., Smirnova L.E. Assessment of functional areas of activity in a medical organization in the context of the introduction of a quality control system and safety of medical activities. *Clinical Dentistry (Russia)*. 2022; 3: 126—131 (In Russian). eLibrary ID: [49514214](https://elibrary.ru/49514214)