

DOI: 10.37988/1811-153X_2026_1_6

[С.Н. Керасов](#)¹,аспирант кафедры ортопедической
стоматологии и цифровых технологий[С.Д. Арутюнов](#)¹,д.м.н., профессор, зав. кафедрой ортопедиче-
ской стоматологии и цифровых технологий[М.С. Галстян](#)¹,ассистент кафедры ортопедической
стоматологии и цифровых технологий[П.Ю. Колесников](#)¹,м.н.с. лаборатории молекулярно-
биологических исследований НИМСИ[Л.Г. Киракосян](#)¹,к.м.н., ассистент кафедры ортопедической
стоматологии и цифровых технологий[Я.Н. Харах](#)¹,к.м.н., доцент кафедры ортопедической
стоматологии и цифровых технологий[К.Г. Караков](#)²,д.м.н., профессор, зав. кафедрой
терапевтической стоматологии[Д.И. Грачев](#)¹к.м.н., доцент кафедры ортопедической
стоматологии и цифровых технологий¹ Российский университет медицины,
127006, Москва, Россия² СтГМУ, 355017, Ставрополь, Россия

Инактивация *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Candida albicans* в среде суб- и сверхкритического диоксида углерода: анализ поверхности отклика

Реферат. Инфекционный контроль в стоматологии требует эффективных методов обработки инструментария. Традиционные методы (автоклавирование, химическая дезинфекция) имеют ограничения: коррозия металлов, длительность экспозиции, токсичность. Сверхкритический диоксид углерода (scCO₂) рассматривается как альтернатива, однако систематические данные о сравнительной чувствительности различных патогенов к газодинамической обработке отсутствуют. **Цель исследования** — оценить факторно-зависимую и сравнительную эффективность газодинамической инактивации *S. aureus*, *E. coli* и *C. albicans* в среде суб- и сверхкритического диоксида углерода. **Материалы и методы.** Использовали коллекционные штаммы *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans*. Применяли центральное композиционное планирование с тремя факторами: температура 25—50°C, давление 10—100 атм, время 10—60 минут. Экспериментальная матрица включала 20 точек. Эффективность оценивали по показателю логарифмического снижения числа жизнеспособных микроорганизмов (ЛСМ). Регрессионные модели строили с использованием анализа поверхности отклика и пошаговым отбором факторов. **Результаты.** Газодинамическая обработка обеспечила статистически значимую инактивацию всех микроорганизмов ($p < 0,001$). Медианные значения ЛСМ: *E. coli* — 2,30 log₁₀, *C. albicans* — 1,57 log₁₀, *S. aureus* — 1,25 log₁₀. Давление оказалось единственным значимым предиктором: для *S. aureus* выявлена нелинейная зависимость с квадратичным эффектом ($p = 0,029$), для *E. coli* — линейная тенденция ($p = 0,092$), для *C. albicans* зависимость отсутствовала. Температура и время экспозиции влияния не оказали. **Заключение.** Выявлены существенные различия в чувствительности микроорганизмов к газодинамической обработке: грамотрицательные бактерии наиболее восприимчивы, давление является ключевым технологическим параметром. Метод обладает потенциалом для применения в стоматологии, однако требует валидации в условиях, приближенных к клинической практике.

Ключевые слова: диоксид углерода, стоматологические инструменты, дезинфекция, коррозия, жизнеспособность микроорганизмов

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:

Керасов С.Н., Арутюнов С.Д., Галстян М.С., Колесников П.Ю., Киракосян Л.Г., Харах Я.Н., Караков К.Г., Грачев Д.И. Инактивация *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Candida albicans* в среде суб- и сверхкритического диоксида углерода: анализ поверхности отклика. — *Клиническая стоматология*. — 2026; 29 (1): 6—13. DOI: 10.37988/1811-153X_2026_1_6

[S.N. Kerasov](#)¹,PhD student of the Prosthodontics and digital
technologies Department[S.D. Arutyunov](#)¹,Doctor of Science in Medicine, full professor
of the Prosthodontics and digital technologies
Department[M.S. Galstyan](#)¹,assistant at the Prosthodontics and digital
technologies Department[P.Yu. Kolesnikov](#)¹,junior researcher at the Molecular biology
research Laboratory of the Medico-dental
research Institute[L.G. Kirakosyan](#)¹,PhD in Medical Sciences, assistant professor
of the Prosthodontics and digital technologies
Department

Inactivation of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Candida albicans* in a sub- and supercritical carbon dioxide environment: response surface analysis

Abstract. Infection control in dentistry requires effective methods for instrument processing. Traditional methods (autoclaving, chemical disinfection) have limitations: metal corrosion, prolonged exposure time, and toxicity. Supercritical carbon dioxide (scCO₂) is considered as an alternative; however, systematic data on comparative susceptibility of different pathogens to gas-dynamic treatment are lacking. **The aim of this study** was to evaluate the factor-dependent and comparative efficacy of gas-dynamic inactivation of *S. aureus*, *E. coli*, and *C. albicans* in subcritical and supercritical carbon dioxide. **Materials and methods.** Reference strains *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, and *C. albicans* ATCC 10231 were used. Central composite design with three factors was applied: temperature 25—50°C, pressure 10—100 atm, and exposure time 10—60 minutes. The experimental matrix included 20 points. Titanium disks were contaminated with standardized microbial suspensions. Efficacy was assessed by log-reduction values. Regression models were

Y.N. Kharakh¹,

PhD in Medical Sciences, associate professor of the Prosthodontics and digital technologies Department

K.G. Karakov²,

Doctor of Science in Medicine, full professor of the Therapeutic dentistry Department

D.I. Grachev¹,

PhD in Medical Sciences, associate professor of the Prosthodontics and digital technologies Department

¹ Russian University of Medicine,

127006, Moscow, Russia

² Stavropol State Medical University,

355017, Stavropol, Russia

constructed using response surface methodology with stepwise factor selection. **Results.** Gas-dynamic treatment provided statistically significant inactivation of all microorganisms ($p < 0,001$). Median log reduction values were: *E. coli* — 2,30 log₁₀, *C. albicans* — 1,57 log₁₀, *S. aureus* — 1,25 log₁₀. Pressure was the only significant predictor: for *S. aureus*, a nonlinear relationship with quadratic effect was revealed ($p = 0,029$); for *E. coli*, a linear trend ($p = 0,092$); for *C. albicans*, no relationship was detected. Temperature and exposure time had no effect. **Conclusions.** Significant differences in microbial susceptibility to gas-dynamic treatment were identified: gram-negative bacteria are most susceptible, with pressure being the key technological parameter. The method shows potential for application in dentistry but requires validation under conditions closer to clinical practice.

Key words: carbon dioxide, dental instruments, disinfection, corrosion, microbial viability

FOR CITATION:

Kerasov S.N., Arutyunov S.D., Galstyan M.S., Kolesnikov P.Yu., Kirakosyan L.G., Kharakh Y.N., Karakov K.G., Grachev D.I. Inactivation of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Candida albicans* in a sub- and supercritical carbon dioxide environment: response surface analysis. *Clinical Dentistry (Russia)*. 2026; 29 (1): 6—13 (In Russian). DOI: 10.37988/1811-153X_2026_1_6

ВВЕДЕНИЕ

Инфекционный контроль в стоматологии — ключевой элемент безопасности пациента и персонала. Клинические манипуляции неизбежно связаны с контактом инструментов и поверхностей со слюной, кровью и микробными биопленками, что создает риск перекрестной передачи возбудителей [1, 2]. Спектр контаминирующих микроорганизмов включает грамположительные и грамотрицательные бактерии, а также грибы, способные колонизировать инструменты и поверхности стоматологического кабинета [3, 4]. Патогены сохраняют жизнеспособность на инертных поверхностях от нескольких недель до месяцев, что поддерживает устойчивость контаминации и требует строгих протоколов обработки [5]. Клинически значимые штаммы, такие как метициллин-резистентный *Staphylococcus aureus* (MRSA), и дрожжеподобные грибы рода *Candida* регулярно обнаруживаются на элементах стоматологического оборудования, что подчеркивает необходимость эффективной дезинфекции и стерилизации инструментария [6, 7].

Традиционные методы обработки стоматологических инструментов включают паровую стерилизацию в автоклаве и химическую дезинфекцию. Автоклавирование при температуре в диапазоне от 121 до 134°C обеспечивает надежную инактивацию микроорганизмов, однако термическое воздействие приводит к коррозии и преждевременному износу металлических инструментов, особенно изделий из углеродистой стали [8, 9]. Химические дезинфектанты (например, глутаральдегид, хлорсодержащие растворы) требуют длительной экспозиции и тщательного удаления остатков с поверхности инструментов [10]. Эти ограничения стимулируют поиск альтернативных методов дезинфекции, обеспечивающих микробиологическую безопасность при сохранении целостности материалов.

Сверхкритический диоксид углерода (scCO₂) рассматривается как альтернативный метод обработки медицинских изделий [11–13]. В сверхкритическом состоянии CO₂ приобретает свойства как жидкости, так и газа, обеспечивая высокую проникающую способность при сохранении целостности обрабатываемых материалов [11, 13]. Метод не требует высоких температур, не вызывает коррозии металлов и не оставляет токсичных остатков [11, 12, 14]. Несмотря на имеющиеся данные об инаktivации отдельных видов микроорганизмов, систематические исследования сравнительной чувствительности различных патогенов к газодинамической обработке в условиях варьирования технологических параметров отсутствуют.

Цель исследования — оценить факторно-зависимую и сравнительную эффективность газодинамической инаktivации *S. aureus*, *E. coli* и *C. albicans* в среде суб- и сверхкритического диоксида углерода.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент был направлен на количественную оценку влияния режима обработки CO₂ под давлением на выживаемость микроорганизмов на поверхности. Образцы с нанесенным инокулятом подвергали обработке в условиях суб- и сверхкритического CO₂ при варьировании температуры, давления и времени экспозиции по плану центрального композиционного планирования. Эффективность оценивали по изменению числа жизнеспособных клеток в смывах с поверхности и выражали как логарифмическое снижение числа жизнеспособных микроорганизмов (ЛСМ). Полученные данные использовали для построения модели для анализа поверхности отклика и выявления статистически значимых факторов.

Дизайн эксперимента

Использовали центральное композиционное планирование (ЦКП) для построения поверхности отклика при варьировании трех факторов: температура (25–50°C), давление (10–100 атм) и время экспозиции (10–60 минут). Экспериментальная матрица включала 20 постановок (точек), сформированных автоматически по заданным диапазонам. Комбинации параметров подбирались по логике ЦКП так, чтобы в наборе опытов были представлены как крайние значения факторов, так и промежуточные уровни и центральная область диапазонов, что позволяет оценить влияние каждого фактора и их сочетаний, а также выявить возможную нелинейность зависимости отклика от параметров обработки и построить квадратичную регрессионную модель. Порядок проведения опытов рандомизировали для исключения систематических ошибок. Каждая экспериментальная точка включала одновременную обработку трех отдельных образцов, контаминированных различными микроорганизмами (*S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans*).

Применение центрального композиционного планирования позволило одновременно оценить линейные и квадратичные эффекты трех технологических факторов, а также их парные взаимодействия при минимальном числе опытов (20 экспериментальных точек). Данный объем выборки обеспечивает выявление основных закономерностей процесса инактивации, но не позволяет построить полноквадратичные модели с взаимодействиями высокого порядка, что соответствует задачам пилотного исследования.

Микроорганизмы и подготовка инокулята

В качестве тест-объектов использовали коллекционные штаммы *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Candida albicans* ATCC 10231. Суточные культуры выращивали на мясоептонном агаре при 37°C в течение 24 ч. Концентрацию клеток стандартизировали до 0,5 ед. по МакФарланду с денситометрическим контролем прибором DEN-1 (Biosan, Латвия). В качестве инертной подложки для нанесения инокулята использовали титановые диски диаметром 8 мм. На поверхность вносили 100 мкл стандартизированной суспензии и высушивали до образования сухой пленки в асептических условиях (20±2°C, 60 минут). Выбор данных штаммов обусловлен рекомендациями их применения в качестве модельных культур при оценке эффективности методов дезинфекции и стерилизации (ГОСТ Р ИСО 22196:2011, ГОСТ Р 58151.4-2018, Р 4.2.2643-10).

Газодинамическая обработка

Обработку проводили на экспериментальной установке для газодинамической инактивации (Сколковский институт науки и технологий). Использовали диоксид углерода высокой чистоты (99,9%). Образцы в индивидуальной упаковке помещали в рабочую камеру установки. После достижения заданных параметров (температура, давление) выдерживали требуемое время экспозиции согласно матрице эксперимента. Декомпрессию проводили контролируемо со скоростью

не более 10 атм/мин для исключения резкой декомпрессии как дополнительного фактора инактивации. Контроль параметров осуществляли встроенными датчиками температуры и давления с непрерывной регистрацией показателей.

Микробиологический анализ

После обработки образцы переносили в стерильные контейнеры с 5 мл физраствора, интенсивно встряхивали (вортекс, 1000 об./мин, 90 с) для десорбции микроорганизмов. Смывы высевали на чашки Петри с мясоептонным агаром (200 мкл на чашку). Инкубацию проводили при 37°C в течение 24 ч. Подсчет колониеобразующих единиц выполняли визуально и с использованием автоматического счетчика колоний.

Эффективность инактивации оценивали по показателю логарифмического снижения числа жизнеспособных микроорганизмов (ЛСМ):

$$ЛСМ = \lg \frac{N_0}{N},$$

где N_0 — исходная концентрация микроорганизмов (КОЕ/мл), N — остаточная концентрация после обработки (КОЕ/мл).

Статистический анализ

Для анализа влияния технологических параметров на эффективность инактивации строили регрессионные модели с использованием анализа поверхности отклика. Отбор членов модели выполняли пошагово, предпочтение отдавали модели с меньшим значением скорректированного критерия Акаике (AICc). При построении моделей сохраняли их иерархическую структуру: если включалось взаимодействие факторов, автоматически включались и соответствующие линейные эффекты.

В качестве потенциальных предикторов рассматривали линейные и квадратичные эффекты температуры, давления и времени, а также их парные взаимодействия. Качество полученных моделей оценивали по коэффициентам детерминации (R^2 — доля объясненной вариации, R_{adj}^2 — с поправкой на число факторов и R_{pred}^2 — прогнозная способность), а также по результатам дисперсионного анализа (ANOVA, статистическая значимость модели и ее членов) и по тесту на отсутствие несоответствия (lack-of-fit, проверка адекватности модели экспериментальным данным).

Для подтверждения эффекта инактивации применяли критерий знаковых рангов Вилкоксона, проверяя, отличается ли медиана ЛСМ от нуля для каждого вида микроорганизмов. Уровень значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Эффективность инактивации

Предварительный анализ подтвердил, что газодинамическая обработка в среде CO_2 обеспечивает значимое снижение количества жизнеспособных микроорганизмов всех трех исследованных видов. Для статистического подтверждения применяли критерий знаковых рангов Вилкоксона, который позволяет оценить, отличается ли эффект инактивации от нуля.

Для всех микроорганизмов получены статистически значимые результаты ($p < 0,001$, статистика Вилкоксона $W = 210,0$), что позволяет с высокой степенью достоверности утверждать: газодинамическая обработка приводит к снижению микробной нагрузки.

Медианные значения ЛСМ составили 1,25 для *S. aureus*, 2,30 для *E. coli* и 1,57 для *C. albicans*, что соответствует снижению концентрации жизнеспособных клеток приблизительно в 18, 200 и 37 раз соответственно. Наиболее выраженный эффект инактивации наблюдался для грамотрицательной бактерии *E. coli*, медиана эффективности в отношении которой почти вдвое превысила показатели двух других микроорганизмов.

В зависимости от комбинации технологических параметров значения ЛСМ для *S. aureus* варьировали от 0,34 до 2,77, для *E. coli* — от 0,52 до 3,14, для *C. albicans* — от 0,29 до 2,85. Максимально достигнутые значения редукции оказались сопоставимы для всех трех видов микроорганизмов, что свидетельствует о потенциальной возможности достижения высокой эффективности инактивации при соответствующих условиях обработки (рис. 1).

Полученные результаты послужили основой для построения регрессионных моделей, позволяющих выявить конкретные факторы, определяющие эффективность инактивации каждого вида микроорганизмов.

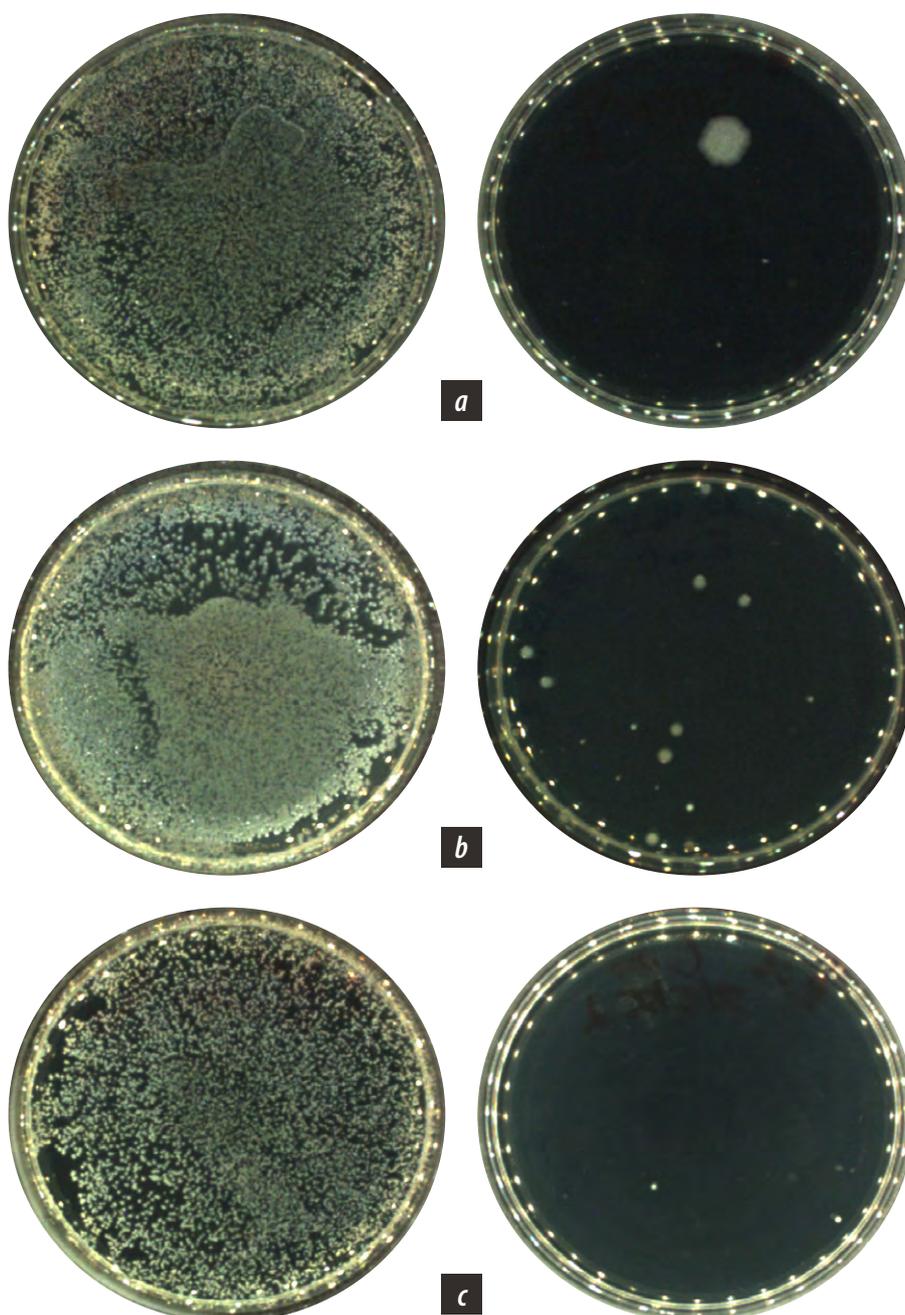


Рис. 1. Культуры микроорганизмов до (слева) и после газодинамической инактивации в среде диоксида углерода (справа): а — *S. aureus*, б — *E. coli*, в — *C. albicans*

Fig. 1. Microbial cultures before (left) and after gas-dynamic inactivation in a carbon dioxide environment (right): а — *S. aureus*, б — *E. coli*, в — *C. albicans*

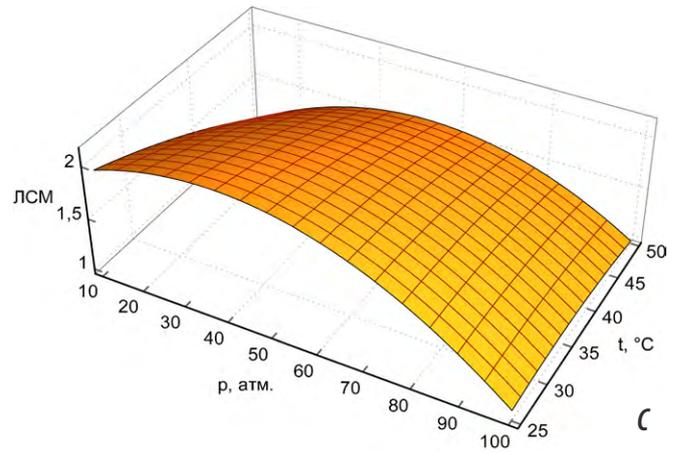
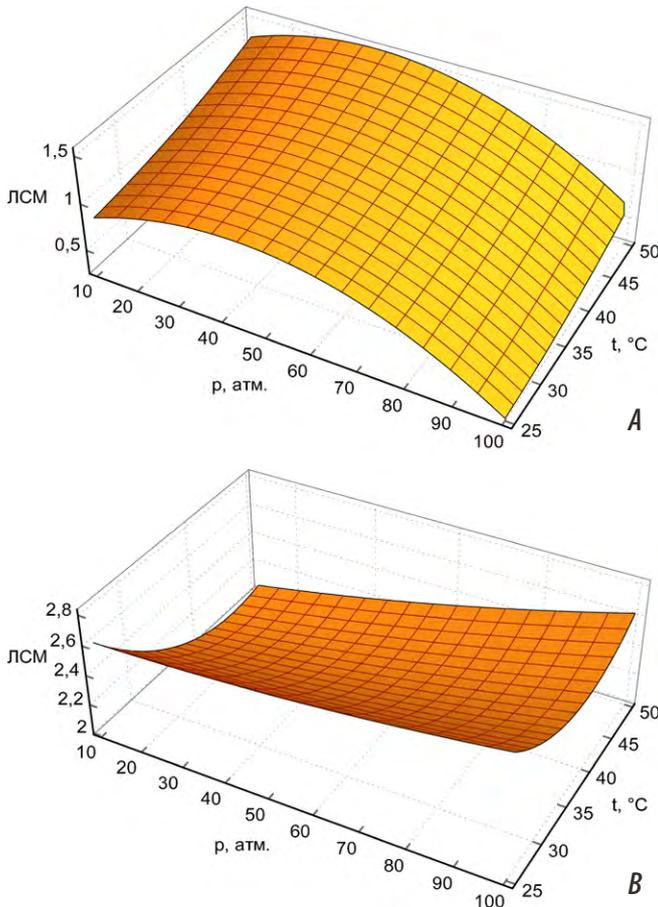


Рис. 2. Поверхности отклика (полная квадратичная модель) зависимости логарифмического снижения числа жизнеспособных микроорганизмов (ЛСМ) от температуры и давления CO₂: А — *S. aureus*, В — *E. coli*, С — *C. albicans*. Время экспозиции фиксировано на 10 минут
Fig. 2. Response surfaces (full quadratic model) showing the dependence of the logarithmic reduction in viable microorganisms (LRV) on CO₂ treatment temperature and pressure: А — *S. aureus*, В — *E. coli*, С — *C. albicans* (exposure time fixed at 10 min)

Регрессионные модели факторной зависимости эффективности инактивации

На основе центрального композиционного планирования построены квадратичные модели поверхности отклика, описывающие зависимость эффективности инактивации от технологических параметров (температуры, давления, времени экспозиции). Для наглядной визуализации характера зависимости логарифмического снижения от параметров обработки приведены поверхности отклика (по полной квадратичной модели; рис. 2).

Далее для получения более компактного описания выполнен пошаговый отбор членов модели по АИСС с сохранением иерархической структуры. Основные характеристики полученных моделей представлены в таблице.

Для *S. aureus* выявлена нелинейная зависимость эффективности инактивации от давления. Оптимальная модель включает линейный и квадратичный эффекты давления, при этом квадратичный термин статистически значим ($p=0,029$), что указывает на существование оптимума давления. Линейный эффект давления формально не достиг порога значимости ($p=0,177$), но был сохранен в модели для соблюдения иерархической структуры.

Модель объясняет около трети изменчивости данных ($R^2=31\%$), при этом скорректированный коэффициент детерминации составил 23%, что

указывает на умеренную объясняющую способность. Предсказательная способность модели ограничена ($R^2_{pred}=6,3\%$). Тест на соответствие модели экспериментальным данным (lack-of-fit) не выявил значимых расхождений ($p=0,863$), что подтверждает адекватность модели. На диаграмме Парето квадратичный эффект давления пересекает порог статистической значимости (рис. 3).

Характер зависимости указывает на то, что эффективность инактивации *S. aureus* возрастает с увеличением давления до определенного значения, после чего дальнейший рост давления не приводит к усилению эффекта. Температура и время экспозиции в исследованном диапазоне не оказали статистически значимого влияния на результат.

Для *E. coli* получена простая линейная модель, включающая только давление как предиктор. Эффект давления демонстрирует тенденцию к статистической значимости ($p=0,092$), приближаясь к пороговому значению. Модель объясняет небольшую долю изменчивости ($R^2=15\%$, $R^2_{adj}=10\%$). Предсказательная способность модели нулевая ($R^2_{pred}=0\%$). Тест lack-of-fit не выявил несоответствия модели данным ($p=0,752$).

Характеристики регрессионных моделей эффективности инактивации
Characteristics of regression models for inactivation efficacy

	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
Значимые факторы	p, p_2	p	—
Уравнение модели	$Y=0,947+0,0329p-0,00036p_2$	$Y=2,043+0,00471p$	$Y=1,954$
$R^2, \%$	31,08	14,95	—
$R^2_{adj}, \%$	22,98	10,22	—
$R^2_{pred}, \%$	6,26	0,00	—
Достоверность значимости модели	0,042	0,092	—
Достоверность значимости неадекватности модели	0,863	0,752	—
АИСС	49,02	23,12	46,14

Примечание: p — давление, атм; p_2 — квадратичный эффект давления.

С практической точки зрения увеличение давления с 10 до 100 атм приводит к повышению эффективности инактивации на 0,42 log10, что соответствует снижению количества жизнеспособных клеток примерно в 2,6 раза. Это указывает на умеренное влияние давления на *E. coli* в исследованном диапазоне условий. На диаграмме Парето эффект давления приближается к порогу, но не пересекает его (рис. 4). Температура и время экспозиции не показали влияния на эффективность инактивации данного микроорганизма.

Для *S. albicans* процедура пошагового отбора не включила ни один исследованный фактор в модель. Наилучшей по критерию AICс оказалась модель, содержащая только свободный член (константу), равный 1,954 log10. Это означает, что в исследованном диапазоне параметров (25–50°C, 10–100 атм, 10–60 минут) эффективность инактивации *S. albicans* остается относительно постоянной и не зависит от изменения технологических условий.

Диагностика остатков (проверка нормальности распределения, случайности разброса, отсутствия выбросов) не выявила систематических отклонений ни для одной построенной модели, что подтверждает корректность применения регрессионного анализа.

Для всех трех микроорганизмов значения предсказательной способности моделей R^2_{pred} оказались низкими (от 0 до 6%), что указывает на ограниченную возможность точного прогнозирования результата в пределах исследованного диапазона условий. Это объясняется естественной биологической вариабельностью и относительно небольшим объемом выборки ($n=20$ для каждого вида).

Важно отметить, что отсутствие статистически значимого влияния фактора не означает полного отсутствия эффекта, а указывает на то, что в данных условиях эксперимента этот эффект либо слабо выражен, либо маскируется естественной изменчивостью биологического материала.

ОБСУЖДЕНИЕ

Газодинамическая обработка в среде суб- и сверхкритического диоксида углерода обеспечила статистически значимую инактивацию всех трех исследованных микроорганизмов ($p<0,001$). Наибольшая медианная эффективность наблюдалась для грамтрицательной бактерии *E. coli* (2,30-log), превысив показатели *S. aureus* (1,25-log) и *S. albicans* (1,57-log). Регрессионный анализ показал, что ключевым технологическим параметром, определяющим эффективность инактивации, является давление: для *S. aureus* выявлена нелинейная зависимость с оптимумом ($p_2=0,029$), для *E. coli* — линейная тенденция ($p=0,092$), для *S. albicans* зависимость отсутствовала. Температура и время экспозиции в исследованном диапазоне не оказали значимого влияния на результат.

Наблюдаемые диапазоны ЛСМ (0,34–2,77 для *S. aureus*, 0,52–3,14 для *E. coli* и 0,29–2,85 для *S. albicans*) отражают вариабельность эффективности инактивации в зависимости от комбинации технологических параметров, а не недостаточную воспроизводимость метода. В рамках центрального композиционного

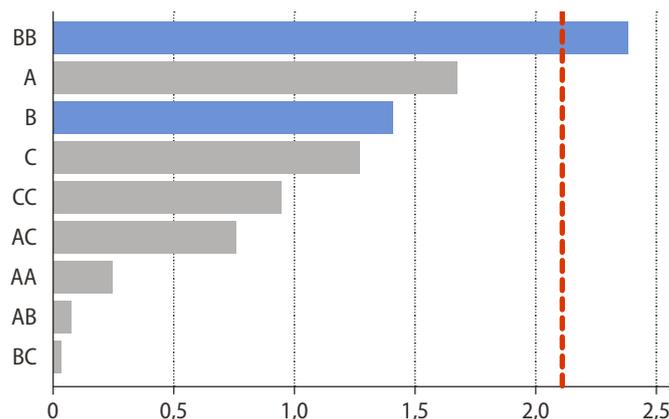


Рис. 3. Диаграмма стандартизованных эффектов для логарифмического снижения числа жизнеспособных микроорганизмов *S. aureus*. Вертикальная линия обозначает порог значимости ($\alpha=0,05$). Обозначения членов модели: A — температура, B — давление, C — время экспозиции; AA, BB и CC — квадратичные члены (A^2 , B^2 , C^2); AB, AC и BC — взаимодействия факторов. Серые столбцы обозначают эффекты, не входящие в модель

Fig. 3. Standardized effects plot for the logarithmic reduction in viable *S. aureus* microorganisms. Vertical red line indicates the significance threshold ($\alpha=0,05$). Model term notation: A — temperature, B — pressure, C — exposure time; AA, BB, CC — quadratic terms (A^2 , B^2 , C^2); AB, AC, BC — factor interactions. Gray bar represents a term not in the model interactions

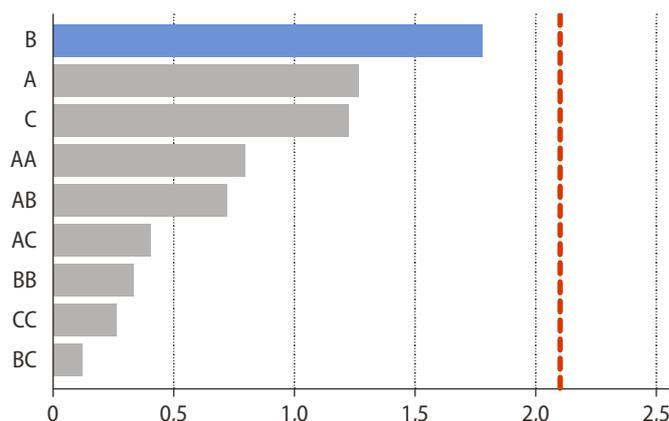


Рис. 4. Диаграмма стандартизованных эффектов для логарифмического снижения числа жизнеспособных микроорганизмов *E. coli*. Вертикальная линия обозначает порог значимости ($\alpha=0,05$). Обозначения членов модели: A — температура, B — давление, C — время экспозиции; AA, BB и CC — квадратичные члены (A^2 , B^2 , C^2); AB, AC и BC — взаимодействия факторов. Серые столбцы обозначают эффекты, не входящие в модель

Fig. 4. Standardized effects plot for the logarithmic reduction of *E. coli*. Vertical red line indicates the significance threshold ($\alpha=0,05$). Model term notation: A — temperature, B — pressure, C — exposure time; AA, BB, CC — quadratic terms (A^2 , B^2 , C^2); AB, AC, BC — factor interactions. Gray bar represents a term not in the model interactions

планирования каждая из 20 экспериментальных точек соответствовала уникальному сочетанию температуры, давления и времени экспозиции, что закономерно приводило к различным результатам. Широкий диапазон значений демонстрирует потенциал оптимизации: максимально достигнутые значения ЛСМ (2,77–3,14) сопоставимы для всех трех видов микроорганизмов и подтверждают возможность достижения высокой эффективности при соответствующих условиях обработки.

Наблюдаемые различия в чувствительности трех видов микроорганизмов к газодинамической обработке

согласуются с фундаментальными особенностями строения их клеточных оболочек. Грамотрицательная бактерия *E. coli* продемонстрировала наибольшую восприимчивость (медиана ЛСМ=2,30), что может быть связано с особенностями клеточной оболочки грамотрицательных бактерий [15, 16]. Сверхкритический CO₂ обладает высокой растворимостью в липидных структурах и легко проникает через мембрану, нарушая ее барьерную функцию [16]. *S. aureus* показала наименьшую эффективность инактивации (ЛСМ=1,25): толстая многослойная пептидогликановая стенка грамположительных обеспечивает механическую прочность и частично защищает цитоплазматическую мембрану, хотя диффузия CO₂ и последующее повреждение все же происходят [17]. *C. albicans* имела промежуточные значения ЛСМ (1,57), что согласуется с многослойной клеточной стенкой из β-глюканов и хитина [18]. Общая закономерность повышенной устойчивости грамположительных бактерий по сравнению с грамотрицательными при нетермических физических воздействиях описана в обзорах [19, 20].

Согласно данным проведенного нами регрессионного анализа определено, что давление — это единственный статистически значимый предиктор эффективности инактивации в исследованных условиях. Для *S. aureus* выявлена нелинейная зависимость с квадратичным эффектом ($p=0,029$), указывающая на существование оптимума в пределах диапазона давлений. Для *E. coli* отмечена монотонная тенденция роста редукции с давлением ($p=0,092$) без признаков выхода на плато. Для *C. albicans* зависимость от давления отсутствовала. Критическая роль давления согласуется с литературой: повышение давления увеличивает плотность CO₂ и его растворимость в липидных компонентах мембран, усиливая инактивацию [21, 22]. Нелинейность эффекта и затухание при росте давления описаны кинетическими моделями и отражают сложный характер взаимодействия scCO₂ с клетками [23].

Температура и время экспозиции в исследованных нами диапазонах не внесли статистически значимого вклада. При температуре, превышающей 32°C, обработка проходила в сверхкритической области, а при 25°C в субкритической среде CO₂, тем не менее, в обоих случаях доминирующим фактором оставалось давление [24]. Отсутствие эффекта времени может объясняться тем, что существенная часть инактивации при обработке CO₂ под давлением достигается уже на ранних стадиях процесса, поэтому дальнейшее увеличение выдержки в исследованном диапазоне может давать ограниченный прирост эффекта [25]. В узком температурном диапазоне вклад нагрева менее различим на фоне доминирующего эффекта давления, хотя в ряде исследований расширение температурного окна свыше 60°C ускоряло инактивацию [26].

Полученные значения ЛСМ (2,06–2,30 для бактерий и 1,57 для грибов при 50°C, 45 атм, 10 минут) соответствуют уровню инактивации, описанному для обработки CO₂ под давлением в мягких режимах (малая экспозиция, суб-/близкосверхкритическая область), где ЛСМ часто находится на уровне единиц и существенно зависит от матрицы и параметров процесса [23, 27],

а при умеренных температурах (до 60°C) и повышенных давлениях показано многократное снижение численности микроорганизмов (порядка нескольких логарифмических порядков).

Полученные результаты демонстрируют антимицробную активность газодинамической обработки в среде scCO₂ в отношении клинически значимых микроорганизмов. Ключевые преимущества метода — отсутствие коррозионного воздействия на металлические инструменты и возможность обработки при относительно низких температурах, что было продемонстрировано в наших предыдущих исследованиях [11]. Это особенно важно для термочувствительных материалов и инструментов из коррозионно-уязвимых сплавов. Метод не требует использования токсичных химических агентов и не оставляет остатков на поверхности изделий. Потенциальная область применения метода — обработка стоматологических инструментов, для которых не требуется достижение стерильности, но необходима эффективная инактивация вегетативных форм микроорганизмов.

Полученные результаты позволяют рекомендовать исследованный метод газодинамической инактивации (50°C, 45 атм, 10 минут) для дезинфекции высокого уровня стоматологического инструментария при контаминации вегетативными формами бактерий и грибов. При этом следует учитывать, что достигаемый уровень ЛСМ (2–2,3) недостаточен для стерилизации и не может заменить традиционные методы для инструментария, требующего гарантированного уровня стерилизации. Дальнейшие исследования должны быть направлены на оптимизацию параметров обработки для достижения стерилизующего эффекта, в том числе путем применения окислительных добавок, а также на разработку нормативно-методической документации для практического внедрения метода.

Дальнейшие исследования должны быть направлены на валидацию метода в условиях, приближенных к клинической практике: использование реальных стоматологических инструментов с моделированием органической нагрузки (кровь, слюна), тестирование на смешанных биопленках и расширение спектра микроорганизмов, включая вирусы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Газодинамическая инактивация в среде суб- и сверхкритического диоксида углерода продемонстрировала статистически значимую эффективность в отношении всех трех исследованных микроорганизмов с выраженными различиями в чувствительности: грамотрицательная *E. coli* оказалась наиболее восприимчивой (медиана ЛСМ=2,30), тогда как грамположительный *S. aureus* показал наименьшее ЛСМ (1,25), а дрожжеподобный гриб *C. albicans* — промежуточное значение (ЛСМ=1,57).

Регрессионный анализ выявил давление как единственный значимый технологический параметр, при этом для *S. aureus* получена нелинейная зависимость с оптимумом, для *E. coli* — линейная тенденция, а для *C. albicans* зависимость отсутствовала; температура и время экспозиции в исследованных диапазонах

влияния не оказали. Полученные результаты указывают на потенциал метода для обработки стоматологического инструментария.

Поступила/Received: 12.11.2025
Принята в печать/Accepted: 22.02.2026

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES :

- Volgenant C.M.C., de Soet J.J. Cross-transmission in the dental office: Does this make you ill? — *Curr Oral Health Rep.* — 2018; 5 (4): 221—228. PMID: 30524929
- Volgenant C.M.C., Persoon I.F., de Ruijter R.A.G., de Soet J.J.H. Infection control in dental health care during and after the SARS-CoV-2 outbreak. — *Oral Dis.* — 2021; 27 (Suppl 3): 674—683. PMID: 32391651
- Smith G., Smith A. Microbial contamination of used dental handpieces. — *Am J Infect Control.* — 2014; 42 (9): 1019—21. PMID: 25179340
- Baudet A., Guillaso M., Grimmer L., Mediqai Study Group, Regad M., Florentin A. Microbiological contamination of the office environment in dental and medical practice. — *Antibiotics (Basel).* — 2021; 10 (11): 1375. PMID: 34827313
- Porter L., Sultan O., Mitchell B.G., Jenney A., Kiernan M., Brewster D.J., Russo P.L. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A scoping review. — *J Hosp Infect.* — 2024; 147: 25—31. PMID: 38447803
- Gonçalves E., Carvalhal R., Mesquita R., Azevedo J., Coelho M.J., Magalhães R., Ferraz M.P., Manso M.C., Gavinha S., Pina C., Lopes Cardoso I. Detection of *Staphylococcus aureus* (MRSA/MSSA) in surfaces of dental medicine equipment. — *Saudi J Biol Sci.* — 2020; 27 (4): 1003—1008. PMID: 32256160
- Navidi M., Mirkeshavarz M., Haghi F. Assessment of *Candida* species contamination on dental unit surfaces: Prevalence, risk factors, and infection control strategies. — *Journal of Inflammatory Diseases.* — 2025; 29 (2): e161445. DOI: 10.69107/jid-161445
- Dioguardi M., Sovereto D., Illuzzi G., Laneve E., Raddato B., Arena C., Alberto Caponio V.C., Caloro G.A., Zhurakivska K., Troiano G., Lo Muzio L. Management of instrument sterilization workflow in endodontics: A systematic review and meta-analysis. — *Int J Dent.* — 2020; 2020: 5824369. PMID: 32148504
- Дунаев С.А. и соавт. Негативное влияние процессов стерилизации на режущую способность эндодонтического ротационного инструмента (обзорная статья). — *Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание.* — 2023; 1: 7—11. [Dunaev S.A., et al. Negative effect of sterilization processes on the cutting ability of endodontic rotary instruments (review article). — *Journal of New Medical Technologies, EEdition.* — 2023; 1: 7—11 (In Russian)]. eLibrary ID: 50389862
- Акавов А.Н., Расулов И.М., Подпорин М.С., Дешев А.В., Ипполитов Е.В., Царев В.Н., Колесников П.Ю. Антимикробная активность дезинфектантов, применяемых в ортопедической стоматологии в зависимости от степени разведения (экспериментальное исследование in vitro). — *Пародонтология.* — 2024; 3: 331—340. [Akavov A.N., Rasulov I.M., Podporin M.S., Deshev A.V., Ippolitov E.V., Tsarev V.N., Kolesnikov P.Y. Antimicrobial activity of disinfectants used in prosthetic dentistry depending on the degree of dilution (an experimental in vitro study). — *Parodontologiya.* — 2024; 3: 331—340 (In Russian)]. eLibrary ID: 68624653
- 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 CO₂ and autoclave disinfection treatments. — *The Journal of Supercritical Fluids.* — 2022; 191: 105789. DOI: 10.1016/j.supflu.2022.105789
- Гветадзе Р.Ш., Галстян М.С., Харах Я.Н., Колесников П.Ю., Киракосян Л.Г., Подпорин М.С., Царев В.Н., Арутюнов С.Д. Оптимизация и валидация режимов инактивации спор *Bacillus subtilis* в среде сверхкритического CO₂: чистый газ, перекись водорода, надуксусная кислота. — *Медицина экстремальных ситуаций.* — 2025; Online first. [Gvetadze R.Sh., Galstyan M.S., Kharakh Ya.N., Kolesnikov P.Yu., Kirakosyan L.G., Podporin M.S., Tsarev V.N., Arutyunov S.D. Optimization and validation of *Bacillus subtilis* spore inactivation regimes in supercritical carbon dioxide: Pure gas, hydrogen peroxide, peracetic acid. — *Extreme Medicine.* — 2025; Online ahead of print]. DOI: 10.47183/mes.2025-359
- Ribeiro N., Soares G.C., Santos-Rosales V., Concheiro A., Alvarez-Lorenzo C., García-González C.A., Oliveira A.L. A new era for sterilization based on supercritical CO₂ technology. — *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* — 2020; 108 (2): 399—428. PMID: 31132221
- Bernhardt A., Wehr 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
- Hashimi A., Tocheva E.I. Cell envelope diversity and evolution across the bacterial tree of life. — *Nat Microbiol.* — 2024; 9 (10): 2475—2487. PMID: 39294462
- Sun J., Rutherford S.T., Silhavy T.J., Huang K.C. Physical properties of the bacterial outer membrane. — *Nat Rev Microbiol.* — 2022; 20 (4): 236—248. PMID: 34732874
- Wang M., Buist G., van Dijk J.M. *Staphylococcus aureus* cell wall maintenance — the multifaceted roles of peptidoglycan hydrolases in bacterial growth, fitness, and virulence. — *FEMS Microbiol Rev.* — 2022; 46 (5): fuac025. PMID: 35675307
- Gow N.A.R., Latge J.P., Munro C.A. The fungal cell wall: Structure, biosynthesis, and function. — *Microbiol Spectr.* — 2017; 5 (3): 1—25. PMID: 28513415
- Rotabakk B.T., Rode T.M. Combining high-pressure processing and supercritical carbon dioxide for inactivation of *Listeria innocua*. — *Foods.* — 2023; 12 (19): 3563. PMID: 37835216
- Mai-Prochnow A., Clauson M., Hong J., Murphy A.B. Gram positive and Gram negative bacteria differ in their sensitivity to cold plasma. — *Sci Rep.* — 2016; 6: 38610. PMID: 27934958
- Silva J.M., Rigo A.A., Dalmolin I.A., Debieu I., Cansian R.L., Oliveira J.V., Mazutti M.A. Effect of pressure, depressurization rate and pressure cycling on the inactivation of *Escherichia coli* by supercritical carbon dioxide. — *Food Control.* — 2013; 29 (1): 76—81. DOI: 10.1016/j.foodcont.2012.05.068.
- Gomez-Gomez A., Brito-de la Fuente E., Gallegos C., Garcia-Perez J.V., Quiles A., Benedito J. Microbial inactivation by means of ultrasonic assisted supercritical CO₂. Effect on cell ultrastructure. — *The Journal of Supercritical Fluids.* — 2022; 179: 105407. DOI: 10.1016/j.supflu.2021.105407
- Ferrentino G., Calliari N., Bertuccio A., Spilimbergo S. Validation of a mathematical model for predicting high pressure carbon dioxide inactivation kinetics of *Escherichia coli* spiked on fresh cut carrot. — *The Journal of Supercritical Fluids.* — 2014; 85: 17—23. DOI: 10.1016/j.supflu.2013.10.015
- Budisa N., Schulze-Makuch D. Supercritical carbon dioxide and its potential as a life-sustaining solvent in a planetary environment. — *Life (Basel).* — 2014; 4 (3): 331—40. PMID: 25370376
- Zambon A., Bourdoux S., Pantano M.F., Pugno N.M., Boldrin F., Hoffland G., Rajkovic A., Devlieghere F., Spilimbergo S. Supercritical CO₂ for the drying and microbial inactivation of apple's slices. — *Drying Technology.* — 2021; 39 (2): 259—267. DOI: 10.1080/07373937.2019.1676774
- Yu T., Niu L., Iwahashi H. High-pressure carbon dioxide used for pasteurization in food industry. — *Food Eng Rev.* — 2020; 12 (3): 364—380. PMID: 40476998
- Kustyawati M.E., Pratama F., Saputra D., Wijaya A. Viability of molds and bacteria in tempeh processed with supercritical carbon dioxides during storage. — *Int J Food Sci.* — 2018; 2018: 8591015. PMID: 30402459