

Д.А. Николенко¹,
ассистент кафедры ортопедической
стоматологии

А.С. Утюж¹,
д.м.н., профессор, зав. кафедрой
ортопедической стоматологии

В.Н. Царев²,
д.м.н., профессор, зав. кафедрой
микробиологии, вирусологии,
иммунологии

А.В. Юмашев¹,
к.м.н., профессор, зав. учебной частью
кафедры ортопедической стоматологии

И.Р. Волчкова¹,
ассистент кафедры ортопедической
стоматологии

¹ Первый МГМУ им. И.М. Сеченова

² МГМСУ им. А.И. Евдокимова

Адгезия представителей патогенной микрофлоры полости рта к полиэфирэфиркетону и другим материалам для изготовления временных коронок в эксперименте *in vitro*

Резюме. Оценивается адгезия представителей кариесогенной и пародонтопатогенной бактериальной флоры, а также грибов рода *Candida* к изделиям из неполированного и полированного материала Dentokeep Peek, из которого изготавливаются провизорные коронки для ортопедического лечения в стоматологии. Новый материал для изготовления временных коронок Dentokeep Peek неполированный показал умеренную степень адгезии к тест-микроорганизмам *S. sanguinis*, *P. intermedia*, *C. albicans* и высокую к *P. gingivalis* и *C. krusei*. Полированный Dentokeep Peek вызывает умеренную адгезию к грибам рода *Candida* и пародонтопатогенному штамму *P. intermedia*, и высокую – к *S. sanguinis* и *P. gingivalis*.

Ключевые слова: полиэфирэфиркетон, временное протезирование, адгезия, провизорные коронки, протезы, микробиоценоз, *Streptococcus*, *Candida*, стоматология

Summary. Adhesion of cariesogenic and periodontal bacterial flora and *Candida* fungi to unpolished and polished prosthetic material Dentokeep Peek for provisional crowns was evaluated. The new material Dentokeep Peek unpolished showed a moderate adhesion to test microorganisms *S. sanguinis*, *P. intermedia*, *S. albicans* and high to *P. gingivalis* and *C. krusei*. Polished Dentokeep Peek exhibits moderate adhesion to *Candida* fungi and a strain of periodontium *P. intermedia*, and high to *S. sanguinis* and *P. gingivalis*.

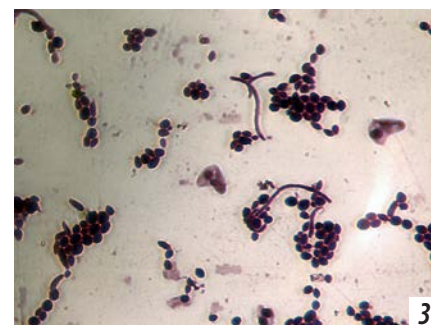
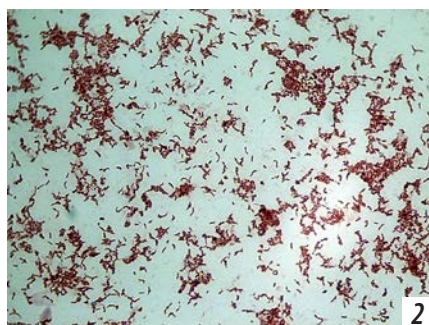
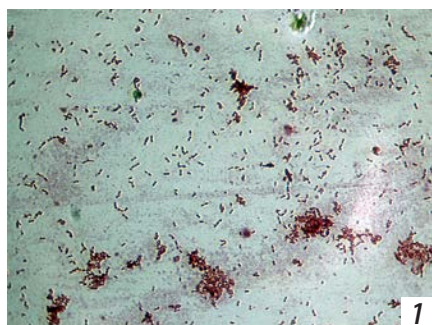
Key words: polyetheretherketone, temporary prosthetics, adhesion, provisional crowns, prosthesis, microbiocenosis, *Streptococcus*, *Candida*, dentistry

Изготовление временных реставраций стоматологическим пациентам при проведении ортопедического лечения проводится в подавляющем большинстве случаев. Положительные стороны временного протезирования хорошо известны среди врачей-стоматологов. К ним можно отнести защиту культи зуба от внешних воздействий после препарирования под ортопедическую конструкцию, достижение психологического комфорта пациентов, связанное с возможностью полноценно общаться в семье и в обществе во время проводимого ортопедического лечения [1, 2, 8].

За последние годы на рынке стоматологических материалов появилось множество полимеров для изготовления провизорных коронок. Данная методика широко используется при ортопедическом лечении в стоматологии и является крайне востребованной

среди пациентов, так как заметно облегчает им жизнь в период изготовления несъемных ортопедических конструкций. Сроки изготовления несъемных ортопедических конструкций (мостовидные протезы, одиночные коронки, виниры, вкладки) составляют от 5 до 30 дней, в зависимости от степени сложности выполняемой работы и применяемых технологий, а также загруженности врача-ортопеда и зубного техника, участвующих в ортопедическом лечении. Провизорные коронки находятся в полости рта пациентов в течение этого времени [3, 5, 8].

Представителем новых полимерных материалов для изготовления провизорных коронок является Dentokeep Peek, который пока еще недостаточно охарактеризован и изучен в отношении клинической эффективности и влияния на оральный микробиоценоз.



Целью исследования является изучение адгезии представителей кариесогенной (или кислотопродуцирующей) и пародонтопатогенной бактериальной флоры, а также грибов рода *Candida* к неполированному и полированному материалу Dentokeep Peek.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлся материал Dentokeep Peek (NT-Trading, Германия), который сравнивали с материалами, рекомендуемыми для изготовления провизорных коронок: Re-Fine Acrylic (Yamahachi Dental, Япония) и «Синма-М» («Стома», Харьков). Для этого измеряли и оценивали индексы первичной адгезии микроорганизмов — представителей пародонтопатогенной и кислотопродуцирующей микробной флоры, — а также грибов рода *Candida* к образцам исследуемых материалов. В соответствии с существующими рекомендациями брали штаммы микроорганизмов, которые можно отнести к следующим диагностически значимым группам [4]:

- кариесогенные стрептококки: *S. sanguinis* — грамположительные микроаэрофильные кокки (рис. 1);
- пародонтопатогенные *P. gingivalis* и *P. intermedia* — грамтрицательные, строго анаэробные палочки (рис. 2);
- дрожжевые грибы *C. albicans* и *C. krusei* (рис. 3).

Представители кислотопродуцирующих стрептококков играют роль стабилизирующих видов, поддерживающих нормальный количественный и качественный состав микробной флоры полости рта, однако при избыточной колонизации поверхности зубов и скоплении на временных реставрациях (коронках) играют отрицательную роль в качестве кариесогенного фактора. Пародонтопатогенную группу анаэробных бактерий в последнее время относят к патогенным видам, которые способны вызывать

разрушение органической основы цемента зуба (в частности, при кариесе корня), коллагеновой основы периодонта, и вызывать пародонтит. Грибы рода *Candida* играют роль в патологии слизистой оболочки полости рта и пародонта при наличии генетической предрасположенности и развитии определенных дефектов иммунной системы [4, 6].

Для получения контрольных значений обсемененности использовали эталонную взвесь, по оптическим свойствам эквивалентную 10^9 КОЕ/мл для бактерий и 10^{7-8} КОЕ/мл для грибов (1 ед. мутности по МакФарланду).

Образцы материалов с нанесенными тест-штампами выдерживали в термостате 2 часа при температуре 37°C . Для удаления не прилипших бактерий или дрожжей вначале образцы трижды отмывали в 10 мл стерильного изотонического раствора хлорида натрия. Затем каждый образец в отдельной пластиковой камере с 1 мл стерильного изотонического раствора хлорида

натрия обрабатывали в ультразвуковой ванне Ultra-Est-M (Геософт, Россия) при частоте 60 кГц в течение 10 минут, что позволяло снять и перевести во взвешенное состояние те микробные клетки, которые вступили в первичную адгезию с поверхностью стоматологического материала (рис. 4).

Для первичной оценки адгезии микроорганизмов изготовили в сумме 120 идентичных дисковидных образцов материалов диаметром 0,5 см, которые стерилизовали ультрафиолетом и помещали в чашку Петри. Затем на поверхность наносили 100 мкл взвеси суточной культуры микроорганизмов использованных тест-штампов (рис. 5).

Методика постановки теста первичной адгезии соответствовала протоколу, описанному в руководстве В.Н. Царева [4], с некоторыми изменениями, внесенными Е.В. Ипполитовым [6]. Из полученного с образцов смыва автоматической микропипеткой высевали



Рис. 4. Обработка образца стоматологического материала Dentokeep Peek в ультразвуковой ванне

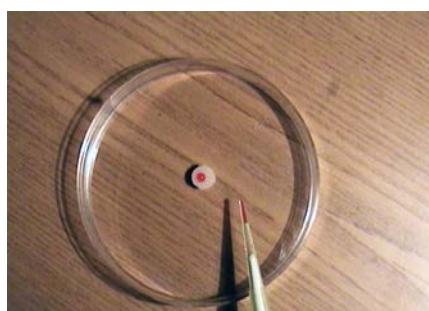


Рис. 5. Нанесение взвеси тест-штамма на образцы стоматологических полимеров для изготовления провизорных коронок

Сравнительные результаты оценки адгезии *in vitro* представителей микробиоты полости рта к материалам для провизорных коронок

Материал	<i>S. sanguinis</i>		<i>P. gingivalis</i>		<i>P. intermedia</i>		<i>C. albicans</i>		<i>C. krusei</i>	
	lg KOE	<i>I</i>	lg KOE	<i>I</i>	lg KOE	<i>I</i>	lg KOE	<i>I</i>	lg KOE	<i>I</i>
Re-Fine Acrylic	6,7	0,74+0,06 †	7,0	0,77+0,10 †	3,0	0,33+0,06 †	4,9	0,61+0,06	6,0	0,75+0,10 †
«Синма-М»	5,3	0,58+0,07 *	6,6	0,73+0,06 *	4,6	0,51+0,07 *	4,8	0,59+0,10	4,8	0,59+0,06 *
Dentokeep Peek полир.	6,0	0,70+0,10 *†	7,0	0,77+0,05 †	4,6	0,51+0,07 *	4,9	0,61+0,07	5,0	0,63+0,07 *†
Dentokeep Peek неполир.	5,6	0,60+0,06 *†	7,0	0,77+0,10 †	4,6	0,51+0,06 *	4,8	0,59+0,10	6,4	0,80+0,10 *†

Примечание. Различие достоверно ($p < 0,05$) по сравнению с: * – Re-Fine Acrylic, † – «Синма-М».

по 100 мкл на 5% кровяной гемин-агар на основе Columbia и распределяли по поверхности питательной среды стерильной пластиковой петлей. Для исследования адгезии дрожжевых грибов использовали плотную среду Сабуро. Полученные колонии подсчитывали под стереомикроскопом и определяли индекс первичной адгезии для каждой пары «материал – штамм» по формуле, предложенной В.Н. Царевым (2013):

$$I = \frac{\lg A}{\lg N},$$

где *I* – индекс первичной адгезии; *A* – количество бактерий на образце; *N* – количество бактерий в смыве с образца [4].

При статистической обработке данных значимость различий в сравниваемых группах определяли по непараметрическому U-критерию Манна – Уитни. Различия между группами полагали статистически значимыми на уровне статистической значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Индексы первичной адгезии микроорганизмов к образцам из исследуемых материалов представлены в таблице. Их, согласно А.Г. Трефилову [8], оценивали как низкие ($>0,27$), умеренные (0,28–0,69) и высокие ($>0,70$). Кислотопродуцирующий вид *S. sanguinis* отличался высоким показателем адгезии к Re-Fine Acrylic и полированному Dentokeep Peek, умеренным – для «Синма-М» и неполированному Dentokeep Peek. *P. gingivalis* проявляли максимально высокую адгезию ко всем материалам. Другой же пародонтопатогенный вид – *P. intermedia* – напротив, отличался умеренной адгезией, причем индексы адгезии к Dentokeep Peek, как полированному, так и неполированному, существенно не отличались.

Индекс адгезии грибов *C. albicans* к исследуемым материалам был умеренно выраженным для всех исследованных материалов, а для Dentokeep Peek не зависел от наличия полировки. Более редко встречающийся штамм *C. krusei*, напротив, отличался высокой адгезией к Re-Fine Acrylic и неполированному Dentokeep Peek, в то время как к полированному Dentokeep Peek адгезию можно считать умеренной.

Результаты исследования показали, что неполированные образцы Dentokeep Peek проявили умеренную степень адгезии к тест-микроорганизмам *S. sanguinis*, *P. intermedia* и *C. albicans*, и высокую – к *P. gingivalis*

и *C. krusei*. Полированные же выказывают умеренную адгезию к грибам рода *Candida* и пародонтопатогенному штамму *P. intermedia*, и высокую – к *S. sanguinis* и *P. gingivalis*.

Полученные нами результаты позволяют также предположить, что механизмы адгезии к полированным и неполированным материалам у стрептококков и грибов отличаются. Стрептококки, по-видимому, взаимодействуют через рецепторные структуры и молекулы материала, на которые полировка не влияет либо усиливает контакт, а для грибов, в частности *C. krusei*, основной механизм прикрепления связан с шероховатостью поверхности, поэтому степень адгезии при полировке снижается, что, по данным литературы, соответствует наблюдениям с помощью сканирующей электронной и атомно-силовой микроскопии [2, 6, 11].

В исследованиях Т.И. Ибрагимова, В.Н. Царева и А.Г. Трефилова и соавт. [5, 8, 12], ранее изучавших различные материалы для изготовления временных реставраций протезов, показано, что представители пародонтопатогенной флоры обладают наиболее высокой степенью адгезии к акрилсодержащему материалу Unifast, несколько ниже – к композитным материалам Acrytemp, Luxatemp, и минимальной – к композитным материалам типа Structur и Prottemp. А показатели адгезии *Candida spp.* также оказались максимальными у пластмассы Unifast, достоверно ниже – у композитных материалов Acrytemp, Luxatemp, Prottemp, и минимальными у нового композита Structur.

Аналогичные данные получены в работе Н.А. Гончарова и соавт. (2016), изучавших новые импортные материалы для провизорных коронок – Tempron, Prottemp, CrownTemp и отечественный Темпкор – полированные, покрытые лаком и без покрытия. При этом установлено, что отечественный материал демонстрировал более низкий уровень адгезии для микробов пародонтопатогенной группы, однако стрептококки и порфириомонас отличались достоверно более высоким уровнем адгезии именно при использовании лака, что ставит вопрос о совершенствовании антиадгезивных характеристик применяемых лаков [3].

Известно, что в некоторых клинических ситуациях требуется более длительное, до 12 месяцев, ношение временных мостовидных протезов или отдельных коронок. Однако наряду с выполнением определенных функций (защитная, жевательная, эстетическая, коммуникативная), присутствие в полости рта временных

реставраций может стать причиной возникновения осложнений, приводящих к несостоятельности проводимого ортопедического лечения, а также способствовать развитию или усугублению хронического пародонтита. Это происходит потому что материалы, из которых изготавливаются временные реставрации, обладают более высокой приверженностью к микробной колонизации по сравнению с эмалью зуба или материалами, используемыми для изготовления постоянных несъемных ортопедических конструкций в условиях зуботехнической лаборатории [2, 11].

Степень адгезии микроорганизмов в свою очередь определяет особенности последующей микробной колонизации как временной конструкции, так и постоянного протеза, который впоследствии устанавливается и влияет на весь оральный микробиоценоз [6, 12]. Поэтому использование временных реставраций, на наш взгляд, требует проведения дополнительных гигиенических мероприятий, направленных на эрадикацию кариесогенной (кислотопродуцирующей), пародонтопатогенной, грибковой микробиоты и поддержание нормального качественного и количественного состава орального микробиоценоза после проведенного ортопедического лечения.

ВЫВОДЫ

1. Полировка изделий из материала Dentokeep Peek оказывает существенное влияние на механизмы первичной адгезии, причем у бактерий и грибов это влияние реализуется по-разному. Для кариесогенной микрофлоры полировка достоверно не влияет на степень адгезии, а для *S. krusei* существенно ее снижает.
2. При изучении первичной адгезии *S. sanguinis* установлено, что изделия из полированного Dentokeep Peek обладают большей уязвимостью по сравнению с неполированными образцами.
3. Представители пародонтопатогенных видов бактерий различались по степени адгезии к исследуемым материалам. Наиболее неблагоприятно, с крайне высокой степенью адгезии 0,73—0,77, проявил себя штамм *P. gingivalis*, в то время как для другого часто встречающегося пародонтопатогена — *P. intermedia* — степень адгезии была умеренно выраженной (0,33—0,51).
4. Степень адгезии грибов *C. albicans* можно охарактеризовать как умеренно выраженную для всех исследованных материалов, причем для Dentokeep Peek она не зависела от полировки (0,61 и 0,59 у полированных и неполированных образцов соответственно), в то время как более редко встречающийся штамм *S. krusei*, напротив, отличался высокой (0,80) адгезией к материалам Re-Fine Acrylic и неполированному Dentokeep Peek (0,75).

ЛИТЕРАТУРА:

1. Арутюнов С.Д., Царев В.Н., Ипполитов Е.В., Апресян С.В., Трефилов А.Г. Формирование биопленки на временных зубных протезах: соотношение процессов первичной микробной адгезии, коагрегации и колонизации. — *Стоматология*. — 2012; 5 (91): 5—10.
2. Афанасьева В.В., Арутюнов Д.С., Деев М.С., Ипполитов Е.В., Царева Т.В. Клинико-микробиологические аспекты формирования микробной биопленки на конструкционных материалах, используемых для починки и перебазировки съемных зубных протезов. — *Российский стоматологический журнал*. — 2015; 2 (19): 44—6.
3. Гончаров Н.А., Лещева Е.А., Трефилова Ю.А., Царева Е.В., Трефилов А.Г. Обоснование применения провизорных коронок при препарировании зубов с учетом микробной адгезии на поверхности ортопедического материала. — *Клиническая стоматология*. — 2016; 1 (77): 52—5.
4. Давыдова М.М., Плахтий Л.Я., Царев В.Н. Методы микробиологического исследования, применяемые в стоматологии. — В кн.: Микробиология, вирусология и иммунология полости рта. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. — С. 223—268.
5. Ибрагимов Т.И., Трефилов А.Г., Горелова Л.А. Опыт изучения адгезии представителей микрофлоры полости рта к материалам, используемым для перебазировки съемных зубных протезов прямым методом. — *Стоматолог*. — 2011; 9: 35—8.
6. Ипполитов Е.В. Мониторинг формирования микробной биопленки и оптимизация диагностики воспалительных заболеваний пародонта: автореф. дис ... д.м.н. — М.: Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, 2016. — 48 с.

7. Макеева И.М., Даурова Ф.Ю., Бякова С.Ф., Ипполитов Е.В., Гостев М.С., Поликушина А.О., Шубин Е.А. Чувствительность микробных ассоциаций экссудата пародонтального кармана и одонтогенного очага к антибактериальным препаратам. — *Стоматология*. — 2016; 3 (95): 26—30.
8. Трефилов А.Г. Повышение качества ортопедического стоматологического лечения пациентов с применением методов микробиологического мониторинга: автореф. дис. ... к.м.н. — М.: МГМСУ, 2012. — 26 с.
9. Утюж А.С., Юмашев А.В., Адмакин О.И., Лушков Р.М. Использование ирригатора у пациентов с ортопедическими конструкциями, опирающимися на дентальные имплантаты. — *Клиническая стоматология*. — 2017; 2 (82): 47—9.
10. Утюж А.С., Юмашев А.В., Исаков Е.И., Макаров А.Л., Лушков Р.М. Диагностика и лечение воспалительных заболеваний пародонта с применением лечебно-диагностического комплекса «Флюорит-4С». — *Клиническая стоматология*. — 2017; 4 (84): 22—5.
11. Царев В.Н., Ипполитов Е.В., Трефилов А.Г., Арутюнов С.Д., Пивоваров А.А. Особенности адгезии анаэробных пародонтопатогенных бактерий и грибов *Candida albicans* к экспериментальным образцам базисной стоматологической пластмассы в зависимости от шероховатости поверхности и способа полировки. — *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. — 2014; 6: 21—7.
12. Царев В.Н., Трефилов А.Г., Клейменова Г.Н., Левкин А.В. Пространственно-временная модель формирования биопленки полости рта: взаимосвязь процессов первичной адгезии и микробной колонизации. — *Dental Forum*. — 2011; 5: 126—31.