

ОПТИМАЛЬНАЯ ДЛИТЕЛЬНОСТЬ АППЛИКАЦИИ ОПЫТНЫХ ОБРАЗЦОВ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ КОНТРОЛЯ КАРИЕСОГЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ: ОПРЕДЕЛЕНИЕ НА ОСНОВАНИИ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ

А.В. Бутвиловский, В.Э. Бутвиловский, Е.А. Кармалькова

Белорусский государственный медицинский университет

г. Минск, Республика Беларусь

Введение. Химиотерапия занимает важное место в профилактике и лечении кариозной патологии зубов. С помощью имеющегося в настоящее время арсенала антисептиков, используемых в качестве монопрепаратов или в составе лекарственных средств и средств гигиены полости рта, в большинстве случаев удается достичь контроля над микроорганизмами зубного налета. Однако при превалировании в зубном налете микроорганизмов с высоким патогенным потенциалом рациональная химиотерапия становится сложной клинической задачей. Наиболее яркими примерами таких микроорганизмов являются *Str. mutans* и *Lactobacillus* [2], вызывающие острое и острейшее течение кариеса зубов. Наиболее сложные клинические случаи этой патологии, как правило, наблюдаются у младших дошкольников и определяются как ранний детский кариес.

Для борьбы с микробными агентами при этом заболевании традиционно используются антисептики (хлоргексидин и йодиды), а также препараты серебра и фтора. Наличие у применяемых в стоматологии препаратов серебра такого недостатка, как окрашивание обработанных тканей зуба [4], обусловило тенденцию постепенного отказа врачей-стоматологов от использования этой высокоэффективной группы препаратов [1]. Таким образом, разработка, экспериментальное изучение и потенциальная клиническая апробация препаратов серебра, предназначенных для контроля кариесогенной микрофлоры и лишенных указанного недостатка, остается актуальной задачей стоматологии.

Цель. Определить оптимальную длительность аппликации опытных ряда образцов препаратов для контроля кариесогенной микрофлоры на основании их антимикробной активности.

Материалы и методы. В ходе исследования в Центральной научно-исследовательской лаборатории БГМУ созданы 5 опытных образцов препаратов для контроля кариесогенной микрофлоры, содержащих в качестве активных компонентов комбинации серебра и фторидов (образцы № 1, 3, 5) и комбинации серебра, фторидов и йодидов (образцы № 2 и 4).

С помощью селективной питательной среды «Dentocult SM strip mutans» («Orion Diagnostica», Швеция) у ребенка, страдающего ранним детским кариесом, выделена культура основного возбудителя данного заболевания – *Str. mutans*. Для ее идентификации со шпателя системы «Dentocult» отбиралась 1 колония и рассеивалась на 5% кровяной агар, который помещали в CO₂-инкубатор (6% CO₂, 37°C) на 18-24 часа. После этого делали мазки по Грамму, в которых обнаружены gram+диплококки, цепочки, каталаза–, биохимическая идентификация культуры проведена на АТВ-Expression. Идентификация культуры *Str. mutans* проводилась в микробиологической лаборатории Минского городского центра гигиены и эпидемиологии*.

Определение противомикробной активности выполнялось в количественном суспензионном методе [3] при температуре воздуха 19-20°C, относительной влажности 64%. Для этого готовили взвесь тест-контрольного микроорганизма (*Candida albicans* ATCC 10231, *Lactobacillus* ATCC 9595, *Streptococcus mutans*) в 0,5% растворе хлорида натрия. Взвесь стандартизировали, используя оптический стандарт мутности до 10⁹ КОЕ/мл. Затем 0,2 мл взвеси тест-культуры добавляли в пробирку с 1,8 мл раствора исследуемого средства (образцы препаратов №1-5, официальные препараты для серебрения твердых тканей зубов первого («Аргенат двухкомпонентный», «ВладМиВа») и второго поколения («Аргенат однокомпонентный», «ВладМиВа»), раствор хлоргексидина биглюконата 0,05% («Изотрон») и поливинилпирилоидона йодида 10% («Бетадин», «Egis»).

По завершению инкубации при заданном режиме (время и температура инкубации), 0,2 мл смеси переносили в пробирку с 1,8 мл раствора нейтрализатора, тщательно перемешивая. Через 10 минут из смеси готовили разведения в стерильном физиологическом растворе до 10⁻³. По 0,5 мл цельной смеси из пробирки с нейтрализатором, а также разведений 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³ высевали на чашки с плотной питательной средой для контроля роста. В качестве контроля использовали 0,5% раствор хлорида натрия, добавляли в него 0,2 мл исходной взвеси тест-культуры, повторяли режим инкубации опытного образца, и высевали на чашки с плотной питательной средой.

Из каждого разведения делали 3 посева. Чашки инкубировали в термостате в течение 48 часов при 37⁰С. Подсчитывали число выросших колоний на чашках в опыте и в контроле. Высчитывали среднее число живых бактерий в контроле, число выживших бактерий в опыте (КОЕ/мл), определяли десятичные логарифмы и факторы редукции (RF) числа бактерий в

* Авторы выражают благодарность А.П. Козик за помощь в идентификации культуры *S. mutans*.

опыте по сравнению с контролем: $RF = \log(\text{KOE на мл в контроле}) - \log(\text{KOE на мл в опыте})$. Эффективной концентрацией и экспозицией считали при $RF \geq 5,0$. Исследование выполнено в рамках гранта БРФФИ №Б10М-003 от 01.05. 2010 г.

Результаты исследования. Полученные значения фактора редукции числа стрептококков (Sm), лактобактерий (Lb) и кандид (Ca) при полуминутной экспозиции показаны на рис.

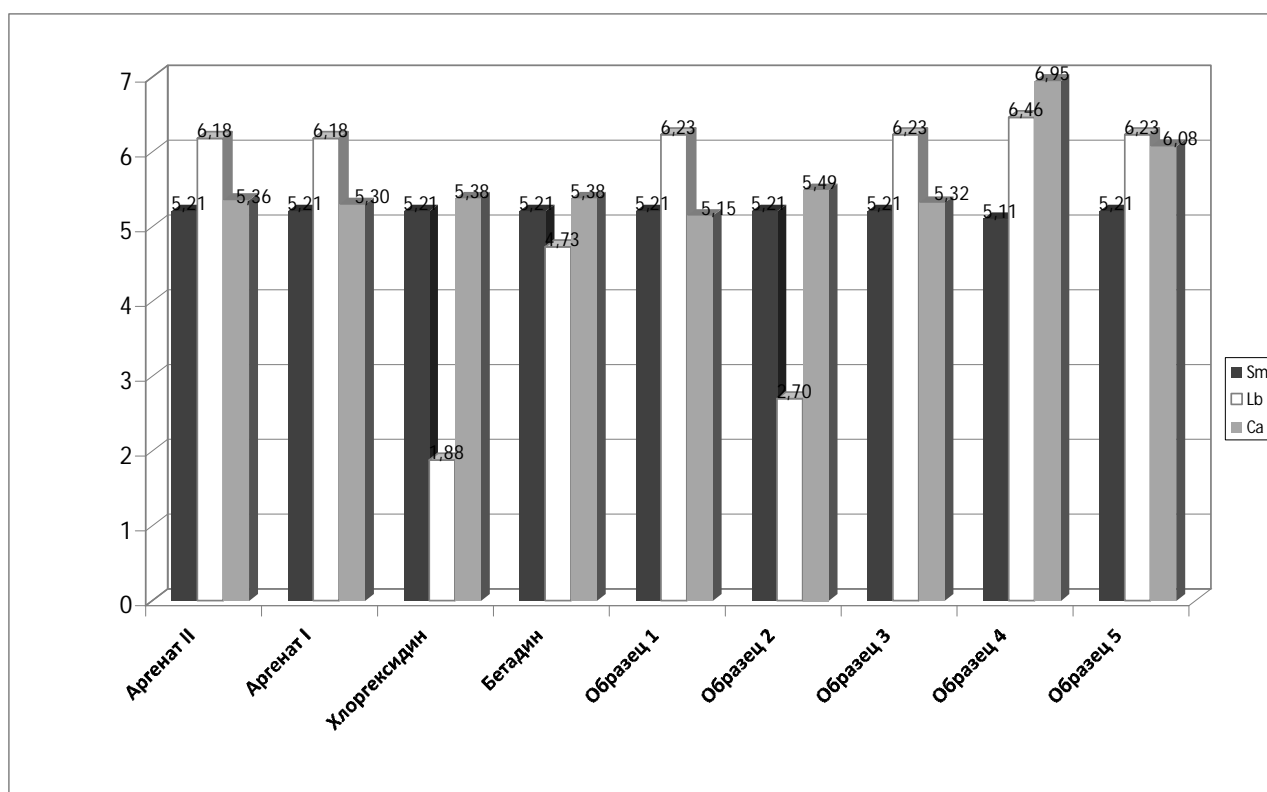


Рис. Значения фактора редукции числа бактерий при экспозиции исследуемых препаратов в течение 0,5минуты

Установлено, что для всех изученных препаратов при полуминутной экспозиции характерна высокая (значение RF более 5) антистрептококковая активность, что свидетельствует о целесообразности их применения в схеме терапии раннего детского кариеса. Эффективность антимикробных агентов относительно лактобактерий при экспозиции ½ минуты, напротив, варьирует в широких пределах (значения фактора редукции от 1,88 до 6,46). Минимальной антилактобациллярной активностью обладают 0,05% раствор хлоргексидина, образец №2 и 10% раствор поливинилпирролидона йодида ($RF=1,88$, $RF=2,70$, $RF=4,73$, соответственно). Наибольшая активность относительно лактобактерий ($RF=6,46$) обнаружена у образца №4, содержащего в качестве активных компонентов серебро, фториды и йодиды. Эффективность исследуемых препаратов относительно лактобактерий имеет меньшее (по сравнению с эффективностью относительно стрептококков) клиническое

значение, поскольку согласно современной концепции этиопатогенеза кариеса *Lactobacillus* активно вовлекаются в кариозный процесс лишь при поражении дентина. При этом роль инициатора отводится *Str. mutans*, обладающему способностью прикрепляться не только в естественных углублениях эмали, но и к гладкой поверхности зуба [2, 6].

Обнаружено, что все исследуемые препараты при полуминутной экспозиции обладают высокой антигрибковой активностью. При этом минимальное значение фактора редукции числа *C. albicans* свойственно для образца №1 (RF=5,15), а максимальное – для образца №4 (RF=6,95). Исследование антигрибковой активности препаратов для контроля кариесогенной микрофлоры важно в контексте их потенциальной способности вызывать дисбактериоз полости рта. Установлено, что все исследуемые препараты (кроме 0,05% раствора хлоргексидина и образца №2) обладают относительно равномерным антимикробным действием на изученных представителей микробиоценоза полости рта и, следовательно, их применение характеризуется низкой вероятностью развития дисбиотических явлений.

При увеличении экспозиции до трех минут отмечено сохранение активности исследуемых образцов относительно *S. mutans* и *C. albicans* на том же уровне. Это позволяет предположить, что оптимальное время аппликации опытных образцов составляет полминуты.

Эффективность образцов №1, 3–5, «Аргената однокомпонентного» и «Аргената двухкомпонентного» относительно лактобактерий при увеличении экспозиции остается неизменной. В то же время эффективность остальных антимикробных агентов относительно лактобактерий при увеличении экспозиции претерпевает существенные изменения. Так, образец №2 проявляет выраженную антилактобациллярную активность лишь при трехминутной экспозиции (увеличение RF в 2,3 раза по сравнению с полуминутной аппликацией до 6,23), «Бетадин» – при минутной аппликации (увеличение RF в 1,3 раза по сравнению с полуминутной аппликацией до 6,21).

Активность относительно лактобактерий 0,05% раствора хлоргексидина биглюконата при трехминутной аппликации увеличивается в 1,6 раза (по сравнению с нанесением на ½ минуты, до RF=2,97), но не достигает высокого уровня. Более высокая эффективность хлоргексидина *in vivo*, по-видимому, связана с его аккумуляцией в зубных отложениях и слизистой оболочке полости рта благодаря положительному заряду молекулы, что приводит к многократному увеличению его экспозиции в полости рта.

Выводы.

1) Созданные нами 5 опытных образцов препаратов для контроля кариесогенной микрофлоры обладают высокой антистрептококковой активностью, проявляющейся при полуминутной экспозиции.

2) Активность всех образцов (за исключением №2) относительно *Lactobacillus* также является высокой и стабильной во времени (за исключением образца №2, который проявляет высокую активность лишь спустя 3 минуты).

3) Оптимальными по длительности для образцов №1, 3, 4, 5 являются полуминутные аппликации, а для образца №2 – аппликации в течение трех минут.

4) Всем опытным образцам препаратов при оптимальной длительности аппликации свойственно относительно равномерное антимикробное действие на изученных представителей микробиоценоза полости рта и, следовательно, их применение характеризуется низкой вероятностью развития в нем дисбиотических явлений.

Литература:

1. Бутвиловский А.В., Кармалькова И.С., Бурак Ж.М. Использование метода серебрения твердых тканей зубов врачами-стоматологами г. Минска // Вопросы организации и информатизации здравоохранения. – 2009, №3. – С. 78-82.

2. Леус П.А. Микробный биофильм на зубах. Физиологическая роль и патогенное значение – М.: Издательский дом «СТВООК». – 2008. – 88 с.

3. Методы проверки и оценки антимикробной активности дезинфицирующих и антисептических средств (инструкция по применению) / В.П. Филонов и др. // Минск. 2004. – 39с.

4. Терехова Т.Н., Бутвиловский А.В., Бурак Ж.М. Возможности применения препаратов фторида диамминсеребра в детской стоматологии // Современная стоматология. – 2009, №1. – С. 57-59.

5. Терехова Т.Н., Попруженко Т.В. Профилактика стоматологических заболеваний. – Минск, 2004. – 526 с.

6. Nikiforuk G. Understanding dental caries. Etiology and mechanism. Basic clin. aspects. – Basel. – 1985. Vol. 1. – 301 p.