

## **ИЗМЕНЕНИЯ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ МИКРОФЛОРЫ ПОЛОСТИ РТА ПОД ДЕЙСТВИЕМ НЕРЖАВЕЮЩЕЙ СТАЛИ И СЕРЕБРЯНОГО ПРИПОЯ ПСР-37**

С момента внедрения в стоматологическую практику штампованно-паяных конструкций, еще в прошлом веке, остро стоял вопрос о возможности их применения для протезирования. Как они влияют на ткани полости рта и организм в целом? Проведенные еще в 30-е гг. XX в. в НИИ цветной металлургии испытания припоя с позиции прочности соединения спаянных частей показали, что припой обладает удовлетворительными механическими свойствами, хотя неустойчив к воздействию даже слабых кислот. Вместе с тем анализ литературных данных, в которых приводятся результаты экспериментальных исследований и клинических наблюдений по изучению воздействия различных сплавов припоя на биологическую среду, дает основание утверждать, что припой с физико-механических позиций не отвечает требованиям, предъявляемым к зубным протезам, находящимся в биологической среде. Главными недостатками припоев являются низкая их устойчивость к коррозионным разрушениям в полости рта, различие электрических потенциалов припоя и конструкционных сплавов, а также изменение структуры спаиваемого металла в процессе пайки. Все это провоцирует возникновение явлений непереносимости к металлам [3; 9].

Штампованно-паяные мостовидные протезы способствуют развитию и поддержанию дисбактериоза полости рта, возникновению патологических процессов на языке, щеках, губах в виде эрозий, гиперплазии и гиперкератоза [1; 6], обострению хронических заболеваний слизистой оболочки полости рта (красный плоский лишай, лейкоплакия) и тканей пародонта [3; 8].

Потенциальный фактор патогенности микроорганизмов – их способность продуцировать ферменты, вызывающих гемолиз эритроцитов и лейкоцитов (гемолизины и лейкоцитидины) [2]. Необходимо отметить, что гемолитической активностью обладают не все микроорганизмы, чаще выраженный гемолиз наблюдается в присутствии патогенных микроорганизмов (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus pyogenes* и др.), проявление гемолитической активности

возможно и в резистентной микрофлоре (*Neisseria spp.*, *Staphylococcus saprophiticus*) и даже в грибах рода *Candida albicans*.

**Цель:** изучение влияния сплавов металлов, применяемых для изготовления штампованно-паяных мостовидных протезов, на ферментативную активность микрофлоры полости рта.

#### *Материалы и методы исследования*

В экспериментальном исследовании изучались образцы сплавов металлов, применяемых для изготовления штампованно-паяных мостовидных протезов, и сравнивались со сплавами, применяемыми для изготовления цельнолитых конструкций (производства Германии), разрешенные к использованию в медицинской практике РФ, имеющие форму диска диаметром 7 мм и высотой 1,5 мм. Образцы сплавов изготовлены с соблюдением всех требований и технологических процессов, предъявляемых к изготовлению зубных протезов.

Утренний мазок, взятый из полости рта пациента натошак и без утренней гигиены полости рта при помощи тупфера с транспортной средой Амиеса с углем (HIMEDIA), исследовали бактериологическим методом, выделенные микроорганизмы изучали общепринятыми методами, с учетом их морфологических, культуральных и биохимических свойств.

Ферментативную активность чистой культуры микроорганизма к стоматологическим конструкционным материалам устанавливали посевом бактериологической петлей диаметром 2 мм полуколичественным методом (приказ Минздрава СССР от 22.04.1985 г. № 535). Образцы сплавов металлов после дезинфекционной обработки и стерилизации в автоклаве размещали согласно общепринятым методическим указаниям (МУК 4.2.1890-04), для определения чувствительности к антибиотикам на поверхности кровяного агара как без культуры микроорганизмов, так и с чистой культурой *Streptococcus Piogenes*, *Neisseria spp.*, *Streptococcus haemolyticus*, *Staphylococcus saprophiticus*, *Klebsiella oxytoca*, *Streptococcus aureus*, *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* (кровяно-дрожжевой сывороточный агар). Посевы инкубировали в термостате при температуре 37 °С в течение 48 ч.

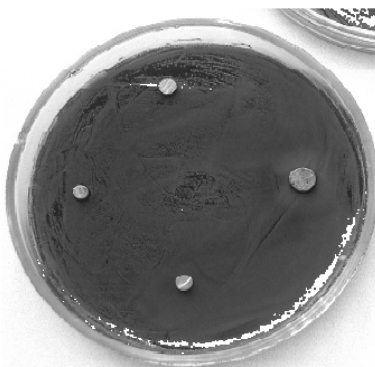


Рис. 1. Экспозиция сплавов на поверхность кровяного агара с чистой культурой *Streptococcus aureus*

По величине измененной зоны кровяного агара судили об отсутствии или наличии влияния сплавов металлов на ферментативные свойства микроорганизмов (рис. 1). И оценивалась как: «—» отрицательная и «+» положительная реакции.

Водородный показатель (рН) среды кровяного агара измеряли в точке экспозиции сплавов металлов и чистой культуры микроорганизма, при помощи лакмусовой бумаги и рН-метра.

#### *Результаты исследования*

С целью определения ферментативной активности микроорганизмов под действием сплавов металлов, были проведены экспериментальные исследования.

Для этого на первом этапе образцы сплавов металлов после стерилизации были помещены на поверхность кровяного стерильного агара (без колоний микроорганизмов). Результат исследования показал, что сплавы металлов не оказывают никакого влияния на кровяной агар (рис. 2).

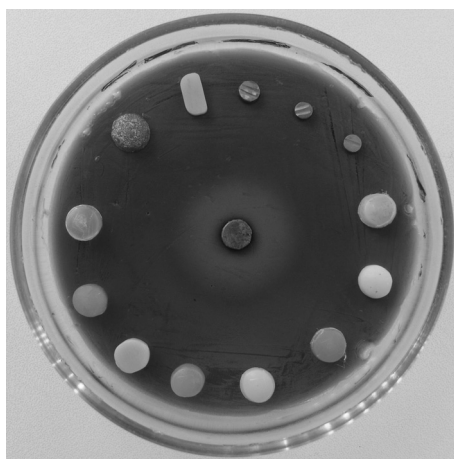


Рис. 2. Экспозиция серебряного припоя ПСр-37 на среде с колониями *Staphylococcus aureus*

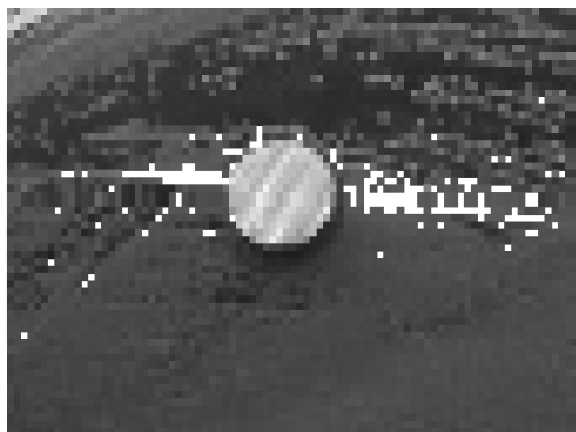


Рис. 3. Сплав металла (производства Германии) на среде с колониями *Staphylococcus aureus*



Рис. 4. Экспозиция нержавеющей стали на среде с колониями *Staphylococcus aureus*

На втором этапе образцы стоматологических сплавов были размещены на поверхности кровяного агар с чистыми культурами микроорганизмов. Результат исследования показал, что сплавы металлов оказали различное влияние на ферментативные свойства микроорганизмов.

Выраженность зоны гемолиза эритроцитов зависит от вида культуры микроорганизма и состава конструкционного материала. Самая высокая гемолитическая активность у *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus saprophiticus*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella oxytoca*, *Es. coli*.

Способность оказывать влияние на ферментативные свойства микроорганизмов у нержавеющей стали и серебряного припоя ПСр-37 (рис. 2, рис. 4).

Микроорганизмы, обладающие гемолитическими свойствами, способны их активировать в присутствии сплавов металлов по  $\alpha$ - или  $\beta$ -гемолизу. Особый интерес представляет *Candida alb.*, ее гемолитическая активность мало изучена. Однако в присутствии серебряного припоя ПСр-37 протекает по  $\alpha$ - типу.

На третьем этапе исследования, изучали изменения кислотно-основных свойств среды кровяного агара в присутствии колоний микроорганизмов и стоматологических сплавов металлов.

Результаты измерения pH среды показали что:

Происходит защелачивание в зоне контакта образцов сплавов металлов, с изменением цвета среды кровяного агар, с образованием зоны выраженного гемолиза эритроцитов (рис. 2, рис. 4, рис. 6).

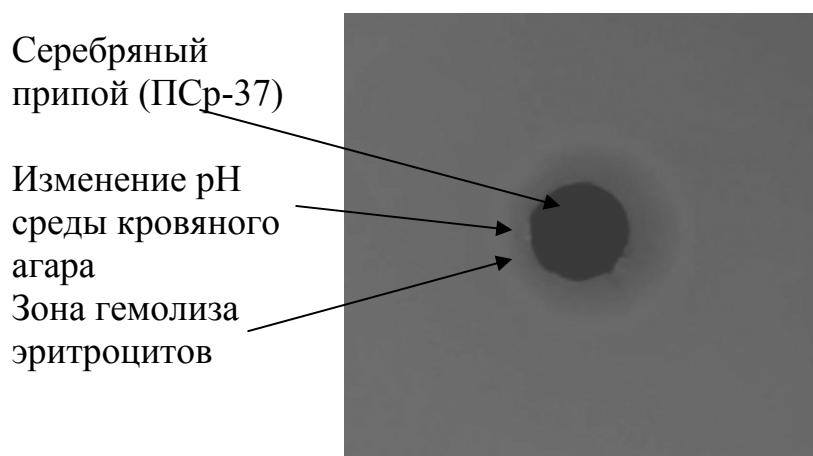


Рис. 6. Усиление зоны гемолиза эритроцитов на среде колоний *Staphylococcus aureus* под влиянием серебряного припоя

2) В присутствие таких сплавов металлов, как нержавеющая сталь и серебряный припой (рис. 6) при участии микроорганизмов происходит изменение pH от 6,4 до 9,4 (табл. 1).

3) Кислотность среды кровяного агара постоянна и равна 7,2. Особенность микроорганизмов изменять показатель водородного потенциала общеизвестна, но в присутствии сплавов металлов их активность значительно возрастает, особенно у *Candida albicans*, значения pH в присутствии нержавеющей стали достигают 9,2-9,4 (табл. 1).

Таблица 1

Влияние конструкционных сплавов металлов на изменение pH среды (pH=7,2)

Микроорганизмы	Кровяной агар с колониями микроорганизмов	Образцы		
		нержавеющая сталь с напылением нитридом титана	сплав металла (производство Германии)	Серебряный припой
<i>Staphylococcus aureus</i>	7,6	8,5	7,5	8,0
<i>Streptococcus haemolyticus</i>	6,4	7,4-7,6	6,5	7,6

<i>Staphylococcus saprophiticus</i>	7,0	7,4	7,0	7,6
<i>Neisseria spp</i>	7,0	6,6-6,8	7,0	6,8-7,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8,8-8,9	7,8-8,0	8,6	7,0-7,2
<i>Streptococcus pyogenes</i>	7,4	7,0	7,2	6,6
<i>Es. coli</i>	7,8-8,0	7,8	7,8-8,0	8,0
<i>Candida alb.</i>	7,8-8,0	9,2-9,4	7,8-8,0	9,0

При определенных условиях в присутствии стоматологических сплавов металлов, таких как нержавеющая сталь и серебряный припой, ферментативная активность микроорганизмов возрастает, причем как у патогенной, так и у резистентной микрофлоры.

#### *Обсуждение результатов исследования*

Стоматологические конструкционные материалы представляют так называемую подгруппу биоматериалов. При контакте с тканями или жидкостями организма между ними происходят взаимодействия различного рода. Материалы, которые не обладают отрицательным действием на ткани, являются биосовместимыми. Конструкционные материалы также биосовместимы и с микроорганизмами, обитающие в полости рта, и могут влиять на их ферментативную активность. Изготовленные протезные конструкции в последствие могут вызывать воспалительные процессы мягких тканей полости рта.

Проведенное нами исследование доказывает, что влияние конструкционных стоматологических материалов на ткани полости рта происходит при участии микроорганизмов. Потенциальный фактор патогенности микроорганизмов – это их способность продуцировать ферменты, вызывающие гемолиз эритроцитов и лейкоцитов (гемолизины и лейкоцитидины).

Среди исследуемых образцов наибольшие изменения вызвали серебряный припой, нержавеющая сталь.

В условиях *in vitro*, колонии микроорганизмов (*Staphylococcus aureus*; *Streptococcus pyogenes*; *Neisseria spp*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Streptococcus haemolyticus*; *Staphylococcus saprophiticus*; *Klebsiella oxytoca*; *Es. Coli*; *Candida alb.*) в присутствии сплавов металлов (серебряный припой, нержавеющая сталь), способны вызывать гемолиз эритроцитов в кровяном агаре. Экспозиция сплавов металлов на стерильном кровяном агаре и отдельно посев чистых культур микроорганизмов на кровяной агар дали отрицательные результаты. Было установлено, что под влиянием

сплавов металлов, проявляются вирулентные свойства микроорганизмов, усиливающие их ферментативную активность.

Отметим, что в обычных условиях колонии *Candida albicans* не вызывают гемолиза эритроцитов кровяного агара, а только в присутствии таких сплавов металлов, как серебряный припой, нержавеющая сталь. Наши исследования подтвердили данные, имеющиеся в литературе, о том, что колонии *Candida albicans* обладают гемолитическими свойствами и способны расщеплять гемоглобин.

Особое значение в патогенезе явлений непереносимости зубных протезов играет изменение pH среды. По мнению Ибрагимова Т.И. с соавт. (2006), чаще всего эти явления наблюдаются при pH ниже 6,65 и выше 7,15. Нами установлено, что у пациентов с наличием в полости рта штампованно-паянных конструкций зубных протезов, pH находится в пределах 7,0–8,2; у пациентов, не имеющих подобных ортопедических конструкций, этот показатель был в пределах нормы –  $6,85 \pm 0,15$ .

В нашем исследовании подтверждено, что в присутствии серебряного припоя, нержавеющей стали, способность микроорганизмов изменять pH кровяного агара значительно возрастает. Особенно это выражено у колоний *Candida albicans*. Под влиянием нержавеющей стали данные виды грибов увеличивают pH до 9,4, а при воздействии серебряного припоя водородный показатель возрастает до 9,0.

Колонии *Streptococcus pyogenes*, наоборот, изменяют среду в кислую сторону в присутствии серебряного припоя (pH=6,4). На самом деле активность микробной флоры влияет на величину pH стерильного кровяного агара, которая равна 7,2. После посева культур микроорганизмов pH изменяется в кислую, либо в щелочную сторону, что особенно выражено у патогенных видов *Pseudomonas aeruginosa*; *Staphylococcus aureus*; *Es. coli* гем.; *Candida albicans*.

Проведенное нами экспериментальное исследование доказало, что некоторые стоматологические сплавы опосредованно влияют через микробную флору на ткани полости рта, тем самым создают условия для поддержания хронического воспалительного процесса в полости рта и формирования так называемого порочного круга (рис. 7).

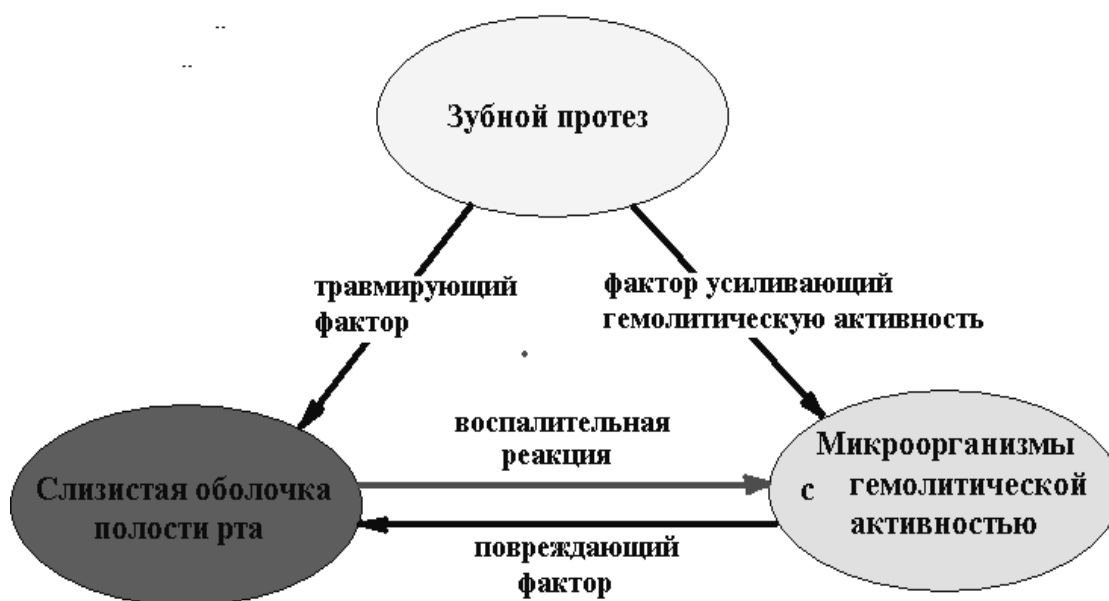


Рис. 7. Патогенез хронического воспаления слизистой оболочки полости рта

Чтобы избежать развития такого порочного круга у пациентов при протезировании штамповано-паяными конструкциями зубных протезов припой с физико-механических и биологических позиций не отвечает требованиям, предъявляемым к зубным протезам, находящимся в полости рта, особенно при наличии заболеваний пародонта, неудовлетворительной гигиене полости рта и других состояний, при которых изменяется уровень рН ротовой жидкости. Очень важным является тщательное соблюдение технологических этапов зубного протезирования. Пациентам с общесоматическими заболеваниями особенно важно применять те конструкции зубных протезов, где используется припой, который при соединении со сплавом образует твердый раствор. Идеальный шов может получиться лишь при паянии тем же сплавом, из которого состоят спаиваемые детали. Именно поэтому следует использовать лазерную сварку и цельнолитые конструкции.

Очень важным является и нормализация микробного пейзажа полости рта. Для этого при изготовлении несъемных конструкций зубных протезов должны быть исключены все ретенционные участки, в которых могут задерживаться зубной налет, остатки пищи. Необходимо не только избегать наличия пайки в конструкциях, но и тщательно полировать все, даже самые труднодоступные участки, например, используя метод электрополировки каркасов зубных протезов.

#### *Заключение*

Нами доказано, что нержавеющая сталь в сочетании с серебряным припоем опосредованно влияют через микробную флору на ткани полости рта, тем самым создают условия для поддержания хронического

воспалительного процесса в полости рта и формирования явлений непереносимости металлических конструкций зубных протезов. Для профилактики данных явлений необходимо использовать лазерную сварку, цельнолитые конструкции, тщательно соблюдать технологию зубного протезирования.

### Список использованных источников

1. *Анисимова И.В.* Заболевание слизистой оболочки полости рта и губ: клиника, диагностика / И.В. Анисимова, В.Б. Недосеко, Л.М. Ломиашвили. СПб.: ООО «МЕДИ издательство», 2005. 92 с.
2. Поступление серебра в слюну у лиц, пользующихся металлизированными пластмассовыми протезами / Л.Д. Гожая, Я.Т. Назаров, М.Д. Широкова, Т.И. Плетнева // *Стоматология*. 1980. № 1. С. 41–42.
3. *Пыцкий В.И.* Аллергические заболевания / В.И. Пыцкий, Н.В. Адрианова, А.В. Артомасова. М.: Триада-Х, 1999. 470 с.
4. *Цимбалистов А.В.* Факторы местной иммунореактивности у больных с непереносимостью стоматологических конструкционных материалов // А.В. Цимбалистов, Е.С. Михайлова, Н.В. Шабашова, Е.В. Фролова, С.М. Игнатьева // *Институт стоматологии*. 2005. № 1 (26). С. 66–68.
5. *Hermann P.* Study of the effects of alkali metals on some virulence characteristics of *Candida albicans*. / P. Hermann, K. Márton, E. Forgács // *Fogorv Sz.* 2003. Vol. 96. №2. P. 61–64.
6. Influence of surface modifications to titanium on oral bacterial adhesion in vitro / M. Yoshinari, Y. Oda, T. Kato, K. Okuda, A. Hirayama // *J Biomed Mater Res*. 2001. № 52. P. 388–394.
7. *Manns J.M.* Production of a hemolytic factor by *Candida albicans* / J.M. Manns, D.M. Mosser, H.R. Buckley // *Infect. Immun.* 1994. Vol. 62, № 5. P. 154–156.
8. *Marsh P.D.* The oral microflora – friend or foe? Can we decide? / P.D.Marsh, R.S. Persival // *Int. Dent.* 2006. Vol. 56, № 4. P. 233–239.
9. *Shulman J.D.* Risk factors associated with denture stomatitis in the United States / Shulman J.D., Rivera-Hidalgo F., Beach M.M. // *Journal of Oral Pathology & Medicine*. 2005. Vol. 34, № 6. P. 340–346.