УДК 616.31-022-078:616.314-089.28

Б.Ж. НЫСАНОВА, К.Д. АЛТЫНБЕКОВ, Б.А. РАМАЗАНОВА, К.К. МУСТАФИНА, А.К. АЛТЫНБЕКОВА

Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова, г. Алматы, Казахстан

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО СПЛАВА «STOMET-2KZ» НА СОСТОЯНИЕ МИКРОФЛОРЫ ПОЛОСТИ РТА

Нысанова Б.Ж.

В настоящее время сплавы, изготавливаемые на основе кобальта и хрома, широко применяются для создания зубных протезов. Эти сплавы отвечают важнейшему требованию, предъявляемому к материалам, – биологическая совместимость. Для изучения этих свойств можно использовать штаммы микроорганизмов в качестве тест-объектов, что дает возможность проследить влияние металлов за короткий промежуток времени на несколько поколений клеток.

Цель исследования. *Изучение влияния отечественного стоматологического сплава «STOMET-2KZ» на состояние микрофлоры полости рта с целью оценки рациональности его использования в ортопедической стоматологии.*

Материал и методы. *Для изучения воздействия вышеуказанного сплава на рост микроорганизмов в эксперименте in vitro использовали музейные штаммы аэробных микроорганизмов – представителей резидентной и транзиторной микрофлоры полости рта: Str. salivarius, S. aureus, E. coli, Klebsiella, Candida albicans. Было проведено исследование качественного и количественного состава аэробной микрофлоры полости рта при применении отечественного сплава «STOMET-2KZ» Co – 63%, Cr – 23%, Mo – 3%, Si – 2%, Nb – 1%, Bi – 8%.*

Результаты и обсуждение. *В результате проведенных исследований было установлено, что опытный сплав не оказывал ингибирующего влияния на рост тест-штаммов микроорганизмов. Это подтверждается литературными данными о том, что действие солей металлов, входящих в состав сплавов, на продолжительность фаз роста неоднозначно. Ионы кобальта вызывают незначительную задержку роста микробов, а ионы хрома влияния на динамику роста не оказывают.*

Вывод. *Результаты исследования показывают достаточно высокий уровень микробной колонизации полости рта при применении зубных протезов сплава «STOMET-2KZ» представителями резидентной флоры полости рта.*

Ключевые слова: *микробиология, сплав, микроорганизмы, культура, ортопедия.*

Полость рта является «биологическим термостатом» для микроорганизмов благодаря наличию в ней оптимальной температуры, повышенной влажности, реакции среды, близкой к нейтральной, наличию питательных веществ, а также архитектоники ротовой полости. Применяемые в современной стоматологии протезные конструкции влияют на качественный и количественный состав микрофлоры полости рта. При этом микрофлора является составной частью биологической системы, влияющей на срок службы зубного протеза [1].

Цель исследования – изучение влияния отечественного стоматологического сплава «STOMET-2KZ» на состояние микрофлоры полости рта с целью оценки рациональности его использования в ортопедической стоматологии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для изучения воздействия вышеуказанного сплава на рост микроорганизмов в эксперименте in vitro использовали музейные штаммы аэробных микроорганизмов – представителей резидентной и транзиторной микрофлоры полости рта: Str. salivarius, S. aureus, E. coli, Klebsiella, Candida albicans.

Было проведено исследование качественного и количественного состава аэробной микрофлоры полости рта при применении отечественного сплава «STOMET-2KZ» Co – 63%, Cr – 23%, Mo – 3%, Si – 2%, Nb – 1%, Bi – 8%.

Количество больных – 16 человек, из них женщин 9, мужчин 7 в возрасте от 42 до 72 лет. Количество изготовленных металлокерамических зубных протезов: одиночных коронок 12 единиц, мостовидных протезов 28 единиц. Пациенты в основном были с дефектами зубных рядов III и IV класса по Кеннеди на обеих челюстях.

Для исследования микрофлоры забор материала производился со слизистой, находящейся под протезом, по методике Р.Н. Ребровой. Микробиологические исследования проводились до протезирования и повторно через 1 и 6 месяцев после установки зубного протеза. Перед забором материала пациент дважды полоскал рот дистиллированной водой. Забор материала осуществлялся с помощью стерильного ватного тампона, помещенного в пробирку с 1 мл 0,85% стерильного физиологического раствора. Перед посевом пробирку с тампоном встряхивали в течение 2 минут, тампон отжимали о стенку пробирки и производили посев по 0,1 мл на плотные питательные среды – кровяной агар, желточно-солевой агар (ЖСА), Эндо, Сабуро. Посевы инкубировали в термостате при 37°С в течение 24 часов, а среды Сабуро – до

Контакты: Нысанова Бахыт Жакеновна, канд.мед.наук, доцент кафедры ортопедической стоматологии КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова, г. Алматы. Тел.: + 7 701 777 01 39, e-mail: nisanbahit@mail.ru

Contacts: Bakhit Zhakenovna Nissanova, Candidate of Medical Sciences, Associated Professor of department of Orthopedic Dentisrty of KazNMU n.a. S.D. Asfendiyarov, Almaty c. Ph.: + 7 701 7770139, e-mail: nisanbahit@mail.ru

7 суток. Производили подсчет выросших на чашке колоний (КОЕ/мл) и идентификацию микроорганизмов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В результате проведенных исследований было установлено, что опытный сплав не оказывал ингибирующего влияния на рост тест-штаммов микроорганизмов. Это подтверждается литературными данными о том, что действие солей металлов, входящих в состав сплавов, на продолжительность фаз роста неоднозначно [2, 3]. Ионы кобальта вызывают незначительную задержку роста микробов, а ионы хрома влияния на динамику роста не оказывают [4, 5, 6].

Полученные нами данные, видимо, свидетельствуют о том, что концентрация металлов в изучаемом виде сплава недостаточна для оказания токсического влияния на жизненно важные клеточные компоненты бактериальной клетки как непатогенных, так и патогенных видов микроорганизмов [7], что, видимо, дает основание для рекомендации его для изготовления зубных протезов.

Таблица 1 – **Влияние сплава «STOMET-2KZ» на рост тест-культур**

Наименование микроорганизма	Зона задержки роста (d, mm)
Str. salivarius	-
S. aureus	-
E. coli	-
Klebsiella	-
Candida albicans	-
Примечание: «-» – отсутствие чувствительности	

Использование протезных конструкций является одним из путей восстановления функциональной активности зубочелюстной системы. У пациентов они становятся неотъемлемой частью биологической среды и оказывают как позитивное, так и негативное влияние на состояние полости рта (в частности на качественный и количественный состав микрофлоры) и на весь организм в целом [8].

Анализ показал, что в течение 1 месяца после установки зубного протеза «STOMET- 2KZ» происходило снижение общего микробного числа (ОМЧ), а через полгода увеличение обсемененности полости рта микроорганизмами вследствие адаптации всего организма, оральной среды и в том числе микроорганизмов к зубному протезу. В течение месяца ОМЧ достигло $1,3x10^3$ КОЕ/мл, а через 6 месяцев возросло в сравнении с начальным состоянием на $1,1x10^3$ КОЕ/мл (табл. 2).

Таблица 2 – **Интенсивность обсеменения микроорганизмами слизистой у пациентов с зубными протезами сплава «STOMET-2KZ» в зависимости от времени использования (КОЕ/мл)**

Время / ОМЧ (КОЕ/мл)	До протезирования	Через 1 мес.	Через 6 мес.
	$2,2x10^3$	$1,3x10^3$	$3,3x10^3$

Видимо, сложившаяся картина объясняется тем, что данный сплав является более эффективным по механическим свойствам и, в то же время, более биосовместимым, за счет сниженного, в отличие от других сплавов, в нем количества хрома (на 1%) и большим содержанием кобальта (63%). Помимо этого данный сплав стимулирует активность каталазы (данные биохимических исследований проекта), что, в свою очередь, ведет к усилению адгезии микроорганизмов к слизистой полости рта [9, 10].

Одновременно с изучением количественного состава был произведен анализ качественного состава аэробной микрофлоры полости рта.

Как видно из диаграммы, у 100% пациентов на протяжении всего периода исследования встречался зеленящий стрептококк и диплококки, как представители нормальной микрофлоры полости рта. После протезирования в полости рта обследуемых появлялись такие микроорганизмы, как E. coli, S. aureus, грибы рода Candida. Анализ диаграммы показывает, что частота встречаемости вышеуказанных микроорганизмов достигала 15-30%. Следует отметить, достаточно большой процент встречаемости Klebsiella (до 80% случаев) (рис. 1).

Помимо этого микроорганизмы полости рта сосуществуют в ассоциациях. В частности, ассоциация S. aureus + Candida обладает высокой адгезивной активностью к слизистой полости рта [9, 10]. Применение протезной конструкции привело к незначительному снижению pH ротовой полости, что также способствовало появлению E. coli, S. aureus, Klebsiella, Candida. Немаловажен и факт недостаточного соблюдения гигиены полости рта самими пациентами. Об этом свидетельствует высокий процент встречаемости Klebsiella (80%).

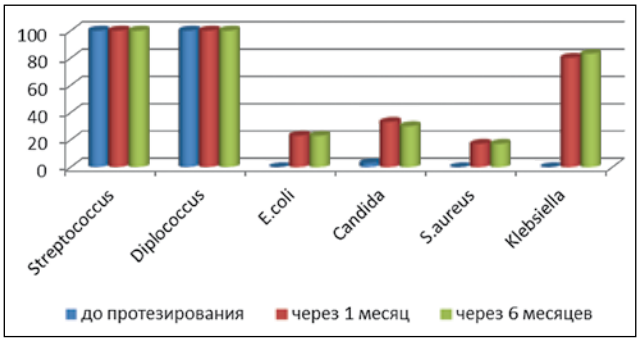

Рисунок 1 – Частота встречаемости микроорганизмов у лиц с зубными протезами сплава «STOMET-2KZ» (%)

Следует отметить и частоту встречаемости грибов рода кандида (около 30%). Видимо, химические компоненты, входящие в состав ортопедической конструкции, оказывают небольшое влияние на слизистую полости рта, в результате чего отмечено незначительное снижение факторов местной иммунной защиты и, как следствие, увеличение количества условно-патогенной флоры (в частности Candida).

Анализ приведенных данных обсемененности полости рта различными видами микроорганизмов показал, что наибольшая обсемененность приходится на зеленящий стрептококк и диплококки. Следует отметить, что высокая обсемененность данными видами микроорганизмов остается на протяжении всего периода исследования. Видимо, это связано с тем, что данные микроорганизмы являются представителями аутофлоры полости рта, а применяемые конструкции не оказывают заметного влияния на них. Если в течение первого месяца использования зубного протеза

Таблица 3 – **Качественный состав и степень обсемененности микроорганизмами при применении сплава «STOMET-2KZ» (ОМЧ, КОЕ/мл)**

Микроорганизм	До протезирования	Через 1 мес.	Через 6 мес.
Зеленящий стрептококк	$7,7x10^3$	$2,8x10^3$	$4,6x10^3$
Диплококки	$2,4x10^3$	$1,4x10^3$	$1,9x10^3$
Klebsiella	-	$3,4x10^2$	$2,2x10^2$
E. coli	-	$2,3x10^2$	$1,3x10^2$
S. aureus	-	$0,7x10^2$	$0,2x10^2$
Candida	$0,1x10^1$	$0,6x10^2$	$0,4x10^2$

количество вышеуказанных микроорганизмов уменьшилось, что, видимо, связано с «гипоксическим» влиянием кобальта [11], входящего в состав конструкции, то через 6 месяцев отмечена тенденция к их количественному восстановлению.

При анализе количественного изменения E. coli, S. aureus, Klebsiella, Candida отмечена тенденция к их снижению к 6 месяцам использования зубного протеза, что свидетельствует, видимо, об адаптации микрофлоры и всего организма к применяемой ортопедической конструкции.

С другой стороны, видимо, сказывается и влияние кобальта, входящего в состав конструкции, на развитие микроорганизмов, способных синтезировать витамин B_{12} (например, E. coli) [6]. Это могло привести к созданию условий для развития аутофлоры и факторов местной иммунной защиты, так как данный витамин принимает активное участие в метаболизме микроорганизмов.

Согласно литературным данным [6] кобальт оказывает более угнетающее действие на грамположительные микроорганизмы по сравнению с грамотрицательными, что, видимо, связано со строением клеточной стенки. Анализ полученных нами данных показал наименьший процент встречаемости и обсемененности полости рта грампозитивным микроорганизмом – S. aureus.

ВЫВОДЫ

Таким образом, результаты исследования показывают достаточно высокий уровень микробной колонизации полости рта при применении зубных протезов сплава «STOMET- 2KZ» представителями резидентной флоры полости рта. Применяемая ортопедическая конструкция не оказала выраженных изменений на количественный и качественный состав микрофлоры полости рта, что, видимо, позволяет рекомендовать ее к применению в ортопедической стоматологии.

Прозрачность исследования

Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых и других взаимоотношениях

Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы не получали гонорар за статью.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1 Биосовместимость титановых сплавов медицинского назначения // Научно-практический журнал «Наука и инновации». – 2009. – №2 (72)

2 Холопов Ю.А. Тяжелые металлы как фактор экологической опасности: Методические указания к самостоятельной работе по экологии для студентов. – Самара: СамГАПС, 2003. – 42 с.

3 Чубуков В.Ф. Микробы запасают металлы // Химия и Жизнь. – 1982. – №11. – С. 53-55

4 Иванова Е.П., Горшкова Н.М., Куриленко В.В. Толерантность к солям тяжёлых металлов морских протеобактерий родов Pseudoalteromonas и Alteromonas // Микробиология. – 2001. – Т. 70, №2. – С. 283–285

5 Сомов Г.П., Бузолёва Л.С. Адаптация патогенных бактерий к абиотическим факторам окружающей среды. – Владивосток: ОАО «Примполиграфкомбинат», 2004. – 167 с.

6 Лауринавичене Д. Влияние кобальта, меди и карбамида на жизнедеятельность микроорганизмов рубца жвачных животных. Автореф. дисс. на соискание ученой степени кандидата биологических наук, Вильнюсский государственный университет им. В. Капсукаса.

7 Алексеева А.Н., Анисимов Д.А., Хоменко В.А. Изменение состава белков оболочки и липополисахарида у кадмий устойчивых псевдомонад // Биол. Мембраны. – 1991. – Т. 8, №8. – С. 800–804

8 Нысанова Б.Ж., Алтынбеков К.Д., Алтынбекова А.К., Текемурат К.С., Белтенова А.Г. Клинические случаи применения замкового крепления «Сека-системы» при ортопедическом лечении различных дефектов зубных рядов // Medicine (Almaty). – 2016. – No. 6 (168). – P. 69-73

9 Montenegro M.S., Garcia de Oliveira E.M., Lopes A.C., Volpato S.P. Comparison of denture microwave disinfection and conventional antifungal therapy in the treatment of denture stomatitis: a randomized clinical study // Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology. – 2012. – Vol. 114(8). – P. 469-479

10 Chandra J., Kuhn D.M., Mukherjee P.B. et al. Biofilm formation by the fungal pathogen Candida albicans: development, architecture, and drug resistance // J. Bacteriol. – 2001. – Vol. 183. – P. 5385-5394

11 Кудрин А.В. Металлы и протеолитические ферменты // Вопр. биол. мед. фарм. химии. – 1999. – № 3. – С. 19-24

REFERENCES

1 The biocompatibility of titanium alloys for medical purposes. *Nauchno-prakticheskii zhurnal «Nauka i innovacii» = Scientific and practical journal "Science and Innovation"*. 2009;2(72) (In Russ.)

2 Holopov YA. *Tyazhelye metally kak faktor ekologicheskoi opasnosti: Metodicheskie ukazaniya k samostoyatelnoi rabote po ekologii dlya studentov* [Heavy metals as a factor of environmental hazards: Methodical instructions for independent work on environment for students]. Samara: SamSUC; 2003. P. 42

3 Chubukov VF. Microbes stockpile metals. *Khimiya i Zhizn = Chemistry and Life*. 1982;11:53-5 (In Russ.)

4 Ivanova EP, Gorshkova NM, Kurylenko VV. Tolerance to the salts of heavy metals marine proteobacteria birth Pseudoalteromonas and Alteromonas. *Mikrobiologiya = Microbiology*. 2001;70(2):283–5 (In Russ.)

5 Somov GP, Buzoleva LS. *Adaptaciya patogennykh bakterii k abioticheskim faktoram okruzhaiushhei sredy* [Adaptation of pathogenic bacteria to abiotic environmental factors]. Vladivostok: JSC "Primpoligrafkombinat"; 2004. P. 167

6 Laurinavichene D. *«Vliyanie kobalta, medi i karbamida na zhiznedeatelnost mikroorganizmov rubca zhvachnykh zhivotnykh». Avtoref. diss. na soiskanie uchenoi stepeni kandidata biologicheskikh nauk, Vilniusskii gosudarstvennyi universitet im. V. Kapsukasa* ["The influence of cobalt, copper and urea on the activity of microorganisms rumen of ruminant animals." Author. diss. for the degree of candidate of biological sciences, Vilnius State University. Kapsukas].

7 Alekseeva AN, Anisimov DA, Khomenko VA. Changes in the composition of proteins from membrane and lipopolysaccharide of Pseudomonas kadmiyustoychivykh. *Biol. Membrany = Biol. Membrane.* 1991;8(8):800-4 (In Russ.)

8 Nissanova BZh, Altynbekov KD, Altynbekova AK, Tekemurat KS, Beltenova AG. Clinical cases of tool retention "seka-system" in orthopedic treatment of various dental defects. *Medicine (Almaty).* 2016;6(168):69-73 (In Russ.)

9 Montenegro MS, Garcia de Oliveira EM, Lopes AC., Volpato SP. Comparison of denture microwave disinfection and conventional antifungal therapy in the treatment of denture stomatitis: a randomized clinical study. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology.* 2012;114(8):469-79

10 Chandra J, Kuhn DM, Mukherjee PB. et al. Biofilm formation by the fungal pathogen Candida albicans: development, architecture, and drug resistance. *J. Bacteriol.* 2001;183:5385-94

11 Kudrin AV. Metals and proteolytic enzymes. *Vopr. biol. med. farm. khimii = Questions biol. med. Pharm. chemistry.* 1999;3:19-24 (In Russ.)

Т Ұ Ж Ы Р Ы М

Б.Ж. НЫСАНОВА, К.Д. АЛТЫНБЕКОВ, Б.А. РАМАЗАНОВА, К.К. МУСТАФИНА, А.К. АЛТЫНБЕКОВА

С.Ж. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университеті, Алматы қ., Казақстан

«STOMET-2KZ» СТОМАТОЛОГИЯЛЫҚ ҚОРЫТПАСЫНЫҢ АУЫЗ ҚУЫС МИКРОФЛОРАСЫНЫҢ ЖАҒДАЙЫНА ЫҚПАЛЫН ЗЕРТТЕУ

Қазіргі уақытта тіс протезін жасау үшін кеңінен кобальт және хром негізінде дайындалған қорытпалар пайдаланылады. Бұл қорытпалар ең маңызды талаптарға сай және материалдар биологиялық үйлесімділікке ие. Осы қасиеттерін зерттеу үшін микроорганизмдердің штамдарын сынақ объектілері ретінде пайдалануға болады және қысқа уақыт ішінде материалдардың бірнеше ұрпаққа әсерін байқауға мүмкіндік береді.

Зерттеудің мақсаты. STOMET-2KZ отандық стоматологиялық қорытпасын ауыз микрофлорасының деңгейінде зерттеп, ұтымдылығын бағалау. Зерттеу әдістері мен құралдары.

Материал және әдістері. Жоғарыдағы қорытпаның микроорганизмдердің өсуіне, эксперимент жүзінде зерттеуге, аэробты микроорганизмдердің музейлік штамдары қолданылған, ауыз қуысының резиденттік және транзиторлық микрофлора өкілдері: Str. salivarius, S. aureus, E. coli, Klebsiella, Candida albicans. Отандық қорытпа «STOMET- 2KZ» Co – 63%, Cr – 23%, Mo – 3%, Si – 2%, Nb – 1%, Bi – 8% қолданылуымен ауыз қуысында аэробты микрофлораға сапалық және сандық зерттеу жүргізілген.

Нәтижелері және талқылануы. Зерттеулер нәтижесінің қорытындысы бойынша, зерттелген сынақ ингибирлеуші тест – штаммдар микроорганизмдердің өсуіне әсер етпеді. Бұл өсу кезеңінің ұзақтығы, қорытпалар тиесілі металл тұздарының әсері мағыналы екенін әдебиет деректері растайды. Кобальт иондары микробтардың өсуін тежейді, ал хром иондары динамикалық өсуіне әсер етпейді.

Қорытынды. Зерттеулер нәтижесінің көрсетуі бойынша, микроб колонияларының ауыз қуысының, тіс протездеріне қабылдау үшін жоғарғы дәрежелі қорытпа өкілі, табиғи резидентті «STOMET- 2KZ».

Негізгі сөздер: *микробиология, қорытпа, микроорганизмдер, дақыл, ортопедия.*

S U M M A R Y

B.Z. NYSANOVA, K.D. ALTYNBEKOV, B.A. RAMAZANOVA, K.K. MUSTAFINA, A.K. ALTYNBEKOVA

Kazakh National Medical University n.a. S.D. Asfendiyarov, Almaty c., Kazakhstan

STUDY DENTAL ALLOYS «STOMET-2KZ» ON THE STATE ORAL MICROFLORA

Currently alloys manufactured on the basis of cobalt and chromium are widely used to create a dental prosthesis. These alloys meet the most important requirements for materials – biological compatibility. To study the properties of these strains of microorganisms can be used as test objects, which enables the influence of trace metals in a short period of time by several generations of cells.

Objective. To study the effect of the domestic dental alloy «STOMET-2KZ» on the state of oral microflora to assess the rationality of its use in prosthetic dentistry.

Material and methods. To study the effects of the above-mentioned alloy on the growth of microorganisms in the in vitro experiment using museum strains of aerobic microorganisms – representatives of resident and transient flora of the oral cavity: Str. salivarius, S. aureus, E. coli, Klebsiella, Candida albicans study of the qualitative and quantitative composition of microflora aerobic oral application was conducted in domestic alloy «STOMET-2KZ» Co – 63%, Cr – 23%, Mo – 3%, Si – 2%, Nb – 1%, Bi – 8%.

Results and discussion. As a result of studies, it was found that the alloy does not experienced exerted inhibitory effect on the growth of test microorganism strains. This confirmed the literature data that the effect of salts of metals belonging to the alloys for the duration of the growth phase is ambiguous. cobalt ions cause a minor delay in the growth of microbes, and chromium ions impact on the growth dynamics have not.

Conclusions. The results show a fairly high level of microbial colonization of the oral cavity with the use of dental prostheses alloy «STOMET- 2KZ» representatives of the resident flora of the mouth.

Key words: *microbiology, alloy, micro-organisms, culture, orthopedics.*

Для ссылки: *Нысанова Б.Ж., Алтынбеков К.Д., Рамазанова Б.А., Мустафина К.К., Алтынбекова А.К. Изучение влияния стоматологического сплава «Stomet-2KZ» на состояние микрофлоры полости рта // Medicine (Almaty). – 2016. – No. 11 (173). – P. 120-123*

Статья поступила в редакцию 07.11.2016 г.

Статья принята в печать 14.11.2016 г.