



УКРАЇНА

(19) UA (11) 13924 (13) U
(51) МПК (2006)
A61K 6/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ АДГЕЗИВНОЇ ЗДАТНОСТІ МІКРООРГАНІЗМІВ ДО СТОМАТОЛОГІЧНИХ МАТЕРІАЛІВ, ЩО ЗАСТОСОВУЮТЬСЯ ДЛЯ ПРОТЕЗУВАННЯ

1

2

(21) u200510779

(22) 14.11.2005

(24) 17.04.2006

(46) 17.04.2006, Бюл. № 4, 2006 р.

(72) Лобань Галина Андріївна, Федорченко Віра Іванівна, Череди Вікторія Володимирівна

(73) Лобань Галина Андріївна, Федорченко Віра Іванівна, Череди Вікторія Володимирівна

(57) Спосіб оцінки адгезивної здатності мікроорганізмів до стоматологічних матеріалів, що застосовуються для протезування, який включає виготовлення з досліджуваних матеріалів дисків, приготування зависі тест-культур, інкубацію у цій зависі досліджуваних зразків матеріалів, наступне їх вміщення у фізіологічний розчин, відбитки матеріалів на поверхню щільних живильних середовищ та підрахунок кількості ізольованих колоній, що виростили із прилиплих до зразка матеріалу, який

відрізняється тим, що при видаленні адгезованих мікроорганізмів проводять струшування дисків, вміщених у стерильний фізіологічний розчин, протягом різного часу у різних серіях (5, 10 та 15 хвилин), здійснюють кількісний висів мікроорганізмів з цих фізіологічних розчинів, а також механічний розподіл мікроорганізмів, перенесених із зразка матеріалу на поверхню живильного середовища під час здійснення відбитку, після цього виконують комплексну оцінку адгезивної здатності мікроорганізмів до стоматологічних матеріалів, що застосовуються для протезування, з наступним віднесенням матеріалів до однієї з таких категорій: матеріали з низькою адгезивною здатністю мікроорганізмів; матеріали із середньою адгезивною здатністю мікроорганізмів; матеріали з високою адгезивною здатністю мікроорганізмів.

Запропонована корисна модель відноситься до галузі медицини, а саме до мікробіології.

Відомий спосіб оцінки адгезивної здатності мікроорганізмів полягає у тому, що суспензію мікроорганізмів у заданих концентраціях додавали до стерильних зразків матеріалів та інкубували при температурі 30°C протягом 48 годин та 2 тижнів. Для видалення неадгезованих до поверхні зразків клітин зливали фізіологічний розчин з пробірок з матеріалом з наступним ополіскуванням стерильним фізіологічним розчином. Для визначення адгезованих в процесі інкубації мікробних клітин відмиті зразки заливали 3мл стерильного фізіологічного розчину та обробляли в ультразвуковому сонікаторі за частоти хвилі 45кГц протягом 1хв з наступним центрифугуванням у Vortex при максимальних оборотах. Центрифугати кожного зразка висівали на поверхню щільного живильного середовища в чашку Петрі, інкубували при температурі 30°C протягом 48 годин та визначали кількість колонієутворюючих одиниць (КУО) у розрахунку на 1мм² поверхні зразка [Л. Ростока, Ю. Кройча, В. Кузнецова и др. Адгезия Candida albicans к корригирующим пластмассам, использо-

емым при ортопедическом лечении съемными протезами. Стоматология, №5, 2004, с.14-16].

Найбільш близьким до запропонованого нами є спосіб оцінки адгезивної здатності мікроорганізмів [С.Д. Арутюнов, Н.В. Романенко, В.Н. Царев. Сравнительная оценка адгезивной способности резидентной микрофлоры полости рта к стоматологическим материалам, применяемым для пародон-тальных повязок. Пародонтология, №1(30) 2004, с.48-51], який застосовують для визначення адгезивної здатності мікроорганізмів до стоматологічних матеріалів та здійснюють наступним чином:

В якості тест-штамів використовували добові культури мікроорганізмів, на поверхню досліджуваних зразків матеріалів розміром 0,3x0,3см вміщували зависі тест-культур, інкубація відбувалась при кімнатній температурі протягом 10 хвилин, надалі здійснювали промивання зразків у 100мл стерильного фізіологічного розчину із застосуванням ультразвуку протягом 2 хвилин (частота 60кГц) у апараті «Вагнер» (Фінляндія), після промивання зразки прикладали до поверхні живильного середовища тою стороною, на яку наносили

(13) U

(11) 13924

(19) UA

суміш мікроорганізмів та злегка притискали пінцетом до отримання відбитка і процедуру повторювали 4 рази, потім бак-реріологічною петлею здійснювали механічний розподіл мікроорганізмів, перенесених із зразка матеріалу на поверхню живильного середовища, після завершення часу культивування проводили підрахунок кількості ізольованих колоній, що виростили з прилиплих до зразка матеріалу мікроорганізмів.

Недоліками відомого способу є:

1. Обробка ультразвуком за характером впливу не відповідає тим гігієнічним заходам, які застосовують пацієнти для догляду за зубними протезами і тому не може свідчити про можливість підтримання задовільно гігієнічного стану зубних протезів, що використовуються.

2. Центрифугування зразків за відомим способом призводить до осадження мікроорганізмів на дно пробірок, що призводить до зменшення точності кількісного висіву бактерій. Також він не передбачає контролю кількості мікроорганізмів, що залишились адгезованими до поверхні матеріалу після впливу ультразвуку.

3. Спосіб, найбільш близький до запропонованого нами, не дає змоги оцінити кількість мікроорганізмів, які були адгезовані до поверхні матеріалу та відділились під впливом ультразвуку. Також за умов здійснення механічного розподілу мікроорганізмів по поверхні живильного середовища певна частина бактерій залишається на бактеріологічній петлі, що знижує точність отриманих результатів.

Ці недоліки способу є причиною ускладненого його виконання, а отже, і впровадження у повсякденну роботу, що здійснюється з метою оцінки адгезивної здатності мікроорганізмів.

В основу запропонованої корисної моделі поставлене завдання розробити принципово новий спосіб оцінки адгезивної здатності мікроорганізмів, що може сприяти удосконаленню критеріїв оцінки якості матеріалів для протезування зубів.

Поставлене завдання вирішують створення способу, що включає виготовлення з досліджуваних матеріалів дисків діаметром 1,5 см та завтовшки 2 мм, витримання їх протягом 24 годин у 10 мл суспензії культури мікроорганізмів, яку готували за стандартом мутності (500000 мікробних тіл у 1 мл), надалі - стандартні промивання у 10 мл стерильного фізіологічного розчину із застосуванням апарату для струшування (у різних серіях дослідження промивання тривало 5, 10, або 15 хвилин), оцінку адгезивної здатності мікроорганізмів до матеріалів за концентрацією мікробних тіл в кожному з промивних фізіологічних розчинів за стандартною таблицею після секторного висіву на цукровий агар у чашки Петрі, а також після промивань робили відбиток диску на цукровий агар в чашці Петрі і критерієм оцінки адгезивної активності матеріалів на цьому етапі дослідження була кількість колоній у відбитку.

Спосіб здійснюють наступним чином

Необхідно оцінити адгезивну здатність мікроорганізмів до матеріалів, що застосовуються для протезування зубів. З досліджуваних матеріалів виготовляють диски діаметром 1,5 см та завтовшки 2 мм. Для оцінки адгезивної здатності мікрооргані-

змів до матеріалів диски витримують протягом 24 годин у 10 мл суспензії мікроорганізмів, яку готують за стандартом мутності (500000 мікробних тіл у 1 мл). Диски піддають стандартним промиванням у 10 мл стерильного фізіологічного розчину із застосуванням апарату для струшування. У різних серіях дослідження промивання триває 5, 10, або 15 хвилин. Оцінку адгезивної здатності мікроорганізмів до матеріалів проводять, підраховуючи концентрацію мікробних тіл в кожному з промивних фізіологічних розчинів. Підрахунок здійснюють за стандартною таблицею після секторного висіву на цукровий агар у чашки Петрі. Стабільність показника у всіх трьох серіях може свідчити як про те, що мікроби швидко змивались з поверхні диску, або навпаки - міцно прикріплювались до його поверхні і не змивались незалежно від часу струшування. Зростання кількості мікробних тіл від першої серії промивань до третьої може бути розцінене як доказ значної адгезивної здатності матеріалів.

Після промивань роблять відбиток диску на цукровий агар в чашці Петрі. Критерієм оцінки адгезивної активності матеріалів на цьому етапі дослідження є кількість колоній у відбитку.

Незмінно мала кількість мікробних тіл у трьох розчинах (менша за 1000 мікробних тіл в 1 мл) за умов малої кількості колоній у відбитку розцінюється як свідчення низької адгезивної здатності мікроорганізмів до матеріалів.

Зростання кількості мікроорганізмів у фізіологічних розчинах, що спостерігається із зростанням часу промивання (від значень менших за 1000 мікробних тіл в 1 мл до значень більших за 1000 мікробних тіл в 1 мл), розцінюється як ознака середньої адгезивної здатності мікроорганізмів до матеріалу.

Якщо концентрація мікробних тіл у розчинах залишається незмінно низькою (меншою за 1000 мікробних тіл в 1 мл), а кількість колоній у відбитку значною, то це розцінюється як прояв високої адгезивної здатності мікроорганізмів до матеріалів.

Запропонований нами спосіб відрізняється від відомого способу наступним:

1. Для видалення адгезованих мікроорганізмів запропонований спосіб передбачає струшування дисків, вміщених у стерильний фізіологічний розчин, із застосуванням апарату для струшування замість обробки ультразвуком;

2. Струшування дисків у стерильному фізіологічному розчині проводиться протягом різного часу (5, 10 та 15 хвилин), що дозволяє оцінити міцність прикріплення мікроорганізмів до матеріалу;

3. Відомий спосіб не передбачає підрахунку кількості мікроорганізмів, що лишились адгезованими до поверхні матеріалу після обробки ультразвуком;

4. Найбільш близький до запропонованого нами спосіб не враховує концентрацію мікроорганізмів, які залишались після промивання стерильним фізіологічним розчином, але від'єднались під дією ультразвуку.

Приклад

Необхідно оцінити адгезивну здатність мікроорганізмів до матеріалів, що застосовуються для

протезування зубів (наприклад таких широкоживих ортопедичних матеріалів як: полімерні (Сінма-М, фторакс та редонт) чи металеві (кобальт-хромова сталь (КХС), нікель-хром-титанова сталь (НХТС)). З перелічених матеріалів було виготовлено диски діаметром 1,5см та завтовшки 2мм. Для оцінки адгезивної здатності мікроорганізмів до матеріалів диски витримували протягом 24 годин у 10мл суспензії *Candida albicans*, яку готували за стандартом мутності (500000 мікробних тіл у 1мл). Диски піддавались стандартним промиванням у 10мл стерильного фізіологічного розчину із застосуванням апарату для струшування. У різних сері-

ях дослідження промивання тривало 5, 10, або 15 хвилин. Оцінку адгезивної здатності мікроорганізмів до матеріалів проводили, підраховуючи концентрацію мікробних тіл в кожному з промивних фізіологічних розчинів. Підрахунок здійснювали за стандартною таблицею після секторного висіву на цукровий агар у чашки Петрі. Після промивань робили відбиток диску на цукровий агар в чашці Петрі. Критерієм оцінки адгезивної здатності мікроорганізмів до матеріалів на цьому етапі дослідження була кількість колоній у відбитку. Отримані результати наведені в таблицях 1 та 2.

Таблиця 1

Концентрація мікробних клітин у промивних фізіологічних розчинах в залежності від часу промивання

Матеріали для протезування	Концентрація мікробних тіл		
	5 хвилин	10 хвилин	15 хвилин
Сінма-М	<1000	<1000	<1000
Фторакс	<1000	<1000	<1000
Редонт	<1000	<1000	<1000
КХС	<1000	<1000	3000
НХТС	<1000	<1000	<1000

Таблиця 2

Кількість колоній у відбитках дисків в залежності від часу попереднього промивання

Матеріали для протезування	Кількість колоній		
	5 хвилин	10 хвилин	15 хвилин
Сінма-М	Не підраховуються	Не підраховуються	50-60
Фторакс	Не підраховуються	Не підраховуються	50-60
Редонт	Не підраховуються	Не підраховуються	Не підраховуються
КХС	Не підраховуються	Не підраховуються	70-80
НХТС	Не підраховуються	Не підраховуються	Не підраховуються

Для аналізу отриманих результатів застосували такі критерії:

1) незмінно мала кількість мікробних тіл у трьох розчинах (менша за 1000 мікробних тіл в 1мл) за умов малої кількості колоній у відбитку розцінюється як свідчення низької адгезивної здатності мікроорганізмів до матеріалів;

2) зростання кількості мікроорганізмів у фізіологічних розчинах, що спостерігається із зростанням часу промивання (від значень менших за 1000 мікробних тіл в 1мл до значень більших за 1000 мікробних тіл в 1мл), розцінюється як ознака середньої адгезивної здатності мікроорганізмів до матеріалу;

3) якщо концентрація мікробних тіл у розчинах залишається незмінно низькою (меншою за 1000 мікробних тіл в 1мл), а кількість колоній у відбитку значною, то це розцінюється як прояв високої адгезивної здатності мікроорганізмів до матеріалів.

За вказаними критеріями досліджені матеріали поділили на такі групи:

1) низька адгезивна здатність мікроорганізмів до матеріалів Сінма-М та Фторакс;

2) середня адгезивна здатність мікроорганізмів до матеріалу КХС;

3) висока адгезивна здатність мікроорганізмів до матеріалів Редонт та НХТС.