

DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2024-28(2)-06

УДК: 616.31-002:616.242/.281.9

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ АНТИМІКРОБНОГО ЛАКУ ДЛЯ ОБРОБКИ ГОТОВИХ ПРОТЕЗІВ У ПРОФІЛАКТИЦІ ПРОТЕЗНИХ СТОМАТИТИВ

Юр А. М.

Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна)

Відповідальний за листування:
e-mail: lenovopmp566@gmail.com

Статтю отримано 23 лютого 2024 р.; прийнято до друку 29 березня 2024 р.

Анотація. На сьогодні протезний стоматит вважають класичною інфекцією, пов'язаною з формуванням біоплівки, тому в розробці методів профілактики цієї форми інфекції істотно місце займають заходи щодо попередження утворення біоплівки на поверхні протеза. Серед збудників протезного стоматиту значне місце посідають гриби *Candida*, тому метою нашого дослідження було вивчити вплив антимікробного покриття оригінальної рецептури для знімних протезів на адгезивні та плівкоутворюючі властивості кандид, які були виділені від пацієнтів з ознаками протезного стоматиту. У дослідженні були застосовані спектрофотометричні та мікробіологічні методи вивчення плівкоутворюючих властивостей мікроорганізмів на інтактних поверхнях та вкритих антимікробним лаком, отримані результати оброблені за допомогою статистичного пакету програми Microsoft Excell, достовірність різниці вибірок оцінювали за критерієм Ст'юдента ($p \leq 0,05$). Спектрофотометричним методом встановлено, що серед 25 клінічних штамів кандид більшість (18 штамів) були слабкими продуцентами біоплівки (коефіцієнт інтенсивності плівкоутворення (R_{OD}) знаходився в межах 1,13-1,5); 5 штамів мали більш виражений потенціал плівкоутворення (середній показник R_{OD} перевищував 2,3). За отриманими даними, клінічні штами *Candida albicans* утворювали біоплівку більш інтенсивно, ніж інші види виділених кандид. Встановлено, що плівкоутворюючі штами (середній показник R_{OD} становив 2,36) виявились неспроможними утворити біоплівку на поверхнях, покритих лаком, про що свідчить зниження коефіцієнта плівкоутворення до 0,7. На підставі мікробіологічного визначення кількості клітин, які відокремлювали ультразвуком з поверхні протезного полімеру, встановлено, що клінічні штами кандид здатні утворювати біоплівку на протезному матеріалі, однак покриття антимікробним лаком сприяє зменшенню їх адгезії та плівкоутворення в 1,7 та 2,8 разів відповідно. У перспективі планується провести клінічні спостереження застосування протезів з антимікробним покриттям у стоматологічних пацієнтів.

Ключові слова: профілактика протезного стоматиту, *Candida albicans*, плівкоутворення, антимікробний лак.

Вступ

Протезний стоматит - це запальне захворювання слизової оболонки ротової порожнини в зоні протезного ложа, яке виникає в 11-67% носіїв протезів, переважно жінок. Виникненню протезних стоматитів сприяють як системні фактори (похилий вік, супутні соматичні захворювання, які призводять до ослаблення системних та локальних механізмів захисту слизової оболонки, прийом імуносупресивних препаратів, онкологічні захворювання тощо), так і локальні фактори, пов'язані з травмою слизової оболонки в зоні протезного ложа погано підібраним протезом, дисбіотичними порушеннями мікробіому ротової порожнини, недостатнім гігієнічним доглядом за протезом та ротовою порожниною, постійним та тривалим носінням протеза [2, 8, 11].

На сьогодні протезний стоматит вважають класичною формою інфекції, розвиток якої пов'язаний з формуванням біоплівки, тому ефективно лікування стоматиту неможливе без застосування заходів, спрямованих на елімінацію біоплівки на протезі та запобігання її подальшому утворенню [1, 17]. Серед таких заходів істотне значення має ретельний гігієнічний догляд за ротовою порожниною та протезом, що передбачає не тільки регулярне механічне чищення протеза, а й низку антимікробних заходів: ополіскування ротової порожнини антисеп-

тичними розчинами, антимікробну обробку протеза тощо [4]. Сучасні підходи до профілактики протезного стоматиту охоплюють: вивчення адгезивної здатності мікроорганізмів, що зумовлюють протезні стоматити, до різних полімерних матеріалів, які застосовують для виготовлення протезів, з метою рекомендації найменш значущих у формуванні біоплівок для виготовлення знімних протезів [18]; застосування протезних матеріалів із додаванням сполук, які зменшують їх адгезуючі властивості [4, 9]. Окремим напрямком є застосування антимікробних сполук, які вводять у склад полімеру в процесі виготовлення протеза чи наносять у складі антимікробних покриттів на готовий виріб [3, 5, 7, 12, 16].

Вивчення етіологічних чинників протезного стоматиту, їх адгезивних та плівкоутворюючих властивостей, чутливості до арсеналу антимікробних препаратів, дозволених для локального використання, дозволить оптимізувати схеми лікування запальних процесів ротової порожнини, пов'язаних із наданням ортопедичної допомоги, а також запропонувати ефективні заходи їх профілактики.

Часте виділення *Candida spp.* з ураженої слизової оболонки в зоні прилягання протезів, а також мікробних біоплівок, утворених на протезах, дозволяє визначити

цю групу мікробіому ротової порожнини одним з провідних етіологічних факторів захворювання. Хронічний еритематозний атрофічний кандидоз вважають однією з найпоширеніших форм протезного стоматиту. Носіння протеза створює умови, які сприяють колонізації кандидами як самого протеза, так і слизової оболонки, яка прилягає до поверхні протеза [10]. Адгезовані до поверхні протезного матеріалу кандиди змінюють свої біологічні властивості, формують з іншими мікроорганізмами біоплівки, які стають постійним джерелом відновлення кандидат в зоні прилягання протеза, що підтримує розвиток запального процесу [20]. Встановлено, що кандиди є вторинними колонізаторами біоплівки, однак у деяких роботах їм відводять роль "наріжного каменя" в структурі біоплівки завдяки їх спроможності співіснувати з багатьма бактеріальними членами мікробної асоціації, здатності до утворення псевдоміцеліальних форм та створювати фізико-хімічні умови для підтримки бактерій, в тому числі облигатних анаеробів в структурі біоплівки, що призводить до стимуляції росту та метаболічної активності бактерій [13, 21].

Із врахуванням сучасного стану проблеми розвитку протезних стоматитів та значущості дріжджеподібних грибів роду *Candida* у їх розвитку була сформована мета нашої роботи - вивчити вплив антимікробного покриття оригінальної рецептури для знімних протезів на адгезивні та плівкоутворюючі властивості кандидат, які були виділені у пацієнтів з ознаками протезного стоматиту.

Матеріали та методи

Вивчення адгезивних та плівкоутворюючих властивостей проводили на 25 штаммах грибів роду *Candida*, що були виділені з уражених або інтактних ділянок слизової оболонки пацієнтів, які потребували заміни або встановлення протеза. Виділення та ідентифікація кандидат здійснювалися в бактеріологічній лабораторії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова в 2022-2023 рр. за загальноприйнятими критеріями. Усього було виділено та досліджено 20 клінічних штамів *Candida albicans*, 3 штами *Candida krusei* та 2 штами *Candida glabrata*.

Здатність виділених клінічних ізолятів грибів до утворення біоплівки оцінювали за спектрофотометричним методом у полістиролових 96-лункових планшетах відповідно до класичної методики, запропонованої Christensen G.D. (1985) та адаптованої для кандидат [6, 15], яка полягає у фарбуванні утворених в лунках планшету біоплівок 1% розчином кристалічного фіолетового з наступним вимиванням фарби з біоплівки та вимірюванням оптичної густини (OD) утворених розчинів. Здатність до плівкоутворення та інтенсивність утворення плівки оцінювали шляхом порівняння середніх значень OD в засіяних та інтактних лунках (негативний контроль) у кількості восьми повторів для кожного з клінічних ізолятів та негативного контролю.

Для внесення в лунки готували мікробні суспензії до-

бових культур клінічних штамів кандидат в рідкому поживному середовищі Сабуро в концентрації 0,5 одиниць за МасФарландом, яку контролювали за показаннями денситометра. Мікробні суспензії в об'ємі 0,2 мл вносили в кожну з восьми лунок рядка для формування достовірних середніх значень для кожного із штамів. Для порівняння інтенсивності плівкоутворення один рядок в планшеті заповнювали стерильним поживним середовищем по 0,2 мл в кожну лунку; середній показник оптичної густини в цьому рядку слугував контрольним значенням відсутності адгезії та формування біоплівки (негативний контроль). Інтенсивність плівкоутворення вивчали після інкубації засіяних планшетів в термостаті за температури 37°C протягом 48 год. Для виявлення утворених біоплівок лунки промивали дистильованою водою для видалення планктонних форм мікроорганізмів, надалі адгезовані до дна клітини фіксували 96% етанолом протягом 10 хв та зафарбовували 1% розчином кристалічного фіолетового впродовж 15 хв. Після промивання та підсушування профарбованих плівок в кожну лунку по 0,2 мл 96° спирту для вимивання барвника із забарвлених клітин та вимірювали оптичну густину (OD) на аналізаторі GBGChroMate 4300 (AwarenessTechnology, Inc., USA) за довжини хвилі 630 нм. Відповідні етапи (промивання, фіксація етанолом, підсушування, фарбування, промивання та елімінація фарби за допомогою етанолу) здійснювали в контрольному рядку планшету для отримання контрольних значень оптичної густини, які слугували критерієм відсутності адгезії та плівкоутворення.

За пороговий критерій здатності до плівкоутворення брали суму середньої оптичної щільності негативного контролю (OD_c) та потрібного значення стандартного відхилення від середнього значення (sd_c): $OD_c + 3 \times sd_c$.

Оцінювання клінічних штамів до плівкоутворення здійснювали шляхом порівняння середніх значень оптичної щільності для кожного штаму (OD) з пороговим критерієм. Для диференціації плівкоутворюючих штамів знаходили кратність (R_{OD}) перевищення OD штаму контрольного порогового критерію за формулою:

$$R_{OD} = OD / OD_c + 3 \times sd_c$$

Штами вважались нездатними утворювати плівку, якщо OD був менше чи дорівнював $OD_c + 3 \times sd_c$, тобто $R_{OD} \leq 1$. Якщо $1 < R_{OD} \leq 2$, то штам визначався як слабкий продуцент біоплівки, при значенні R_{OD} від двох до трьох штам оцінювали як плівкоутворюючий із середньою інтенсивністю, а у випадку, коли $R_{OD} \geq 3$, штам реєстрували як сильний продуцент біоплівки [20, 21].

З метою визначення впливу антимікробного лакового покриття на адгезію та плівкоутворення клінічних штамів кандидат, які мають виражену спроможність до утворення плівки, ми провели дослідження за описаною вище методикою, але у планшетах, лунки яких були покриті антимікробним лаком. Для оцінювання впливу антимікробного лакового покриття вираховували кратність перевищення порогового критерію (R_{ODa}) та порівнювали з R_{OD} для кожного штаму, який продемонстрував плівко-

утворюючи властивості на поверхні без антимікробного покриття.

Спектрофотометричне дослідження інтенсивності плівкоутворення виділених штамів кандид на полістиролової поверхні та поверхні, вкритій антимікробним лаком, виготовленим за оригінальною рецептурою, виконували на обладнанні бактеріологічної лабораторії кафедри мікробіології ВНМУ ім. М. І. Пирогова.

Здатність плівкоутворюючих клінічних штамів кандидат адгезуватись до поверхні стандартного протезного матеріалу та протезного матеріалу, вкритого антимікробним лаком, вивчалась на тест-об'єктах розмірами 1,5x1 см, які були виготовлені з протезного матеріалу. Дослідні зразки тест-об'єктів в асептичних умовах покривали трьома шарами лаку, контрольні зразки залишали без покриття. Адгезію та плівкоутворення кандидат на дослідних та контрольних зразках вивчали шляхом занурення тест-об'єктів у суспензію добової культури кандидат в концентрації 0,5 од за МакФарландом в середовищі Сабуро з наступною інкубацією в термостаті за температури 35° 180 хв (для вивчення адгезії) та 96 год (для утворення плівки). По закінченню інкубації та подвійного відмивання здійснювали відшарування адгезованих мікроорганізмів шляхом ультразвукової обробки в УЗ-очищувачі Ваку ВК - 9050 (Guangzhou Hanker Electronics Technology co., ltd., Китай) при частоті 40 kHz, потужності 50 w впродовж 10 хв.

Після завершення ультразвукової обробки для визначення кількості мікроорганізмів, які адгезувались до поверхні або утворили плівку, рідину, у якій проводили обробку тест-об'єкту, кількісно висівали на щільне середовище Сабуро в розведеннях 10^{-1} , 10^{-2} та 10^{-3} для підрахунку колонієутворювальних одиниць (КУО) на 1 мл. Розрахунок проводили шляхом визначення кількості колоній (n_1 , n_2 , n_3 відповідно) на поживному середовищі та перераховували мікробне навантаження в 1 мл із врахуванням розведення. Дослід з однією культурою повторювали на трьох контрольних та трьох вкритих протимікробним лаком тест-об'єктах. Для кожного з тест-об'єктів вираховували кількість елімінованих клітин в 1 мл ізотонічного розчину за формулою:

$$A = (n_1 \times 10 + n_2 \times 100 + n_3 \times 1000) / 3$$

Здатність до адгезії та інтенсивності плівкоутворення оцінювали за середньою кількістю мікроорганізмів, які були відшаровані ультразвуком з поверхні контрольних та вкритих антимікробним лаком зразків протезного матеріалу.

Як антимікробну складову покриття знімних протезів використовували вітчизняний антисептик декаметоксин [1,10-декандіаміній, N,N,N',N'-тетраметил-N,N-бис((2-метил-5-(1-метилетил)циклогексил)метил)-, дихлорид], який належить до групи поверхнево-активних антисептиків класу бісчетвертинних амонієвих сполук. Декаметоксин дозволений до застосування у стоматологічній практиці, входить до складу засобів для санації ротової порожнини у формі рідких та таблетованих лікарських

засобів (декасан, септефрил), розчинний у воді та 95% етанолі, що дозволяє вводити цей антисептик до складу водонерозчинного полімерного покриття для нанесення на поверхню протеза. Як основу антимікробного лаку використовували етиловий ефір оцтової кислоти, до якої додавали суспензійний сополімер етилового та бутилового ефірів у кількості 3,5 об% та розчинений у спирті декаметоксин в кількості 0,1% від загальної маси виготовленого лаку.

Статистичну обробку результатів плівкоутворюючих властивостей виділених кандидат проводили з використанням пакету прикладних програм Microsoft Excel (2010) з визначенням статистичних показників середньої арифметичної (\bar{X}), стандартного квадратичного відхилення середньої арифметичної (S_d); порівняння отриманих результатів вибірок проводили за критеріями FTEST, TTEST, визначення достовірності різниці отриманих результатів оцінювали за критерієм Ст'юдента ($p \leq 0,05$).

Протокол дослідження схвалений комісією з біомедичної етики Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (протокол № 7 від 1 жовтня 2020 року).

Наведені результати є частиною НДР "Оптимізація діагностики, ортопедичного лікування та профілактики патології зубощелепної системи" (Держреєстрація №0119U103951).

Результати. Обговорення

У результаті визначення інтенсивності плівкоутворення клінічних штамів кандидат, виділених з ротової порожнини стоматологічних пацієнтів, за допомогою спектрофотометричного методу (табл. 1) встановлено, що середні значення оптичної густини (OD) для клінічних штамів *C. albicans* і штамів кандидат non-albicans достовірно перевищують середнє контрольне значення ($0,21 \pm 0,014$) у 2 та 1,7 разів відповідно ($p \leq 0,05$), що свідчить про адгезію дослідних штамів до полістиролової поверхні та спроможність утворювати біоплівку. Визначення інтенсивності плівкоутворення проводилось на підставі вирахованого порогового критерію (cut-off) за формулою $OD_c + 3 \times sd_c$, де OD_c - середня оптична щільність негативного контролю, sd_c - стандартне відхилення від середнього значення, який на підставі отриманих даних дорівнював 0,252. Клінічні штами *C. albicans* у цілому мали показник OD на рівні $0,43 \pm 0,144$,

Таблиця 1. Спектрофотометрична оцінка плівкоутворюючих властивостей клінічних штамів кандидат.

Назва мікроорганізму	Кількість штамів	Середні значення OD (M+m)
<i>Candida albicans</i>	20	$0,43 \pm 0,144^1$
<i>Candida spp.</i>	5	$0,36 \pm 0,151^{1,2}$
Контроль	-	$0,21 \pm 0,014$

Примітки: ¹ - відмінності достовірні ($p \leq 0,05$) порівняно з контрольним значенням OD; ² - відмінність достовірні ($p \leq 0,05$) порівняно зі значенням OD для *C. albicans*.

Таблиця 2. Оцінка плівкоутворення виділених штамів кандид.

Назва мікроорганізму	Кількість штамів	Середні значення OD (M±m)	R _{OD} для групи
<i>Candida albicans</i>	2	0,21±0,019	0,82
	14	0,38±0,093	1,5
	4	0,61±0,087	2,43
<i>Candida krusei</i>	2	0,29±0,062	1,13
	1	0,59±0,148	2,3
<i>Candida glabrata</i>	2	0,33±0,064	1,31

а клінічні штами non-albicans кандид - 0,36±0,151 відповідно, отже, отримані дані перевищували пороговий критерій 0,252, що дозволило визначити виділені штами як плівкоутворюючі, причому здатність до плівкоутворення у клінічних ізолятів *C. albicans* була в 1,2 рази вища, ніж у інших видів кандид ($p \leq 0,05$), що корелює із результатами інших авторів [14, 18].

У зв'язку з тим, що в процесі нашого дослідження були виявлені внутрішньовидові та міжвидові розбіжності отриманих середніх значень OD, що свідчило про різну спроможність до утворення біоплівки та інтенсивність її утворення клінічними штамми, ми провели оцінювання інтенсивності плівкоутворення шляхом визначення коефіцієнта інтенсивності плівкоутворення (R_{OD}) для кожного із штамів. У результаті дослідні штами були розподілені на декілька груп (табл. 2).

Згідно з отриманими результатами 2 клінічних штамів *C. albicans* (10% від усіх досліджених штамів цього виду) були не спроможні утворювати біоплівку, оскільки середні значення OD для цих штамів було менше за пороговий показник 0,252; переважна більшість виділених штамів кандид (14 штамів *C. albicans* (70%), 2 штами *C. krusei* та обидва виділені штами *C. glabrata*) були ідентифіковані як слабкі продуценти біоплівки, тому що коефіцієнт інтенсивності плівкоутворення знаходився в межах 1,13-1,5 ($1 \leq R_{OD} \leq 2$). Однак 4 штами *C. albicans* та 1 штам *C. krusei* утворювали біоплівку більш інтенсивно, про що свідчив R_{OD} на рівні 2,43 та 2,3 відповідно. Отже, всі штами кандид, які утворювали плівки, були визначені як слабкі чи середні за інтенсивністю продуценти біоплівки, оскільки для жодного із виділених клінічних штамів коефіцієнт інтенсивності плівкоутворення не перевищував 3 [18].

Спроможність до плівкоутворення визначалась з метою відбору найбільш потужних продуцентів біоплівки серед виділених клінічних ізолятів кандид для перевірки впливу антимікробного покриття на здатність потенційних збудників протезних стоматитів утворювати плівку на поверхні обробленого протезного матеріалу. Для вивчення плівкоутворення кандид на поверхні, що була вкрита антимікробним лаком з декаметоксином, ми відібрали 5 штамів кандид, для яких R_{OD} був більше 2. Дослідження проводили спектрофотометричним методом відповідно до попередньо наведеної методики в лунках, дно яких покривали трьома шарами антимікробного лаку.

Аналогічно визначали OD і проводили розрахунки коефіцієнта плівкоутворення (R_{OD}) на підставі отриманих даних в дослідних та контрольних лунках (табл. 3).

Встановлено, що оптична густина в контрольних та засіяних кандидами лунках планшету, поверхня яких була оброблена антимікробним лаком, значно відрізнялась від відповідних показників на необробленій поверхні. Так, показники негативного контролю становили 0,97±0,410 та 0,22±0,011 на обробленій та необробленій поверхні відповідно. У лунках, де відбувалось утворення грибами плівки, показники OD прогнозовано зростали і в середньому дорівнювали 1,52±0,422 та 0,59±0,011 на обробленій лаком та інтактній поверхні відповідно. Саме визначення коефіцієнта інтенсивності плівкоутворення дозволяє оцінити отримані результати, які свідчать про втрату кандидами здатності утворювати плівку на поверхні, вкритій антимікробним лаком. Усі штами, які проявляли середню здатність до утворення біоплівки на необробленій поверхні (R_{OD}=2,36), виявились неспроможними утворити біоплівку на поверхнях, покритих лаком, про що свідчать отримані значення коефіцієнта інтенсивності плівкоутворення (R_{OD}=0,7).

Отримані результати антиадгезивних властивостей антимікробного лаку потребували підтвердження в умовах, наближених до практичного застосування на поверхні полімерного матеріалу, з якого виготовляють знімні протези, тому нами було проведено вивчення інтенсивності адгезії та плівкоутворення кандид на обробленому антимікробним покриттям та необробленому протезному матеріалі. У результаті проведених досліджень нами встановлено, що адгезивні властивості клінічних штамів

Таблиця 3. Інтенсивність плівкоутворення клінічних штамів *Candida* spp. (n=5) на різних поверхнях згідно з результатами спектрофотометричного методу.

Характеристика поверхні	Середні значення OD (M±m)		R _{OD}
	Дослід	Контроль	
Оброблена антимікробним покриттям	1,52±0,422 ¹	0,97±0,410 ¹	0,71
Необроблена поверхня	0,59±0,011	0,22±0,011	2,36

Примітка. ¹ - різниця достовірна ($p \leq 0,001$) порівняно з відповідним значенням на необробленій поверхні.

Таблиця 4. Характеристика інтенсивності адгезії та утворення біоплівки клінічними штамми кандид на поверхні протезного матеріалу з антимікробним покриттям і без нього.

Назва процесу	Експозиція	Необроблений матеріал (контроль)	Оброблений антимікробним покриттям матеріал (дослід)
		Кількість відокремлених клітин з поверхні (КУО/мл)	
Адгезія	3 год	3384,7±1212,1	1982±538,2 ¹
Біоплівка	96 год	15120±4653	5462±570,4 ²

Примітки: ¹ - відмінності достовірні ($p \leq 0,05$) порівняно з контролем; ² - відмінності достовірні ($p \leq 0,01$) порівняно з контролем.

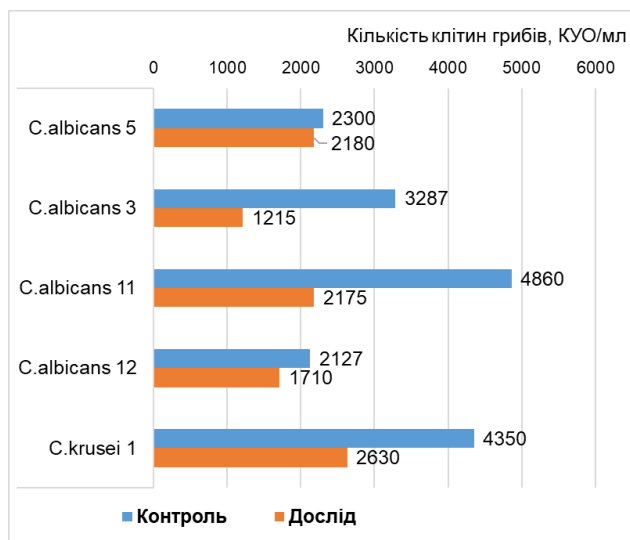


Рис. 1. Інтенсивність адгезії клінічних штамів *Candida* spp. до протезного матеріалу (контроль) та поверхні протезного полімеру, вкритого антимікробним лаком (дослід).

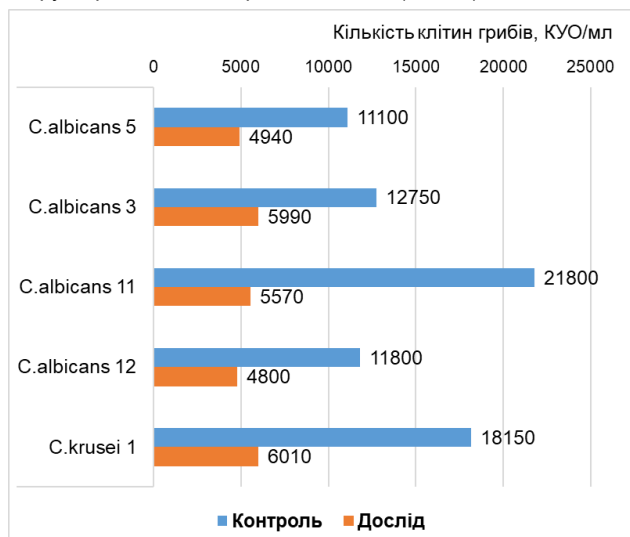


Рис. 2. Інтенсивність плівкоутворення клінічних штамів кандид на поверхні інтактного (контроль) та вкритого антимікробним лаком (дослід) протезного матеріалу.

кандид мали міжвидові та штамові відмінності (рис. 1). Високі адгезивні властивості були виявлені у двох штамів - *C. albicans* 11 та *C. krusei* 1, оскільки кількість відокремлених клітин з поверхні протезного матеріалу ($4,86 \times 10^3$ та $4,35 \times 10^3$ КУО/мл) перевищувала відповідний показник для інших штамів *C. albicans* ($2,13$ - $3,29 \times 10^3$ КУО/мл). Однак, як демонструють отримані результати, кількість адгезованих клітин на поверхні матеріалу, який був оброблений антимікробним лаком, зменшувалась до рівня від $1,22$ до $2,63 \times 10^3$ КУО/мл та була менша порівняно з контрольним значенням для кожного із штамів окремо.

Результати вивчення здатності до утворення біоплівки на поверхні обробленого та необробленого протезного матеріалу відображало вже зазначені відмінності щодо

адгезивних властивостей клінічних штамів кандид (рис. 2). Згідно з кількістю дезінтегрованих із поверхні плівки клітин найбільш активними продуцентами виявились клінічні штами *C. albicans* 11 і *C. krusei* 1, $-2,18 \times 10^4$ та $1,82 \times 10^4$ КУО/мл відповідно, проте спроможність формувати плівку різко знижувалась на поверхні, яка була вкрита антимікробним лаком, що підтверджувалось зменшенням кількості відокремлених клітин в 3,9 та 3 рази відповідно. Згідно з отриманими результатами інші штами кандид також зменшували здатність до утворення плівки на поверхні, обробленій антимікробним лаком: ультразвукова дезінтеграція утворених плівок з наступним визначенням кількості кандид в розчині призводила до зменшення кількості клітин в 2,1-2,5 разів порівняно з контролем.

При узагальненні результатів плівкоутворюючих властивостей клінічних штамів кандид, виділених з ротової порожнини (табл. 4), нами встановлено, що з поверхні протезного матеріалу ультразвуковою обробкою було відокремлено в середньому $3384,7 \pm 1212,1$ КУО/мл, тоді як відповідний показник після адгезії клітин грибів до поверхні, обробленій антимікробним лаком, зменшувався в середньому в 1,7 рази ($p \leq 0,05$) та становив $1982 \pm 538,2$ КУО/мл. Після достатньої для плівкоутворення експозиції 96 год., кількість дезінтегрованих ультразвуком клітин з необробленої поверхні зростала до 15120 ± 4653 КУО/мл, водночас із поверхні обробленого полімеру вдалось відділити в 2,8 разів менше клітин ($p \leq 0,01$).

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Клінічні штами *C. albicans* та інших кандид, виділених в процесі дослідження, у цілому визначені як плівкоутворюючі, причому здатність до плівкоутворення у клінічних ізолятів *C. albicans* в 1,2 рази вища, ніж в інших видів кандид.

2. Більшість клінічних штамів *Candida* spp., виділених з ротової порожнини пацієнтів, є слабкими продуцентами біоплівки на полістироловій поверхні (72%), однак п'ять із 25 штамів (20%) мали здатність до плівкоутворення середньої інтенсивності.

3. Встановлено втрату плівкоутворюючих властивостей клінічних штамів кандид на полістироловій поверхні, обробленій антимікробним лаком. При застосуванні антимікробного покриття адгезія та плівкоутворення кандид до поверхні протезного матеріалу знижується в 1,7 та 2,8 разів відповідно.

На підставі отриманих результатів планується визначити ризик утворення протезних стоматитів шляхом клінічного спостереження пацієнтів із стандартними знімними протезами та вкритими антимікробним лаком.

Подяка

Висловлюю подяку д.мед.н. Ковальчуку В. П. - завідувачу кафедри мікробіології Вінницького національного

медичного університету ім. М. І. Пирогова за надану можливість провести експериментальне вивчення плівкоутворення оральними кандидами та консультування під

час виконання спектрофотометричних та мікробіологічних досліджень.

Список посилань - References

- [1] Abuhajar, E., Ali, K., Zulfiqar, G., Al Ansari, K., Raja, H. Z., Bishti, S., & Anweigi, L. (2023). Management of Chronic Atrophic Candidiasis (Denture Stomatitis)-A Narrative Review. *International journal of environmental research and public health*, 20(4), 3029. DOI:10.3390/ijerph20043029
- [2] Adam, R. Z., & Kimmie-Dhansay, F. (2021). Prevalence of Denture-Related Stomatitis in Edentulous Patients at a Tertiary Dental Teaching Hospital. *Frontiers in oral health*, (2), 772679. DOI:10.3389/froh.2021.772679
- [3] Anjana V. R., Joseph, M. M., Mahendran, N. A., Baby, J. J., Nazeer, N., & Sudeep, S. (2020). Biofilm in dental biomaterials: A review. *Journal of Multidisciplinary Dental Research*, 6(1), 33-40. DOI:10.38138/JMDR/v6i1.6
- [4] Barbosa, A. H., Damasceno, J. L., Casemiro, L. A., Martins, C. H. G., Pires, R. H., & Candido, R. C. (2019). Susceptibility to Oral Antiseptics and Virulence Factors Ex Vivo Associated with Candida spp. Isolated from Dental Prostheses. *Journal of prosthodontics : official journal of the American College of Prosthodontists*, 28(4), 398-408. DOI:10.1111/jopr.13037
- [5] Charavet, C., Graveline, L., Gourdain, Z., & Lupi, L. (2021). What Are the Cleaning and Disinfection Methods for Acrylic Orthodontic Removable Appliance? A Systematic Review. *Children* (Basel, Switzerland), 8(11), 967. DOI:10.3390/children8110967
- [6] Christensen, G. D., Simpson, W. A., Younger, J. J., Baddour, L. M., Barrett, F. F., Melton, D. M., & Beachey, E. H. (1985). Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *Journal of clinical microbiology*, 22(6), 996-1006. DOI:10.1128/jcm.22.6.996-1006.1985
- [7] Cierech, M., Wojnarowicz, J., Kolenda, A., Krawczyk-Balska, A., Prochwicz, E., Wozniak, B., ... & Mierzwinska-Nastalska, E. (2019). Zinc Oxide Nanoparticles Cytotoxicity and Release from Newly Formed PMMA-ZnO Nanocomposites Designed for Denture Bases. *Nanomaterials* (Basel, Switzerland), 9(9), 1318. DOI:10.3390/nano9091318
- [8] Dakka, A., Nazir, Z., Shamim, H., Jean, M., Umair, M., Muddaloor, P., ... & Khan, S. (2022). Ill Effects and Complications Associated to Removable Dentures With Improper Use and Poor Oral Hygiene: A Systematic Review. *Cureus*, 14(8), e28144. DOI:10.7759/cureus.28144
- [9] Fouda, S. M., Gad, M. M., Ellakany, P., Al-Thobity, A. M., Al-Harbi, F. A., Virtanen, J. I., & Raustia, A. (2019). The effect of nanodiamonds on candida albicans adhesion and surface characteristics of PMMA denture base material - an in vitro study. *Journal of applied oral science: revista FOB*, (27), e20180779. DOI:10.1590/1678-7757-2018-0779
- [10] Gad, M. M., & Fouda, S. M. (2020). Current perspectives and the future of Candida albicans-associated denture stomatitis treatment. *Dental and medical problems*, 57(1), 95-102. DOI:10.17219/dmp/112861
- [11] Grover, C., Dhawan, P., Mehta, D., & Nautiyal, M. (2022) Denture stomatitis - A review. *JPID - The journal of Prosthetic and Implant Dentistry*, 5(2), 68-73. DOI:10.55231/jpid.2022.v05.i02.01
- [12] Hao, J., Lang, S., Mante, F., Pavelic, K., & Ozer, F. (2021). Antimicrobial and Mechanical Effects of Zeolite Use in Dental Materials: A Systematic Review. *Acta stomatologica Croatica*, 55(1), 76-89. DOI:10.15644/asc55/1/9
- [13] Janus, M. M., Willems, H. M., & Krom, B. P. (2016). Candida albicans in Multispecies Oral Communities; A Keystone Commensal? *Advances in experimental medicine and biology*, (931), 13-20. DOI:10.1007/5584_2016_5
- [14] Lee, J. H., Jo, J. K., Kim, D. A., Patel, K. D., Kim, H. W., & Lee, H. H. (2018). Nano-graphene oxide incorporated into PMMA resin to prevent microbial adhesion. *Dental Materials*, 34(4), 63-72. DOI:10.1016/j.dental.2018.01.019
- [15] Li, X., Yan, Z., & Xu, J. (2003). Quantitative variation of biofilms among strains in natural populations of Candida albicans. *Microbiology* (Reading, England), 149(2), 353-362. DOI:10.1099/mic.0.25932-0
- [16] Malic, S., Rai, S., Redfern, J., Pritchett, J., Liauw, C. M., Verran, J., & Tosheva, L. (2019). Zeolite-embedded silver extends antimicrobial activity of dental acrylics. *Colloids Surf B Biointerfaces*, (173), 52-57. DOI:10.1016/j.colsurfb.2018.09.043
- [17] McReynolds, D. E., Moorthy, A., Moneley, J. O., Jabra-Rizk, M. A., & Sultan, A. S. (2023). Denture stomatitis-An interdisciplinary clinical review. *Journal of prosthodontics: official journal of the American College of Prosthodontists*, 32(7), 560-570. DOI:10.1111/jopr.13687
- [18] Olms, C., Yahiaoui-Doktor, M., Remmerbach, T. W., & Stingu, C. S. (2018). Bacterial Colonization and Tissue Compatibility of Denture Base Resins. *Dentistry journal*, 6(2), 20. DOI:10.3390/dj6020020
- [19] Pokhrel, S., Boonmee, N., Tulyaprawat, O., Pharkjaksu, S., Thaisutikul, I., Chairatana, P., ... & Mitrprant, C. (2022). Assessment of Biofilm Formation by Candida albicans Strains Isolated from Hemocultures and Their Role in Pathogenesis in the Zebrafish Model. *Journal of fungi* (Basel, Switzerland), 8(10), 1014. DOI:10.3390/jof8101014
- [20] Redfern, J., Tosheva, L., Malic, S., Butcher, M., Ramage, G., & Verran, J. (2022). The denture microbiome in health and disease: an exploration of a unique community. *Letters in applied microbiology*, 75(2), 195-209. DOI:10.1111/lam.13751
- [21] Young, T., Alshanta, O.-A., Kean, R., Bradshaw, D., Pratten, J., Williams, C., ... & Brown, J. L. (2021). Candida albicans as an Essential "Keystone" Component within Polymicrobial Oral Biofilm Models? *Microorganisms*, 9(1), 59. DOI:10.3390/microorganisms9010059

EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF THE EFFECTIVENESS OF ANTIMICROBIAL VARNISH FOR THE TREATMENT OF FINISHED PROSTHESES IN THE PREVENTION OF PROSTHETIC STOMATITIS

Yur A. M.

Annotation. Denture stomatitis is considered to be a classic form of biofilm-associated infection, therefore, the measures leading to inhibition of biofilm formation on denture surface take a significant place among the different strategies to prevent this infection. Candida spp. are known as leading causes of denture stomatitis, so the aim of our research was to determine the influence of the original hydrophobic antimicrobial coating on the adhesive and biofilm-forming ability of oral Candida fungi, which were isolated from patients with manifestation of denture stomatitis. Spectrophotometry and quantitative microbiological assay were used to study adhesion and biofilm formation by clinical isolates of fungi on intact surfaces and those, which were covered with antimicrobial coating; results were processed by detection of statistical data with Microsoft Excell program, validity of the difference between the

control and experimental samples was proved according to Student criteria ($p \leq 0,05$). It was established with spectrophotometry assay that among 25 clinical isolates of *Candida* spp., the vast majority (18 strains) were weak producers of biofilm (the coefficient of biofilm formation intensity (R_{OD}) was 1.13-1.5), 5 strains were more potential biofilm producers (average R_{OD} was more than 2.3). According to the obtained data, clinical isolates of *Candida albicans* formed a biofilm more intensively than other species of isolated candida. It was demonstrated that the biofilm-forming fungi (average R_{OD} was 2.36) were unable to produce a biofilm on surfaces covered with antimicrobial coating, which was proved by a decrease of coefficient of biofilm formation intensity to 0.7. By quantitative microbiological assay it was determined that oral isolates of *Candida* spp. were able to form a biofilm on the denture resin samples, however, adhesion and biofilm production reduced by 1.7 and 2.8 times, respectively, on the surface, which was treated with the antimicrobial coating. In the future, it is planned to conduct clinical trial to detect effectiveness of dentures, which are covered with antimicrobial coating, in denture stomatitis prevention.

Keywords: denture stomatitis prevention, *Candida albicans*, biofilm formation, antimicrobial denture coating.
