

*Gordon Ramage<sup>1</sup>, Lindsay O'Donnell<sup>1</sup>, Leighann Sherry<sup>1</sup>, Shauna Culshaw<sup>1</sup>, Jeremy Bagg<sup>1</sup>,  
Marta Czesnikiewicz-Guzik<sup>1</sup>, Clare Brown<sup>1</sup>, Debbie McKenzie<sup>1</sup>, Laura Cross<sup>1</sup>, Andrew MacInnes<sup>1</sup>,  
David Bradshaw<sup>2</sup>, Roshan Varghese<sup>2</sup>, Paola Gomez Pereira<sup>2</sup>, Anto Jose<sup>2</sup>,  
Susmita Sanyal<sup>3</sup>, Douglas Robertson<sup>1</sup>*

## Вплив частоти чищення протезів на мікробні та клінічні параметри. Підхід від розробки до впровадження

<sup>1</sup>School of Medicine, Dentistry and Nursing, College of Medical, Veterinary and Life Sciences,  
University of Glasgow, Glasgow, UK

<sup>2</sup>GSK Consumer Healthcare, Weybridge, UK

<sup>3</sup>Syneos Health, Pune, India

**Мета:** надійних наукових і клінічних доказів того, як правильно доглядати за протезами та очищувати їх від нальоту, не вистачає. Це двоскладове дослідження, розроблене за допомогою *in vitro* моделі видалення зубного нальоту, оцінювало ефективність цих підходів при рандомізованому клінічному дослідженні.

**Метод:** було розроблено модель складного зубного нальоту з використанням домінуючого мікробного виду з недавнього аналізу мікробіома. Біоплівку, утворену на поліметилметакрилаті, очищали щодня мокрою зубною щіткою, потім або обробляли щодня протягом п'яти днів, або лише на перший і п'ятий дні дослідження таблетками для чищення зубних протезів «Polident®» (експозиція три хвилини). Було проведено кількісну та якісну мікробіологічну оцінку та сліпе для експертів, рандомізоване, перехресне дослідження постійного використання протезів на верхній щелепі (n = 19). Або одноразово протягом семи днів, або в подальшому тільки на сьомий день учасники дослідження замочували протези протягом 15 хв., використовуючи таблетки для чищення протезів «Corega®», потім очищуючи їх щіткою. Мікробіологічну оцінку зубного нальоту проводили з використанням стерилізованих дисків з фільтрувального паперу.

**Результати.** Модель *in vitro* продемонструвала, що щоденне чищення протезів за допомогою очищувача для протезів і подальше чищення щіткою значно зменшило кількість мікробів у порівнянні зі звичним повсякденним чищенням щіткою (p < 0,001). Клінічний компонент дослідження показав статистично значне зменшення кількості мікроорганізмів у зубному нальоті на користь чищення, яке проводили щоденно, проти процедур раз на тиждень (аеробні бактерії, p = 0,0144). Дослідження *in vitro* та *in vivo* показали, що склад біоплівки залежить від різнопланових доглядових заходів.

**Висновки.** Це дослідження продемонструвало, що ефективність щоденного чищення протезів перевершує ефективність періодичного чищення зубних протезів, а також те, що схеми чищення можуть викликати складові зміни зубного нальоту. Clinicaltrials.gov реєстрація: NCT02780661.

### Вступ

У міру збільшення кількості людей похилого віку до прогнозованих у 2050 році 2 млрд кількість носіїв протезів буде зростати. Повна втрата зубів є незворотним клінічним станом, який можна описати як остаточний маркер тяжкості захворювань порожнини рота. На даний час близько 20 % населення Великої Британії використовують певний вид зубних протезів, причому 70 % дорослого населення країни старше 75-ти років використовують знімні протези [2]. Носіння знімних протезів також часто пов'язано з певними соціально-економічними втратами й частіше зустрічається серед жінок. Багато з цих людей мають захворювання слизової оболонки порожнини рота, пов'язані з використанням протезів, що включають протезно індукований стоматит

(ПС) і запалення слизової оболонки під протезом [4]. Погана гігієна порожнини рота є явищем, що часто спостерігається у цієї групи пацієнтів. На появу протезного стоматиту мають вплив ще деякі фактори, такі як рН слини, куріння, споживання цукру, наявність *Candida* в порожнині рота, давність виготовлення протезу й те, що не менш важливо, очищення протезу пацієнтом [5].

Висока поширеність повної втрати зубів і пов'язаного з цим протезного стоматиту підкреслює важливість мати послідовні ефективні схеми догляду за протезами, яким би пацієнти могли слідувати з упевненістю. Тим не менше, клінічні та лабораторні докази переваги якоїсь конкретної схеми над іншими вивчені ще не досить. На сьогодні було опубліковано два систематичних огляди із загальною кількістю

шести рандомізованих контрольованих досліджень (РКД) [6, 7]. При цих оглядах дійшли висновку, що немає доказової бази для побудови керівних принципів такої схеми, а також того, що необхідні подальші дослідження. Останні рекомендації, засновані на доступних наукових даних, свідчать, що видалення бактеріальної біоплівки має першорядне значення для підтримання здоров'я порожнини рота й загальносоматичного здоров'я та профілактики протезного стоматиту (ПС) [8]. Ці рекомендації пропонують також підтримувати низький рівень мікробного зубного нальоту на протезах протягом доби шляхом їх замочування та/або подальшого чищення за допомогою діючого неабразивного очисника. Але на даний момент не досить чітко визначено, як досягти цього краще. Подальші мета-аналізи вказують на те, що для досягнення хорошої гігієни протезів можна використовувати також такі допоміжні методи й засоби, як антисептики для полоскання порожнини рота, засоби для дезінфекції, природні антимікробні речовини, фотодинамічна терапія та мікрохвильова дезінфекція [9], які можуть бути ефективними. Коли протези поміщають у ротову порожнину, вони колонізуються комплексною мікробною біоплівкою зубного нальоту, що містить численні види бактерій і грибів [10, 11]. Розвитку нальоту та затримці мікробів сприяє і посилює їх неправильна топографія поверхонь протезів, включаючи тріщини та щілини, що можуть бути всередині акрилових поверхонь протезів [12]. Це середовище захищає мікробну біоплівку від хіміотерапевтичних агентів і методів механічної очистки, і це означає, що деякі поверхні протезів можуть зберігати до 1011 мікроорганізмів на міліграм нальоту [13, 14]. Біофільм зубного протезу є резервуаром для розвитку потенційно умовно-патогенних мікроорганізмів, що можуть слугувати збудниками захворювань дихальної системи [15]. Недостатньо узгодженості в питанні спеціалізованих очищувальних засобів для протезів, тому багато носіїв використовують для механічного чищення протезів зубну пасту. Однак було доведено, що це викликає потертості, тріщини чи змінює топографію акрилових поверхонь протезу і може призвести до посиленої адгезії мікроорганізмів через це [14, 16–17]. Рекомендації про частоту чищення протезів відсутні, хоча лабораторні та клінічні дослідження повідомляють, що спорадичне використання очищувальних засобів для протезів полегшує приріст біоплівки зрілого зубного нальоту [19–21]. Є спектр хіміотерапевтичних засобів, ефективних проти планктонних бактерій ротової порожнини, але, на жаль, навіть після дії розчину гіпохлориту натрію може зберігатись інтактна біоплівка [22]. Дослідження, прийняті колективно, припускають, що чищення протезів є важливим, проте більш складно досяжним, ніж вважалося раніше. Для формування й розробки ефективного клінічного дослідження та його оцінки треба сформулювати моделі *in vitro* з урахуванням

нових підходів до протезування та очищення біоплівки. На жаль, прогрес у цій сфері був пригальмований тим фактом, що безліч досліджень вирішення проблеми нальоту на зубних протезах були сфокусовані лише на мікроорганізмі *Candida Albicans* як на головному, що викликає протезно асоційовані захворювання [4, 21–25]. Доступні дані дозволяють оцінити, що бактерії колонізують поверхню протезів щонайменше в десять разів більше, ніж дріжджі [10], і це чітко вказує на те, що наліт має полімікробний і міжвидовий склад [11]. Моделі біофільму зубних протезів, такі як моделі, що нещодавно описали одинадцять видів, скоріш за все будуть більше представляти полімікробну природу клінічної ситуації [26]. У цьому дослідженні ми намагалися прийняти підхід від розробки до впровадження для аналізу й порівняння щоденних методів чищення зубних протезів у порівнянні з періодичним. Для цього дослідження використано таблетки для очищення протезів, механізм дії яких базується на утворенні перекису водню та оцтової кислоти. Завдяки хронології всього дослідження використовувалися продукти двох торгових марок («Corega» та «Polident») у залежності від країн, в яких вони представлені у продажу. Продукти були використані згідно з інструкціями виробників і вибрані для представлення нижніх меж замочування, яке зазвичай використовують споживачі.

## Матеріал та методи

### Дослідження очищення протезів *in vitro*

Як описано раніше, було проведено дослідження якості очищення зубного нальоту та кількісний аналіз решти життєздатних клітин [26]. Метою було дослідити, чи є послідовна техніка очищення зубних протезів краще, ніж одноразовий догляд упродовж запропонованого п'ятиденного курсу процедур. Якщо коротко, для створення полімікробної моделі біофільму нальоту на протезі були використані лабораторні штами на основі найбільш домінуючих видів/родів, виявлених у нещодавньому дослідженні мікробіома протеза [10]. Поліметилметакрилатні диски були виготовлені, як було описано [27], для забезпечення субстратів, на яких формувалась мікробна біоплівка. Біофільми включали *Streptococcus mitis* NCTC12,261; *Streptococcus intermedius* ATCC 27,335; *Streptococcus oralis* ATCC 35,037; *S. albicans* 3153A; *Actinomyces naeslundii* ATCC 19,039; *Veillonella dispar* ATCC 27,335; *Rothia dentocariosa* DSMZ 43,762; *Lactobacillus casei* DSMZ 20,011 і *Lactobacillus zeae* DSMZ 20,178. На початку *S. mitis*, *S. intermedius*, *S. oralis* і *S. Albicans* були вирощені та стандартизовані у штучній слині до  $1 \times 10^7$  клітин/мл. Вони були додані в кожен із 24 лунок ємкості (Corning Inc, Нью-Йорк, США), що містила 13 мм<sup>2</sup> дисків РММА (Chaperlin and Jacobs Ltd, Саутенд-он-Сі, Велика Британія) та інкубовані аеробно при температурі

37°C протягом 24-х годин. Далі стандартизовані зразки ( $1 \times 10^7$  клітин/мл) *A. Naeslundii*, *V. Dispar*; *R. dentocariosa*, *L. casei* та *L. zeae* додавали до попередньо створеної 24-годинної біоплівки та інкубували при 37°C в умовах 5 % CO<sub>2</sub> ще протягом чотирьох днів. Витрачені супернатанти видаляли та щодня замінювали свіжою штучною слиною. Застосовувались обидві доглядові схеми: щоденний догляд за допомогою чищення щіткою в жорсткій воді з наступним щоденним замочуванням протезів протягом трьох хвилин у розчині (Polident® 3 хв., засіб для очищення протезів"; GSK Consumer Healthcare, Weybridge, UK) (DC) усі 5 днів дослідження поспіль (група DT) і щоденне чищення з періодичною обробкою жорсткою водою (IT- група) з використанням DC лише на перший та п'ятий дні дослідження, або не використовуючи його зовсім. Догляд проводили лише в жорсткій воді, що була в кожній дослідній групі, слугуючи позитивним контролем (група UT).

На рис. 1 схематично зображено режими догляду. Після кожної обробки протеза диски ПММА інкубували в нейтралізуючому бульйоні «Дей-Енгли» (Сігма-Олдріч, Гіллінгхем, Велика Британія) протягом 15-ти хвилин. Диски ПММА потім обробляли ультразвуком в 1 мл фосфатно-сольового розчину (Sigma-Aldrich, Гіллінгхем, Велика Британія) при 35 кГц протягом десяти хвилин для видалення біомаси, як було описано раніше [21]. Для кількісного аналізу враховували кількість колонієутворюючих одиниць (КУО) та живих/мертвих культур, для чого було використано метод ПЦР, як було описано раніше [26]. Для першого 20 мкл нальоту, знятого ультразвуком із протеза, були перенесені у свіжу трубку з мікроцентрифугою, і серійне розведення log<sub>10</sub> провели в сольовому розчині, забуференому фосфатом. Потім після кожного серійного розведення 20 мкл були висіяні тричі на середовищах інфузії мозку та серця + 10 % кров'яного агару (E&O Laboratories, Боннібрідж, Велика Британія), який інкубували аеробно та анаеробно при 37°C протягом 48 год. [28]. Зразки також наносили на середовище Сабуро декстрозний агар та інкубували при 30°C протягом 48 год., що необхідно для дріжджових грибів. Після інкубації підраховували кількість колоній; їх представляли як цілком життєздатні аероби, анаероби та дріжджі. Також оцінювали життєздатність обробленої біоплівки за допомогою методу ПЦР, необхідної для перерахування її остаточного й відносного складу, що диференціює життєздатні й мертві клітини з багатовидових моделей біоплівки порож-

нини рота. Зразки готували, як описувалось раніше, з деякими модифікаціями [26]. Стикло кажучи, 50 мкМ моноазиду пропідію (РМА) додавали до кожного зразка після обробки ультразвуком та інкубували в темряві 10 хв., щоб забезпечити поглинання барвника. Потім зразки піддавали впливу галогенового світла потужністю 650 Вт за 5 хвилин до вилучення ДНК за допомогою DNA mini kit відповідно до інструкцій виробника (Qiagen, Кроулі, Велика Британія). Елементи контролю РМА не включали в кожний зразок, щоб визначити загальну біомасу. Позначення, використані раніше, перелічено в табл. 1. Три незалежні копії для кожного параметру було проаналізовано у трьох примірниках за допомогою MxProP Quantitative PCR machine і програмного забезпечення MxPro 3000P software (Stratagene, Amsterdam, Netherlands). Зразки було пороховано для розрахування колонієутворюючого еквіваленту на основі раніше встановленої стандартної методології кривої бактеріальних КУО в діапазоні від  $1 \times 10^3$  до  $10^8$  КУО/мл [15]. Аналіз кривої проводили для всіх позначених зразків, щоб забезпечити єдиний пік, котрий слугував би показовим для специфіки позначення.

#### Аналіз даних

Розподіл даних, розробка графіків і статистичний аналіз було проведено за допомогою GraphPad Prism (версія 5; Ла-Холла, Каліфорнія, США). Після оцінки, чи відповідають дані нормальному розподілу, використано односторонній аналіз дисперсії (ANOVA) й Т-тести, щоб дослідити суттєві відмінності між незалежними групами даних, наближених до гаусового розподілу.

Виправлення Бонферроні було застосовано до значення p для обліку багаторазового порівняння даних. Непараметричні дані проаналізували за допомогою

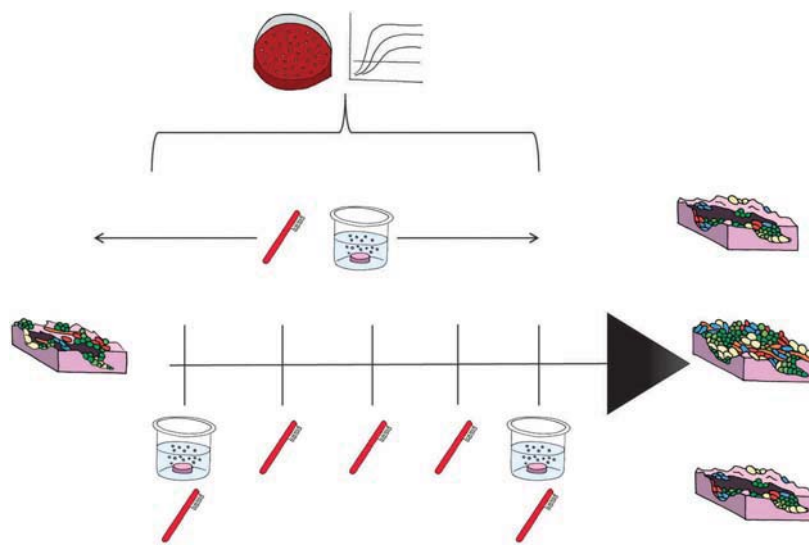


Рис. 1. Протокол послідовної обробки біоплівки на протезах.

Послідовності праймерів для видів біоплівки на протезах

Target	Primer sequence (5'-3')	Reference
16S	F – CGCTAGTAATCGTGGATCAGAATG R – TGTGACGGGCGGTGTGTA	[26]
18S	F – CTCGTAGTTGAACCTTGGGC R – GGCCTGCTTTGAACACTCTA	[26]
<i>Streptococcus spp.</i>	F – GATACATAGCCGACCTGAG R – CCATTGCCGAAGATTCC	[52]
<i>A. naeslundii</i>	F – GGCTGCGATACCGTGAGG R – TCTGCGATTACTAGCGACTCC	[52]
<i>R. denticariosa</i>	F – GGGTTGTAACCTCTGTTAGCATC R – CGTACCCACTGCAAAACCAG	(53)
<i>V. dispar</i>	F – CCGTGATGGGATGGAAAACCTGC R – CCTTCGCCACTGGTGTCTTC	[52]
<i>L. casei</i>	F – TGCACTGAGATTTCGACTTAA R – CCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGT	(54)
<i>L. zeae</i>	F – TGCATCGTGATTCAACTTAA R – CCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGT	(54)

U-критерію Манна-Уїтні або Тест Крускала-Уолліса з пост-тестом Данна для оцінки відмінностей у незалежних групах вибірки. Статистична значущість досягається, якщо показник  $p$  становить  $< 0,05$ . Аналіз основних компонентів (PCA) журналу обліку ( $n$ ) КУО бактеріального та дріжджового росту й CFES живих бактерій і дріжджів після обробки проводили за допомогою R, використовуючи вбудовані функції. Кластерінг (три кластери) було виконано з використанням секціонування навколо алгоритму посередників (ram), більш достовірну версію  $k$ -позначуваного кластерінгу проводили з використанням R набору «кластер». Візуалізацію за допомогою набору «ggplot2» використали для наведення цифр.

#### Дослідження очищення протезів in vivo

Для оцінки впливу щоденного або щотижневого очищення протеза на кількість мікробів на поверхні, складу мікробіома, накопичення нальоту та барвників було розроблено та проведено клінічне випробування. Це було одноцентрове, рандомізоване, контрольоване та сліпе для аналітиків перехресне дослідження, проведене у Glasgow Dental Hospital and School, Велика Британія. Протокол було затверджено Незалежним комітетом з етики (West of Scotland Research Ethics Committee 3; Ref:16/WS/0092), дослідження було проведено відповідно до Хельсінської декларації, Міжнародної конференції з питань гармонізації технічних вимог до реєстрації фармацевтичних препаратів для використання людиною та місцевих законів і нормативних актів. Усі учасники дали письмову інформовану згоду перед скринінгом, демонструючи розуміння протоколу, були готові, й,

імовірно, здатні виконати всі процедури, необхідні для дослідження. Це дослідження було зареєстровано у Clinical Trials. gov: NCT02780661. Була одна поправка до протоколу для розширення критеріїв включення з метою долучення до дослідження, і не передбачалося, що це вплине на результати дослідження.

#### Учасники

Учасників з добрим загальносоматичним статусом у віці від 18 до 84-х років включно набрали шляхом самонаправлення та ідентифікації під час лікування у Glasgow Dental Hospital and School. Учасники мусили мати повністю беззубу верхню щелепу, запротезовану за допомогою звичайного повного знімного протеза на основі акрилу. Дуга нижньої щелепи могла повністю мати зуби, бути частково або повністю беззубою й запротезованою за допомогою незнімного повного, часткового, або протеза на імплантатах. Протези на верхній щелепі повинні були мати нормальну, відповідну конструкцію, відповідати оцінці екзаматора та помірно добре відповідати під час скринінгового візиту індексу Капура [29], модифікація Ольшан [30]: бал утримання  $> 2$ , оцінка стабільності  $> 2$ . В критерії виключення з дослідження входили: вагітність; годування груддю; явну непереносимість або підозру на непереносимість матеріалів, які використовували під час дослідження, або гіперсенсibiliзацію до цих матеріалів та/або інгредієнтів; серйозний, важкий або нестабільний медичний стан, який може викликати те, що учасник навряд чи повністю зможе завершити дослідження; наявність імплантованого серцевого кардіостимуля-

тора; прийом добової дози ліків, які можуть перешкоджати діям учасника, його здатності проводити дослідження або вплинути на ефективність оцінки. Було включено конкретні критерії виключення зубів: зуби із клінічно значущою або відповідною патологією ротової порожнини, яка, на думку дослідника, може вплинути на участь у дослідженні; нещодавня (протягом 30-ти днів) операція на яснах/у порожнині рота.

### Розробка та проведення дослідження

Перебіг дослідження детально зображено на рис. 2. Під час скринінгу всі учасники дали письмову інформовану згоду, і її прийнятність оцінили. Вони отримали професійну гігієну зубів і протезів; після професійної гігієни було підтверджено нульові показники наявності нальоту та забарвлення. Під час першого візиту (день 0) учасникам було призначено порядок послідовності догляду (1:1) відповідно до графіка рандомізації, передбаченого відділом біостатистики споживача GSK Consumer Healthcare. Було призначено номери рандомізації у зростаючому числовому порядку, якщо кожного учасника визнали повністю відповідним до вимог і він дав згоду на включення в дослідження. Усі учасники використовували лужні таблетки на основі перекису для чищення протезів (Corega® Tabs Dental Weiss für Racher [Denture Whitening for Smokers], German marketed product). У групі, в якій повинні були використовувати препарат щоденно, використовувала одну таблетку на добу (з місцевим контролем на 0, 3 і 7-й дні). У групі, де використовували препарат раз на тиждень, використовували одну таблетку на сьомий день (з місцевим контролем на сьомий день).

Протези замочували в чашці у 150 мл теплої води з таблеткою засобу протягом 15 хв., далі очищували за допомогою щітки протягом 30 с у розчині, потім промивали під струмом проточної води протягом 10 с. Удома група «Щоденне використання» повторювала цю процедуру для верхнього протеза ввечері, поки група «Щогигиєне використання» проводила доглядові дії лише в теплій воді. Обидві групи після зняття протезів замочували їх на ніч у 150 мл води. Якщо учасники мали протез на нижню щелепу, його очищували, як зазвичай, але окремо від верхнього протеза. Очищення протеза на верхню щелепу не дозволялося вранці, догляд за протезами нижньої щелепи можна було здійснювати, як зазвичай. Учасники повернулись на 3 і 7-й дні. Після періоду догляду (7±3 дні) учасники повернулись до періоду догляду 2, як описано вище, включаючи початковий протез і стоматологічну профілактику. Вони утримувались від куріння, включаючи використання електронних сигарет і жувального тютюну або інших тютюнових виробів на час дослідження; не могли використовувати для чищення будь-які інші засоби чищення зубних протезів або схеми очищення верхньощелепних протезів.

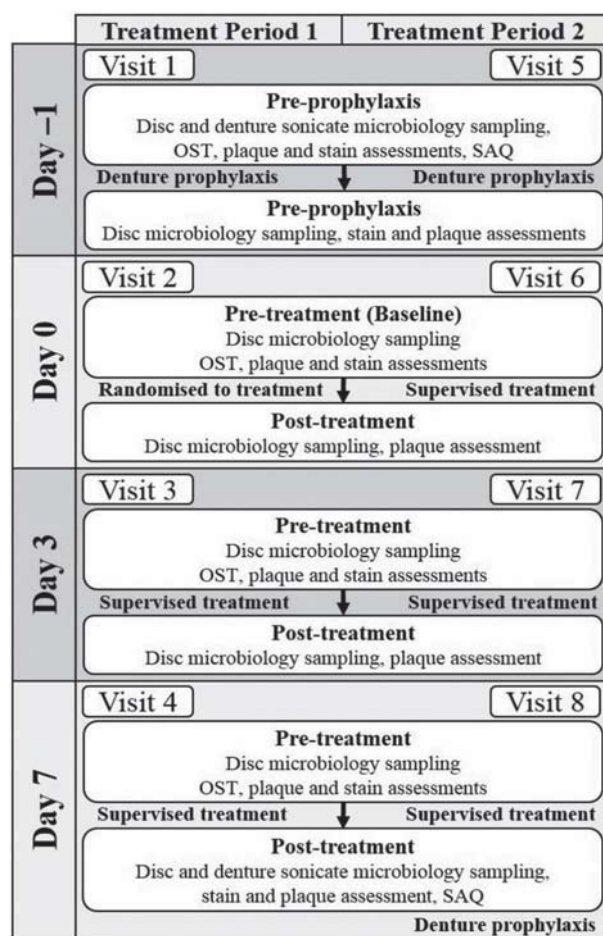


Рис. 2. Потік дослідження.

зів. Учасників просили не використовувати закріплювач протезів, що містить кислоту або засоби для догляду за порожниною рота, такі, як жувальна гумка, на час випробування, оскільки це може впливати на гігієнічні параметри. Експерти (клінічні та лабораторні вчені) та аналітики даних були сліпими щодо призначених схем догляду. Екзаменаторам не дозволяли знаходитись у кімнаті, де зберігались або виділялись продукти, які випробували. Крім того, персонал, що видавав препарат, не брав участі в оцінці ефективності. Експертів відкалібрували до початку дослідження.

### Мікробна проба

Для збору зразків із шару верхньощелепного протеза, що прилягає до м'яких тканин, і мікробіологічного аналізу верхньощелепний протез умовно поділили на чотири квадранти латеральніше від середньої лінії й відповідно до піднебінних складок (рис. 3). Зразки взяли з лівої шорсткої (A) та лівої гладкої (D) поверхонь до профілактичної гігієни та попередніх доглядових процедур. Постпрофілактичні та постдогодові зразки взяли із правої шорсткої (B) та правої гладкої (C) поверхонь. Попередньо

стерилізований 10 мм фільтрувальний паперовий диск (Sigma-Aldrich, Gillingham, UK) злегка притиснули до виділеного квадранта протягом 20 с до антисептичної обробки. Два диски з виділених квадрантів (залежно від моменту часу) об'єднали й обробили відповідно до мікробіологічних культур (КЮО/диск) для оцінки кількості мікробіома (аеробні та анаеробні бактерії, *C. albicans*), а також для q-ПЦР аналізу, щоб оцінити склад мікробіома, як було описано раніше [26]. Для дослідження кількості мікробів і мікробного складу на всьому верхньощелепному протезі на перший (попередня профілактика) і сьомий дні (після призначених доглядових заходів) верхньощелепний протез помістили у стерильний пакет із 50 мл PBS і в ультразвукову ванну на 15 хв. при 35 кГц. При цій процедурі видаляли мікроби, які прилипали до всіх ділянок протеза. Отримані зразки було оброблено належним чином для вирощування мікробіологічних культур (КЮО/протез) і молекулярного мікробного аналізу за допомогою qPCR (CFE/протез), як було описано раніше [26].

#### Клінічна оцінка

Наліт на зубному протезі оцінювали окремо на трьох ділянках: на прилягаючих до слизової поверхні, відполірованих поверхнях і штучних (лицьові/щічні та піднебінні поверхні) на основі модифікації Clinical Categorization of Denture Cleanliness Index [31], де 0 = немає видимого нальоту, незалежно від того, на якій стороні проводили стоматологічним зондом; 1 = відсутність видимого нальоту; липка речовина збоку від стоматологічного зонда при легкому вишкрябанні; 2 = відкладення нальоту, що просто видно при ретельному обстеженні без необхідності підтвердження вишкрябанням; 3 = відкладення нальоту «добре видно»; 4 = очевидні відкладення нальоту («оксамитовий вигляд»). Для даної досліджуваної ділянки протеза фіксували найвищий бал. Плями забарвлення на поверхні протеза оцінювали за допомогою Denture Cleanser Index [32].

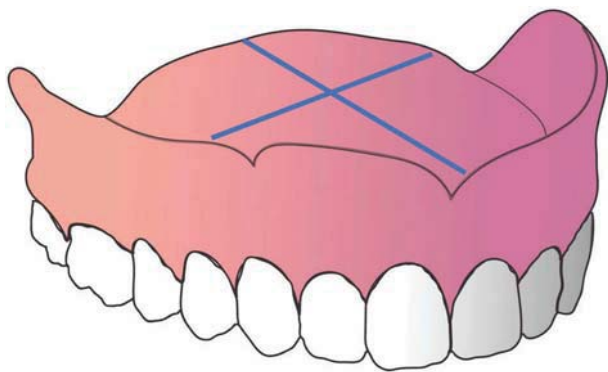


Рис. 3. Квадранти, що використовувались для відбору проб.

Шкала забарвлення плям була пов'язана з відсотком площі поверхні під плямою, де 0 = плями не виявляються; 1 = невелике забарвлення (< 25% поверхні забарвлено); 2 = помірне забарвлення поверхні (25–50 % поверхні зафарбовано); 3 = сильне фарбування поверхні (> 50 % від поверхні зафарбовано).

#### Безпека

Відомості про побічні ефекти збирали з початку професійної гігієни порожнини рота та протезів і до скринінгового візиту через п'ять днів після останнього огляду, пов'язаного з використанням дослідного продукту. Випадки було взято з базового візиту (візит 2). Огляд м'яких тканин порожнини рота проводили під час усіх базових візитів перед проведенням профілактики або попереднім використанням продукту. Було визначено популяцію безпеки, як усі учасники, яких рандомізували, отримали принаймні одну дозу досліджуваного препарату під час дослідження.

#### Критерії оцінки та аналіз даних

Оскільки варіація та ефект терапії були невідомі, офіційний розрахунок розміру вибірки провести було неможливо. Загалом 17 учасників були визнані придатними для оцінки ефективності та безпеки терапії продуктами. Первинна популяція для оцінки ефективності була готовою до терапії (ІТТ) і визначена як така, де всі учасники, яких рандомізували, отримали принаймні одну дозу досліджуваної терапії і якій дали принаймні одну оцінку після базового рівня кількості мікробної кількості на відібраних зразках. За протоколом популяцію було визначено як усіх учасників сукупності ІТТ, які б мали принаймні одну оцінку ефективності без порушень правил протоколу. Основна мета була в оцінці та порівнянні зміни кількості мікроорганізмів у порівнянні з вихідним рівнем на зразках дисків учасників групи щоденного та щотижневого використання з порівняльним аналізом на 3 і 7-й день, що було вторинною метою.

Дослідницькі цілі включали оцінку та порівняння кількості мікробів на протезі після ультразвукового очищення на сьомий день і на 3 та 7-й дні, рівень нальоту, мікробний склад зі зразків дисків і наявність плям на верхньощелепному протезі. Усі кінцеві точки перевіряли за загальними гіпотезами різниці у щоденному та щотижневому використанні продукту. Було проведено всі статистичні аналізи з використанням системи статистичного аналізу (SAS) версії 9.2. Аналізували три категорії мікроорганізмів (аеробні бактерії, мікробну кількість, анаеробні бактерії, мікробну кількість, кількість мікроорганізмів *Candida*) окремо для обох схем використання на 3 і 7-й дні порівняно з показниками після попередньої обробки на день 0. Кількість мікроорганізмів занесено в журнал (база 10), що виконується перед

будь-яким дослідженням. Щоб мати можливість аналізувати всі зразки, якщо жодних мікробів не виявлено (значення «0»), константу (+1) додали до всіх значень змін у журналі. Зміну в порівнянні з вихідним рівнем аналізували за допомогою аналізу моделі коваріації (ANCOVA) з періодом терапії й коли фіксували рівень кількості ефектів учасників (середнє значення за періоди лікування) у порівнянні з рівнем у день попередньої обробки (у день 0) як базові бали (з такою самою трансформацією), як і коваріанти. Щоб дозволити використовувати модель оцінки, яка би представляла досліджувану популяцію, учасника включали в модель як «випадковий ефект». Довірчі інтервали (ДІ) та значення «р» розраховано для різниці між епізодами щоденного використання проти щотижневого використання. Модельні припущення розслідували, жодних припущень не порушено. Кількість мікробів на 7-й день і рівень зубного нальоту на 3 і 7-й день порівняно із днем 0 і днем попередньої обробки розраховували для кожної кінцевої точки, використовуючи ANCOVA, як зазначено вище. Модельні припущення досліджено, жодних припущень не порушено. Мікробний склад у дні 3 та 7 оцінили за допомогою qPCR-дослідження зразків дисків і представили для обох процедур у складеній стовпчастій діаграмі як відсоток від кожної мікробної групи.

Суму восьми оральних мікробних проаналізованих груп прийняли за 100 %. Зміну кількості плям на протезі у дні 3 і 7 на прилягаючих до тканин поверхнях, відполірованих поверхнях і штучних зубах оцінювали та аналізували окремо, як зміни в порівнянні з базовою лінією, і порівнювали зі схемами лікування (щоденного та щотижневого використання).

### Повторюваність дій екзаменаторів

Під час кожного відвідування для випадкової вибірки учасників оцінку рівня плям і нальоту екзаменатори повторювали для перевірки послідовності вимірювання нальоту та рівня забарвлення плям на поверхнях протезів. Для кожного параметра оцінки плям і нальоту було зважено коефіцієнт капи Флейс-Коена ( $\kappa$ ) разом із 95 %, коефіцієнт розраховували

для аналізу повторюваності для кожної поверхні протеза (поверхні, що прилягають до тканин, відполіровані поверхні, штучні зуби).

Надійність було визнано чудовою, якщо  $\kappa > 0,75$ ; доброю, якщо  $0,4 \leq \kappa \leq 0,75$ ; низькою, якщо  $\kappa < 0,4$ .

## Результати

### Кількісний аналіз зубного нальоту біоплівки *in vitro*

Аналіз *in vitro* впливу різних методів догляду протезів на багатовидовий зубний наліт на біоплівці проводили протягом п'яти днів. В аналіз було включено три групи: необроблена біоплівка в якості позитивного контролю (UT), щоденне чищення протезів з подальшою обробкою очищувачем для протезів (DT) та періодичне чищення протезів (IT). Загальну кількість аеробів, анаеробів і дріжджів спочатку кількісно визначили за допомогою аналізу КУО, що проводився протягом 5-ти днів (рис. 4). У групі DT життєздатних КУО не виявлено (ND) в будь-який день для аеробів, анаеробів і дріжджів, тоді як в IT-групі життєздатні бактерії було виявлено на 2, 3, 4 і 5-й дні (приблизно від  $10^3$  до  $10^5$  КУО/мл), а протягом днів 2, 3 та 4 було виявлено дріжджі (приблизно від  $10^3$  до  $10^4$  КУО/мл). У цей часовий проміжок у групі UT істотних змін загального рівня мікробів не спостерігали, виявляли постійний рівень  $10^8$  і  $10^6$  КУО/мл бактерій і дріжджів відповідно (дані не наводяться). Як групи DT, так і IT-групи демонстрували статистично значне зменшення кількості КУО для аеробів та анаеробів і дріжджів ( $p < 0,001$ ) порівняно із групою UT, хоча у групі DT зменшення було стабільно та статистично значно ефективнішим, ніж в IT ( $p < 0,001$ ). Щоб візуально проілюструвати загальний ефект від застосування схем лікування, провели аналіз PCA (рис. 5). Кластерінг продемонстрував три незалежних кластери між процедурами, що виділені еліпсами та кольоровими скупченнями. PC1 і PC2 відображають понад 94 % варіацій зразків, варіація разом з цими компонентами відрізняється від видів лікування. Ураховуючи, що загальний підрахунок життєздатних клітин може

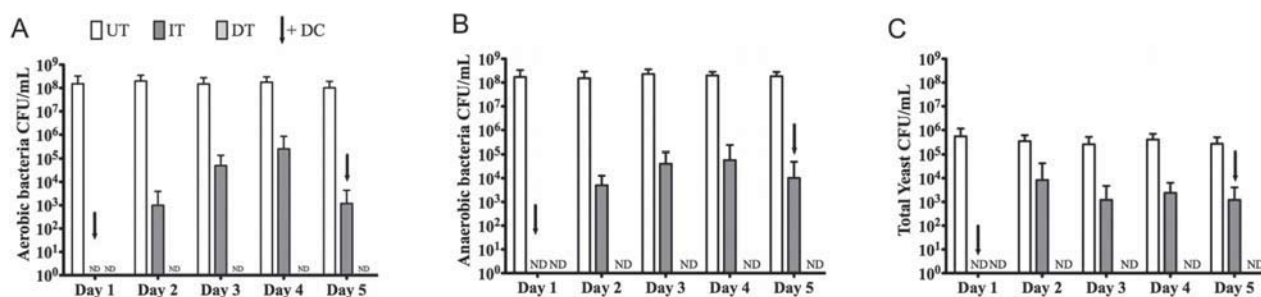


Рис. 4. Щоденна кількість КУО/мл: А) аеробних бактерій; В) анаеробних бактерій; С) загальна кількість дріжджів ( $\pm$  стандартне відхилення) після лікування.

бути неточним (наприклад, ураховуючи скупчення клітин) і можливе перенесення активних клітин, незважаючи на незараження, кількісну ПЛР використали як додатковий аналіз для доповнення цих спостережень. Загалом бактерії, що затримувались на поверхні ПММА під час процедур (рис. 6), мали кількість значно нижчу як в ІТ, так і в ДТ-групах порівняно з необробленими зразками – приблизно  $3 \log_{10}$  ( $p < 0,001$ ), хоча у затриманих бактерій у цих групах помітних відмінностей не було (дані це не відображають).

Кількість дріжджів, виділених з дисків, демонструє подібну картину до бактерій, оскільки в порівнянні із групою UT було значно менше дріжджових клітин як у ДТ, так і в ІТ-групах, зменшення становило

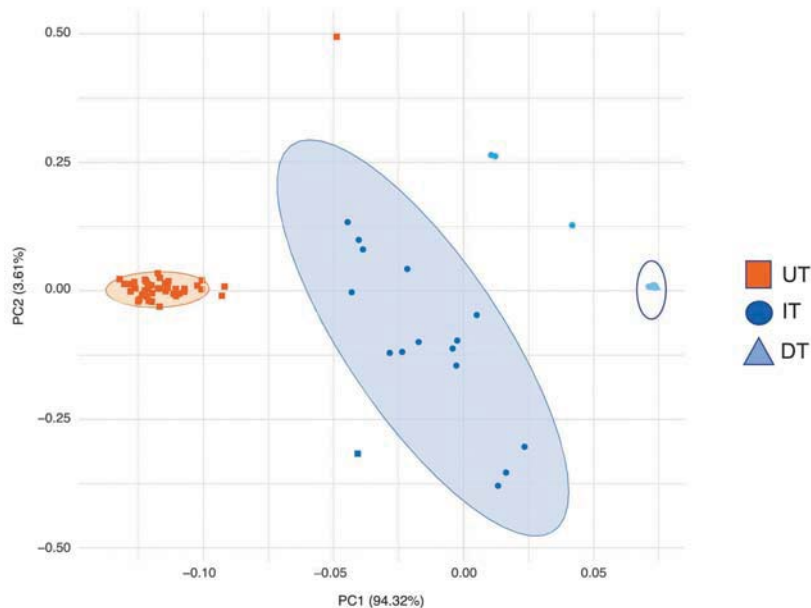


Рис. 5. Аналіз основних компонентів, що показує різні результати лікування *in vitro*, пов'язані із загальною та життєздатною клітинними популяціями.

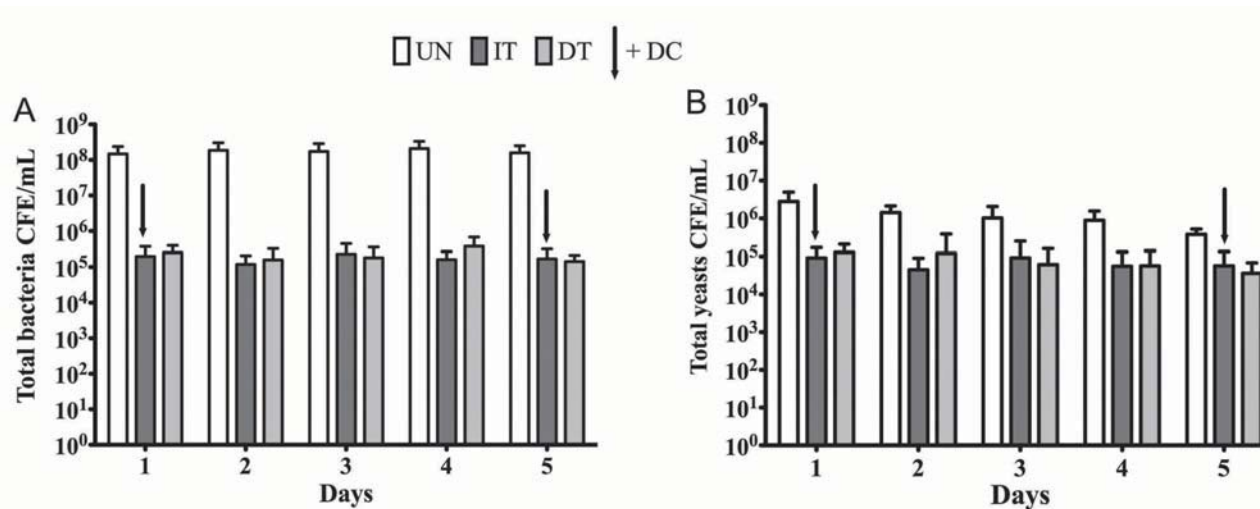


Рис. 6. Щоденна кількість CFE: (а) загальної кількості бактерій та (б) загальної кількості дріжджів після обробки ( $\pm$  стандартне відхилення).

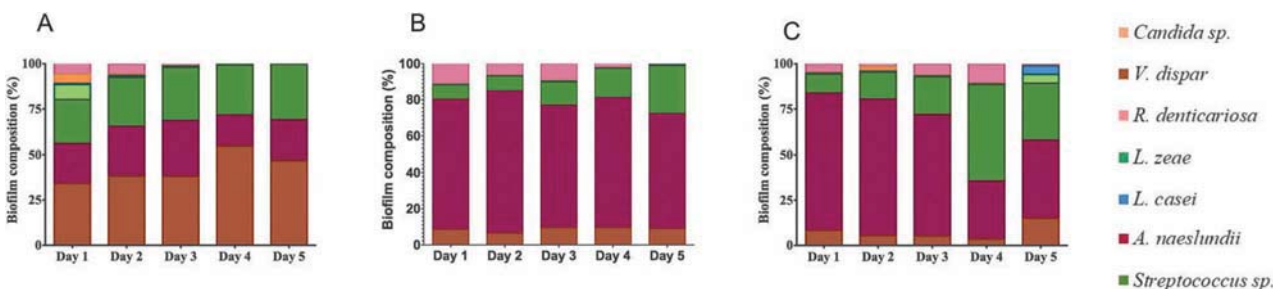


Рис. 7. Мікробна композиція, оцінена за допомогою qPCR зі зразків зубних протезів *in vitro*. (а) необроблений [UT]; (б) оброблений засобом для чищення протезів [DT]; (с) оброблений щіткою [IT].



приблизно  $1 \log_{10}$  ( $p < 0,001$ ), хоча знову була відсутність відмінностей між DT та IT-групами. У реальному часі також провели Q-PCR аналіз, щоб оцінити, наскільки клітини, що збереглися, були життєздатними залежно від того, порушені клітинні мембрани чи ні. Це показало, що, незважаючи на методи терапії, приблизно  $1 \times 10^4$  та  $1 \times 10^3$  CFE/мл бактерій і дріжджів відповідно залишалися життєздатними протягом 1–5-ти днів, незалежно від групи лікування (дані не наводяться).

Щоб оцінити вплив якоїсь зі схем лікування на склад біоплівки зубного нальоту, кількісні зміни окремих видів у кожній біоплівці досліджували протягом п'яти днів курсу. Загальну кількість клітин визначали кількісно й перетворювали на частку від загальної біоплівки для визначення долі кожного виду. Цікаво: помічено, що група UT демонструвала ряд змін протягом п'яти днів для *V. dispar*, *A. Naeslundii* і *Streptococcus*, що домінують у біоплівці, було помітне збільшення кількості *V. dispar* у дні 4 та 5 (рис. 7-а). У той же час у міру дозрівання біоплівки спостерігалось щоденне зменшення кількості *R. dentocariosa*, *C. albicans*, *L. zeae* та *L. casei*.

Група DT показала переважання в біоплівці *A. naeslundii* зі збільшенням частки видів *Streptococcus* (рис. 7-б), хоча в IT-групі спочатку домінувала *A. naeslundii* слідом за видами *Streptococcus* (рис. 7-в). Загалом ці дані показали, що різні види втручання мають здатність змінювати склад зубного нальоту на протезі в залежності від методу терапії.

### Кількісний аналіз біоплівки зубного нальоту in vivo

#### Клінічно

Усього було обстежено 25 учасників, загалом 19 учасників відібрано на послідовність схем лікування. З усіх 19 учасників жодного з дослідження на зняли, усі рандомізовані учасники завершили дослідження.

Було одне порушення протоколу у групі з режимом щоденного використання й одне у групі з режимом щотижневого використання, що призвело до виключення даних. З 19 учасників більшість були жінки ( $n = 12$ , 63,2 %) з білим кольором шкіри ( $n = 19$ , 100 %), із середнім віком 68,7 року (SD 5,10, діапазон 60–75 років). На початковому етапі (день 0, попередня обробка) кількість трансформованих мікробів, яких урахували [ $\log_{10} (\text{Count} + 1)$ ], була трохи вище у групі тижневого використання при  $2,27 \log_{10}$  (КУО/диск) порівняно із  $2,04$  у групі щоденного використання для аеробних бактерій. Ці значення для анаеробних бактерій становили  $2,47$  та  $2,07$  відповідно.

#### Кількість мікробів

На 7-й день для обох режимів процедур спостерігали зниження кількості мікроорганізмів на зразках дисків із протезів відносно вихідного рівня мікробів, у результаті чого скориговано середні значення  $0,26 \log_{10}$  (КУО/диск) і  $1,06 \log_{10}$  (КУО/диск) для аеробних бактерій у групі щоденного використання та у групі тижневого використання відповідно  $0,50 \log_{10}$  (КУО/диск) і  $0,93 \log_{10}$  (КУО/диск) для анаеробних бактерій для кожної схеми відповідно (рис. 8). Статистично значущу різницю між схемами терапії спостерігали для кількості аеробних бактерій на 7-й день з переважаним зниженням для групи щоденного використання (табл. 2) ( $-0,86$  – скоригована середня різниця в лікуванні,  $p$  – значення  $0,0144$ ). Щодо анаеробних бактерій: спостерігали різницю в кількості на користь групи щоденного використання; однак ця різниця не була статистично значущою ( $-0,48$  – скоригована середня різниця в лікуванні,  $p$  – значення  $0,1879$ ). Показники *C. albicans*, культивовані зі зразків дисків, здебільшого були нульовими, а отже, не потребували подальшого аналізу (дані не наводяться).

На 3-й день зниження кількості від вихідного рівня аеробних та анаеробних бактерій відмітили у групі щоденного використання, у результаті чого  $\log_{10}$

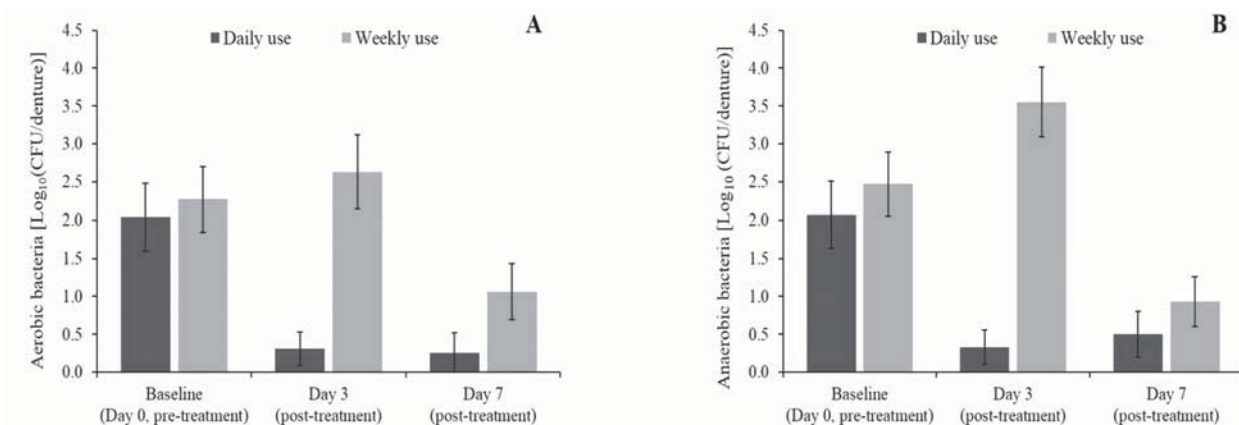


Рис. 8. (а) Аеробні бактерії та (б) мікробна кількість анаеробних бактерій  $\log_{10}$  (КУО/диск) зі зразків дисків при відвідуваннях та обробках протеза ( $\pm$  стандартна похибка) (сукупність ITT).

Статистичний аналіз зміни кількості аеробних та анаеробних бактерій (КУО/диск) на дисках для проб протезів (DDisc) і зразків, знятих ультразвуком із протезів (DSon) (ІТТ популяції)

	Change from baseline		Treatment comparison		
	Daily use Mean (SE)	Weekly use Mean (SE)	Difference (95% CI)	p-value	Ratio (95% CI)
<b>Aerobic bacteria (post treatment)</b>					
DDisc Day 3	-1.85 (0.39)	0.47 (0.39)	-2.32 (-3.43, -1.20)	0.0002	0.005 (0.0004, 0.0628)
DDisc Day 7	-1.92 (0.32)	-1.06 (0.32)	-0.86 (-1.53, -0.19)	0.0144	0.137 (0.0295, 0.6369)
DSon Day 7	-0.36 (0.13)	-0.48 (0.13)	0.12 (-0.257, 0.505)	0.5118	1.33 (0.55, 3.20)
<b>Anaerobic bacteria (post treatment)</b>					
DDisc Day 3	-1.94 (0.38)	1.28 (0.38)	-3.22 (-4.24, -2.19)	<.0001	0.001 (0.0001, 0.0064)
DDisc Day 7	-1.80 (0.33)	-1.31 (0.32)	-0.48 (-1.23, 0.26)	0.1879	0.328 (0.0589, 1.8257)
DSon Day 7	-0.35 (0.13)	-0.42 (0.14)	0.07 (-0.33, 0.46)	0.7316	1.17 (0.47, 2.88)
<b>C. albicans (post treatment)</b>					
DSon Day 7	-0.69 (0.44)	-0.08 (0.45)	-0.60 (-1.86, 0.66)	0.3250	0.25 (0.01, 4.53)

Difference is first named treatment minus second named treatment such that a negative difference favours the first named

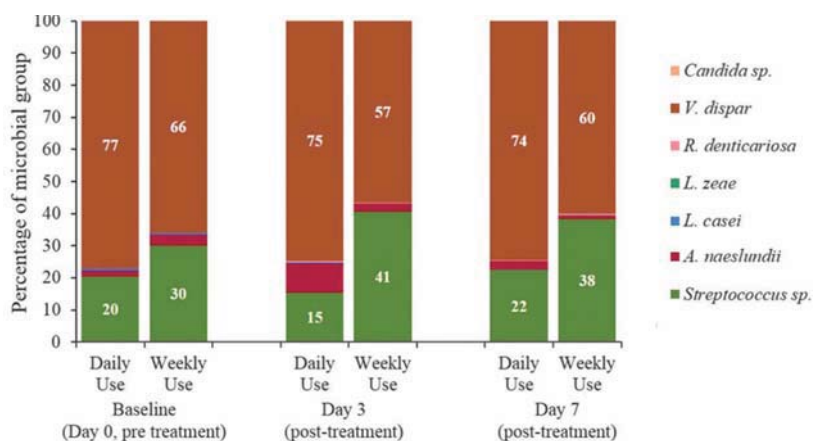


Рис. 6. Microbial composition as assessed by qPCR from denture disc samples (ІТТ population).

було скориговано середні значення 0,31 та 0,33  $\log_{10}$  (КУО/диск) відповідно. Суб'єкти щотижневої групи, які не використовували таблетки для очищення, а лише очищували протез водою, натомість показали збільшення кількості обох груп мікроорганізмів. Кількість аеробних бактерій збільшились до 2,63  $\log_{10}$  (КУО/диск), тоді як кількість анаеробних бактерій – до 3,55  $\log_{10}$  (КУО/диск). Статистично значущу різницю між режимами терапії спостерігали для кількості аеробних та анаеробних бактерій на 3-й день з більшим зменшенням у групі щоденного вживання (-2,32 – скоригована середня різниця в лікуванні,  $p$  – значення 0,0002 для аеробних бактерій та -3,22;  $p$  – значення < 0,0001 для анаеробних бактерій). Нижче наводяться дані, що у групі щоденного використання

у великої частини учасників не було виявлено жодної мікробної присутності на 3-й день дослідження (у 17 з 19-ти учасників не виявлено аеробних та анаеробних бактерій), у той час коли у групі зі щотижневим режимом лікування учасників з невиявленими мікроорганізмами було значно менше (7 з 19 для аеробних і 4 з 19-ти для анаеробних бактерій). Стосовно дослідницької мети: зняті за допомогою ультразвуку зразки із протезів збирали лише на перший день (скринінговий візит) перед початковою профілактикою (попередньою профілактикою) та на день 7 (після використання терапії). Не було статистично значущої різниці між кількістю аеробних та анаеробних мікроорганізмів у зразках після ультразвуку на день 7 (табл. 2). Кількість мікроорганізмів *C. albicans*, яку виміряли незалежно від точки часу або режиму лікування, була нижче, ніж кількість аеробних та анаеробних бактерій. Різниця у використанні терапії була на користь групи щоденного використання, однак ця різниця не була статистично значущою (-0,60 – скоригована середня різниця в лікуванні,  $p$  – значення 0,325).

#### Мікробний склад

Мікробний склад оцінювали за допомогою спеціальних праймерів, націлених на бактерії, пов'язані із протезами, як було описано вище. Представлено

гістограму відносної чисельності, яка розглядала суму з восьми мікробних груп, на які було націлено дослідження, як 100 % (рис. 9). Не було офіційного статистичного аналізу даних про мікробний склад. Домінування *V. dispar* і *Streptococcus* видів спостерігалось у різні моменти часу і для обох режимів використання (від 57 до 77 та від 15 до 41 % відповідно). *A. naeslundii* виявлено при обох режимах використання, але з меншою відносною чисельністю (від 1 до 9 %). *R. dentocariosa*, *L. Casei* та види *Candida* були лише незначно присутні в мікробному складі зразків (на зразках дисків протеза), які було виявлено на рівні менше 1 %. *L. zeae* не виявлено в усіх зразках. У групі щотижневого використання було виявлено незначне збільшення кількості стрептококів порівняно з базовим рівнем (на момент попередньої обробки протезів) до рівня на 3 і 7-й дні (після використання терапії) і було незначне зменшення кількості *V. Dispar* та інших малочисельних груп.

Однак загальних очевидних змін у складі мікробіома не спостерігали у групах щоденного використання або щотижневого використання, обидві мають домінування видів *V. dispar* і *Streptococcus*.

#### Оцінка зубного нальоту і плям

Загалом низькі показники зубного нальоту спостерігались на всіх поверхнях протезів, особливо на відполірованих поверхнях (табл. 3). Повторюваність дій досліджувачів нальоту була чудовою зі зважуванням капи 0,968 (95 % ДІ 0,922, 1,00). Незважаючи на загально низький бал нальоту, зменшення нальоту у групі щоденного використання засобу для чищення протезів спостерігали на третій та сьомий дні, тоді як групи зі щотижневим використанням показали незначні зміни в залежності від оглянутої ділянки протеза (рис. 10). На 3-й день було відмічено розбіж-

ності на користь групи щоденного використання на трьох досліджуваних поверхнях протезів, проте ці відмінності не були статистично значущими. На 7-й день статистично значущу різницю між режимами використання спостерігали для штучних зубів і поверхонь, прилягаючих до тканин, зі значним зменшенням у групі щоденного використання на обох поверхнях (-0,54 з поправкою середньої різниці в терапії,  $p$  – значення 0,0211 для штучних зубів; -0,57, значення  $p$  0,0320 для поверхонь, що прилягають до тканин). Рівень плям був дуже низьким протягом усього дослідження, особливо в порівнянні з базовими значеннями, де більшість поверхонь мала оцінку «неможливо виявити забарвлення». Загалом на 7-й день для трьох досліджуваних поверхонь спостерігали різницю на користь групи зі щоденним доглядом. Однак ці відмінності були дуже малими й не були статистично значущими для будь-якої із трьох поверхонь протезів (дані не наводяться).

#### Результати аналізу безпеки

Загалом виникло 28 випадків несподіваних станів упродовж застосування терапії АЕс (TEAEs), про які повідомили 13 (68,4 %) учасників, по 14 таких випадків у кожній досліджуваній групі. Повідомлялося про 21 TEAE, що були пов'язані з ротовою порожниною у 12-ти учасників (63,2 %) (10 у групі щоденного використання та 11 у групі щотижневого використання). Жодна з TEAE не була пов'язана з використанням продукту. Усі TEAE мали легкий або помірний характер і все, крім «травми губ», було вирішено до кінця дослідження. Не було серйозних побічних реакцій, жодний учасник не вийшов з дослідження через побічні ефекти. Було показано, що використання таблеток для очищення протезів зазвичай переноситься добре.

Таблиця 3

Статистичний аналіз зміни показників нальоту на зубних протезах на зубах, поверхнях, що прилягають до тканин, від вихідного рівня відполірованих поверхонь (ІТТ популяції)

	Change from baseline			Treatment comparison
	Daily use Mean (SE)	Weekly use Mean (SE)	Difference (95% CI)	p-value
<b>Denture teeth (post treatment)</b>				
Day 3	-0.65 (0.20)	-0.30 (0.20)	-0.35 (-0.92, 0.23)	0.2307
Day 7	-0.79 (0.15)	-0.26 (0.15)	-0.54 (-1.99, -0.09)	0.0211
<b>Tissue fitting surfaces (post treatment)</b>				
Day 3	-0.58 (0.20)	-0.05 (0.20)	-0.52 (-1.11, 0.07)	0.0765
Day 7	0.52 (0.18)	0.05 (0.18)	-0.57 (-1.095, -0.05)	0.0320
<b>Polished surfaces (post treatment)</b>				
Day 3	-0.30 (0.05)	-0.28 (0.05)	-0.02 (-0.15, 0.12)	0.7875
Day 7	-0.30 (0.16)	0.09 (0.16)	-0.39 (-0.86, 0.07)	0.0953

Difference is first named treatment minus second named treatment such that a negative difference favours the first named

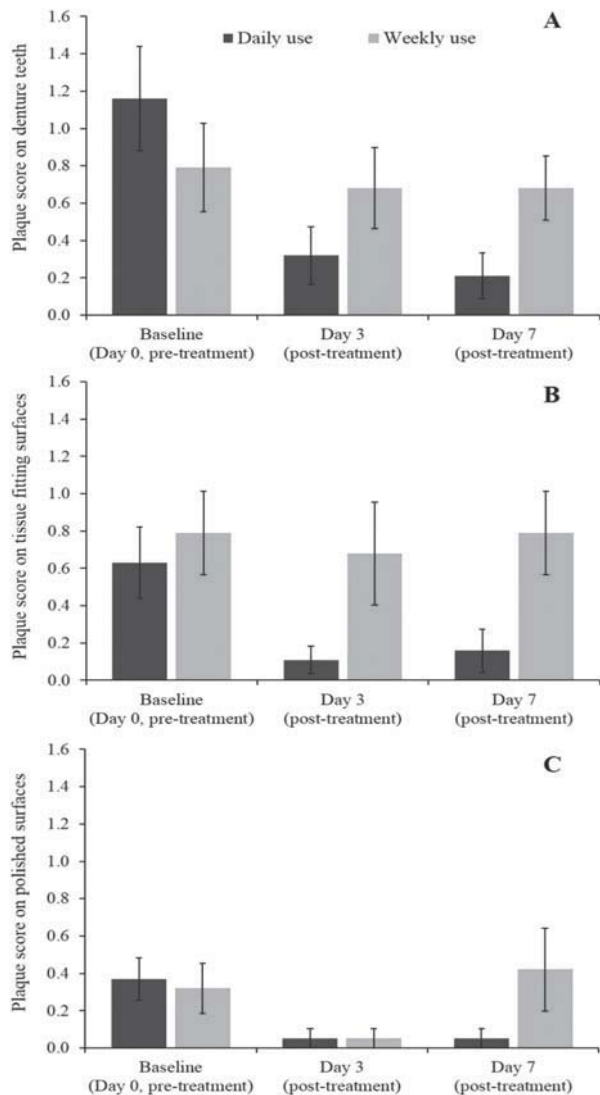


Рис. 10. Необроблені значення оцінки нальоту на (а) зубних протезах, (б) поверхнях, що прилягають до тканин, і (с) відполірованих поверхнях ( $\pm$  стандартна похибка) (ІТТ популяції)..

### Дискусія

Поки є обмежені дані, які методи догляду за протезами треба впроваджувати [6, 7], керівні принципи очищення більш чіткі щодо того, що робити не варто [8]. Очищення в окропі та зберігання протезів насухо слід уникати, щоб мінімізувати фізичні деформації. Розчин для зберігання слід часто міняти, щоб запобігти мікробному росту у воді. Тривалого впливу продуктів, що містять гіпохлорит натрію/відбілювач, також слід уникати через згубний вплив на протезні матеріали, зокрема на метали [33].

Використання мікрохвильової дезінфекції в поєднанні з очищувальними засобами для протезів і чищенням можна порадити для дезінфекції *in vivo* [34], хоча мікрохвилі також можуть фізично спотворювати акрилові елементи протезів [35]. Кількість

нетрадиційних підходів до догляду за протезами, включаючи замочування в оцті, харчовій соді, хлориді натрію (кухонна сіль) і рідкому миль, було визначено в недавньому дослідженні [36]. У багатьох із цих методів відсутні ефективність та/або сумісність з матеріалами [33]. Проте без належної консультації професіоналів багато хто з носіїв протезів цілком можуть продовжувати цю альтернативну практику.

Нинішні докази, які ми маємо, які в багатьох випадках усе ще залишаються слабкими, наголошують на необхідності вдосконалення способів чищення протезів, мають справу з цілим рядом бактерій і, на додаток, дуже толерантні до терапії кандидозні клітини. Порушення протезної біоплівки також має вирішальне значення для покращення здоров'я порожнини рота. Цього можна досягти або за допомогою механічних засобів, таких як чищення щіткою, або за допомогою звукових пристроїв для чищення, які можуть бути більш ефективним методом очищення та деколонізації протезів.

Альтернативні методи можуть включати хімічні речовини й ферменти, здатні перетравлювати та проводити тим самим дезагрегацію біоплівки, що може покращити проникнення та активність агентів у тріщинах, щілинах і порах.

За поточними доказами, механічне порушення біоплівки в поєднанні з ефективними протимікробними препаратами, імовірно, буде найбільш бажаним варіантом.

ПММА є основним матеріалом вибору для виготовлення протезів, хоча він має нерівну поверхню, що призводить до гетерогенної топографії, через що дріжджі та бактерії спільно колонізуються, утворюючи біоплівку та виходячи із протоколу чищення зубних протезів [21, 37, 38].

Дослідження визначення оптимальних методів чищення протезів зосередились на різних фізичних і хімічних техніках очищення як індивідуально, так і в поєднанні. Однак більшість цих досліджень оцінюють терапію за короткий проміжок часу й тому клінічно не моделюють оптимальний режим, важливий при протезуванні [8, 39, 40]. Було попередньо проведено щоденне очищення біоплівки *S. albicans* із зубних протезів, і його результати показують, що, незважаючи на значне зниження життєздатності клітин *S. albicans*, був залишковий резервуар дріжджових клітин, що свідчить про неефективне очищення [21, 41, 42]. Обмеженням цих досліджень було використання одного виду моделі біоплівки, оскільки вона не відображає полімікробне протезне середовище.

Дане дослідження націлене на вирішення цього шляхом розробки більш складної моделі, яка дозволить оцінити повторну, тривалу обробку, а також фізичні та хімічні режими догляду. Кількісний аналіз різних схем догляду за протезами з багатьма видами біоплівки на зубних протезах *in vitro* було проведено протягом п'яти днів. Результати вказують на те, що регулярне щоденне очищення забезпечує значно більшу користь,

ніж періодичне чищення, навіть з використанням щіток разом з хімічною дезінфекцією. Результати показали, що, незважаючи на активний догляд за матеріалом протезів, значна кількість мікроорганізмів затримується на поверхні ПММА, що можна зняти лише ультразвуком. Таким чином, хоча значна кількість мікробів залишилась на поверхні дисків після очищення, використані методи очищення були суттєво більш ефективними, урахувавши значне ослаблення загального мікробного навантаження. Результати qPCR у реальному часі припускають, що біоплівка зубного нальоту може містити спільні персистентні клітинні фенотипи, на які терапія не впливає, але культивувати їх не обов'язково. Загалом ці дані свідчать про те, що склад протезної біоплівки залежить від того, як її обробляють, що в основному узгоджується з нашими попередніми дослідженнями [21, 26]. Однак ця модель виграє з початку її розробки на першому зареєстрованому мікробіомі зубного нальоту [10]. Це полегшило її використання як надійного скринінгового інструменту першої лінії, здатного розпізнати кількісні відмінності в біоплівках зубного нальоту залежно від способу відтворення.

Клінічне дослідження також проходило за подібною схемою і стосувалося зменшення кількості мікробів між її щоденним чи періодичним усунуванням. Кілька досліджень продемонстрували здатність лужних очищувачів для зубних протезів на основі перексиду впливати на зменшення кількості біоплівки зубного нальоту [43, 44]. Поточне дослідження є першим у своєму роді, що оцінює вплив щоденного та періодичного чищення раз на тиждень з використанням лужних очищувачів таблеток для протезів на основі перексиду.

Відмічали статистично значуще зменшення кількості аеробних бактерій у групі, де використовували щоденну схему догляду на 7 день, і аеробні та анаеробні бактерії на 3-й день у порівнянні із групою щотижневого використання. На 3-й день кількість аеробних та анаеробних мікробів при щотижневому застосуванні була вище, ніж у день 0, і це вказує на те, що мікробна біоплівка росла порівняно з вихідним рівнем, коли учасники щодня чистили протези водою.

На 7 день дослідження, коли учасники обох схем догляду використовували очищувальну таблетку, кількість бактерій аеробів та анаеробів була менше у порівнянні з вихідним рівнем в обох групах. Результат на 3-й день, мабуть, відображає антимікробну активність, пов'язану з вивільненням антимікробних речовин з таблетки для очищення протеза у порівнянні з водою. Однак відмінності, що спостерігали на 7-й день, інтригують, оскільки обидві групи отримували однакові процедури безпосередньо перед відбором проб. Дані свідчать про те, що біоплівка, які виникла у групі тижневого використання, була більш стійкою до одноразової обробки засобами для чищення протезів у порівнянні з біоплівкою, що утворилась у групі щоденного очищення. Це відповідає результатам, виявленим в елементі *in vitro* поточного дослідження,

а також у багатьох інших дослідженнях зрілих біофільмів з ротової порожнини та з інших джерел. Це підтверджує ряд доказів (що підтверджують попередні клінічні дослідження), які припустили, що регулярне чищення протезів корисне для загального здоров'я порожнини рота [6, 7]. Може бути недостатньо одного лише замочування в засобі для чищення зубних протезів для видалення нальоту [45], і це відповідає дуже поширеній думці про те, що існування методів механічного очищення дуже важливе для фізичного видалення нальоту. Деякі дослідження продемонстрували додаткову перевагу, пов'язану з використанням таблеток для чищення зубних протезів під час видалення зубного нальоту порівняно з одним лише чищенням щіткою. Sheen і його колеги продемонстрували результат використання лужного очищувального засобу на основі перексиду як 42 % зниження ( $p = 0,0014$ ) рівня нальоту після двох тижнів використання порівняно з чищенням водою [46].

Незважаючи на відносно низькі показники зубного нальоту на зубному протезі протягом усього дослідження, статистично значно більше зменшення нальоту на штучних зубах і прилягаючих до тканин поверхнях відмічали на 7 день у групі зі щоденним використанням порівняно із групою з щотижневим використанням. Nishi та ін. (2012) зібрали протезний зубний наліт у носіїв протезів і проаналізували ефективність використання щітки для протезів, частоти чищення та чищення розчином [47]. Вони дійшли висновку, що використання щітки було пов'язано з меншою кількістю мікробів і що, як не дивно, щоденне використання було значно краще, ніж щомісячне використання. У загальній популяції вони не знайшли особливих різниць ефективності між щоденним чищенням і чищенням протезів 3–4 рази на тиждень, але в тих пацієнтів, які перебували в будинках для престарілих, щоденне чищення було більш ефективним. Цілком можливо, що ці пацієнти не можуть самостійно чистити протези ефективно через свою вразливість, і наші дослідження підтверджують, що щоденне очищення є бажаним.

Наші результати також узгоджуються з невеликим клінічним дослідженням, проведеним Шіном та ін. (2000), яке показало, що рівень зубного нальоту на протезах можна знизити за допомогою щоденного чищення зубів, але додавання активного очищувального засобу зменшило показник утворення нальоту і було більш ефективним, ніж використання води і лише чищення щіткою [46]. Більше того, результати цього дослідження корелюють з висновком Кішов та ін. (2016), який повідомив, що спеціальні таблетки для чищення зубних протезів забезпечують хорошу комбінацію мікробної ефективності, а також одночасно зберігають сумісність матеріалів [33]. Також використання засобів для чищення протезів показало значне ослаблення мікробного навантаження порівняно з ополіскувачем для рота [48]. Це дослідження поряд з

попередніми доказами частково розглянуло недоліки в літературі, які були зроблені на підставі попередніх систематичних оглядів [6, 7]. Дійсно, ці дані дають кращі докази того, що часте використання очищувальних засобів для протезів – це ефективна стратегія підтримки низького рівня мікробного біонавантаження, яка підтримуватиме здоров'я слизової оболонки, що є логічним. Для подальшого визначення та розвитку нашого розуміння здоров'я слизової оболонки ми розробили методики дослідження й оцінки динаміки мікробної популяції. Цей підхід може мати поступальну користь для вдосконалення існуючих розроблених засобів для чищення протезів і націлювати на певні групи патогенних мікроорганізмів зубного нальоту.

Було досліджено мікробний склад зразків дисків зубного протеза за допомогою qPCR, наближено націленої на дні 0, 3 та 7. Було відібрано вісім мікробних груп на основі даних про попереднє визначення пропускну здатності мікробіомів у носіїв протезів [10]. У цьому дослідженні спостерігали відносно домінування видів *V. dispar* і *Streptococcus* і в обох досліджуваних групах пацієнтів та в усі моменти часу, з іншими мікробними групами, представленими в менших пропорціях. Явну різницю між режимами догляду не спостерігали. *Streptococcus* і *Veillonella* були задокументовані як ранні колонізатори та домінуючі бактерії у здоровій оральній біоплівці [49–51] та зареєстровані як основні компоненти мікробіома протезів у учасників дослідження без стоматиту [10, 52]. *Actinobacteria* spp. були зареєстровані як рясні компоненти мікробіома протеза [10], однак у цьому дослідженні вони були присутніми у відносно низькій кількості (< 10 %). Це дослідження було би корисним, маючи повний аналіз мікробіома, однак додадуть ці дані значення чи ні для скерування найкращим режимом для догляду за протезами, залишається тільки здогадуватись.

Наш метод з використанням qPCR забезпечує середній і більш економічний підхід до оцінки змін мікробної динаміки.

### Висновки

Це дослідження показує, як базове розуміння науки дозволило створити модель мікробіома зубного нальоту на протезі *in vitro*, що імітує розвиток нальоту в порожнині рота.

Регулярний щоденний догляд за допомогою засобів для чищення зубних протезів в умовах *in vitro* моделі й у клінічному дослідженні носіїв протезів більш ефективний для зменшення кількості мікробів і показників нальоту в порівнянні з періодичним доглядом.

### Подяка

Редакційні послуги надала д-р Елеонора Робертс з Beeline Science Communications Ltd, профінансовано GSK Consumer Healthcare.

Заява про розкриття інформації: організація не повідомляла про потенційний конфлікт інтересів авторів.

### Фінансування

Це дослідження профінансовано GlaxoSmithKline Consumer Healthcare, Вейбрідж, Суррей, Велика Британія.

### ORCID

Шауна Кулшоу – <http://orcid.org/0000-0002-9653-5629>.

Джеремі Багг – <http://orcid.org/0000-0002-6312-2078>.

Марта Чеснікевич-Гузик – <http://orcid.org/0000-0002-7444-1373>.

Анто Хосе – <http://orcid.org/0000-0003-4924-6397>.

### ПОСИЛАННЯ

- Cunha-Cruz J, Hujuel PP, Nadanovsky P. Secular trends in socio-economic disparities in edentulism: USA, 1972-2001. *J Dent Res.* 2007;86:131–136.
- Steele J, Treasure E, Fuller E, et al. Complexity and maintenance - a report from the adult dental health survey. In: O'Sullivan I, editor. *The health and social care information centre.* London: NHS; 2011.
- Bedos C, Jm B, Boucheron L, et al. The dental care pathway of welfare recipients in Quebec. *Soc Sci Med.* 2003;57:2089–2099.
- Gendreau L, Zg L. Epidemiology and etiology of denture stomatitis. *JProsthodont.* 2011;20:251–260.
- Martori E, Ayuso-Montero R, Martinez-Gomis J, et al. Risk factors for denture-related oral mucosal lesions in a geriatric population. *JProsthet Dent.* 2014;111:273–279.
- Rf DS, de Freitas Oliveira Paranhos H, Ch LDS, et al. Interventions for cleaning dentures in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009;4:CD007395.
- Jagger R. Lack of evidence about the effectiveness of the different denture cleaning methods. *Evid Based Dent.* 2009;10:109.
- Felton D, Cooper L, Duquon I, et al. Evidence-based guidelines for the care and maintenance of complete dentures: a publication of the American College of Prosthodontists. *J Prosthodont.* 2011;20(Suppl 1):S1–S12.
- Emami E, Kabawat M, Ph R, et al. Linking evidence to treatment for denture stomatitis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Dent.* 2014;42:99–106.
- LE O, Robertson D, Cj N, et al. The oral microbiome of denture wearers is influenced by levels of natural dentition. *PLoS One.* 2015;10:e0137717.
- Shi B, Wu T, McLean J, et al. The denture-associated oral microbiome in health and stomatitis. *mSphere.* 2016;1(6):e00215–16.
- Ve H, O'Donnell L, Robertson D, et al. Denture stomatitis: causes, cures and prevention. *Prim Dent J.* 2017;6:46–51.
- Nikawa H, Hamada T, Yamamoto T. Denture plaque – past and recent concerns. *J Dent.* 1998;26:299–304.
- Verran J, Jackson S, Coulthwaite L, et al. The effect of dentifrice abrasion on denture topography and the subsequent retention of microorganisms on abraded surfaces. *J Prosthet Dent.* 2014;112:1513–1522.

15. O'Donnell LE, Smith K, Williams C, et al. Dentures are a reservoir for respiratory pathogens. *J Prosthodont.* 2016;25:99–104.
16. Charman KM, Fernandez P, Loewy Z, et al. Attachment of *Streptococcus oralis* on acrylic substrates of varying roughness. *Lett Appl Microbiol.* 2009;48:472–477.
17. Mainieri VC, Beck J, Oshima HM, et al. Surface changes in denture soft liners with and without sealer coating following abrasion with mechanical brushing. *Gerodontology.* 2011;28:146–151.
18. Sorgini DB, Silva-Lovato CH, de Souza RF, et al. Abrasiveness of conventional and specific denturecleansing dentifrices. *Braz Dent J.* 2012;23:154–159.
19. Apratim A, Shah SS, Sinha M, et al. Denture hygiene habits among elderly patients wearing complete dentures. *J Contemp Dent Pract.* 2013;14:1161–1164.
20. Lucena-Ferreira SC, Ricomini-Filho AP, Silva WJ, et al. Influence of daily immersion in denture cleanser on multispecies biofilm. *Clin Oral Invest.* 2014;18:2179–2185.
21. Ramage G, Zalewska A, Cameron DA, et al. A comparative in vitro study of two denture cleaning techniques as an effective strategy for inhibiting *Candida albicans* biofilms on denture surfaces and reducing inflammation. *J Prosthodont.* 2012;21:516–522.
22. Jose A, Coco BJ, Milligan S, et al. Reducing the incidence of denture stomatitis: are denture cleansers sufficient? *J Prosthodont.* 2010;19:252–257.
23. Budtz-Jorgensen E. Denture stomatitis. 3. Histopathology of trauma- and candida-induced inflammatory lesions of the palatal mucosa. *Acta Odontol Scand.* 1970;28:551–579.
24. Johnson CC, Yu A, Lee H, et al. Development of a contemporary animal model of *Candida albicans* associated denture stomatitis using a novel intraoral denture system. *Infect Immun.* 2012;80:1736–1743.
25. Pereira-Cenci T, Aa DBC, Crielaard W, et al. Development of *Candida*-associated denture stomatitis: new insights. *J Appl Oral Sci: Revista FOB.* 2008;16:86–94.
26. Sherry L, Lappin G, LE O, et al. Viable compositional analysis of an eleven species oral polymicrobial biofilm. *Front Microbiol.* 2016;7:912.
27. Alalwan H, Cj N, Rajendran R, et al. Nanoimprinting of biomedical polymers reduces candidal physical adhesion. *Nanomedicine.* 2018;14:1045–1049. 14 G. RAMAGE ET AL.
28. Aa M, Ss M, Jo I. The estimation of the bactericidal power of the blood. *J Hyg.* 1938;38:732–749.
29. Kapur KK. A clinical evaluation of denture adhesives. *J Prosthet Dent.* 1967;18:550–558.
30. Am O, Nm R, Mankodi S, et al. A modified Kapur scale for evaluating denture retention and stability: methodology study. *Am J Dent.* 1992;5:88–90.
31. Blair Y, Bagg J, Tw M, et al. Microbiological assessment of denture hygiene among patients in longstay and daycare community places. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1995;23:100–103.
32. Mylonas P, Afzal Z, Dc A. A clinical audit of denture cleanliness in general dental practice undertaken in the West Midlands. *Br Dent J.* 2014;217:231–234.
33. Kiesow A, Sarembe S, Ri P, et al. Material compatibility and antimicrobial activity of consumer products commonly used to clean dentures. *J Prosthet Dent.* 2016;115:189–198.e8.
34. Sesma N, Al R, Dc L, et al. Effectiveness of denture cleanser associated with microwave disinfection and brushing of complete dentures: in vivo study. *Braz Dent J.* 2013;24:357–361.
35. Da W, Pipko DJ. The effect of repeated microwave irradiation on the dimensional stability of a specific acrylic denture resin. *J Prosthodont.* 2015;24:25–31.
36. As A, Varghese R, Bosma M, et al. Dental health professional recommendation and consumer habits in denture cleansing. *J Prosthet Dent.* 2016;115:183–188.
37. Li L, Mb F, Ozkan S, et al. In vitro study of biofilm formation and effectiveness of antimicrobial treatment on various dental material surfaces. *Mol Oral Microbiol.* 2010;25:384–390.
38. Mendonca E Bertolini M, Yw C, Bordin D, et al. *Candida albicans* biofilms and MMA surface treatment influence the adhesion of soft denture liners to PMMA resin. *Braz Oral Res.* 2014;28:61–66.
39. Ac P, Ac P, Al M, et al. An infection control protocol: effectiveness of immersion solutions to reduce the microbial growth on dental prostheses. *J Oral Rehab.* 2003;30:532–536.
40. Pellizzaro D, Polyzois G, Al M, et al. Effectiveness of mechanical brushing with different denture cleansing agents in reducing in vitro *Candida albicans* biofilm viability. *Braz Dent J.* 2012;23:547–554.
41. Faot F, Yw C, Mendonca E Bertolini M, et al. Efficacy of citric acid denture cleanser on the *Candida albicans* biofilm formed on poly(methyl methacrylate): effects on residual biofilm and recolonization process. *BMC Oral Health.* 2014;14:77.
42. Fs F-F, Yw C, Ap RF, et al. Effect of daily use of an enzymatic denture cleanser on *Candida albicans* biofilms formed on polyamide and poly(methyl methacrylate) resins: an in vitro study. *J Prosthet Dent.* 2014;112:1349–1355.
43. Duyck J, Vandamme K, Muller P, et al. Overnight storage of removable dentures in alkaline peroxide based tablets affects biofilm mass and composition. *J Dent.* 2013;41:1281–1289.
44. Uludamar A, Yk O, Kadir T, et al. In vivo efficacy of alkaline peroxide tablets and mouthwashes on *Candida albicans* in patients with denture stomatitis. *J Appl Oral Sci: Revista FOB.* 2010;18:291–296.
45. Sb K, Lim M. Denture plaque distribution and the effectiveness of a perborate-containing denture cleanser. *Quintessence Int.* 1996;27:341–345.
46. Sr S, Harrison A. Assessment of plaque prevention on dentures using an experimental cleanser. *J Prosthet Dent.* 2000;84:594–601.
47. Nishi Y, Seto K, Kamashita Y, et al. Examination of denture-cleaning methods based on the quantity of microorganisms adhering to a denture. *Gerodontology.* 2012;29:e259–266.
48. Srinivasan M, Gulabani M. A microbiological evaluation of the use of denture cleansers in combination with an oral rinse in complete denture patients. *Indian J Dent Res.* 2010;21:353–356.
49. Ja A, Bj P, Ln S, et al. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol.* 2005;43:5721–5732.
50. Pi D, Ni C, Ah R, et al. Molecular characterization of subject-specific oral microflora during initial colonization of enamel. *Appl Environ Microbiol.* 2006;72:2837–2848.
51. Ss S, Ad H, Ma C, et al. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol.* 1998;25:134–144.
52. Ms C, Marchini L, LA B, et al. Biofilm microbial communities of denture stomatitis. *Oral Microbiol Immunol.* 2008;23:419–424.

**Влияние частоты чистки протезов на микробные и клинические параметры.****Подход от разработки до внедрения**

*Гордон Рэймидж, Линдси О’Доннелл, Лейган Шерри, Шона Калшоу, Джереми Бэгг, Марта Чесникевич-Гузик, Клэр Браун, Дебби Маккензи, Лора Кросс, Эндрю Макиннес, Дэвид Брэдшоу, Рошан Варгезе, Паола Гомес Перейра, Анто Хосе, Сусмита Саньял, Дуглас Робертсон*

**Цель:** надежных научных и клинических доказательств того, как правильно ухаживать за протезами и очищать их от налета, не хватает. Это двусложное исследование, разработанное с помощью *in vitro* модели удаленного зубного налета, оценивало эффективность этих подходов при рандомизированном клиническом исследовании. 3Syneos Health, Пуна, Индия.

**Метод:** была разработана модель сложного зубного налета с использованием доминирующего микробного вида с недавнего анализа микробиома. Биопленку, образовавшуюся на полиметилметакрилат, очищали ежедневно мокрой зубной щеткой, потом либо обрабатывали ежедневно в течение пяти дней, или только на первый и пятый дни исследования таблетками для чистки зубных протезов «Polident®» (экспозиция три минуты). Было проведено количественную и качественную микробиологическую оценку и слепое для экспертов, рандомизированное, перекрестное исследование постоянного ношения протезов на верхней челюсти (n = 19). Или однократно в течение семи дней, или в дальнейшем только на седьмой день, участники исследования замачивали протезы в течение 15 мин., используя таблетки для чистки протезов «Corega®», затем очищая их щеткой. Микробиологическую оценку зубного налета проводили с использованием стерилизованных дисков с фильтровальной бумаги.

**Результаты.** Модель *in vitro* показала, что ежедневная чистка протезов с помощью очистителя для протезов и дальнейшая чистка щеткой значительно уменьшило количество микробов по сравнению с привычным повседневным чисткой щеткой ( $P < 0,001$ ). Клинический компонент исследования показал статистически значительное уменьшение количества микроорганизмов в зубном налете в пользу чистки, которое проводили ежедневно, против процедур раз в неделю (аэробные бактерии,  $p = 0,0144$ ). Исследования *in vitro* и *in vivo* показали, что состав биопленки зависит от разноплановых досмотровых мероприятий.

**Выводы.** Это исследование продемонстрировало, что эффективность ежедневной чистки протезов превосходит эффективность периодической чистки зубных протезов, а также то, что схемы чистки могут вызвать составляющие изменения зубного налета. Clinicaltrials.gov регистрации: NCT02780661.

**Impact of frequency of denture cleaning on microbial and clinical parameters – a bench to chairside approach**

*Gordon Ramage, Lindsay O’Donnell, Leighann Sherry, Shauna Culshaw, Jeremy Bagg, Marta Czesnikiewicz-Guzik, Clare Brown, Debbie McKenzie, Laura Cross, Andrew MacInnes, David Bradshaw, Roshan Varghese, Paola Gomez Pereira, Anto Jose, Susmita Sanyal, Douglas Robertson*

**Objective:** Robust scientific and clinical evidence of how to appropriately manage denture plaque is lacking. This two-part study (i) developed an *in vitro* model of denture plaque removal, and (ii) assessed effectiveness of these approaches in a randomised clinical trial.

**Method:** (i) a complex denture plaque model was developed using the dominant microbial genera from a recent microbiome analyses. Biofilms formed on polymethylmethacrylate were brushed daily with a wet toothbrush, then either treated daily for 5 days or only on Days 1 and 5 with Polident® denture cleanser tablets (3 min soaking). Quantitative and qualitative microbiological assessments were performed. (ii), an examiner-blind, randomised, crossover study of complete maxillary denture wearers was performed (n = 19). Either once-daily for 7 days or on Day 7 only, participants soaked dentures for 15 min using Corega® denture cleansing tables, then brushed. Denture plaque microbiological assessment used sterilized filter paper discs.

**Results:** The *in vitro* model showed daily cleaning with denture cleanser plus brushing significantly reduced microbial numbers compared to intermittent denture cleaning with daily brushing ( $p < 0.001$ ). The clinical component of the study showed a statistically significant reduction in denture plaque microbial numbers in favour of daily versus weekly treatment (aerobic bacteria  $p = 0.0144$ ). Both *in vitro* and *in vivo* studies showed that denture plaque biofilm composition were affected by different treatment arms.

**Conclusions:** This study demonstrated that daily denture cleansing regimens are superior to intermittent denture cleansing, and that cleansing regimens can induce denture plaque compositional changes. Clinicaltrials.gov registration: NCT02780661.

**Gordon Ramage** – Oral Sciences Research Group, Glasgow Dental School, School of Medicine, Dentistry and Nursing, College of Medical, Veterinary and Life Sciences, University of Glasgow, 378 Sauchiehall Street, Glasgow, G2 3JZ, UK. **E-mail:** gordon.ramage@glasgow.ac.uk.

Переклад статті: **Чернобай О.Д.**



НОВИНКА\*



# ЕКСТРА\*\*

## КОМФОРТ ДЛЯ ЯСЕН

### ДЛЯ ПАЦІЄНТІВ ІЗ ЗУБНИМИ ПРОТЕЗАМИ<sup>1</sup>



ПОМ'ЯКШУЄ ПОДРАЗНЕННЯ ТА ЗАХИЩАЄ  
СЛИЗОВУ ОБОЛОНКУ ПОРОЖНИНИ РОТА<sup>2</sup>

МІНІМІЗУЄ МІСЦЕВІ ТОЧКИ ТИСКУ<sup>3</sup>

КРАЩИЙ КОМФОРТ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНІСТЬ\*\*

Спеціальний гелевий шар забезпечує амортизуючий ефект при використанні зубного протеза



\*Старт продажів в червні 2019 року.

\*\*У порівнянні з використанням зубного протезу без нанесення крему. На вимогу GSK, у 2018 році (18 жовтня – 3 листопада) компанія Ipsos провела інтерв'ю з 162 користувачами зубних протезів в Іспанії, які не купували крем для фіксації зубних протезів у минулому році, але не відмовляються від придбання крему для фіксації у майбутньому. Продукт використовували протягом 14 днів. У даних дослідженнях були враховані вікові особливості цільової аудиторії. Імпортер та уповноважена організація в Україні: ТОВ «ГлаксоСмітКлайн Хелскер Юкрейн Т.О.В.». Адреса: Україна, 02152, м. Київ, проспект Павла Тичини, 1-В, тел. (044) 585-51-85, email: oax70065@gsk.com. Торгові марки належать або використовуються за ліцензією групою компаній GSK.

1. Ipsos Mori Proton Fixative Non-Buyers HUT Report. November, 2018. 2. Psillakis JJ, et al. J Prosthodont 2004; 13:244–250. 3. Adisman IK. J Prosthet Dent 1989; 62:711–715.

©2019 група компаній GSK або їх ліцензіар. Інформаційний матеріал № CHUKR/CHPLD/0005/19. Дата виробництва матеріалу: Квітень 2019.