

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ГОМЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**Кафедра травматологии, ортопедии и ВПХ
с курсами ЛОР-болезней и стоматологии**

Кафедра общей гигиены, экологии и радиационной медицины

**ОСНОВЫ МАТЕРИАЛОВЕДЕНИЯ В СТОМАТОЛОГИИ.
МЕТОДЫ ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ
СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ**

**Учебно-методическое пособие для студентов 3 курса
медико-профилактического факультета, обучающихся по специальности
«Медико-профилактическое дело»**

Гомель 2007

УДК 616.314 –77: 614.35

ББК 56.6

О-75

Авторы-составители: Н. М. Тризна, Л. П. Мамчиц

Рецензент: кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры коммунальной гигиены Белорусского государственного медицинского университета **В. А. Филонюк**

Основы материаловедения в стоматологии. Методы токсиколого-
О-75 гигиенической оценки стоматологических материалов: учеб.-метод. пособие для студентов 3 курса медико-профилактического факультета, обучающихся по специальности «Медико-профилактическое дело» / авт.-сост. Н. М. Тризна, Л. П. Мамчиц. — Гомель: УО «Гомельский государственный медицинский университет», 2007. — 44 с.

ISBN 978-985-6779-99-5

Учебно-методическое пособие предназначено для проведения практических занятий по стоматологии в медицинских вузах на медико-профилактическом факультете и составлено в соответствии с учебной программой, а также может быть использовано при проведении практических занятий по токсикологии со студентами 5 курса медико-профилактического факультета.

Представленные в пособии материалы соответствуют требованиям образовательного стандарта выпускников медико-профилактических факультетов медицинских вузов.

Утверждено и рекомендовано к изданию Центральным учебным научно-методическим советом Учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет» 27 октября 2006 г., протокол № 9.

ISBN 978-985-6779-99-5

УДК 616.314 –77: 614.35

ББК 56.6

© Учреждение образования
«Гомельский государственный
медицинский университет», 2007

ВВЕДЕНИЕ

Развитие стоматологии связано с достижениями стоматологического материаловедения. Эффективность оказания стоматологической помощи определяется не только профессионализмом врача, совершенством используемых методов и технологий, но и качеством применяемых материалов.

Будущий врач-гигиенист должен знать основные этапы токсиколого-гигиенической экспертизы стоматологических материалов и методы токсикологической оценки материалов, применяемых в стоматологии.

Цель занятия — изучить методы токсиколого-гигиенических исследований материалов, используемых в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии.

Задачи:

- изучить группы стоматологических материалов, их физико-химические, технологические и биологические свойства;
- изучить гигиенические требования, предъявляемые к материалам стоматологического назначения;
- освоить этапы токсиколого-гигиенических исследований материалов, применяемых в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии;
- изучить основные методы токсикологической оценки стоматологических материалов;
- уметь оценить результаты токсиколого-гигиенической экспертизы стоматологических материалов и дать рекомендации по их использованию.

Требования к исходному уровню знаний студентов

Для полного освоения материала студенту необходимо повторить следующие темы:

- «Химические свойства металлов и полимеров» (общая химия);
- «Физические свойства веществ» общей физики;
- «Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности» (общая гигиена).

Контрольные вопросы из смежных дисциплин

1. Физико-химические свойства металлов.
2. Физико-химические свойства полимерных материалов.
3. Понятие «токсичность» и показатели, используемые для определения токсичности веществ (среднесмертельная доза, средняя смертельная концентрация, средняя смертельная доза при нанесении на кожу).
4. Классификация химических соединений по степени опасности.
5. Влияние физических свойств и химической структуры вредных веществ на характер токсического действия.
6. Применение методов химических исследований при оценке изделий медицинского назначения.

Перечень вопросов по теме занятия

1. Понятие о материаловедении. Классификация стоматологических материалов.
2. Составы и свойства материалов, применяемых в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии.
3. Общие требования, предъявляемые к стоматологическим материалам.
4. Гигиенические требования, предъявляемые к стоматологическим материалам.
5. Гигиеническая экспертиза стоматологических материалов. Этапы гигиенической экспертизы.
6. Порядок проведения токсиколого-гигиенических исследований стоматологических материалов.
 - 6.1. Санитарно-химические исследования.
 - 6.2. Токсикологические исследования.
 - 6.3. Оценка результатов токсиколого-гигиенических исследований стоматологических материалов.

1. ПОНЯТИЕ О МАТЕРИАЛОВЕДЕНИИ. КЛАССИФИКАЦИЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Материаловедение — это наука о свойствах материалов, их происхождении, строении и изменениях под воздействием различных факторов. Термин «материаловедение» включает целый комплекс дисциплин, изучающих физико-химические свойства материалов, технологию их механической, термической и электрохимической обработки, способы получения металлов и их сплавов. Раздел материаловедения в стоматологии является прикладным, так как основное внимание уделяется материалам, имеющим непосредственное или косвенное отношение к специальности.

Выделяют следующие **группы стоматологических материалов**:

- основные;
- вспомогательные;
- клинические.

Основные материалы (конструкционные) — материалы, из которых непосредственно изготавливаются различные конструкции, применяемые в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии. К ним относятся:

- *сплавы металлов* (нержавеющая сталь X18H9T, ЭЯ–95; припой для нержавеющей стали ПСР–37; сплав золота 900-й и 750-й пробы; сплав кобальто-хромовой стали; серебряно-палладиевый сплав; сплавы титана — BT5J);
- *керамические материалы* (гамма; металлокермика);
- *пластмассы* (этакрил, синма, эладент, ортосил, редонт, карбопласт, протокрил).

Вспомогательные материалы используются в условиях зуботехнической лаборатории, на клиническом приеме пациентов при изготовлении зубных протезов. Вспомогательные материалы делятся на следующие виды:

- *формовочные* (силаур, формалит, кристосил, силамин);
- *абразивные* (алмаз, корунд, электрокорунд, карборунд, полировочные пасты, пемза, мел);
- *изолирующие* (изокол);
- *оттисковые* (цинкоксидэвгенольные; альгинатные; силиконовые; термопластические; гидроколлоидные);
- *моделировочные* (воск базисный, моделировочный и др.).

Клинические материалы используются в условиях клиники при лечении стоматологических больных, в том числе:

- *пломбировочные* (для реставрации дефектов твердых тканей коронок зубов и заполнения корневых каналов);
- *фиксирующие* (для фиксации несъемных зубных протезов в полости рта);
- *имплантационные* (для остеосинтеза, эндопротезирования и контурной пластики);
- *средства для химической и антисептической обработки.*

2. СОСТАВЫ И СВОЙСТВА МАТЕРИАЛОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В СТОМАТОЛОГИИ И ЧЕЛЮСТНО- ЛИЦЕВОЙ ХИРУРГИИ

Среди многочисленных характеристик материалов, применяемых в стоматологии, основными являются следующие **свойства стоматологических материалов**:

- физические;
- механические;
- технологические;
- химические;
- биологические.

Физические свойства стоматологических материалов:

- *плотность* — отношение массы тела к его объему;
- *температура кипения и плавления* — температура, при которой нагретый материал переходит из твердого состояния в жидкое;
- *теплопроводность* — способность вещества проводить тепло;
- *электропроводность* — способность проводить электрический ток;
- *тепловое расширение* — способность материала при нагревании изменять объем и линейные размеры.

Механические свойства стоматологических материалов:

- *прочность* — способность сопротивляться и быть устойчивым к воздействию механических сил, способных вызвать деформацию и разрушение материала;

- *твердость* — сопротивление деформации на поверхности при установленном механическом воздействии на нее другого, более твердого тела, не изменяемого во время испытания;

- *вязкость* — способность материала под действием растягивающих нагрузок вытягиваться;

- *упругость* — способность материала оказывать нарастающее сопротивление деформирующим силам, изменять под их воздействием размеры и форму и возвращаться после снятия нагрузки к первоначальному состоянию;

- *пластичность* — способность материала под воздействием нагрузки изменять свою форму и не возвращаться в первоначальное состояние после снятия нагрузки;

- *деформация* — способность изменять форму и структуру под внешним воздействием (растяжение, сжатие, изгиб, кручение);

- *усталость* — уменьшение силы сцепления зерен материала вследствие сдвига кристаллических элементов.

Технологические свойства стоматологических материалов:

- *литейные* — способность жидких металлов заполнять литейные формы и образовывать плотные отливки;

- *ковкость* — свойство материалов, благодаря которому методом давления и штамповки можно получить изделие необходимой формы;

- *свариваемость (спаиваемость)* — способность материалов образовывать прочные соединения при контакте или с помощью специальных сплавов-припоев;

- *обрабатываемость* — способность материалов поддаваться обработке всеми видами шлифующих, режущих инструментов.

Химические свойства стоматологических материалов:

- *инертность*;

- *стойкость к коррозии*.

Под **биологическими свойствами стоматологических материалов** понимают возможность воздействия материалов на биологическую среду, в которой они находятся. Стоматологические материалы постоянно подвергаются воздействию различных факторов окружающей среды. Например, при жевании физическая нагрузка на жевательную поверхность моляров составляет до 100 кг, а цикличность этого воздействия в течение суток достигает 5000 раз, что, несомненно, следует учитывать при восстановлении коронки зуба, изготовлении зубных протезов. Пребывание стоматологических материалов в полости рта происходит в жестких условиях и сопровождается длительным воздействием неблагоприятных факторов таких, как постоянный контакт со слюной и пищей, перепад температур от 5 до 60°С, интервал рН от 2 до 10. Этим обусловлены высокие требования к физико-механическим, химическим и биологическим свойствам стоматологических материалов.

3. ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ К СТОМАТОЛОГИЧЕСКИМ МАТЕРИАЛАМ

К стоматологическим материалам предъявляются следующие требования:

- безвредность;
- химическая инертность в полости рта;
- устойчивость к силовым воздействиям (механическая прочность);
- способность сохранения постоянства формы и объема;
- хорошие технологические свойства;
- эстетичность.

Стоматологические материалы **не должны**:

- вызывать отрицательных сдвигов в тканях и жидкостях, с которыми они контактируют;
- изменять микрофлору полости рта;
- влиять на pH среды;
- нарушать кровообращение, чувствительность;
- оказывать общетоксического, раздражающего и аллергенного действия.

4. ГИГИЕНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ К СТОМАТОЛОГИЧЕСКИМ МАТЕРИАЛАМ

Гигиенические требования к пломбировочным материалам, применяемым в терапевтической стоматологии

1. Вещества, которые входят в композицию пломбировочных материалов, не должны оказывать на организм общетоксического, раздражающего и аллергенного действия.

2. В пломбировочную композицию могут входить малотоксичные соединения, а также вещества умеренной токсичности в недействующих количествах.

3. Технология приготовления полимерных пломбировочных материалов должна обеспечить достаточно полную полимеризацию ингредиентов композиции, в том числе технологических химических добавок.

4. Полимерные пломбировочные материалы при их практическом применении не должны отдавать в организм продукты деструкции в количествах, способных оказать вредное действие.

Гигиенические требования, предъявляемые к материалам, имплантируемым в организм человека

1. Полимерные материалы и изделия, имплантируемые в организм, не должны оказывать общетоксическое, раздражающее и аллергенное действие. Имплантационные материалы не должны вызывать отдаленные неблагоприятные последствия.

гоприятные последствия (канцерогенное, мутагенное, тератогенное, эмбриотоксическое действие и др.).

2. Изделия не должны оказывать токсического действия после стерилизации.

Гигиенические требования к металлическим сплавам для протезирования в ортопедической стоматологии

1. Сплавы не должны оказывать общетоксического, раздражающего и аллергенного действия на организм.

2. Сплавы не должны патологически изменять регенеративные и репаративные процессы в тканях на месте введения.

5. ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ЭКСПЕРТИЗА СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ. ЭТАПЫ ГИГИЕНИЧЕСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ

Гигиеническая экспертиза, в том числе стоматологических материалов, осуществляется в соответствии с законом Республики Беларусь «О санитарно-эпидемическом благополучии населения».

Основной задачей гигиенической экспертизы (ГЭ) является установление качества и безопасности материалов для здоровья человека, соответствие их нормативным документам.

Гигиеническая экспертиза проводится:

- при рассмотрении нормативно-технической документации, определяющей требования к сырью, материалам, изделиям;
- при реализации изделий (выборочно, при текущем государственном санитарном надзоре, при наличии жалоб от потребителей);
- при проведении государственной гигиенической регламентации и регистрации изделий;
- при осуществлении государственного санитарного надзора за соблюдением санитарно-гигиенических требований нормативно-технической документации при производстве материалов и изделий медицинского назначения.

Общие рекомендации по организации и проведению гигиенической экспертизы

1. Врач-гигиенист должен учитывать и руководствоваться всеми действующими документами, регламентирующими требования качества и безопасности материалов и изделий медицинского назначения, технологии производства, хранения и реализации.

2. С целью получения четких и полезных для экспертизы данных по лабораторному исследованию врач-гигиенист, направляя образцы в лабораторию, должен определить конкретную программу исследований. За-

ключение по гигиенической экспертизе должно быть обосновано ссылками на соответствующие стандарты, ТУ и другие нормативные документы.

3. В случае сложной гигиенической экспертизы рекомендуется привлечение к участию смежных специалистов в зависимости от задач экспертизы — микробиологов, химиков, технологов и др. При необходимости возможно привлечение НИИ, специалистов Республиканского ЦГЭ и др.

4. Приступая к гигиенической экспертизе, прежде всего надо ознакомиться с документами, характеризующими партию изделий: транспортные накладные, удостоверение о качестве, сертификат соответствия, регистрационное удостоверение Министерства здравоохранения Республики Беларусь и др.

Результатом является заключение — акт санитарно-гигиенической экспертизы о соответствии данного изделия нормативной документации по гигиеническим показателям качества и безопасности. Текст акта должен быть четким, не допускаются различные толкования эксперта и представителей, участвующих в ГЭ, подписи должны быть отчетливыми, указана должность.

Этапы гигиенической экспертизы

1. Изучение и экспертиза представленных документов

Производители материалов медицинского назначения представляют на экспертизу нормативно-технический документ на готовое изделие (ГОСТ, СТБ, ТУ, ТО), технологическую карту или описание технологического процесса изготовления изделия, рецептуру или состав сырья, предполагаемую область применения изделия, протоколы проведенных испытаний и т. д.

На ввезенные материалы и изделия заявитель представляет документы, по которым продукция ввезена в Республику Беларусь (товаро-транспортная накладная, CMR, сертификат о прохождении изделия и т.д.), сведения о сырьевом составе (могут быть указаны на ярлыке, в паспорте или сертификате качества на изделие от производителя), документы, подтверждающие безопасность изделия, выданные в стране-производителе (сертификат соответствия, гигиеническое заключение, экологический сертификат и т.д.).

2. Определение необходимости и объема проведения лабораторных испытаний

После изучения достоверности и полноты представленных документов решается вопрос о необходимости проведения лабораторных испытаний. Если заказчиком экспертизы представлены протоколы аккредитованной лаборатории, исследования проведены в полном объеме, то повторные испытания могут не проводиться, либо проводиться по сокращенной программе.

3. Выбор аккредитованной лаборатории, составление программы лабораторных испытаний. Выбор типового образца для проведения лабораторных испытаний

Лабораторные испытания проводятся только в аккредитованных лабораториях. Предпочтения отдается лабораториям системы Министерства здравоохранения Республики Беларусь.

Если на гигиеническую экспертизу представлена группа однотипной продукции, то лабораторные испытания могут проводиться на типовых образцах, а результаты испытаний распространяются на всю группу продукции.

Критериями для выбора типового образца являются:

- *производитель* (типовой образец может быть выбран от группы продукции **одного** производителя);

- *общее назначение* (например, все заявленные на экспертизу материалы предназначены для пломбирования кариозных полостей);

- *однотипный состав сырья* (например, все исследуемые оттисковые материалы созданы на основе винилсилоксановых каучуков).

Следует обратить внимание, что должны соблюдаться все три условия.

Программа испытаний назначается в соответствии с требованиями документов, перечисленных в п. 1.

В программе должны быть указаны:

- дата и номер акта отбора;
- наименование изделия и его производитель;
- цель исследования;
- собственно программа, т. е. перечень исследований, которые необходимо провести;
- дата составления программы;
- должность, подпись и расшифровка подписи специалиста, составившего программу.

4. Проведение лабораторных испытаний

Лабораторные испытания проводятся в аккредитованных лабораториях на проверенном оборудовании по программе, составленной врачом-гигиенистом.

Конкретная программа токсикологической оценки группы материалов и методики проведения различных видов токсикологических исследований регламентируются следующими **нормативными и научно-методическими документами**:

- Сборник руководящих методических материалов по токсиколого-гигиеническим исследованиям полимерных материалов и изделий на их основе материалов медицинского назначения (М., 1987).

- Инструкция 1.1.11-12-35-2004 «Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ» (Мн., 2004).

- Методические указания № 10-53-97 «Требования к постановке экспериментальных исследований по изучению аллергенных средств и обоснованию гигиенических регламентов химических аллергенов в воздухе рабочей зоны» (Мн., 1997).

В научных целях можно использовать нижеперечисленные документы, которые не носят нормативного характера на территории Республики Беларусь:

- Европейский стандарт EN 1642 «Стоматология. Медицинские препараты в стоматологии. Зубные имплантаты»;

- Европейский стандарт EN 30993-6 «Биологическая оценка медицинских изделий. Испытания на предмет локальных явлений после имплантации».

Лаборатория дает заключение только на исследуемый образец материала или изделия. Результаты лабораторных испытаний оформляются протоколом лабораторных испытаний. Протокол не является документом, подтверждающим безопасность и качество партии изделий, и не дает права на реализацию или применение изделия. Протоколы лабораторных испытаний представляются врачу, составившему программу испытаний.

5. Анализ результатов лабораторных испытаний. Регламентация области применения изделий. Оформление акта гигиенической экспертизы

Оценка результатов лабораторных испытаний проводится путем сравнения фактических данных с нормативами, установленными в Санитарных правилах и нормах, методических указаниях, инструкциях. Результаты гигиенической экспертизы оформляются «Актом гигиенической экспертизы» согласно форме №54, утвержденной постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 13 ноября 2000 г. В нем обязательно указываются условия применения изделия.

6. ПОРЯДОК ПРОВЕДЕНИЯ ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Токсиколого-гигиеническая экспертиза материалов, применяемых в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, должна проводиться по **разработанной программе** в зависимости от характера и продолжительности контакта их с организмом человека, в которой определены **этапы исследований, их последовательность, группы материалов**, подлежащих тому или иному виду исследований.

6.1. Санитарно-химические исследования

Санитарно-химические исследования являются обязательными для всех групп материалов и изделий, предваряют токсикологическую экспертизу и включают следующие этапы:

- приготовление пломб и вытяжек из материалов (изделий);
- определение окисляемости вытяжек;
- определение бромируемости вытяжек;
- определение изменения значения рН экстрактов;
- определение ингредиентов полимерной пломбировочной композиции, технологических добавок, мономеров и примесей в сырье.

1. Приготовление пломб

Для приготовления пломб используется набор приспособлений и инструментов. Замешивание пломбировочной массы производится согласно прилагаемой к материалу инструкции.

Готовое пломбировочное тесто загружается в матрицу, лежащую на подложке плоскостью с меньшим диаметром. Избыток теста удаляется шпателем, после чего матрица с подложкой помещается в воздушный термостат ($t = 40 \pm 1^\circ\text{C}$) на 10 мин. По истечении указанного срока приспособление выгружается из термостата, матрица отделяется от подложки, ставится плоскостью с большим диаметром на эбонитовый стакан. С помощью стального стержня пломба выдавливается в стакан и используется для приготовления вытяжек.

2. Условия и режим приготовления вытяжек

Условия проведения химических исследований (виды модельных сред, продолжительность и температура экспозиции, соотношения поверхности или масса материала к объему модельной среды) выбираются в каждом конкретном случае в зависимости от предлагаемых условий применения.

Пломбы помещаются в тщательно шлифованный стеклянный сосуд, заполненный модельной средой. В качестве модельной среды используется предварительно подогретая до 40°C дистиллированная вода. Она должна доходить до пробки, чтобы не осталось свободного воздушного пространства. Соотношение между весом пломбировочного материала (мг) и объемом дистиллированной воды (см^3) принимается 100:1, при исследовании пломбировочных материалов для заполнения корневых каналов это соотношение составляет 0,2:1. Общий объем вытяжки должен быть не менее 300 см^3 . Параллельно ставится не менее двух вытяжек. Одновременно с вытяжкой из пломбировочных материалов ставится «холостая проба» — дистиллированная вода из той же порции, что и для вытяжки, в такой же посуде и при тех же условиях.

Приготовленные вытяжки термостатируются при температуре 40°C в течение 1, 3, 7, 14 суток и динамическом режиме. Через сутки вытяжка сливается и анализируется, те же образцы пломб заливаются новой порцией модельной среды. Описанная процедура повторяется на каждом сроке наблюдения. Все экстракты отдельно анализируются и результаты суммируются.

Вытяжки из имплантационных материалов готовят путем настаивания последних в дистиллированной воде при температуре, равной $70^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$. Соотношение между весом испытуемого материала и объемом модельной среды рассчитывается по формуле:

$$\frac{M}{V \cdot K}, \quad (1)$$

где M — максимально возможное количество имплантируемого материала;
 V — объем крови в организме человека (5 л);
 K — коэффициент аггравации, равный 10.

Экспозиция вытяжек определяется продолжительностью контакта с организмом и может колебаться от 24 до 30 суток (в случае пожизненного

ношения протеза). Режим приготовления вытяжек динамичный: на каждом сроке вытяжки сливаются и анализируются. Тот же образец материала заливается новой порцией модельной среды.

Для приготовления вытяжек из сплавов для протезирования образцы сплава помещаются в стеклянные емкости с притертыми пробками. В качестве модельных сред используются дистиллированная вода, слюна либо среда моделирующая ее (0,4%-ный раствор хлористого натрия, 0,4%-ный раствор углекислых и фосфорнокислых солей кальция), 2%-ный раствор лимонной кислоты, 2%-ный раствор двууглекислого натрия, 3%-ный раствор молочной кислоты.

Соотношение веса образца (P , г) к объему контактирующей среды (V , см³) $P:V = 1:10$. Для металлических имплантатов соотношения вычисляются по формуле:

$$P:V \times 10, \quad (2)$$

где P — максимальный вес имплантата, г;

V — объем крови в организме человека, равный 5000 мл;

10 — коэффициент аггравации.

Экстракция проводится при 40°C в течение 3, 10, 30, 60, 90 суток.

3. Химический анализ вытяжек

3.1. Определение окисляемости вытяжек из образцов полимерных пломбировочных материалов. В основу определения окисляемости положен перманганатный метод Куделя-Тимана.

3.2. Определение содержания бромлирующихся соединений. Метод основан на способности ненасыщенных соединений присоединять бром по месту двойной связи, а также на способности некоторых органических соединений замещать водород на бром.

3.3. Определение изменения значения рН вытяжки.

Для измерения значений рН могут быть использованы рН-метры с чувствительностью $\pm 0,05$ ед. Для проведения испытаний отбираются 25–50 мл вытяжки и контроля. Отклонение в значениях рН вытяжки по сравнению с контролем не должно превышать $\pm 1,0$ ед.

3.4. Определение перехода в вытяжку продуктов разрушения полимерных композиций.

Вытяжки из пломбировочных композиций и имплантационных материалов анализируются на содержание в них продуктов разрушения (составляющих композиции, технологических добавок, примесей в сырье, а также продуктов их преобразования) с использованием достаточно чувствительных и селективных методов физико-химического анализа. Исследование вытяжек на содержание в них компонентов сплава может проводиться различными методами с чувствительностью определения не ниже 10^3 мг/л (например, атомоадсорбционная спектроскопия). Если в процессе

экстракции на дне стеклянных емкостей образовался осадок, то его следует растворить и проанализировать на содержание компонентов сплава. В этом случае концентрация металлов в экстракте и осадке суммируется.

Качественное и количественное определение мигрирующих в модельную среду компонентов композиции, остаточных количеств химических соединений, используемых в технологическом процессе синтеза некоторых композиций и изготовлении изделия, а также стерилизующих агентов, указаны в таблице 1.

Результаты химических исследований позволяют получить информацию о стабильности полимерного материала или об интенсивности процессов деструкции. Если композиция изготавливается из новых компонентов или с использованием технологических добавок, не указанных в таблице 1, они подлежат обязательному определению с привлечением селективных методов химического анализа.

Таблица 1

Основные химические вещества, подлежащие определению при исследовании композиционных материалов

Материалы	Исходные продукты	Технологические добавки	Основные химические соединения, подлежащие определению
Нити полиэфирные	Диметиловый эфир терефталевой кислоты, этиленгликоль	Дигликоль-терефталат, метанол	Формальдегид
Полиамид (капрон)	Капролактam, соль АГ (соль гексаметилендиамина и адипиновой кислоты)	—	Капролактam, гексаметилендиамин
Полипропилен	Полипропилен (гранулы)	Формальдегид	Пропилен, формальдегид
Полифен	Тетрафторэтилен, поливиниловый спирт	ОП-7, сульфат аммония, сульфат цинка	Ацетальдегид
Полиметилметакрил	Метилметакрилат	—	Метилметакрилат
Сополимер винилпирролидона, метилметакрилата	Винилпирролидон Метилметакрилат	Парафор 4А-4С	Винилпирролидон Метилметакрилат

4. Оценка результатов санитарно-химических исследований

Оценка результатов санитарно-химического анализа осуществляется путем сравнения полученных результатов с нормативами, приведенными в регламентирующих документах. Результаты санитарно-химического эксперимента определяют характер дальнейшего изучения материалов, а именно объем токсикологических исследований и его конкретные методы.

В случае обнаружения миграции в модельную среду веществ с известной токсикологической характеристикой в количествах, превышающих порог хронического действия при пероральном введении или допустимых концентраций миграции (ДКМ) веществ, приведенных в таблице 2, делается вывод о несоответствии композиции гигиеническим требованиям. В этом случае разработчику могут быть даны рекомендации об изменении технологии изготовления материала, а дальнейшие токсикологические исследования его не проводятся.

Если содержание продуктов разрушения композиционных стоматологических материалов ниже ДКМ, приведенных в таблице 2, либо при отсутствии достаточных данных о характере биологического действия веществ, мигрирующих в модельную среду, проводятся токсикологические исследования.

Таблица 2

**Допустимые количества миграции веществ,
входящих в состав полимерных стоматологических композиций**

Вещество	Допустимые количества миграции, мг/л
Метилметакрилат	0,25
Эпихлоргидрин	0,1
Дифенилолпропан	0,05
Цинк	Отсутствие
Диэтилентриамин	0,05
Метилакрилат	0,02
Бутилакрилат	0,02

Найденные концентрации металлов не должны превышать допустимые уровни (ДУ) миграции металлов, применяемых в водоснабжении или допустимые количества миграции (ДКМ) металлов, применяемых в контакте с пищевыми продуктами. Если таковые не установлены для металлов, мигрирующих из сплавов, то следует ориентироваться на недействующие концентрации их при хроническом пероральном введении. При превышении указанных концентраций сплав считается не соответствующим гигиеническим требованиям и дальнейшее исследование его не проводится.

**6.2. Токсикологические исследования химических соединений,
входящих в состав стоматологических материалов**

Токсикологические исследования проводятся при обнаружении в вытяжках из стоматологических материалов веществ с известными токсикологическими характеристиками и содержание их ниже допустимых концентраций миграции, а также со всеми вновь разработанными полимерными пломбирочными композициями.

Токсикологические исследования включают:

- определение острой токсичности;
- выявление местного раздражающего действия;
- определение сенсibiliзирующего действия;
- определение реакции окружающей ткани на имплантацию материала (постановка «имплантационного теста»);
- изучение общетоксического действия материалов;
- определение отдаленных последствий воздействия материалов на организм (канцерогенного, мутагенного, тератогенного, эмбриотоксического эффектов).

Группы материалов медицинского назначения, подлежащих тому или иному виду токсикологических исследований, приведены в таблице 3.

Таблица 3

Виды токсикологических исследований различных групп материалов медицинского назначения

Вид токсикологического исследования	Группа материалов, изделий
Определение местного раздражающего действия	1. Материалы (изделия), контактирующие с кровью и лекарственными веществами, предназначенными для внутрисосудистого введения. 2. Материалы (изделия), контактирующие с кожей или слизистыми оболочками. 3. Материалы (изделия), контактирующие с лекарственными веществами или содержащие таковые.
Определение сенсibiliзирующего действия	Для всех групп материалов (изделий)
Определение реакции окружающей ткани на имплантацию материала	1. Материалы длительного контакта с внутренней средой. 2. Стоматологические материалы (базисы протезов, зубы, коронки, пломбировочные материалы). 3. Материалы, длительно контактирующие с поврежденной кожей и слизистыми оболочками (раневой поверхностью). 4. Материалы, длительно контактирующие с неповрежденной кожей и слизистыми оболочками.
Определение отдаленных последствий воздействия материалов на организм	1. Материалы (изделия), контактирующие с внутренней средой организма. 2. Материалы (изделия), контактирующие с кровью и лекарственными веществами. 3. Стоматологические материалы (базисы протезов, зубы, коронки, пломбировочные материалы). 4. Нити хирургические.
Определение влияния материала на кровь <i>in vitro</i>	1. Материалы для изготовления протезов сосудов кровеносных, клапанов сердца, различных внутренних органов и пластики тканей организма. 2. Изделия для лечебных манипуляций (имплантируемые катетеры и др.). 3. Материалы (изделия), контактирующие с кровью и лекарственными веществами.

Изучение общетоксического действия материалов	<ol style="list-style-type: none"> 1. Материалы (изделия), контактирующие с внутренней средой организма. 2. Материалы (изделия), контактирующие с кровью и лекарственными веществами, предназначенными для внутрисосудистого введения 3. Перевязочные материалы, длительно контактирующие с раневой поверхностью.
---	--

1. Определение токсичности и потенциальной опасности острого отравления

Определение токсичности веществ, входящих в состав стоматологических материалов, выполняется в период разработки новых химических соединений и является обязательным этапом их гигиенической сертификации [7].

Задачей данного этапа исследований является изучение смертельных эффектов в острых опытах на животных (белые крысы массой 180–240 г, белые мыши 18–30 г) с установлением величины следующих показателей:

- **среднесмертельная доза (DL₅₀)** — доза вещества, вызывающая гибель 50% животных при однократном введении в желудок, выражается в миллиграммах вещества на 1 кг массы животного (мг/кг),

- **средняя смертельная концентрация (CL₅₀)** вызывает гибель 50% животных при ингаляционном воздействии в течение 2-х часов (мыши); и 4-х часов (крысы), выражается в миллиграммах вещества на 1 воздуха (мг/м³).

- **средняя смертельная доза при нанесении на кожу (DL_{50Cutis})** — доза вещества, вызывающая гибель 50% животных при однократном подкожном нанесении, выражается в миллиграммах вещества на 1 кг массы животного (мг/кг).

Величины смертельных доз (концентраций) являются показателями токсичности вредных веществ. **Токсичность** — величина, обратная среднесмертельной дозе (концентрации), чем выше DL₅₀, тем меньше токсичность препарата.

Определение вероятности развития острого отравления проводится с использованием экспресс-методик оценки действия вытяжек из материалов на изолированные органы, культуры тканей и другие биологические объекты. Санитарно-химические и токсикологические исследования материалов, содержащих лекарственные препараты, проводятся по специальным программам, составляемым в каждом конкретном случае.

2. Определение гемолитического действия веществ in vitro

Исследование гемолитической активности проводят при изучении вытяжек из пломбировочных материалов для заполнения корневых каналов.

Методика исследования

До определения гемолитического действия к вытяжке (приготовленной на дистиллированной воде) необходимо добавить хлористый натрий из

расчета 9 мг на 1 мл вытяжки для превращения дистиллированной воды в изотонический раствор для крови.

В 3 пробирки разлить по 0,5 мл 10%-ной взвеси эритроцитов. К 0,5 мл 10%-ной взвеси эритроцитов в каждую пробирку добавить по 5 мл вытяжки, в которую предварительно добавлен хлористый натрий до 0,9%-ного раствора. Смесь поставить в термостат на 1 час при температуре 37°C, затем отцентрифугировать в течение 20 минут при 2000 об/мин. Все манипуляции по отношению к контролю и пробе со 100%-ным гемолизом проводятся параллельно с опытными пробами, как описано выше. Надосадочную жидкость отделить для проведения измерений оптической плотности.

Оптические измерения опытной, контрольной пробы и пробы со 100%-ным гемолизом измеряют на фотоэлектроколориметре (ФЭК-60, КФК) при длине волны 540 нм против «холостой» пробы (вода). Толщина кюветы 1 см. Результаты регистрируются по оптической плотности.

Расчет процента (%) гемолиза производится по следующей формуле:

$$\% \text{ гемолиза} = \frac{E_{on.} - E_k}{E_{100}} \times 100, \quad (3)$$

где E_{on} — оптическая плотность опытной пробы;

E_k — оптическая плотность контрольной пробы;

E_{100} — оптическая плотность воды со 100 %-ным гемолизом эритроцитов.

Примечания:

1. Если оптическая плотность контрольной пробы (10%-ная эритроцитная взвесь с 0,9%-ным раствором хлористого натрия) составляет 0,03 и более, результаты всего опыта недостоверны и не учитываются.

2. Оптическая плотность раствора со 100%-ным гемолизом должна быть не менее 0,8 и не более 1. В случае отклонения от указанных пределов опыт следует повторить с вновь приготовленной эритроцитной взвесью.

3. Если шкала фотоэлектроколориметра от 0 до 1, а оптическая плотность более 1, то необходимо раствор развести в 2 раза, затем определить оптическую плотность и увеличить ее еще в 2 раза.

4. При проведении научных исследований для обеспечения статистической достоверности результатов необходимо опыты ставить не менее чем на 5 образцах крови.

Если процент гемолиза пробы превышает 5%, вытяжка считается гемолитически активной, а полимерный материал не соответствующим гигиеническим требованиям. В этом случае дальнейшие исследования не проводятся. Если процент гемолиза менее 5%, вытяжка считается свободной от гемолитически активных веществ, и материал подлежит дальнейшим токсикологическим исследованиям.

3. Выявление раздражающего действия

Местное раздражающее действие определяют у пломбировочных материалов и металлических сплавов. Для проведения испытаний используется трехсуточная вытяжка, приготовленная по приведенной выше методике.

Изучение раздражающего действия на кроликах

Кроликам (не менее 5 голов) ежедневно в течение 5 дней в конъюнктивальный мешок правого глаза закапывают по 3 капли трехсуточной вытяжки, левый глаз является контрольным, куда в том же объеме вводят дистиллированную воду.

Реакцию регистрируют ежедневно, при этом отмечают выраженность и длительность проявления признаков раздражения слизистой оболочки глаз: слезотечение, отек век, блефароспазм, инъектирование сосудов и т.д. В качестве инструментального метода определения поражения конъюнктивы глаз на следующие сутки после воздействия проводят ее окраску раствором флюоресцеина с последующим детектированием с помощью щелевой лампы (тест «суправитального окрашивания»).

Оценку повреждающего действия химических соединений на слизистые оболочки глаз кроликов проводят в баллах (табл. 4).

Таблица 4

Оценка повреждающего действия химических соединений на слизистые оболочки глаз

Симптомы повреждения	Характеристика выраженности симптомов	Оценка в баллах
1. Гиперемия конъюнктивы и роговицы	Сосуды инъектированы	1
	Отдельные сосуды трудно различить	2
	Диффузное глубокое покраснение	3
2. Отек век	Слабые отеки	1
	Выраженный отек с частичным выворотом век	2
	В результате отека глаз закрыт наполовину	3
	В результате отека глаз закрыт полностью	4
3. Выделения из глаз	Минимальное количество в углу глаза	1
	Выделения увлажняют веки	2
	Выделения увлажняют веки и окружающие ткани	3

Для оценки степени повреждающего действия проводят суммацию баллов выраженности каждого из симптомов для каждого животного, взятого в эксперимент. При сумме баллов 10 наблюдается резко выраженное повреждающее действие.

Изучение раздражающего действия на белых крысах

Используются 2 группы животных не менее чем по 5 голов в каждой. Животным подопытной группы до кормления ежедневно внутривентрикулярно (через зонд) вводят по 5 мл трехсуточной вытяжки в течение 10 дней. Контрольным животным в том же режиме вводят дистиллированную воду. Реакцию регистрируют через 10 дней от начала введения, после умерщв-

ления животных методом декапитации и вскрытия. При этом макроскопически отмечают явления раздражения слизистой желудочно-кишечного тракта (гиперемия, отек, образование язв и т. д.), а также состояние внутренних органов в сравнении с животными контрольной группы.

При выявлении раздражающего действия вытяжек из материалов делается вывод о несоответствии образцов гигиеническим требованиям, и дальнейшие исследования не проводятся. В случае отсутствия раздражающего действия проводятся дальнейшие токсикологические исследования.

4. Определение сенсibiliзирующего действия

Изучение потенциальной аллергенной способности проводится для всех материалов, применяемых в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, с использованием экспресс-метода О. Г. Алексеевой и А. И. Петкевич (1972), в котором воспроизводится модель гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). Для этого осуществляется однократная сенсibilизация морских свинок- альбиносов или белых мышей путем аппликации, внутрикожного или подкожного введения 100 мкл исследуемого вещества в ухо морским свинкам или в основание хвоста мышам. Выявление сенсibilизации осуществляют на 6-е сутки методом капельных накожных проб с оценкой реакции в баллах по толщине опухания уха морских свинок или лапок белых мышей через 24 часа после тестирования. Кроме того, исследуют показатели гуморального и клеточного иммунитета. При отсутствии значимых изменений толщины кожной складки и изучаемых иммунологических показателей делается вывод об отсутствии аллергенной опасности.

При обнаружении аллергической реакции делается вывод о несоответствии изучаемого материала гигиеническим требованиям, и дальнейшие исследования не проводятся. В случае отсутствия сенсibilизирующего действия материал подлежит дальнейшим токсикологическим исследованиям.

5. Изучение общетоксического действия

Изучение общетоксического действия является обязательным для всех групп стоматологических материалов. Методики исследования могут различаться в зависимости от условий пребывания материала в организме.

5.1. Методика изучения общетоксического действия пломбировочных материалов для заполнения кариозных полостей и корневых каналов.

Подопытным животным (белые крысы самцы массой 180–200 г в количестве не менее 10 голов) ежедневно в течение месяца внутрижелудочно (с помощью зонда) вводят по 20 мл на 1 кг массы тела трехсуточной вытяжки, приготовленной по вышеуказанной методике. Контрольным животным в том же режиме вводят дистиллированную воду.

Обследования животных проводят через 1, 2, 4 недели от начала травмы. Изучаются показатели состояния организма, характеризующие функции основных систем и органов: поведенческие реакции, общая реак-

тивность, функции ЦНС, сердечно-сосудистой системы, белковый, углеводный, жировой обмен, состояние эндокринной системы. Рекомендуется использовать функциональные нагрузки для выявления скрытого периода развития интоксикации. При наличии данных о миграции в модельную среду определенных химических ингредиентов с известными токсикологическими свойствами, помимо указанных выше, исследуются те функции систем и органов, которые преимущественно поражаются обнаруженными в санитарно-химическом эксперименте веществами.

По окончании эксперимента проводятся макро- и микроскопические исследования внутренних органов и тканей: печени, почек, желудка, селезенки, кишечника, надпочечников, тимуса. Оценивается общая архитектоника внутренних органов (окраска гематоксилин-эозином), наличие жировой дистрофии (окраска Суданом III), состояние волокнистых структур (окраска по ван Гизон).

Данные токсикологического эксперимента статистически обрабатываются с использованием t-критерия Стьюдента.

В случае отсутствия токсического действия за время наблюдения в течение одного месяца, исследования необходимо продолжить до 4 месяцев. По истечении каждого месяца проводится изучение показателей состояния организма животных.

Материал считается нетоксичным, если на протяжении всего исследования не выявлены статистически достоверные изменения функционального состояния организма животных.

5.2. Изучение общетоксического действия полимерных материалов, имплантируемых в организм.

Стоматологические материалы, а также материалы и изделия для эндопротезирования и остеосинтеза, длительно контактирующие с внутренней средой организма, имплантируются в организм экспериментальных животных. Область имплантации определяются конкретным назначением материала или изделия. Количество животных в опытной и контрольной группах должно составлять не менее 10 голов. Продолжительность эксперимента определяется сроками контакта с организмом (в случае биodeградируемых материалов сроками рассасывания); для имплантируемых на всю жизнь материалов — не менее года.

Образцы материала имплантируют половозрелым белым крысам под нембуталовым наркозом (доза нембутала 40 мг/кг) в ткани, с которыми материал будет иметь контакт при эксплуатации его в реальных условиях или внутримышечно. Изучению подлежит такое количество материала, которое рассчитано по следующей формуле:

$$\frac{M}{V \times K}, \quad (4)$$

где M — максимальное количество материала, имплантируемое человеку, г;

P — масса тела человека (70 кг);

K — коэффициент аггравации, равный 20.

Контрольным животным того же пола, возраста и в тех же условиях производится операция без имплантации инородного тела (для стабильных полимеров с введением образцов фторопласта).

Исследование процесса деструкции осуществляется при поэтапном забое животных и изучении соотношения имплантата и окружающих его тканей с помощью морфологических и гистохимических методов.

Обследование животных проводится перед операцией, через две недели после имплантации и далее один раз в один или два месяца на протяжении рассчитанного периода эксперимента. У животных исследуется:

- общее состояние и поведение;
- динамика массы тела;
- состояние центральной нервной системы (изучение условно-рефлекторной деятельности или определение способности суммировать подпороговые импульсы);
- морфологический состав периферической крови с подсчетом лейкоцитарной формулы;
- белково- и ферментообразующая и дезинтоксикационная функция печени (определение общего белка и соотношение белковых фракций сыворотки крови, определение количества липопротеидов в сыворотке крови, изучение активности холинэстеразы, трансаминаз);
- содержание гистамина в крови;
- состояние окислительных процессов в организме;
- функциональное состояние почек (оценивается по величине спонтанного диуреза, концентрации белка в моче и выделению почками красителя фенола красного).

Обязательными в хроническом эксперименте являются функциональные нагрузки (бромсульфалеином, гексанолом, нембуталом, спиртовая, изменение режима питания, холодовая, ортостатическая и др.).

В ходе токсикологического эксперимента следует обращать внимание на такие неспецифические показатели, как изменение состояния форменных элементов крови (эозинофилия, лимфоцитоз, базо- и моноцитопения, тромбоцитопения), увеличение биогенных аминов и прочее, которые могут ориентировать исследователя в плане возможных аллергенных свойств изучаемого полимера и являться обоснованием для проведения аллергологического исследования.

По окончании эксперимента проводят забой животных способом декапитации. Патологоанатомическому вскрытию подлежат все животные, участвовавшие в эксперименте, а также контрольные. Морфологическому исследованию подвергаются внутренние органы (печень, почки, сердце, селезенка, надпочечники, органы воспроизведения, легкие).

При выявлении у большинства опытных животных достоверных отличий от исходных величин и от контроля изучаемых показателей, эксперимент может быть прекращен до окончания рассчитанного срока наблюдения за животными. Материал в этом случае не может быть рекомендован к использованию в клинике.

6. Определение реакции окружающей ткани на имплантацию материала

Изучение реакции окружающей ткани на имплантацию проводится при исследовании пломбировочных материалов для корневых каналов; сплавов, используемых в ортопедической стоматологии; имплантационных материалов, применяемых в челюстно-лицевой хирургии.

Методика постановки «имплантационного теста»

Эксперимент проводится на одном типе животных (белые крысы или кролики). Материал имплантируется в мышечную ткань бедра или шеи. Используются две группы животных: опытная и контрольная. Животным контрольной группы проводится оперативное вмешательство («ложная операция») без имплантации материала либо известного материала, вызывающего минимальную реакцию окружающих тканей, являющегося стандартом. Местная реакция тканей оценивается по степени воспаления и характеру образования капсулы вокруг имплантата. Сроки наблюдения 3, 7, 14, 21, 30, 60 суток, до 22 месяцев.

6.1. Методика изучения реакции окружающей ткани на имплантацию пломбировочных материалов для заполнения корневых каналов.

Подопытным животным (белые крысы самцы массой 180–200 г в количестве не менее 10 голов) под нембуталовым наркозом в мышцу бедра имплантируются стеклянные пластинки размером 8×4 мм², на одну сторону которых наносится 5 мг испытуемого материала. Контрольным животным имплантируются аналогичные стеклянные пластинки с традиционным материалом для корневых каналов. Вторым контролем являются интактные животные.

Сроки наблюдения: 3, 7, 14, 21, 30, 60 суток после имплантации материала. В указанные сроки путем передозировки препаратов для наркоза из эксперимента выводятся по 3 крысы из каждой группы.

На исследование берут кусочек мышечной ткани в области, непосредственно прилежащей к зоне имплантации. Проводится гистологическое изучение тканей, при котором определяют наличие раздражающего действия, характер репаративных процессов (скорость, наличие клеточных элементов, развитие гранулем инородных тел). Обязательными являются окраски гематоксилином-эозином (контроль общей реакции ткани) и пикрофуксом по ван Гизон (контроль процесса развития коллагеновых волокон). Сопоставляется состояние мышечной ткани на имплантацию полимерного материала с контролем.

При обнаружении выраженной воспалительной реакции, нарушения развития грануляционной и рубцовой ткани, а также процессов заживления делается вывод о несоответствии материалов гигиеническим требованиям и дальнейшие исследования не проводятся.

6.2. Методика исследования реакции окружающей ткани, в том числе blastogenic действия, на имплантационные материалы и металлические сплавы.

Для изучения тканевой реакции образец материала или изделия имплантируется внутримышечно в области бедра: исследуется местное действие сплава или полимерного материала с учетом возможного наличия бластомогенных свойств.

Количество животных должно быть не менее 120, предпочтительно самцов одной разводки или равное число самцов и самок. Половине животных образец имплантируется в виде порошка, другой половине в виде пластины (или нескольких) соответствующего веса, который рассчитывается по формуле (4). Контрольным животным того же пола и в тех же условиях имплантируется фторопласт-4 того же веса и вида; имплантируемые образцы не должны иметь острых краев, травмирующих прилегающие ткани.

Продолжительность эксперимента должна быть не менее 1 года 8 месяцев. К концу эксперимента в каждой из двух групп должно сохраниться не менее 30 животных. Сроки исследования: 3, 7, 14, 21 сутки, 1, 2, 4, 6, 9 месяцев, 1 год и 1 год 8 месяцев. На каждом сроке опыта забивают не менее трех животных как опытных, так и контрольных.

Все животные на всех сроках эксперимента подвергаются патолого-анатомическому вскрытию с макроскопическим обследованием тканей вокруг образца и последующим гистологическим и гистохимическим их исследованием.

При вскрытии животных обращается внимание на состояние окружающей имплантат ткани, форму, величину, консистенцию имплантированного материала, характер связи его с прилегающей тканью.

Для дальнейшего исследования имплантат иссекают вместе с окружающей тканью, из которой готовятся гистологические микропрепараты. Микропрепараты окрашиваются гематоксилин-эозином, по ван-Гизон, импрегнируются серебром по Футу, на жир — Суданом III, на гликоген — по Шабадашу, на железо — по Перлсу, на РНК — по Браше, на мукополисахариды — метакроматической окраской толуидиновым синим.

При микроскопическом исследовании в случае стабильных полимеров имеет значение выраженность и продолжительность асептического воспаления в окружающих тканях, стихающего между 1-й и 2-й неделями. Важным моментом является толщина капсулы, ее клеточный состав, особенно количество лейкоцитов, сроки формирования и созревания капсулы, заканчивающегося приблизительно к первому месяцу. Нарушение процессов коллагенообразования и дифференцировки фибробластов, особенно на поздних сроках, может являться одним из показателей нарушения нормального развития капсулы.

При исследовании биodeградируемого имплантированного полимера обращают внимание на степень и продолжительность асептического воспаления (отек, полнокровие, кровоизлияние, стазы, дистрофические изме-

нения, лейкоцитарная инфильтрация), возникающие сразу после введения полимера и исчезающие к 21 суткам. Особенно важно наличие, количество макрофагов и многоядерных гигантских клеток, ответственных за процесс рассасывания полимера, появляющихся на второй неделе или несколько раньше и присутствующих до окончательного его рассасывания. О фагоцитарной активности данных клеток позволяет судить гистохимическая реакция на кислую фосфатазу, являющуюся маркером лизосомального аппарата. Для выявления в них фагоцитированных фрагментов полимера, зачастую невидимых в проходящем свете, рекомендуется применять поляризационную микроскопию.

О начале возникновения, путях формирования и созревания соединительной ткани вокруг имплантата судят по гистохимической реакции на кислые и нейтральные мукополисахариды, а о степени ее васкуляризации — по реакции на щелочную фосфатазу. Обнаружение таких морфологических изменений, как мононуклеарная инфильтрация, бласттрансформация лимфоцитов служит основанием для проведения специфической алергодиagnostики.

7. Изучение биосовместимости методами клеточной иммунологии

Исследование и оценка результатов проводятся в соответствии с «Методикой определения биосовместимости полимерных материалов и изделий для эндопротезирования», приведенной в сборнике руководящих методических материалов по токсиколого-гигиеническим исследованиям полимерных материалов и изделий на их основе медицинского назначения [6].

Степень биосовместимости исследуемых материалов оценивается по характеру их влияния на органы иммунитета, представляемые в организме лимфоидной тканью. Проводится морфометрический анализ отпечатков регионарных и отдаленных лимфатических узлов, окрашенных азур-эозиновой смесью и по Май-Грюнвальд. В 10 полях зрения производится подсчет иммунокомпетентных клеток: малых лимфоцитов, бластов, зрелых плазматических клеток и ретикулярных клеток, а также количество делящихся клеток (митозов).

8. Методы изучения функционального состояния животных

В процессе токсикологических исследований проводят всестороннюю оценку функционального состояния животных на уровне целостного организма, отдельных органов и систем, клеточном и субклеточном уровнях с использованием современных методов исследований (физиологических, биохимических, морфологических, иммунологических, статистических и др.). Различают две группы методов: *интегральные*, которые позволяют судить об изменениях в организме в целом, и *специфические*, характеризующие состояние отдельных систем или органов.

К *интегральным* показателям относятся масса тела, потребление кислорода тканями, мышечная работоспособность, поведенческие реакции, иммунологическая реактивность и др.

Примерами *специфических* показателей являются определение в периферической крови метгемоглобина при воздействии нитросоединений, нарушение порфиринового обмена при отравлении парами свинца.

Практически ни один токсикологический эксперимент не проводится без изучения функционального состояния нервной системы. Для этого используют большой набор методов изучения поведения, в основу которых заложены пищевые, оборонительные, ориентировочно-поисковые рефлексy. Одной из наиболее распространенных методик, позволяющей оценить функциональное состояние ЦНС, является определение у животных способности к суммации подпороговых импульсов (СПИ). Метод заключается в определении минимальной величины напряжения электрического тока, вызывающей сокращение межфаланговых мышц задних лап, которые фиксируются на электродах.

Для определения двигательной активности, координации движений и эмоциональной реактивности используют методы, основанные на подсчете количества переходов и вставаний на задние лапы животных, помещенных в специальный лабиринт, за определенный промежуток времени. Результаты экспериментальных исследований систематизируются и подвергаются статистической обработке.

6.3. Оценка результатов токсиколого-гигиенических исследований стоматологических материалов

Использование многосторонних комплексных исследований гигиенических свойств стоматологических материалов позволяет с большой вероятностью обеспечить безопасность использования изученных изделий в медицинской практике. Многоступенчатые исследования с оценкой результатов на каждом этапе предполагают отбор наиболее благоприятных в гигиеническом плане материалов, что значительно ускоряет их разработку.

Вывод о возможности (или невозможности) применения изучаемого в эксперименте материала в клинической практике делается на основании сопоставления результатов всех разделов исследования. Результаты санитарно-химического изучения полимерного материала позволяют обосновать лишь *отрицательное гигиеническое заключение*.

Основополагающей информацией, на которую следует ориентироваться, являются сведения о действии материала на организм, полученные в хроническом эксперименте, поскольку в этом случае условия изучения токсических свойств его наиболее близки к реальным, клиническим.

На этапе санитарно-химических исследований при обнаружении миграции в вытяжку из материала соединений с известными токсикологиче-

скими характеристиками, в концентрациях выше ДКМ, **материал считается не соответствующим гигиеническим требованиям**. В этом случае разработчику могут быть даны рекомендации об изменении технологии изготовления материала или его состава и токсикологические исследования не проводятся.

При обнаружении уровня миграции ниже ДКМ, либо при отсутствии достаточных данных о характере биологического действия веществ, мигрирующих в модельную среду, токсических свойствах веществ, входящих в композицию, и для всех новых полимерных композиций проводятся токсикологические исследования.

Исследуемый материал или изделие **считается нетоксичным**, если:

- в процессе изучения не выявлено раздражающего, сенсибилизирующего, гемолитического действия, является биосовместимым с организмом, он не оказывает общетоксического действия на организм и выраженного отрицательного воздействия на окружающие ткани;

- он не вызывает статистически достоверные изменения изучаемых функций на протяжении эксперимента; применение нагрузочных проб не вызывает срыва компенсаторных механизмов: не обнаруживаются патологические изменения в формировании капсулы вокруг имплантата, не обнаруживаются гистологические изменения во внутренних органах.

В случае положительной оценки изучаемого материала рецептура композиции, а также количества его, вводимые в организм, строго регламентируются. Такой материал может быть использован в клинике в конкретных условиях эксплуатации.

Материал **считается токсичным** при следующих условиях:

- если из него в модельную среду мигрируют известные химические соединения в количествах, превышающих порог хронического действия веществ при пероральном введении;

- при обнаружении гемолитического действия вытяжек из материала «in vitro».

В случае обнаружения статистически достоверных изменений ($p < 0,05$ при $t = 2,1$) результатов количественных определений, показателей биосовместимости материалов, наличия изменений поведенческих реакций животных также патоморфологических изменений формирования капсулы вокруг имплантата, а также во внутренних органах **вывод о невозможности использования** материала делается на основании комплексной оценки указанных исследований.

Представление результатов токсикологической оценки стоматологических материалов рекомендуется в виде заключения согласно приложению 10 Инструкции 1.1.11-12-35-2004 «Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ» [8].

*Форма представления результатов первичной токсикологической оценки
химических веществ*

Полное наименование организации, проводившей исследования с указанием ведомственной подчиненности, сведений об аккредитации на право проведения подобных исследований

УТВЕЖДАЮ
Руководитель организации,
проводившей исследования
_____ Ф.И.О.

м.п., подпись

« ____ » _____

ЗАКЛЮЧЕНИЕ № _____
по результатам первичной токсикологической оценки
(название вещества, изделия и т.д.)

Заказчик

Полное название вещества (химическое, товарное, синонимы)

1. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

- 1.1. Структурная и эмпирическая формулы.
 - 1.2. Агрегатное состояние при 20°C и 760 мм рт.ст.
 - 1.3. Цвет, запах, прозрачность.
 - 1.4. Молекулярная и удельная масса при 20°C.
 - 1.5. Температура кипения при 760 мм рт.ст. или других условиях.
 - 1.6. Температура плавления.
 - 1.7. Растворимость в воде, маслах, спиртах, других растворителях.
 - 1.8. Упругость пара в мм рт.ст. при 20°C.
 - 1.9. Химическая реакционная способность (класс соединений, стойкость, гидролиз, окисляемость, способность к полимеризации, разложению).
 - 1.10. Содержание примесей с их полным наименованием (указываются примеси при их содержании до 0,01 масс.%).
 - 1.11. Для смесей — полный состав ингредиентов с количественной характеристикой до 0,001 масс.%.
 - 1.12. Для полимерных материалов — количество остаточного мономера; характеристика добавок (наименование, содержание до 0,01 масс.% каждой); характеристика продуктов термоокислительной деструкции при различных температурах.
 - 1.13. Условия хранения, срок годности.
2. ВОЗМОЖНОСТЬ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОЗДУХА РАБОЧЕЙ ЗОНЫ
- 2.1. Загрязнение воздуха рабочей зоны в виде пара, газа, аэрозоля.
 - 2.2. Загрязнение кожи работающих.

3. ЛИТЕРАТУРНАЯ СПРАВКА О БИОЛОГИЧЕСКИХ И ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКИХ СВОЙСТВАХ ВЕЩЕСТВА

4. РЕЗУЛЬТАТЫ ПЕРВИЧНОЙ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ

- 4.1. Токсичность при однократном введении.
- 4.2. Действие на слизистые оболочки глаз.
- 4.3. Кожно-раздражающие и резорбтивные свойства при однократном и повторном воздействии.

4.4. Кумулятивные свойства и характер действия вещества на организм в условиях повторного воздействия.

4.5. Сенсibiliзирующая способность при однократном внутрикожном введении.

5. ВЫВОДЫ И РЕКОМЕНДАЦИИ

В форме выводов дается характеристика токсичности и опасности изученного соединения; в форме рекомендации — необходимые гигиенические меры предосторожности.

Должность, ученая степень

(подпись)

Ф.И.О.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Какие группы стоматологических материалов Вам известны?
2. Какие стоматологические материалы относятся к основным?
3. Какие Вам известны клинические стоматологические материалы?
4. Основные свойства стоматологических материалов.
5. Для чего предназначены имплантационные материалы?
6. Общие требования, предъявляемые к материалам, применяемым в стоматологии.
7. Какие нормативные документы регламентируют токсиколого-гигиенические исследования материалов и изделий медицинского назначения?
8. Каковы этапы токсиколого-гигиенической экспертизы материалов и изделий медицинского назначения?
9. Как оформляются результаты проведенных исследований?
10. Какие требования предъявляются к оформлению результатов?
11. Какие должны быть представлены документы при проведении гигиенической экспертизы образцов изделий?
12. Гигиенические требования, предъявляемые к пломбировочным материалам.
13. Гигиенические требования предъявляются к имплантационным материалам?
14. Где проводятся токсикологические исследования стоматологических материалов?
15. Какая цель токсикологических исследований стоматологических материалов?

16. Какие показатели характеризуют токсичность химических веществ?
17. Как проводится определение миграции химических веществ в лабораторных условиях?
18. Как осуществляется постановка «имплантационного теста»?
19. Какие исследования проводятся при оценке общетоксического действия материала?
20. На основании чего делается вывод о возможности или невозможности применения стоматологического материала в клинической практике?

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Дойников, А. И.* Зуботехническое материаловедение / А. И. Дойников, В. В. Сеницын. — М.: Медицина, 1986. — 206 с.
2. *Жулев, Е. Н.* Материаловедение в ортопедической стоматологии / Е. Н. Жулев. — Н. Новгород: Изд-во НГМА, 1997. — 136 с.
3. Материаловедение в стоматологии / Под ред. А. И. Рыбакова. — М.: Медицина, 1984. — 422 с.
4. Проблемы нормы в токсикологии (современные представления и методические подходы, основные параметры и константы) / И. М. Трахтенберг [и др.]. — М.: Медицина, 1991. — 208 с.
5. *Рыбаков, А. И.* Пломбирочные материалы / А. И. Рыбаков, В. С. Иванов, Д. М. Каральник. — М.: Медицина, 1981. — 175 с.
6. Сборник руководящих методических материалов по токсиколого-гигиеническим исследованиям полимерных материалов и изделий на их основе материалов медицинского назначения. — М., 1987. — 98 с.
7. Токсиколого-гигиеническая оценка новых химических веществ, внедряемых в производство: учеб.-метод. рекомендации / Л. М. Бондаренко [и др.]. — Мн.: МГМИ, 1999. — 45 с.
8. Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ: Инструкция 1.1.11-12-35-2004 / Л. В. Половинкин [и др.]. — Мн., 2004. — 43 с.

ОБРАЗЕЦ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО ЗАКЛЮЧЕНИЯ
на имплантаты полимерно-композиционные
«ИКВОБАН – Мт 3» и «ИКВОБАН – Мт 4»

Заказчик: Институт общей и неорганической химии НАН Б.

Название препарата: полимерные композиции «ИКВОБАН-Мт 3» и «ИКВОБАН-Мт 4».

Назначение и область применения: предназначены для использования в челюстно-лицевой хирургии с целью замещения дефектов мягких тканей.

Нормативные документы: исследования проведены в соответствии с Европейскими стандартами EN 1642 «Стоматология. Медицинские препараты в стоматологии. Зубные имплантаты», EN 30993-6 «Биологическая оценка медицинских изделий. Испытания на предмет локальных явлений после имплантации», ГОСТ Р ИСО 10993-99, части 9,10,11 и 12, «Методическими указаниями к токсиколого-гигиеническому исследованию полимерных материалов и изделий для эндопротезирования» (М., 1987), инструкцией 1.1.11-12-35-2004 «Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ» (Мн., 2004).

1. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

1.1. Полимерная композиция «ИКВОБАН-Мт 3» представляет полотно из вискозных волокон: «ИКВОБАН-Мт 4» — полотно из смесевой композиции вискозных и полиолефиновых волокон. Основным компонентом является вискоза — продукт взаимодействия щелочной целлюлозы с серной кислотой (ксантогенат целлюлозы) в разбавленном водном растворе гидроксида натрия. Физические характеристики материалов приведены в таблице А 1.

Таблица А 1

Основные физические характеристики полимерно-композиционных имплантатов

Свойства	Показатели свойств имплантатов	
	ИКВОБАН-Мт 3	ИКВОБАН-Мт 4
Внешний вид	Прямоугольные пластины	Прямоугольные пластины
Цвет	Белый с бежевым оттенком	Белый
Агрегатное состояние	Текстильный материал	Текстильный материал
Растворимость: • в воде • в этиловом спирте • в простых эфирах	Не растворяется Не растворяется Не растворяется	Не растворяется Не растворяется Не растворяется
Поверхностная плотность, г/м ²	330	350
Разрывная нагрузка*, Н	23,4	14,3
Удлинение, %	184,5	240,0
Предельный сорбционный объем (см ³ /г): • по бензолу • по воде • по спирту	0,033 0,22 0,045	0,045 0,1 0,034
Удельное объемное электрическое сопротивление, Ом·м	> 10 ⁵	>10 ⁵

* Направление разрывной нагрузки параллельно к нити утка; испытания на полосках размером 60×20×4 («ИКВОБАН-Мт 3») и 60×20×3 («ИКВОБАН-Мт 4»).

2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Санитарно-химические исследования

Неотъемлемой частью оценки биологической безопасности изделия согласно ГОСТ Р ИСО 10993.13-99 является прогнозирование способности материала к деструкции, поэтому на начальном этапе исследования определяли качественным методом (перманганатным способом) окисляемость водных вытяжек из представленных на исследование образцов. В качестве модельной среды использовали дистиллированную воду. Изучаемые образцы имплантатов заливались модельной средой в соотношении $P:V = 1:10$, где P — вес образца, V — объем модельной среды. Тщательно закупоренные сосуды с материалами и модельными средами помещали в термостат, где при температуре $37,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ они находились в течение одного месяца. По истечении 3, 10 и 30 суток экспозиции жидкости сливались, а образцы материалов вновь заливались модельной средой.

Количественными методами (газохроматографическим и колориметрическим) определяли степень гидролитической деструкции имплантатов в 3, 10 и 30 суточных вытяжках по содержанию формальдегида, сероуглерода, капролактама, метанола и ацетальдегида — потенциальных продуктов миграции.

Формальдегид обнаруживался во всех водных вытяжках из исследуемых материалов в концентрациях значительно ниже ПДК (табл. А 1). Метанол, ацетальдегид и сероуглерод в вытяжках указанными методами также не обнаружены. Следы капролактама выявлены только в 3-суточных вытяжках из материалов в концентрации менее 0,1 мг/л (ПДК — 0,5 мг/л).

Таблица А 2

Результаты санитарно-химического исследования водных вытяжек из полимерно-композиционных материалов

Вещество	ПДК, мг/л	Срок определения, сутки	Концентрация, мг/ л	
			ИКВОВАН-Мт 3	ИКВОВАН-Мт 4
Формальдегид	0,1	3	0,035	0,01
		10	0,035	0,004
		30	0,003	0,002
Метанол	0,2	3	Н/о*	Н/о
		10	Н/о	Н/о
		30	Н/о	Н/о
Ацетальдегид	0,2	3	Н/о	Н/о
		10	Н/о	Н/о
		30	Н/о	Н/о
Капролактама	0,5	3	<0,1	<0,1
		10	Н/о	Н/о
		30	Н/о	Н/о
Сероуглерод	1,0	3	Н/о	Н/о
		10	Н/о	Н/о
		30	Н/о	Н/о

* Н/о — вещество не обнаружено

Таким образом, санитарно-химические исследования свидетельствуют о достаточной химической стойкости образцов полимерных композиций «ИКВОВАН-Мт 3», «ИКВОВАН-Мт 4».

2.2. Результаты первичной токсикологической оценки

Изучение токсикологических свойств материалов проведено в острых, подострых и хронических экспериментах на 3-х видах лабораторных животных обоего пола: нелинейных белых мышах, исходной массой 18–22 г; рандобредных белых крысах линии «Vistar», исходной массой 120–250 г; кроликах – альбиносах, исходной массой 3–4 кг. Схема и основной объем токсиколого-гигиенических исследований представлены в таблице А 3.

Таблица А 3

Схема и объем экспериментальных исследований материалов

Вид исследования	Вид и количество животных		
	белые мыши	белые крысы	кролики
Исследование токсичности на клеточном уровне (in vitro)	тест-объект — бычья сперма		
Установление и оценка параметров острой токсичности при однократном введении в брюшную полость	30	30	
Изучение общетоксического действия в подостром эксперименте при введении: • в желудок; • в брюшную полость		30 30	
Изучение параметров общетоксического действия в хроническом эксперименте (имплантационный тест)		30	
Исследование раздражающего действия на кожу (аппликации твердого материала и водных вытяжек из ПКМ)			6
Исследование раздражающего действия на кожу (внутрикожное введение водных вытяжек из ПКМ)			6
Исследование раздражающего действия на слизистые (глаза)			2
Исследование сенсибилизирующего действия	42		

Оборудование, применяемое при проведении исследований:

1. Весы лабораторные ВЛКТ-500.
2. Электрокардиограф. Зав. № 1525034.
3. Электронный стимулятор ИСЭ-01.
4. Анализатор токсичности Ат-2.
5. Хирургический инструментарий, шовный материал.

2.2.1. Оценка токсичности образцов методом «in vitro»

Выявление цитотоксичности водных вытяжек проводили на кратковременной суспензионной культуре клеток — сперме быка с использованием анализатора токсичности АТ – 2, который позволяет определить суммарный индекс токсичности по формуле:

$$I_t^s = \left(\frac{S_{cp}^o}{S_{cp}^k} \right) \times 100 \% ,$$

где S_{cp}^o, S_{cp}^k — средние арифметические значения суммарной двигательной активности сперматозоидов в опыте и контроле соответственно.

Если значения индекса токсичности варьируют в пределах 70–120%, то водные вытяжки оцениваются как нетоксичные.

Значения суммарного индекса токсичности, рассчитанные в ходе проведенных исследований, находятся в диапазоне 74,3–118,6%, что свидетельствует об отсутствии токсического действия на суспензионную культуру клеток (табл. А 4).

Таблица А 4
Результаты исследований токсичности «ИКВОБАН-Мт 3» и «ИКВОБАН-Мт 4»

Исследуемый материал	Срок наблюдения, сутки	Значение суммарного индекса токсичности, %	Токсический эффект
ИКВОБАН-Мт 3	3	74,3	Отсутствует
	10	111,0	Отсутствует
	30	103,9	Отсутствует
	60	107,0	Отсутствует
ИКВОБАН-Мт 4	3	95,9	Отсутствует
	10	111,2	Отсутствует
	30	98,3	Отсутствует
	60	118,6	Отсутствует

Таким образом, водные вытяжки из «ИКВОБАН-Мт 3» и «ИКВОБАН-Мт 4» не обладают острой токсичностью «in vitro» с использованием спермы быка в качестве тест-объекта.

2.2.2. Острая токсичность

При однократном внутрибрюшинном введении водных вытяжек из «ИКВОБАН-Мт 3» и «ИКВОБАН-Мт 4» белым мышам в количестве 50 мл на 1 кг массы тела животного клинических симптомов интоксикации и летальных исходов не зарегистрировано. Макроскопических изменений и признаков нарушения гемодинамики в паренхиматозных органах спустя 24 часа не обнаружено. Статистически достоверных различий в массовых коэффициентах внутренних органов животных опытных и контрольной групп не выявлено (табл. А 5).

Таблица А 5
Массовые коэффициенты органов белых мышей через 24 часа после внутрибрюшинного введения водных вытяжек (из расчета 50 мл/кг), $M \pm m$

Группы сравнения	Печень	Почки	Селезенка	Сердце	Легкие
Контроль	2,43±0,05	0,46±0,02	0,36±0,03	0,26±0,01	0,29±0,01
ИКВОБАН – Мт 3	2,36±0,05	0,38±0,02	0,38±0,01	0,25±0,01	0,29±0,01
ИКВОБАН – Мт 4	2,40±0,04	0,44±0,02	0,31±0,02	0,28±0,01	0,29±0,01

При однократном внутривенном введении водных вытяжек экспериментальным животным в максимально возможных объемах (3 мл/200 г массы — белые крысы, 1 мл/20 г — белые мыши) симптомы интоксикации и гибель животных отсутствовали на протяжении

нии 14 дней. Отсутствие смертельных эффектов при введении водных вытяжек в максимально возможных объемах не позволило рассчитать параметры острой токсичности. Следовательно, водные вытяжки из полимерных композиций «ИКВОБАН-Мт 3» и «ИКВОБАН-Мт 4» по ГОСТу 12.1.007-76 «Вредные вещества» являются малоопасными (IV класс опасности), при этом видовая чувствительность отсутствует.

2.2.3. Ирритативное и кожно-раздражающее действие

При аппликации нативных образцов полимерных композиций и водных вытяжек из них на неповрежденную кожу спины кроликов ответная реакция кожных покровов по эритеме и образованию отека отсутствовала в течение 72 часов.

Инстилляция водных вытяжек из «ИКВОБАН-Мт 3» и «ИКВОБАН-Мт 4» в стандартном объеме 50 мкл в нижний конъюнктивальный свод глаза кролика сопровождалась кратковременными симптомами адаптационного характера — птозом, усиленным морганием, слабым слезотечением. Ежечасные наблюдения в течение первых 8 часов и в последующие две недели не выявили признаков раздражения слизистых глаз, изменений склеры и кожи век.

Следовательно, водные вытяжки из «ИКВОБАН-Мт 3» и «ИКВОБАН-Мт 4» не обладают кожно-раздражающим и ирритативным действием.

2.2.4. Кумулятивные свойства

О способности материалов к кумуляции судили по результатам 14-кратного ежедневного внутрибрюшинного введения водных вытяжек из исследуемых полимерных композиций в дозе 50 мл/кг. Симптомов интоксикации и гибели животных на протяжении опыта не наблюдалось, что не позволило рассчитать коэффициент кумуляции.

Со стороны показателей периферической крови (эритроциты, гемоглобин, лейкоциты, лейкоцитарная формула крови), биохимических показателей сыворотки крови (общий белок, мочевины, глюкоза, хлориды, липиды, АлАТ, АсАТ) и мочи крыс (белок, мочевины, альфа амилаза, хлориды) через 14 суток после ежедневного внутрибрюшинного введения водных вытяжек из полимерных композиций не выявили изменений. Относительные коэффициенты масс (ОКМ) внутренних органов (печень, почки, селезенка, сердце) подопытных животных статистически достоверно не отличались от таковых в контроле. При морфологическом исследовании внутренних органов структурные изменения в гистологических срезах не обнаружены (табл. А 6).

Таблица А 6

Морфо-функциональные показатели белых крыс через 14 суток после ежедневного внутрибрюшинного введения водных вытяжек, М ± m

Показатели	Единицы измерения	Группы сравнения		
		контроль (n = 8)	опыт	
			ИКВОБАН-Мт 3 (n = 8)	ИКВОБАН-Мт 4 (n = 8)
ОКМ				
Печень	г/100	3,66±0,09	3,54±0,15	3,78±0,25
Почки	г/100	0,67±0,04	0,64±0,04	0,70±0,04
Селезенка	г/100	0,82±0,05	0,69±0,04	0,75±1,35
Сердце	г/100	0,37±0,004	0,38±0,002	0,35±0,02
Легкие	г/100	0,86±0,07	0,83±0,05	0,95±0,12
Показатели периферической крови				
Гемоглобин	г/л	146,8±4,33	140,2±3,23	147,1±6,01
Эритроциты	10 ¹² /л	4,70±0,10	4,70±0,13	4,73±0,07
Лейкоциты:	10 ⁹ /л	12,5±0,82	12,4±0,88	11,8±1,02

• сегменто-ядерные нейтрофилы	%	24,5±4,29	27,3±3,72	16,7±1,43
• моноциты	%	6,20±0,91	5,17±0,75	3,50±0,62
• лимфоциты	%	68,3±4,67	66,5±3,40	75,7±2,16
• эозинофилы	%	0,83±0,31	2,17±0,40	2,67±0,95

Окончание таблицы А 6

Показатели	Единицы измерения	Группы сравнения		
		контроль (n = 8)	опыт	
			ИКВОВАН-Мт 3 (n = 8)	ИКВОВАН-Мт 3 (n = 8)
Биохимические показатели				
Глюкоза	ммоль/л	5,20±0,27	5,50±0,31	6,11±0,33
Общий белок	г/л	44,5±5,10	55,9±2,78	41,9±3,58
Мочевина	ммоль/л	6,36±0,33	5,66±0,40	6,14±0,46
Хлориды	ммоль/л	124,1±2,36	121,9±2,23	118,6±1,47
Холестерин	ммоль/л	1,97±0,19	1,85±0,14	1,85±0,15
АлАТ	ммоль/л	74,8±5,70	74,4±4,79	77,6±5,3
АсАТ	ммоль/л	255,9±9,64	251,7±16,2	247,5±17,0
Показатели выделительной системы				
Суточный диурез	мл	7,00±0,79	6,80±0,77	6,09±0,92
Белок	экстинция	0,69±0,07	0,61±0,09	0,82±0,14
Мочевина	ммоль/л	527,3±113,4	396,1±88,3	430,9±10,9
Хлориды	ммоль/л	84,6±8,07	73,5±11,2	70,5±9,06

2.2.5. Сенсibiliзирующее действие

Эксперимент проводили на белых мышах чистой линии, которых сенсibiliзировали путем однократного введения в основание хвоста 0,1 см³ 3-суточной водной вытяжки из материалов с поверхностным адьювантом Фрейда в соотношении 0,7:0,3.

При постановке внутрикожного теста опухания лапы (ВТОЛ) на пятые сутки после введения вытяжек из «ИКВОВАН-Мт 3» и «ИКВОВАН-Мт 4» не выявлено признаков аллергизации по числу положительных случаев, а также абсолютному и относительному показателям ВТОЛ в опытных и контрольных группах как по критерию Стьюдента, так и по критерию «Х» (P>0,1).

Таблица А 7

Результаты тестирования белых мышей после однократной сенсibiliзации водными вытяжками

Показатель		Материал	Группы сравнения (M±m)	
			опыт	контроль
ВТОЛ	Δ, 10 ⁻² мм	ИКВОВАН-Мт 3	7,33±1,11	5,70±1,75
		ИКВОВАН-Мт 4	9,70±1,32	6,40±1,10
	Н	ИКВОВАН-Мт 3	2/9	2/10
		ИКВОВАН-Мт 4	3/10	1/10
Относительный показатель, балл	ИКВОВАН-Мт 3	0,22±0,14	0,20±0,13	
	ИКВОВАН-Мт 4	0,31±0,15	0,10±0,10	
РСЛЛ	Н	ИКВОВАН-Мт 3	4/8	2/9
		ИКВОВАН-Мт 4	4/10	3/10
	%	ИКВОВАН-Мт 3	11,7±3,61	7,44±2,96

		ИКВОБАН-Мт 4	9,54±2,89	8,70±2,80
--	--	--------------	-----------	-----------

Примечание. Δ — абсолютная разница в толщине лапы до тестирования и спустя 24 часа; Н — в числителе — число животных с положительными пробами, в знаменателе — всего животных в опыте.

Не отмечено статистически значимых различий в опыте и контроле по тем же критериям и при постановке реакции специфического лизиса лейкоцитов (РСЛЛ).

2.2.6. Хроническое действие при постановке имплантационного теста

В соответствии с требованиями Европейского стандарта EN-30993-6 (1994) выявление биологической безопасности на макро- и микроскопическом уровнях проведена путем имплантации полимерных композиций в мышечную ткань бедра белых крыс.

Продолжительность эксперимента составила 6 месяцев с промежуточными исследованиями через 1, 2 и 4 месяца для выяснения процесса эволюции материалов в тканях и изучения клинико-биохимических и патоморфологических показателей.

Оперативное вмешательство проводилось с соблюдением всех правил асептики и антисептики под общим наркозом (галатан, тиопентал натрия) и с дополнительным местным обезболиванием (0,5%-ный раствор новокаина).

Под местной анестезией на наружной поверхности верхней трети правого бедра белых крыс делали разрез и в сформированный карман в мышечной ткани закладывали исследуемый материал, рану послойно ушивали, а линию швов обрабатывали йодом. Животным контрольной группы была выполнена «ложная» операция (разрез, формирование кармана в мышечной ткани и ушивание раны).

Кусочки капсулы с прилегающей мышечной тканью бедра крысы, а также внутренние органы (печень, сердце, почки, селезенка) после фиксации в 10%-ном нейтральном формалине подвергали стандартной гистологической обработке. Срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Для обнаружения жира в исследуемых органах срезы окрашивали Суданом III. Формирование капсулы отслеживали с помощью окраски микропрепаратов по ван Гизон. Микропрепараты изучали и описывали в сравнении с контролем.

На протяжении 6-месячного эксперимента общее состояние животных опытных групп не различалось с контрольными группами. Животные были активными, охотно поедали корм и воду. Масса тела животных нарастала синхронно (табл. А 8).

Таблица А 8

Динамика массы тела белых крыс при имплантации в течение 6 месяцев, М ± m

Срок исследования, месяц	Группы сравнения		
	контроль	ИКВОБАН-Мт 3	ИКВОБАН-Мт 4
Исходные	239,3±3,2	227,9±3,4	222,9±6,1
1	280,0±4,7	247,9±5,1	271,7±6,9
2	295,0±3,7	266,4±3,22	290,0±5,2
4	310,0±4,3	293,6±4,3	312,5±4,4
6	342,0±20,4	348,7±13,7	334,8±24,6

О функциональном состоянии центральной нервной системы судили по результатам определения суммационно-порогового показателя (СПП), значения которого на протяжении всего эксперимента статистически достоверно в опытных группах животных не различались с контролем (табл. А 9).

Таблица А 9

Динамика СПП белых крыс при имплантации в течение 6 месяцев, М ± m

Срок исследования, месяц	Группы сравнения		
	контроль	ИКВОБАН-Мт 3	ИКВОБАН-Мт 4
Исходные	1,42±0,07	2,21±0,14	1,71±0,11
1	1,40±0,09	2,10±0,07	1,63±0,10

2	1,45±0,11	2,10±0,08	1,72±0,10
4	1,45±0,09	2,01±0,08	1,72±0,11
6	1,44±0,11	2,10±0,07	1,70±0,10

Результаты клинико-биохимических исследований спустя 60, 120 и 180 суток после имплантации двух образцов полимерных композиций (табл. А 10) показали отсутствие статистически достоверных различий между группами опытных и контрольных животных.

Таблица А 10

**Морфо-функциональные показатели белых крыс
при имплантации полимерных композиций**

Показатели	Единицы измерения	Срок исследования, месяц	Группы сравнения, М ± m		
			контроль (n = 8)	опыт	
				ИКВОВАН – Мт3 (n = 8)	ИКВОВАН – Мт 4 (n = 8)
1	2	3	4	5	6
Относительные коэффициенты массы					
Печень	г/100	2	2,61±0,06	2,42±0,02	2,67±0,08
		4	3,86±0,15	3,69±0,18	3,73±0,10
		6	2,59±0,11	2,77±0,08	2,85±0,24
Почки	г/100	2	0,62±0,02	0,64±0,01	0,66±0,03
		4	0,82±0,01	0,84±0,04	0,86±0,01
		6	0,59±0,02	0,59±0,02	0,61±0,03
Селезенка	г/100	2	0,39±0,02	0,38±0,03	0,34±0,02
		4	0,82±0,01	0,84±0,04	0,72±0,03
		6	0,33±0,01	0,34±0,02	0,34±0,01
Сердце	г/100	2	0,34±0,01	0,38±0,01	0,38±0,01
		4	0,45±0,04	0,45±0,03	0,44±0,02
		6	0,39±0,03	0,36±0,03	0,40±0,02
Показатели периферической крови					
Гемоглобин	г/л	2	142,2±2,29	141,7±1,09	143,5±0,67
		4	104,5±1,20	103,8±1,21	103,8±1,45
		6	142,8±3,2	148,7±3,4	148,0±2,5
Эритроциты	10 ¹² /л	2	4,85±0,07	4,83±0,07	4,91±0,05
		4	3,43±0,03	3,43±0,01	3,38±0,06
		6	4,86±0,12	5,09±0,13	5,05±0,13
Цветовой показатель	усл. ед.	2	0,87±0,01	0,87±0,01	0,87±0,001
		4	0,88±0,01	0,89±0,01	0,89±0,01
		6	0,87±0,005	0,87±0,004	0,87±0,006
Лейкоциты:	10 ⁹ /л	2	11,4±0,50	12,4±0,33	12,5±0,33
		4	7,35±0,21	7,01±0,15	7,34±0,32
		6	10,3±0,22	9,48±1,00	9,95±0,87
• сегментоядерные нейтрофилы	10 ⁹ /л	2	32,7±0,88	35,0±1,13	35,9±1,17
		4	31,8±0,67	32,1±0,64	32,9±0,69
		6	22,7±1,52	26,0±1,07	24,7±1,69
• моноциты	10 ⁹ /л	2	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00
		4	1,75±0,31	1,75±0,30	1,75±0,41
		6	1,83±0,31	1,5±0,22	1,83±0,31
• лимфоциты	10 ⁹ /л	2	65,5±0,76	62,9±1,20	62,1±1,27
		4	65,4±0,59	65,8±0,77	63,9±0,89
		6	69,7±3,0	71,5±1,15	71,17±1,7

• эозинофилы	10 ⁹ /л	2	1,17±0,17	1,14±0,14	1,17±0,17
		6	1,67±0,21	1,0±0	1,17±0,17
Биохимические показатели					
Глюкоза	ммоль/л	2	3,79±0,09	3,76±0,08	3,81±0,13
		4	3,79±0,09	3,76±0,08	3,70±0,06
		6	4,46±0,29	4,89±0,007	4,79±0,08

Окончание таблицы А 10

1	2	3	4	5	6
Общий белок	г/л	2	59,3±2,63	55,4±2,37	55,3±2,87
		4	59,3±2,63	55,4±2,37	61,6±0,50
		6	64,2±1,74	63,7±1,45	62,2±1,53
Мочевина	ммоль/л	2	5,36±0,06	5,48±0,12	5,28±0,31
		4	5,36±0,06	5,48±0,12	4,96±0,13
		6	6,7±0,48	6,9±0,36	6,9±0,45
Хлориды	ммоль/л	2	88,8±4,37	89,6±4,39	87,8±4,78
		4	88,8±4,37	89,6±4,39	97,1±1,86
		6	93,6±2,91	95,7±3,15	95,5±3,7
Липиды	г/л	2	1,78±0,26	2,26±0,17	2,23±0,16
		4	1,78±0,26	2,26±0,17	2,74±0,08
		6	4,14±0,36	5,21±0,12	5,51±0,15
АлАТ	мкат/л	2	0,04±0,004	0,04±0,002	0,04±0,004
		4	0,04±0,004	0,04±0,002	0,04±0,003
		6	0,05±0,003	0,04±0,004	0,05±0,005
АсАТ	мкат/л	2	0,14±0,002	0,14±0,003	0,14±0,003
		4	0,14±0,002	0,14±0,003	0,03±0,004
		6	0,08±0,005	0,08±0,005	0,08±0,008
Креатинин	мкмоль/л	2	88,3±5,20	83,1±3,75	87,5±5,23
		4	88,3±5,20	83,1±3,75	57,9±1,08
		6	86,0±4,6	84,8±3,9	86,0±4,7
Показатели выделительной системы					
Суточный диурез	мл	2	7,22±1,64	9,53±2,36	9,47±1,88
рН	усл.ед.	2	8,33±0,22	8,00±0,00	8,33±0,21
		4	8,0±0,27	8,0±0,19	8,0±0,27
		6	8,33±0,42	8,17±0,31	8,00±0,36
Креатинин	ммоль/л	2	5,55±0,51	5,63±0,46	5,60±0,43
		4	4,7±0,07	4,70±0,08	4,77±0,09
		6	5,28±0,35	9,98±0,38	5,20±0,39
Белок	ммоль/л	2	0,13±0,02	0,11±0,02	0,19±0,01
		4	0,06±0,01	0,06±0,006	0,06±0,006
		6	0,22±0,01	0,22±0,01	0,23±0,01
Белок	ммоль/сут	2	1,26±0,22	1,34±0,33	1,67±0,29
		4	0,46±0,09	0,45±0,08	0,04±0,08
		6	1,35±0,17	1,44±0,12	1,39±0,15
Мочевина	ммоль/л	2	4,54±0,30	4,23±0,35	4,22±0,33
		4	4,75±,31	4,73±0,27	3,10±0,30
		6	4,64±0,08	5,06±0,14	4,85±0,16
Мочевина	ммоль/сут	2	3,48±0,64	3,69±0,69	3,69±0,59
		4	3,22±0,18	3,33±0,20	3,10±0,30

		6	2,88±0,33	3,47±0,24	2,85±0,39
Хлориды	ммоль/л	2	80,3±4,60	74,0±9,20	78,7±8,70
		4	98,3±2,19	100,5±2,34	101,3±3,01
		6	122,6±2,6	123,8±3,97	119,2±3,97
Хлориды	ммоль/сут	2	0,50±0,10	0,62±0,11	0,67±0,09
		4	0,63±0,06	0,69±0,08	0,68±0,08
		6	0,77±0,07	0,81±0,08	0,72±0,08

Морфологическое исследование гистологических срезов внутренних органов (печень, почки, селезенка, сердце) через 1, 2, 4 и 6 месяцев после имплантации материалов «ИКВОВАН-Мт 3» и «ИКВОВАН-Мт 4» не выявило существенных структурных сдвигов.

Через 1 месяц после имплантации «ИКВОВАН-Мт 3» обнаружена выраженная воспалительная инфильтрация в пограничной зоне с поверхностным проникновением в материал между волокнами и незначительным образованием гигантских клеток типа клеток «инородных тел», которые принимают участие в резорбции и фагоцитозе имплантированного материала. Спустя 2 месяца отмечается усиление пролиферативных процессов и прогрессирование склеротических изменений. Обнаруживались отчетливые признаки формирования соединительнотканного рубца с наличием большого числа макрофагов и гигантских многоядерных клеток с явными признаками резорбции и фагоцитоза материала. Волокна имплантата разобщены, между ними мононуклеарные инфильтраты с фибробластами и признаками колагеногенеза. Умеренно выраженные признаки воспаления в окружающих имплантат тканях. Имплантация материала «ИКВОВАН-Мт 3» через 4 месяца сопровождалась заметными признаками четкой резорбции и заместительным склерозом, но при этом еще сохраняется большое количество волокон, фагоцитированных гигантскими многоядерными клетками. В окружающих тканях отмечали инфильтративную реакцию умеренной степени выраженности. В 6-месячном сроке выявили значительную разобщенность волокон материала, по ходу которых сохранялись гигантские многоядерные клетки. В некоторых гигантских клетках обнаруживали остатки резорбированных волокон имплантата. Вокруг имплантата сформирована тонкая волокнистая капсула.

Спустя 1 месяц после имплантации «ИКВОВАН-Мт 4» вокруг материала обнаруживалась тонкая капсула с диффузным прорастанием соединительной ткани вглубь материала и неравномерным клеточным распределением. В имплантате густо располагались гигантские клетки. Микроскопическая картина через 2 месяца выглядела следующим образом: на большом протяжении наблюдалось рассасывание материала и замещение его созревающей соединительной тканью, местами отмечалась тенденция к формированию лимфоидных фолликулов, выражена гигантоклеточная реакция. К 4 месяцам в зоне имплантации материала обнаружена сформированная капсула. На большом протяжении волокна имплантата резорбированы и замещены соединительной тканью. В основном разрушение происходит путем обрастания каждого волокна соединительнотканной прослойкой, содержащей разное количество гигантских многоядерных клеток. Реакция окружающих имплантат тканей слабой степени выраженности. В зоне имплантации «ИКВОВАН-Мт 4» через 6 месяцев наблюдали разнонаправленный ход волокон имплантата со значительно меньшим количеством гигантских клеток как по сравнению с предыдущими сроками наблюдения. Большинство волокон материала заключено в тонкие соединительнотканые футляры без признаков воспалительной реакции и лишь в отдельных волокнах продолжается фагоцитоз гигантскими клетками «инородных тел».

Проведенное морфологическое изучение реакции тканей животных выявило умеренную воспалительную реакцию в зоне имплантата, относительно медленную резорбцию материала и отсутствие существенного влияния на гистохимические структуры и морфологические параметры паренхиматозных органов в процессе биодеградации волокон. Это свидетельствует об относительной инертности испытуемых материалов в изученной биологической среде и открывает перспективы для применения в челюстно-лицевой хирургии.

3. ВЫВОДЫ И РЕКОМЕНДАЦИИ

Проведенные токсиколого-гигиенические исследования полимерно-композиционных материалов «ИКВОБАН-Мт3» и «ИКВОБАН-Мт4» позволили сделать следующие выводы:

1. Полимерные композиции «ИКВОБАН-Мт 3» и «ИКВОБАН-Мт 4», предназначенные для замещения дефектов мягких тканей, относятся к малоопасным соединениям (IV класс опасности согласно ГОСТ 12.1.007-76 «Вредные вещества») и не представляют опасности острых отравлений при внутрибрюшинном и внутрижелудочном введении экспериментальным животным водных вытяжек из них в максимально возможных дозах; материалы не обладают видовой чувствительностью.

2. Водные вытяжки из «ИКВОБАН-Мт 3» и «ИКВОБАН-Мт 4» не обладают цитотоксическим действием на суспензионную культуру клеток — сперму быка.

3. Полимерные композиции «ИКВОБАН-Мт 3» и «ИКВОБАН-Мт 4» в нативном виде и водные вытяжки из них не обладают раздражающим действием при эпикутаных аппликациях и нанесении на слизистую оболочку глаза кроликов.

4. Способность к кумуляции по смертельным эффектам и изменению клинико-биохимических показателей при 14-кратном внутрибрюшинном введении водных вытяжек из «ИКВОБАН-Мт 3» и «ИКВОБАН-Мт 4» в количестве 50 мл на 1 кг массы тела белых крыс не выявлена.

5. Полимерные композиции «ИКВОБАН-Мт 3» и «ИКВОБАН-Мт 4» являются биосовместимыми при длительной (6 месяцев) имплантации в организм экспериментальных животных и не проявляют признаков общетоксического действия. Реакция мягких тканей белых крыс, окружающих имплантированные материалы, характеризовалась наличием явлений продуктивного воспаления (лимфоциты, плазматические клетки, макрофаги), выраженность которого снижалась с увеличением срока имплантации и практически не определялось спустя 6 месяцев. При этом наблюдалось значительное замещение волокон материалов соединительной тканью.

Результаты токсиколого-гигиенических исследований позволяют рекомендовать имплантаты «ИКВОБАН-Мт 3» и «ИКВОБАН-Мт 4» для клинических исследований.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
Требования к исходному уровню знаний студентов.....	3
Контрольные вопросы из смежных дисциплин.....	3
Перечень вопросов по теме занятия	4
1. ПОНЯТИЕ О МАТЕРИАЛОВЕДЕНИИ. КЛАССИФИКАЦИЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ	4
2. СОСТАВЫ И СВОЙСТВА МАТЕРИАЛОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В СТОМАТОЛОГИИ И ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ХИРУРГИИ.....	5
Физические свойства стоматологических материалов	5
Механические свойства стоматологических материалов	5
Технологические свойства стоматологических материалов	6
Химические свойства стоматологических материалов.....	6
3. ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ К СТОМАТОЛО- ГИЧЕСКИМ МАТЕРИАЛАМ.....	7
4. ГИГИЕНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ К СТОМАТОЛОГИЧЕСКИМ МАТЕРИАЛАМ.....	7
5. ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ЭКСПЕРТИЗА СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ. ЭТАПЫ ГИГИЕНИЧЕСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ.....	8
Общие рекомендации по организации и проведению гигиенической экспертизы.....	8
6. ПОРЯДОК ПРОВЕДЕНИЯ ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ	11
6.1. Санитарно-химические исследования	11
6.2. Токсикологические исследования.....	15
6.3. Оценка результатов токсиколого-гигиенических исследований стоматологических материалов	26
ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ.....	29
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	30
ПРИЛОЖЕНИЕ А	31

Учебное издание

Тризна Наталья Михайловна
Мамчиц Людмила Павловна

**ОСНОВЫ МАТЕРИАЛОВЕДЕНИЯ В СТОМАТОЛОГИИ.
МЕТОДЫ ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ
СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ**

Учебно-методическое пособие для студентов 3 курса
медико-профилактического факультета, обучающихся по специальности
«Медико-профилактическое дело»

**Редактор *Т. Ф. Рулинская*
Компьютерная верстка *С. Н. Козлович***

Подписано в печать 14. 03. 2007
Формат 60×84¹/₁₆. Бумага офсетная 65 г/м². Гарнитура «Таймс»

Усл. печ. л. 2,44. Уч.-изд. л. 2,7. Тираж 60 экз. Заказ № 60

Издатель и полиграфическое исполнение
Учреждение образования
«Гомельский государственный медицинский университет»
246000, г. Гомель, ул. Ланге, 5
ЛИ № 02330/0133072 от 30. 04. 2004