

3种消毒剂对超声洁牙机单元水路的消毒效果研究

吕扬^{1,2)}, 李桂鼎²⁾, 鲁少文¹⁾, 余滨兵³⁾, 翟秋菊¹⁾, 彭艺¹⁾

(1)昆明医科大学附属口腔医院牙周病科, 云南昆明 650106; 2)云南省口腔医学重点实验室, 云南昆明 650500; 3)昆明市中医医院肛肠科, 云南昆明 650106)

[摘要] **目的** 评估3种临床常用消毒剂对超声洁牙机单元水路的消毒效果。**方法** 将12台牙周超声洁牙机按消毒方案随机分为4组: A组蒸馏水、B组3%过氧化氢(H₂O₂)、C组500 mg/L含氯消毒剂和D组5%聚维酮碘。每台洁牙机用于日常牙周治疗, 每天有效工作6 h。分别在基线、消毒后即刻和消毒后1~7 d收集水样。对可培养细菌进行计数、分离和纯化, 通过16S rRNA基因测序进行鉴定, 基因扩增子序列按操作分类单元(OTUs)进行聚类。扫描电子显微镜(SEM)观察消毒7 d后水路内壁生物膜的形态和厚度。**结果** 所有组别基线菌落总数均超过了100 CFU/mL。但在消毒后, 各组菌落总数均显著降低($P < 0.05$)。3% H₂O₂消毒后3 d内、500 mg/L含氯消毒剂消毒后6 d内和5%聚维酮碘消毒后4 d内, 菌落总数保持在100 CFU/mL以下($P < 0.05$)。在超声洁牙机单元水路中检测到了嗜麦芽窄食单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*)等病原体。扫描电镜显示, 与对照组相比, 3% H₂O₂组和5%聚维酮碘组生物膜厚度更薄($P < 0.05$)。**结论** 牙科超声洁牙机单元水路中存在致病菌污染, 对患者和医务人员构成潜在的感染风险。在日益严峻的感控背景下应根据临床实际制定适宜的消毒方案。

[关键词] 超声洁牙机; 牙科综合治疗台水路; 菌斑生物膜; 过氧化氢; 次氯酸钠; 聚维酮碘

[中图分类号] R781.05 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2024)09-0180-09

Disinfecting Effect of Three Disinfectants on the Ultrasonic Scaling Unit Waterline

LYU Yang^{1,2)}, LI Guiding²⁾, LU Shaowen¹⁾, YU Binbing³⁾, ZHAI Qiuju¹⁾, PENG Yi¹⁾

(1) Dept. of Periodontology, Kunming Medical University School and Hospital of Stomatology, Kunming Yunnan 650106; 2) Yunnan Key Laboratory of Stomatology, Kunming Yunnan 650500;

3) Dept. of Anorectum, Kunming Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Kunming Yunnan 650106, China)

[Abstract] **Objective** To assess the efficacy of three disinfectants in disinfecting the ultrasonic scaling unit waterline. **Methods** Twelve periodontal ultrasonic scalers were randomly divided into four groups based on the disinfection protocol: distilled water (A group), 3% hydrogen peroxide (B group), 500 mg/L chlorine disinfectant (C group) and 5% povidone-iodine (D group). Each scaler was used for daily periodontal treatment and worked effectively for 6 hours per day. Water samples were collected at baseline, after disinfection, and 1-7 days post-disinfection. Scanning electron microscopy (SEM) was used to observe biofilm formation. Culturable bacteria were counted, isolated and purified, then identified through 16S rRNA gene sequencing. Sequences of 16S rRNA gene amplicons were clustered by operational taxonomic units (OTUs). **Results** Baseline colony counts exceeded 100 CFU/mL in all groups. However, after disinfection, the colony counts decreased significantly in all groups ($P <$

[收稿日期] 2024-05-14

[基金项目] 云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项基金资助项目(202401AY070001-365); 云南省研究生优质课程建设项目《口腔颌面疾病防治》(云学位〔2022〕8号); 昆明医科大学附属口腔医院护理科基金资助项目(2021YNHL_6)

[作者简介] 吕扬(1993~), 男, 云南临沧人, 硕士研究生, 主治医师, 主要从事口腔微生物组学研究工作。

[通信作者] 彭艺, E-mail: 113253825@qq.com; 翟秋菊, E-mail: 532749978@qq.com

0.05). The colony counts remained below 100 CFU/mL within 3 d after disinfection with 3% H₂O₂, within 6 days after disinfection with 500 mg/L chlorine-containing disinfectant, and within 4 d after disinfection with 5% povidone-iodine ($P < 0.05$). Pathogens such as *Stenotrophomonas maltophilia* were detected in the ultrasonic scaler unit water circuit. SEM showed thinner biofilm thickness in the 3% H₂O₂ and 5% povidone-iodine groups compared to the control group ($P < 0.05$). **Conclusions** Bacterial contamination is present in the ultrasonic scaling unit waterline, posing a potential infection risk to periodontal staff and patients. In the context of increasingly severe nosocomial infections, appropriate disinfection protocols should be developed based on clinical realities.

[**Key words**] Ultrasonic scaler; Dental unit waterline; Plaque biofilms; Hydrogen peroxide; Sodium hypochlorite; Povidone iodine

牙周病, 包括牙龈炎和牙周炎, 是全球性的公共卫生问题。据报道, 全球有超过 10 亿人患有严重的牙周炎, 且发病率还在不断上升^[1]。根据欧洲牙周病学联合会 (European Federation of Periodontology, EFP) S3 级牙周炎治疗指南^[2-3], 任何类型的牙周炎都需要有效清除牙菌斑生物膜和牙结石。

菌斑生物膜是牙周炎的始动因子^[4], 牙石紧贴牙面, 为菌斑生物膜提供易于附着的环境, 而超声洁牙机可通过空穴效应高效去除牙石和菌斑生物膜^[5]。研究表明, 牙科治疗椅水路系统 (dental unit waterlines, DUWLs) 中很容易形成菌斑生物膜, 而菌斑生物膜主要来自水源或患者口腔中的细菌通过回吸作用进入水路^[6], 这会增加微生物交叉感染的风险^[7]。此外, 在进行牙周超声治疗时, 微生物可通过超声洁牙机产生的气溶胶进行传播^[8], 这可能引起患者和医务人员呼吸道感染等疾病^[9]。因此, 世界各国都制定了相关的牙科卫生机构用水标准, 如美国疾病控制和预防中心 (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) 规定, 牙科用水的菌群浓度不得超过 500 CFU/mL; 美国牙科协会 (American Dental Association, ADA) 的标准是不超过 200 CFU/mL^[10]。虽然没有针对牙科用水的标准, 但中国和欧盟要求饮用水中的细菌总数应少于 100 CFU/mL^[11]。

超声洁牙机水路独立于牙科治疗椅水路系统, 然而, 目前鲜有针对超声洁牙机水路消毒效果的研究^[12-13]。因此, 本研究旨在探究超声洁牙机水样中存在的微生物, 并评估 3 种临床常用消毒剂对超声洁牙机水路的消毒效果, 为临床实践提供指导。

1 资料与方法

1.1 仪器与试剂

EMS PIEZON[®] MASTER 700 牙周超声治疗仪,

Heal Force HF90 二氧化碳培养箱, BIOBASE BSC-1500 II A2-X 生物安全柜, 胰蛋白胨大豆琼脂 (tryptone soy agar, TSA), 营养琼脂 (nutrient agar, NA), R2A 琼脂, 血液琼脂, 哥伦比亚血琼脂, 脱纤维羊血, Biosharp BS-90-D 细菌培养皿, 涂布棒, 无菌竹签, 带盖玻璃试管, 酒精灯, 迅数 Icount-60 全自动菌落计数仪, EasyTaq[®] DNA Polymerase 反应体系, BIOWESTBY-R0100 琼脂糖, Biosharp 15 mL 无菌离心管, 蒸馏水, 500 mg/L 含氯消毒液, 3% 过氧化氢 (H₂O₂) 溶液, 5% 聚维酮碘溶液, Servicebio G1102 电镜固定液, 4 °C 冰箱, -80 °C 冰箱。

1.2 消毒和样本采集

2023 年 1 月至 6 月, 从昆明医科大学附属口腔医院牙周病科选择 12 台牙周超声洁牙机, 随机分为 A、B、C、D 4 组, 每组 3 台洁牙机, 实验期间保证每台洁牙机每天有效工作 6 h。消毒方案: A 组使用蒸馏水, B 组使用 3% H₂O₂ 溶液, C 组使用 500 mg/L 含氯消毒剂, D 组使用 5% 聚维酮碘溶液。分别在基线 (上午 8:00)、消毒后即刻和消毒后 1~7 d (上午 8:00) 从超声洁牙机工作端采集水样。

消毒时, 储水瓶内加入消毒溶液, 接通电源, 空踩踏板 2 min 使得消毒溶液充满水路系统, 静置 30 min。消毒完成后用蒸馏水替换原储存瓶中的剩余溶液, 再次空踩踏板 2 min。采集 5 mL 水样与 5 mL 30% 无菌甘油溶液混合, 置 4 °C 冰箱暂存。

1.3 菌落计数、纯化和鉴定

1.3.1 预实验 目的是筛选出最适合的培养基和培养条件。提前配制 NA 培养基、TSA 培养基、R2A 培养基、血琼脂培养基 (加脱纤维羊血) 和哥伦比亚琼脂培养基 (加脱纤维羊血), 灭菌, 倒板。各组基线水样用 1.5% 焦磷酸钠溶液按原液、10⁻¹、10⁻²、10⁻³ 梯度稀释, 分别取 100 μL 稀释液均匀涂布至各种培养基的平板上。立即置于 28 °C 和

37 °C 恒温培养箱中培养 72 h(3 d)/120 h(5 d)/168 h(7 d)。培养后取出培养皿进行菌落计数,并记录不同形态的菌落数量,菌落总数按 CFU/mL 报告^[14]。筛选出细菌数量和种类计数的最佳浓度为原液,最适宜培养基为血琼脂培养基(加脱纤维羊血),培养条件为 37 °C 培养 72 h。

1.3.2 菌落计数

1.3.3 菌落分离培养和纯化 各组临床水样以原液涂布于血琼脂培养基(加脱纤维羊血)培养,并记录菌落总数和数量。根据菌落的形态、颜色和大小等特征,在培养皿上选择单个菌落,使用无菌竹签挑取单个菌落,转移到新鲜 TSA 斜面培养基上,置 37 °C 恒温培养箱培养 72 h。使用平板划线法进行菌落纯化和扩增。将纯化的菌落编号收集,用 30% 的甘油保藏于 -80 °C 冰箱中。

1.3.4 细菌 16S rRNA 基因扩增鉴定 收集适量纯培养菌株细胞,加入 100 μL 10% 的 Chelex 100,100 °C 水浴 10 min,以裂解后的上清液为模板,使用 16S rRNA 基因通用引物(27F: 5' -AGAGTT-TGATCCTGGCTCAG-3', 1492R: 5' -TACGGCTA-CCTTGTTACGACTT-3')进行 PCR 扩增,琼脂糖凝胶电泳筛选目的条带。将 PCR 合格的样品送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行 Sanger 测序,结果通过 EzBioCloud.net 网站进行 BLAST 比对,16S rRNA 基因扩增片段按相似度 98.65% 进行种水平 OUT(operational taxonomic units)聚类。菌株的基因序列上传至 NCBI 数据库获得 GenBank 编号,MEGA 11.0 进行 Neighbor-Joining(NJ)系统发育树聚类,最后使用 tvBOT(<https://chiplot.online/>)完成可视化绘图。

1.4 生物膜结构

消毒后第 7 天,拆除 A~D 组超声洁牙机的水线,见图 1,用无菌剪刀截取 5 mm 并纵向剖开。空白对照组用同样方法剪下一段新的水线。所有样本在室温下立即用电镜固定液固定 2 h,然后在 4 °C 下储存和运输。样品用 0.1 M PB(pH 7.4)

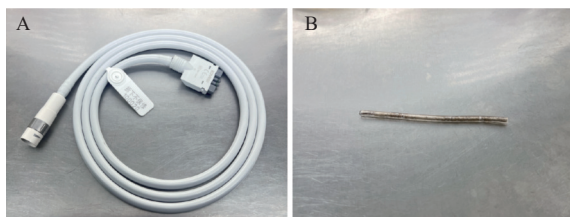


图 1 超声洁牙机水线(USUWLs)

Fig. 1 Ultrasonic scaler unit waterlines (USUWLs)

A: 拆除的超声洁牙机水线; B: 超声洁牙机水线内壁的生物膜。

洗涤 3 次,每次 15 min,然后转移到 0.1 M PB(pH 7.4)制备的 1% 锇酸中,室温避光固定 1~2 h。依次加入 30%~50%~70%~80%~90%~95%~100%~100% 酒精,每次 15 min,乙酸异戊酯 15 min 脱水。干燥后将样本紧贴于导电碳膜双面胶上放入离子溅射仪样品台上进行喷金 30 s,扫描电子显微镜(scanning electron microscopy, SEM)观察和图像采集分析。

1.5 统计学处理

统计分析使用 SPSS 26.0。样本所培养菌落总数(CFU/mL)不服从正态分布,用中位数和四分位数 $M(P25, P75)$ 表示。各组基线和消毒后即刻的菌落两两比较用 Wilcoxon 秩和检验;进一步对消毒后第 1 天至第 7 天菌落数进行比较,采用重复测量的秩和检验分析。此外,使用 Kruskal-Wallis 检验比较扫描电镜(SEM)生物膜的组间差异。在所有统计方法中, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 4 种消毒方案消毒效果比较

本研究共采集 108 份水样,经培养的水样菌落总数不超过 100 CFU/mL 为水质合格的标准。不同组别菌落总数描述性分析见表 1。

2.2 不同消毒方案消毒后即刻菌落总数变化

基线消毒后即刻,4 个组菌落总数均降至 100 CFU/mL 以下,且差异具有统计学意义($P < 0.05$),见图 2。表明 4 种消毒方案对超声洁牙机进行消毒后立即采样,水质都可以达到消毒效果。

2.3 4 种消毒方案消毒持久性比较

为评估 4 种消毒方案的消毒持久性,对消毒后即刻(第 0 天)至消毒后第 7 天的菌落数进行了统计分析,见表 2。首先,由 8 次重复测量的秩和检验结果可知,各组菌落总数的差异具有统计学意义($P < 0.05$),说明消毒引起了超声洁牙机菌落数的显著变化。

进一步对 4 种消毒方法在不同采样时间点的菌落数进行两两比较,见图 3A~D。结果发现, A 组的菌落总数随着时间的推移而增加。B 组从消毒后即刻(第 0 天)至第 3 天菌落数均低于 100 CFU/mL,但第 4 天显著增加($P < 0.01$)。C 组从第 0 天到第 6 天菌落数无显著增加且一直保持不超过 100 CFU/mL,从消毒后第 7 天开始显著增加($P < 0.05$)。而 D 组呈现第 5 天开始菌落总数增加($P < 0.05$),第 6 天下降($P < 0.05$)后第 7 天重新增加

表 1 A、B、C、D 组不同时间点可培养菌落的描述性分析 [$M(P25, P75)$, CFU/mL]

Tab. 1 Descriptive analysis of culturable colonies at different time points in groups A, B, C, D [$M(P25, P75)$, CFU/mL]

时间	A组	B组	C组	D组
基线	200(160, 660)	360(240, 940)	120(100, 140)	280(160, 400)
消毒后即刻	20(0, 80)	20(0, 40)	0(0, 20)	0(0, 0)
消毒后第1天	0(0, 20)	0(0, 0)	0(0, 0)	0(0, 20)
消毒后第2天	20(20, 240)	0(0, 0)	0(0, 0)	0(0, 20)
消毒后第3天	80(20, 460)	0(0, 0)	0(0, 0)	0(0, 0)
消毒后第4天	220(60, 300)	280(220, 360)	0(0, 0)	20(0, 40)
消毒后第5天	420(220, 640)	40(20, 80)	40(0, 80)	140(140, 200)
消毒后第6天	620(200, 700)	40(20, 40)	40(0, 100)	0(0, 0)
消毒后第7天	840(320, 960)	100(80, 260)	420(380, 480)	760(640, 1000)

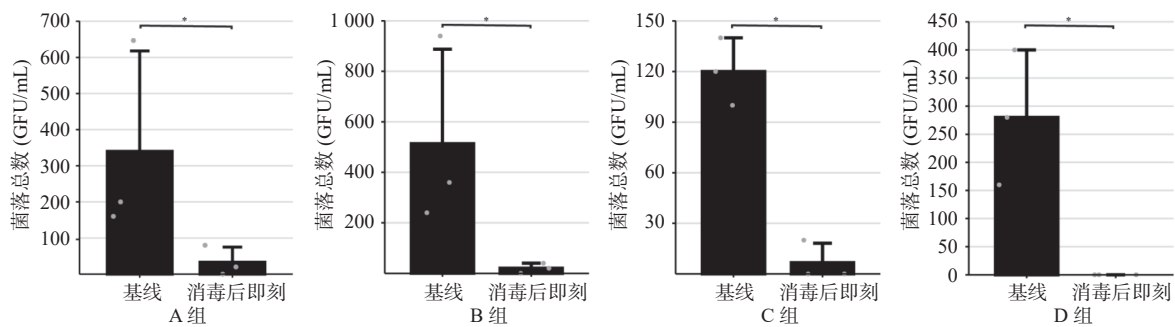


图 2 不同方案消毒后即刻菌落总数变化

Fig. 2 Changes in the total number of colonies immediately after disinfection with different protocols

A 组: 蒸馏水; B 组: 3% 过氧化氢; C 组: 500 mg/L 含氯消毒剂; D 组: 5% 聚维酮碘。* $P < 0.05$ 。

表 2 不同组别消毒后 7 d 的重复测量秩和检验

Tab. 2 Repeated-measures rank-sum test 7 d after disinfection in different groups

组别	χ^2	df	P
A组	18.657	7	0.009
B组	20.079	7	0.005
C组	15.621	7	0.029
D组	17.604	7	0.014

($P < 0.001$)。

2.4 不同组别可培养菌落组成

本研究共分离纯化 27 个细菌属, 共 50 个菌种, 其聚类分布见图 4。

2.4.1 基线超声洁牙机水路菌落组成 A 组基线水样有 12 个菌种, 最常见的菌种是啤酒神金黄杆菌 (*Chryseobacterium gambrini*, OTU_{41.18%}) 和解蛋白微杆菌 (*Microbacterium proteolyticum*, OTU_{15.69%})。B 组有 8 个菌种, 占比前三为解蛋白微杆菌 (OTU_{49.35%})、印度鞘氨醇盒菌 (*Sphingopyxis indica*, OTU_{14.29%}) 和韩国假单胞菌 (*Pseudomonas koreensis*, OTU_{11.69%})。C 组有 6 个菌

种, 主要是啤酒神金黄杆菌 (OTU_{27.78%})、嗜异生质菌 (*Xenophilus aerolatus*, OTU_{22.78%})。D 组主要菌种是 kurunegalensis 假单胞菌 (*Pseudomonas kurunegalensis*, OTU_{26.19%})、皮氏罗尔斯通氏菌 (*Ralstonia pickettii*, OTU_{23.81%}) 和耐金属贪铜菌 (*Cupriavidus metallidurans*, OTU_{16.67%})。

2.4.2 不同消毒方案消毒后菌落组成 消毒后, 菌落总数呈现先减少后增加的趋势, 但菌落种类发生了显著改变。

A 组消毒前后菌群均以金黄杆菌属 (*Chryseobacterium* spp.) 和微杆菌属 (*Microbacterium* spp.) 为主。此外, 在消毒后的第 4 天, 长野雷夫松氏菌 (*Leifsonia shinshuensis*) 出现并迅速成为优势菌种, 图 4A。

B 组消毒后即刻仍培养出现嗜异生质菌和阿尔及利亚微杆菌 (*Microbacterium algeriense*)。此外, 在消毒后的前 3 d 没有观察到菌落生长, 但从第四天开始, 菌落数量和种类都开始增加。值得注意的是, 基线时未培养出的菌种如塞维利亚金黄杆菌 (*Chryseobacterium hispalense*)、嗜麦芽窄食单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*) 和长野雷夫松氏菌 (*Leifsonia shinshuensis*) 出现并成为优势菌种,

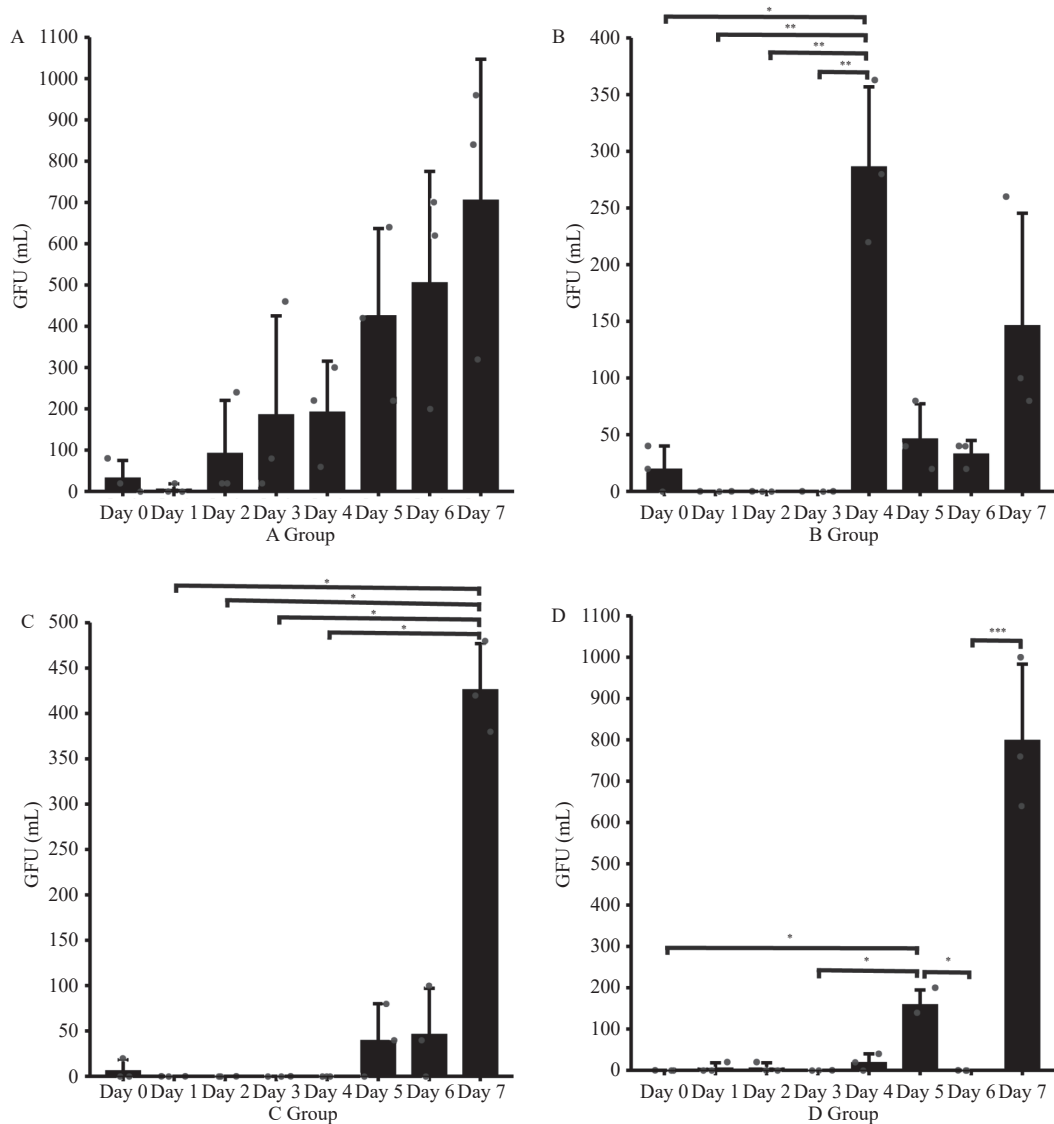


图 3 消毒后 7 d 的消毒持续性分析

Fig. 3 Disinfection duration analysis 7d after disinfection

注: Day 0 代表消毒后即刻采样; Day 1-7 代表消毒后第 1 天至第 7 天采样; A: 蒸馏水组; B: 3% 过氧化氢组; C: 500 mg/L 含氯消毒剂组; D: 5% 聚维酮碘组。* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ 。

见图 4B。

C 组消毒后前 4 d 只培养出龋齿沙尔氏菌 (*Schaalia odontolytica*), 见图 4C。然而, 在第 5 天和第 6 天, 出现了葡萄球菌属 (*Staphylococcus* spp.), 第 7 天, 菌株增加, 主要为泡囊短波单胞菌 (*Brevundimonas vesicularis*)、副氧化微杆菌 (*Microbacterium paraoxydans*) 和栖稻假单胞菌 (*Pseudomonas oryzihabitans*)。此外, 还发现了“属地特异性菌株”——昆明假单胞菌 (*Pseudomonas kunmingensis*), 见图 4C。

D 组消毒后即刻未培养出任何菌种, 显示出最好的抑菌性, 并且在前四天显示出良好的消毒持久性。然而, 从第 5 天开始, 菌落的数量和种类开始波动性增长, 并在第 7 天达到高峰。第

7 天, 泡囊短波单胞菌、阿尔及利亚微杆菌、地下新鞘氨醇菌 (*Novosphingobium subterraneum*) 和多药抗类芽胞杆菌 (*Paenibacillus antibioticophila*) 取代了基线的菌种而成为新的优势菌种, 见图 4D。

2.5 生物膜结构

扫描电镜显示, A 组水路内壁生物膜紧贴管内壁且均匀分布。相比之下, B、C 和 D 组消毒后出现表面裂纹, 表明生物膜有破碎趋势, 见图 5A ~ 5D。分析表明, 消毒后第 7 天, B 组 ($P < 0.01$) 和 D 组 ($P < 0.05$) 的生物膜厚度较 A 组更薄, 见图 5F, 而与 C 组相比差异不具有统计学意义 ($P > 0.05$)。最后, 对一段新的水路管壁进行电镜扫描而作为空白对照, 显示管壁内无生物膜附着, 见图 5E1 ~ E2。

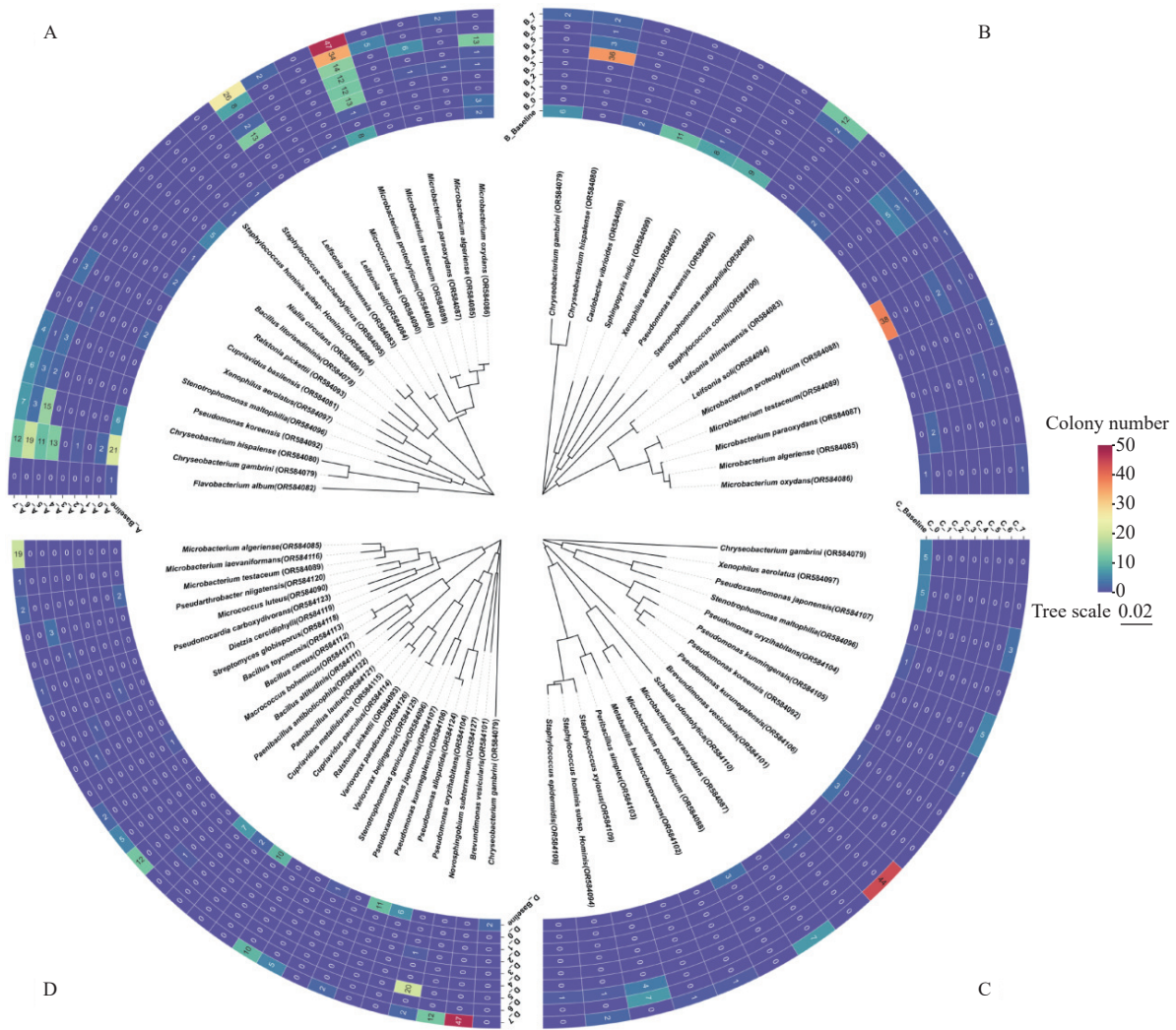


图4 菌落计数和种类的系统发育树聚类

Fig. 4 Phylogenetic tree clustering of colony counts and species

注: Group_Baseline 代表基线; Group_0 代表消毒后即刻; Group_1~7 代表相应分组消毒后的第1~7天; A: 蒸馏水组; B: 3% 过氧化氢组; C: 500 mg/L 含氯消毒剂组; D: 5% 聚维酮碘组。

3 讨论

3.1 研究创新性

本研究不局限于国内外水质测定行业标准^[11, 15]所建议的培养基, 而经过预实验筛选出最适合的培养条件为血琼脂培养基和 37 °C 培养 72 h, 所培养菌落数量和多样性较传统 R2A 等水质测定培养基均更加丰富, 这为牙科水质评价和研究提供了新的解决方案; 此外, 本研究还首次将 5% 聚维酮碘溶液用于超声洁牙机水路临床研究, 为临床实践提供了科学依据。

3.2 不同消毒剂的消毒效能评价

本研究采用蒸馏水作为对照组, 仅通过物理冲洗进行“消毒”, 而 B、C 和 D 组的消毒方案为化学消毒。经过消毒, 细菌总数均显著降至

100 CFU/mL 以下, 见图 2。有研究表明仅对牙科水路系统进行物理冲洗也可以降低细菌计数, 但是难以减少某些浮游微生物和军团菌属的数量^[16-17]。

过氧化氢对革兰阳性和阴性菌、细菌孢子、病毒和酵母菌均具有抗菌功效, Urban 等^[18]报道, 低于 3% 浓度的过氧化氢杀菌作用较弱。因此本研究采用 3% H₂O₂ 溶液消毒。过氧化氢具有广谱杀菌能力, 常用于医院环境净化和牙科根管消毒^[19]。

含氯消毒剂的主要成分为不同浓度的次氯酸钠(NaOCl), 在次氯酸钠溶液中, 氯以氯气(Cl₂)、次氯酸(HOCl)和次氯酸根离子(OCl⁻)的形式存在, HOCl 可透过细菌胞壁而影响 ATP 酶等蛋白形成, 导致 DNA 合成受损^[20]。由于次氯酸钠天然存在于人类中性粒细胞、单核细胞和巨噬细胞中, 不易引起过敏反应^[21]。NaOCl 作为根管冲洗剂是唯

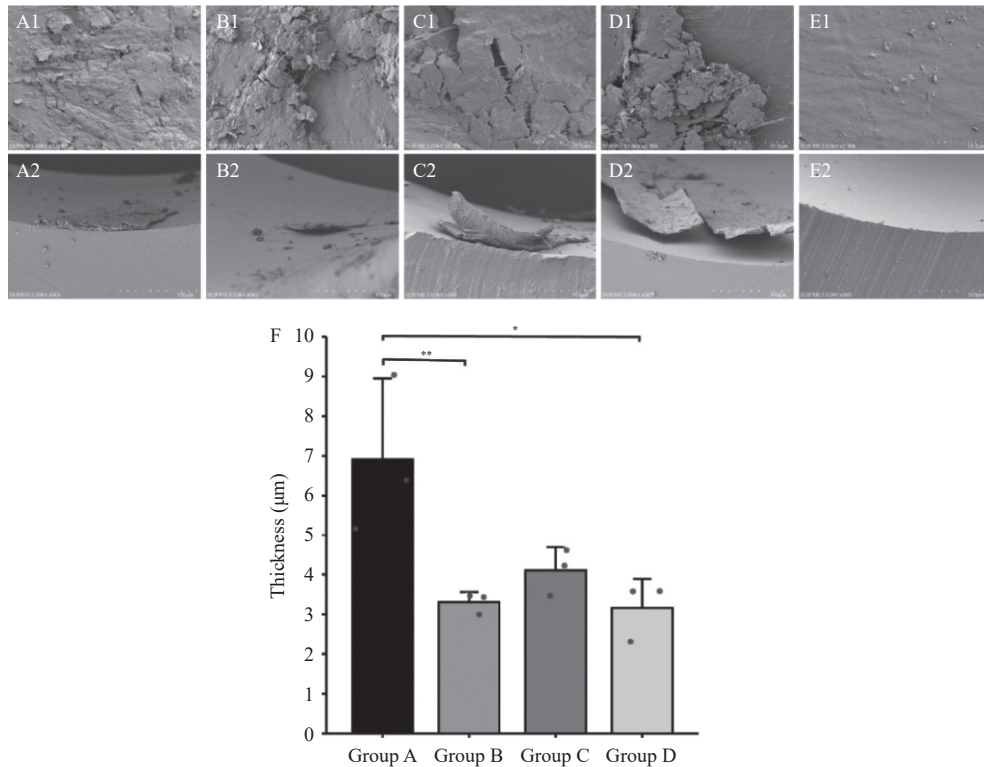


图 5 超声洁牙机水路内壁生物膜扫描电镜

Fig. 5 SEM image of biofilm on the inner wall of the water piping of the ultrasonic scaler.

A: 蒸馏水组; B: 3% 过氧化氢组; C: 500 mg/L 含氯消毒剂组; D: 5% 聚维酮碘组; E: 空白对照(对全新的管内壁进行扫描)。A1-E1 为生物膜表面(比例尺 20 μm), A2-E2 为生物膜横截面(比例尺 100 μm)。* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

一能溶解根管有机物、牙髓残留物以及牙本质胶原的冲洗液,可以有效抑制生物膜内毒素的形成^[22-23]。郭婉晴等^[24]研究表明浓度 500 mg/L 以上含氯消毒液对 DUWLs 有良好的消毒效果。本研究采用 500 mg/L 含氯消毒液对 C 组进行消毒,基线和消毒后即刻菌落总数差异显著($P < 0.05$),且菌落浓度小于 100 CFU/mL,见图 2,达到了消毒目的。

聚维酮碘是临床上最常用的消毒防腐剂,主要成分是聚乙烯吡咯烷酮和碘,具有抗菌和抗病毒作用。研究表明聚维酮碘 15 秒内即可杀灭放线放线杆菌、牙龈卟啉单胞菌和其他牙周病原体,且不会引起细菌耐药性,ADA 建议用聚维酮碘进行牙科术前消毒以降低菌血症的风险^[21, 25, 26]。此外 Fidler 等^[27]报道,与水相比,使用聚维酮碘时,洁牙机气溶胶中的细菌含量降低了 2~7 倍。本研究 D 组采用 5% 浓度的聚维酮碘溶液进行消毒,消毒后即刻菌落浓度降到 100 CFU/ml 以下,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见图 2,表明聚维酮碘溶液具有良好的消毒效果,与文献报道一致。

设置安全的消毒间隔具有重要的临床意义。对 4 个组消毒后 8 个取样时间点(Day0-Day7)的菌落总数进行重复测量的秩和检验发现, B 组的

菌落从消毒后第 4 天开始明显增加,且超过了 100 CFU/mL,见图 3B,说明使用 3% H_2O_2 作为消毒剂需要每 3 天消毒 1 次; D 组从第 5 天开始,CFU/mL 显著增加并超过 100 CFU/mL,见图 3D,说明使用 5% 聚维酮碘作为消毒剂可以每 4 天消毒 1 次。消毒持久性最好的是 500 mg/L 含氯消毒剂,见图 3C,可以每 6 天消毒 1 次。

3.3 牙周超声洁牙机水路菌群分布

本研究中,分离频率最高的菌属是金黄杆菌属、微杆菌属、假单胞菌属和葡萄球菌属(*Staphylococcus*),见图 4,它们常存在于土壤、水和其他环境中。葡萄球菌属,包括人葡萄球菌(*Staphylococcus hominis* subsp.)和木糖葡萄球菌(*Staphylococcus xylosus*),是存在于口腔的兼性厌氧菌,可能与治疗过程中唾液或血液中的微生物通过回吸作用进入水路有关。基线物种分析表明,超声水路中的微生物物种丰富,并存在多种病原微生物,如皮氏罗尔斯通氏菌和嗜异生质菌,它们与医疗器械中的溶液污染有关,并可能导致呼吸道感染^[28]。Sun 等^[29]报道,皮氏罗尔斯通氏菌与糖尿病性牙周炎和血糖控制显著相关。嗜异生质菌常在医院水样中检测到,并显示出潜在的多重耐药性^[30]。

消毒后 7 d 内,不同消毒方案对应微生物组

成存在显著差异。对照组在消毒前后的优势菌种不变, 见图4A。在B组中, 3% H₂O₂ 消毒后病原微生物的数量显著减少, 然而从第6天开始, 嗜麦芽窄食单胞菌成为优势菌种, 见图4B。这可能是由于嗜麦芽窄食单胞菌通过AhpCF酶和KatA2酶对过氧化物产生抗性^[31]。此外, 嗜麦芽窄食单胞菌还经常在医院、航天飞机等极端人工环境中定植, 并表现出多重耐药菌表型^[32]。

C组菌落总数从消毒后第五天开始增加, 见图4C, 主要菌种为葡萄球菌。其中表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)和木糖葡萄球菌被列为院内感染有关的耐抗菌素病原体^[33-34]。第7天, 泡囊短波单胞菌成为C组和D组的优势菌, 见图4C、D。泡囊短波单胞菌是一种机会致病菌, 通常从临床样本中分离出来^[35], 与菌血症等疾病有关^[36]。

3.4 超声洁牙机水路内壁生物膜特征

生物膜是附着在生物或非生物表面的微生物群落, 相比于浮游微生物, 生物膜由基质包裹, 具有稳定的结构, 对抗生素具有耐药性和耐受性, 对消毒剂也具有抵抗作用^[37-38]。在几分钟到几小时内, 清洁物体表面即可形成生物膜, 生物膜成熟后厚度可增长50 μm^[39]。由于牙科水路系统由不同长度的塑料管道连接, 其内部容易形成生物膜, 已有大量研究表明牙科治疗椅水路系统(dental unit waterlines, DUWLs)内存在菌斑生物膜^[40]。超声洁牙机水路独立于DUWLs且研究较少, 本研究采用电镜扫描超声水路内壁, 显示超声洁牙机水路内壁存在生物膜且紧贴管内壁, 消毒可致生物膜剥离和破碎, 见图5。此外, 消毒后7 d, 3% H₂O₂ 和5% 聚维酮碘溶液能显著降低生物膜厚度, 证实了化学消毒剂在降解生物膜结构方面的有效性。

3.5 局限性和优势

本研究存在一些局限性。首先是样本量较少, 主要是由于超声洁牙机来自单一中心的牙周病科, 数量有限。其次, 本研究没有将差异微生物与疾病类型等临床变量相关联。有研究指出, 不同的牙科专业会影响牙科水路中的生物膜微生物群^[41]。最后, 本研究采用平板计数法统计消毒前后菌落微生物的改变, 优势在于能获得可培养菌株用于后续体外和动物实验, 但是存在遗漏不可培养菌种的缺点。

[参考文献]

- [1] Cui Y, Tian G, Li R, et al. Epidemiological and sociodemographic transitions of severe periodontitis incidence, prevalence, and disability-adjusted life years for 21 world regions and globally from 1990 to 2019: An age-period-cohort analysis[J]. *Journal of Periodontology*, 2023, 94(2): 193-203.
- [2] Sanz M, Herrera D, Kebschull M, et al. Treatment of stage I-III periodontitis-The EFP S3 level clinical practice guideline [J]. *Journal of Clinical Periodontology*, 2020, 47 Suppl(22): 4-60.
- [3] Herrera D, Sanz M, Kebschull M, et al. Treatment of stage IV periodontitis: The EFP S3 level clinical practice guideline[J]. *Journal of Clinical Periodontology*, 2022, 49(Suppl 24): 4-71.
- [4] 孟焕新. 牙周病学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2020: 36.
- [5] Yu Y, Mahmud M, Vyas N, et al. Cavitation in a periodontal pocket by an ultrasonic dental scaler: A numerical investigation[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2022, 90(1): 1-9.
- [6] Dang Y, Zhang Q, Wang J, et al. Assessment of microbiota diversity in dental unit waterline contamination[J]. *Peer J*, 2022, 6(10): 1-16
- [7] Dahlen G. Biofilms in dental unit water lines[J]. *Monographs in Oral Science*, 2021, 29(1): 12-18.
- [8] Kumbargere Nagraj S, Eachempati P, Paisi M, et al. Interventions to reduce contaminated aerosols produced during dental procedures for preventing infectious diseases[J]. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2020, 10(12): 1-88.
- [9] Marino F, Mazzotta M, Pascale M R, et al. First water safety plan approach applied to a Dental Clinic complex: identification of new risk factors associated with Legionella and *P. aeruginosa* contamination, using a novel sampling, maintenance and management program[J]. *Journal of Oral Microbiology*, 2023, 15(1): 1-14.
- [10] Bayani M, Raisolvaezin K, Almasi-Hashiani A, et al. Bacterial biofilm prevalence in dental unit waterlines: A systematic review and meta-analysis[J]. *BMC Oral Health*, 2023, 23(1): 158-172.
- [11] 国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. GB 5749-2022. 生活饮用水卫生标准 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2022.
- [12] Wirthlin M R, Marshall G J. Evaluation of ultrasonic scaling unit waterline contamination after use of chlorine dioxide mouthrinse lavage[J]. *Journal of Periodontology*, 2001, 72(3): 401-410.
- [13] 侯雅蓉, 倪佳, 周俏怡, 等. 2种消毒剂对牙周超声洁牙机独立水路消毒效果的比较 [J]. *口腔疾病防治*, 2023, 31(12): 855-862.
- [14] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理局. GB4789.2-2016. 食品安全国家标准食品微生物学

- 检验菌落总数测定 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [15] Standard Methods Committee of the American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Environment Federation. 9215. Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water. 23rd ed: 9215 Heterotrophic Plate Count[M]. Washington, DC: American Public Health Association, 2017: 2-8.
- [16] Rice E W, Rich W K, Johnson C H, et al. The role of flushing dental water lines for the removal of microbial contaminants [J]. Public Health Reports (Washington, DC: 1974), 2006, 121(3): 270-274.
- [17] Montebugnoli L, Chersoni S, Prati C, et al. A between-patient disinfection method to control water line contamination and biofilm inside dental units[J]. *The Journal of Hospital Infection*, 2004, 56(4): 297-304.
- [18] Urban M V, Rath T, Radtke C. Hydrogen peroxide (H₂O₂): A review of its use in surgery [J]. *Wiener Medizinische Wochenschrift* (1946), 2019, 169(9-10): 222-225.
- [19] Scarano A, Inchingolo F, Lorusso F, et al. Environmental disinfection of a dental clinic during the covid-19 pandemic: A narrative insight[J]. *BioMed research international*, 2020, 9(4): 1-15.
- [20] da Cruz Nizer W S, Inkovskiy V, Overhage J. Surviving reactive chlorine stress: Responses of gram-negative bacteria to hypochlorous acid[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(8): 1-27.
- [21] Slots J. Low-cost periodontal therapy[J]. *Periodontology* 2000, 2012, 60(1): 110-137.
- [22] Dioguardi M, Gioia G D, Illuzzi G, et al. Endodontic irrigants: Different methods to improve efficacy and related problems[J]. *European Journal of Dentistry*, 2018, 12(3): 459-466.
- [23] Haapasalo M, Shen Y, Wang Z, et al. Irrigation in endodontics[J]. *Br Dent J*, 2014, 216(6): 299-303.
- [24] 郭婉晴, 王卫. 不同浓度含氯消毒液对口腔综合治疗台水路消毒效果研究 [J]. *全科口腔医学电子杂志*, 2016, 3(9): 100-101.
- [25] Hoang T, Jorgensen M G, Keim R G, et al. Povidone-iodine as a periodontal pocket disinfectant[J]. *Journal of Periodontal Research*, 2003, 38(3): 311-317.
- [26] Eggers M. Infectious disease management and control with povidone iodine[J]. *Infectious Diseases and Therapy*, 2019, 8(4): 581-593.
- [27] Fidler A, Steyer A, Manevski D, et al. Virus transmission by ultrasonic scaler and its prevention by antiviral agent: An in vitro study[J]. *Journal of Periodontology*, 2022, 93(7): 116-124.
- [28] Baker M A, Rhee C, Tucker R, et al. *Ralstonia pickettii* and *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections associated with contaminated extracorporeal membrane oxygenation water heater devices[J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2022, 75(10): 1838-1840.
- [29] Sun X, Li M, Xia L, et al. Alteration of salivary microbiome in periodontitis with or without type-2 diabetes mellitus and metformin treatment[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 1-14.
- [30] Inkster T, Weinbren M. *Xenophilus aerolatus*: What's in a name?[J]. *The Journal of Hospital Infection*, 2023, 139(9): 238-239.
- [31] Li L H, Shih Y L, Huang J Y, et al. Protection from hydrogen peroxide stress relies mainly on AhpCF and KatA2 in *Stenotrophomonas maltophilia*[J]. *Journal of Biomedical Science*, 2020, 27(1): 37.
- [32] An S Q, Berg G. *Stenotrophomonas maltophilia*[J]. *Trends in Microbiology*, 2018, 26(7): 637-638.
- [33] Olwal C O, Ang'ienda P O, Onyango D M, et al. Susceptibility patterns and the role of extracellular DNA in *Staphylococcus epidermidis* biofilm resistance to physicochemical stress exposure[J]. *BMC Microbiology*, 2018, 18(1): 40.
- [34] Koksall F, Yasar H, Samasti M. Antibiotic resistance patterns of coagulase-negative staphylococcus strains isolated from blood cultures of septicemic patients in Turkey[J]. *Microbiological Research*, 2009, 164(4): 404-410.
- [35] Ryan M P, Pembroke J T. *Brevundimonas* spp: Emerging global opportunistic pathogens[J]. *Virulence*, 2018, 9(1): 480-493.
- [36] Lee M R, Huang Y T, Liao C H, et al. Bacteremia caused by *Brevundimonas* species at a tertiary care hospital in Taiwan, 2000-2010[J]. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2011, 30(10): 1185-1191.
- [37] Yan J, Bassler B L. Surviving as a community: Antibiotic tolerance and persistence in bacterial biofilms[J]. *Cell Host & Microbe*, 2019, 26(1): 15-21.
- [38] Hall C W, Mah T F. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2017, 41(3): 276-301.
- [39] Høiby N, Bjarnsholt T, Givskov M, et al. Antibiotic resistance of bacterial biofilms[J]. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2010, 35(4): 322-332.
- [40] Spagnolo A M, Sartini M, Cristina M L. Microbial contamination of dental unit waterlines and potential risk of infection: A narrative review[J]. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 2020, 9(8): 1-16
- [41] Fan C, Gu H, Liu L, et al. Distinct microbial community of accumulated biofilm in dental unit waterlines of different specialties[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2021, 11(6): 1-14.