

УДК 615.451.13:615.28

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ЛЕЧЕБНО-КОСМЕТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В СТОМАТОЛОГИИ

Бойко Н. Н.¹, Зайцев А. И.¹, Осолодченко Т. П.²,
Мельник А. Л.², Долгая И. Н.²

¹ Национальный фармацевтический университет,
г. Харьков, Украина;

² «ГУ Институт микробиологии и иммунологии
им. И. И. Мечникова НАМН Украины»,
г. Харьков, Украина

В статье представлен материал по определению и сравнению интегральных показателей противомикробной активности 11 лечебно-профилактических и лечебно-косметических средств, применяемых в стоматологии в виде ополаскивателей и зубных паст, с аналогичными показателями извлечений из растительного сырья. Противомикробную активность определяли методом диффузии в агар в модификации «колодцев» на следующих тест-штаммах микроорганизмов: *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. vulgaris* ATCC 4636, *B. subtilis* ATCC 6633, *C. albicans* ATCC 885/653.

Ключевые слова: противомикробная активность, лечебно-профилактические средства, стоматология.

Согласно статистике, частота таких заболеваний как кариес, гингивит и пародонтит среди детей и взрослых, как Украины, так и в мире, в целом, возрастает [1]. На состояние десен и зубов влияет много «объективных» - независимых от поведения человека факторов, как внутренних (генетическая предрасположенность, иммунологический статус, психофизиологические перегрузки), так и внешних факторов (физических, химических, биологических), а также «субъективных» - зависимых от человека (режим питания, качества употребляемой пищи, образа жизни, соблюдения гигиены и т. д.). Важным фактором в развитии заболеваний мягких тканей пародонта и твердых тканей зуба, являются микроорганизмы, которые могут вызывать воспалительный процесс в пародонте и приводить к различным стоматологическим заболеваниям [2, 3]. Среди множества препаратов, применяемых для профилактики и лечения слизистой оболочки полости рта, отдельно следует выделить антимикробные средства, которые задерживают рост патогенов в очаге поражения и не дают болезни прогрессировать. Значительную часть среди антимикробных препаратов имеют средства на основе синтетических веществ (хлоргексидин диглюконат, цетилпиридиния хлорид, метронидазол, антибиотики, йод и т. д.) [4, 5]. Препараты растительного происхождения несколько уступают в ассортименте и представлены в основном такими лекарственными формами как: лекарственное

растительное сырье для приготовления настоев и отваров, настойки, спреи, таблетки для рассасывания, жидкие экстракты, пастилками, растворами для ротовой полости и гелями оральными [6].

В результате изучения антимикробных свойств препаратов применяемых в стоматологии для лечения заболеваний пародонта показано, что их потенциал очень низкий, а создание высокоэффективных противомикробных средств для стоматологии является актуальной задачей и на данный момент [7].

Для лечебно-профилактических и лечебно-косметических целей в стоматологии применяют отдельные группы средств на основе синтетических и природных веществ, которые дополняют основную терапию в виде ополаскивателей, эликсиров и зубных паст.

В научной литературе очень мало данных относительно антимикробных свойств этой группы средств, так например, в работе [8], проведена сравнительная характеристика антимикробной активности жидких средств гигиены полости рта, содержащих синтетические противомикробные средства.

Цель данной работы – изучить противомикробную активность одиннадцати промышленных лечебно-косметических средств на основе компонентов растительного происхождения, применяемых в стоматологии в виде эликсиров, ополаскивателей и зубных паст и сравнить их интегральные показатели с аналогичными показателями спиртоводных извлечений из растительного сырья.

Материалы и методы

Противомикробную активность препаратов определяли диффузионным методом «колодцев» с определением диаметра зон задержки роста микроорганизмов. Для оценки противомикробной активности препаратов использовали следующие тест-штаммы микроорганизмов: *S. Aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. vulgaris* ATCC 4636, *B. subtilis* ATCC 6633, *C. albicans* ATCC 885/653.

Микробная нагрузка составляла по шкале McFarland 0.5 Ед. В работу брали 18-24-х часовую культуру микроорганизмов. При проведении исследований использовали среду Мюллера-Хинтона, МПА и агар Сабуро.

При оценке противомикробной активности изучаемых препаратов, применяли следующие критерии: отсутствие зон задержки роста микроорганизмов вокруг лунки, а также зоны задержки до 10 мм указывает на то, что микроорганизмы не чувствительны к препарату; зоны задержки роста 10-15 мм, указывают на то, что микроорганизмы малочувствительны к препарату; зоны задержки роста микроорганизмов диаметром 15-25 мм, указывают на то, что микроорганизмы чувствительны к препарату; зоны задержки роста микроорганизмов, диаметр которых превышает 25

мм, указывают на то, что микроорганизмы высокочувствительны к препарату [9].

Статистическую обработку результатов проводили согласно ГФУ при доверительной вероятности $P=0.95$ и числе повторов $n=6$ [10].

Для сравнения противомикробной активности препаратов между собой и другими группами препаратов, авторы использовали векторную теорию, которая позволяет представить противомикробную активность препарата по единичным тест-штаммам микроорганизмов как единый вектор в n -мерном пространстве. При этом вектор характеризуется следующими показателями: интегральный показатель противомикробной активности (описывает силу активности препарата), квадрат коэффициента корреляции (описывает спектр действия препарата на исследуемые тест-штаммы микроорганизмов).

Расчет интегральных показателей противомикробной активности препарата проводили по формулам (1), (2), (3) информационного письма МЗ Украины № 65-2015 «Метод интегральной оценки противомикробной активности лекарственных препаратов» [11].

Исследования проводили в течение 2011-2015 гг. Для исследований использовали следующие лечебно-косметические препараты, содержащие по заявлению производителей растительные экстракты и имеющие помимо дезодорирующего, противовоспалительного, ранозаживляющего и противомикробные свойства:

1. Эликсир для ополаскивания полости рта. Комплексное действие. С алоэ вера, мятой перечной, ягодами можжевельника. Производитель: ЧП «Фармацевтическая фабрика «НПО «Эльфа», Украина, Житомирская обл., г. Коростень, серия № 04420, срок хранения до 15.03.2016;
2. Ополіскувач порожнини роту «Доктор Біокон» - эвкалипт та ментол. Виробник: ТОВ «Медичне МНВО «Біокон», Україна, м. Донецьк, серія № 0320161266, строк придатності до 03/2014;

3. Ополіскувач для порожнини роту Colgate Plax лікувальні трави для ясен. Виробник: Colgate-Palmolive Limited, Тайланд, серія № 4025 TH 1123, строк придатності до 01/2017;

4. Ополаскиватель на отваре трав «Лесной бальзам» с экстрактами плодов шиповника и календулы - изготовитель ООО Концерн «Калина», Россия, г. Екатеринбург, №0016, годен до 07.03.16;

5. Ополаскиватель для полости рта «Listerine Expert» белизна зубов: производитель «Johnson&Johnson S.p.A.», Rome, Italy, №1334P, до 05/2014;

6. Ополаскиватель для полости рта «Colgate. Total 12 Pro» изготовитель: Colgate-Palmolive Co., Ltd., Guangzhou, China, № 4196CN1226; годен до 07/16;

7. Зубная паста «Леной бальзам» на отваре целебных трав, антивозрастной уход с экстрактом прополиса и зверобоя: изготовитель ООО Концерн «Калина», Россия, г. Екатеринбург, годен до 19.02.18;

8. Зубная паста «Parodontax»: изготовитель Colgate-Palmolive Co., Ltd., Guangzhou, China, № 4350CN121F; годен до 12/2017;

9. Зубная паста «Splat»: изготовитель Colgate-Palmolive Co., Ltd., Guangzhou, China, № 4337CN123F; годен до 12/2017;

10. Зубна паста «Lacalut active Herbal» з екстрактом мирри, ефірної олії з фенхелю, анісу зірчастого, евкаліпту, м'яти перцевої, чебрецю, ромашки, шавлії: виробник Др. Тайсс Натурварен ГмбХ, Хомбург, Німеччина, №1008053, до 05/2015;

11. Зубная паста «Blend-a-med. Pro-Expert» все в одном, свежая мята: изготовитель Procter&Gamble Manufacturing GmbH, Gross-Gerau, №4156B6, до 05/2016.

Результаты и их обсуждение

Результаты исследований противомикробной активности лечебно-профилактических ополаскивателей полости рта диффузионным методом «коллоцев» представлены в табл. 1.

Таблица 1 - Противомикробная активность лечебно-профилактических ополаскивателей полости рта

| Название препарата | Диаметры зон задержки роста в мм; Число повторов, n=6, P=0.95 | | | | | |
|--|---|---------------------------------|--|------------------------------------|---------------------------------------|----------|
| | <i>S. aureus</i> ATCC 25923 | <i>E. coli</i> ATCC 25922 | <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 <i>P. vulgaris</i> ATCC 4636 | <i>B. subtilis</i> ATCC 6633 | <i>C. albicans</i> ATCC 885/653 | |
| 1. Эликсир для ополаскивания полости рта. Комплексное действие | 24.3±0.6 | 22.2±0.5 | 20.7±0.3 | 22.1±0.8 | 25.7±0.5 | 15.7±0.4 |
| 2. Ополіскувач порожнини роту «Доктор Біокон» - эвкалипт та ментол | 24.1±0.4 21.7±0.7 | 22.3±0.5 | 21.4±0.6 | 25.7±0.4 | 15.3±0.8 | |
| 3. Ополіскувач Colgate Plax | 24.3±0.5 | 22.1±0.6 | 20.3±0.4 | 21.4±0.8 | 26.3±0.7 | 15.7±0.5 |
| 4. Ополаскиватель на отваре трав | 16.6±0.5 | 15.5±0.8 | 12.6±0.6 | 13.1±0.9 | 19.4±0.7 | 18.0±0.8 |

| | | | | | | |
|---|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| «Лесной бальзам» шиповник и календула | | | | | | |
| 5. Ополаскиватель для полости рта «Listerine Expert» | 17.9±0.6 | 15.7±0.8 | рост | рост | 19.3±0.8 | 17.6±0.9 |
| 6. Ополаскиватель для полости рта «Colgate. Total 12 Pro» | 16.8±0.8 | 15.0±0.9 | 14.3±0.7 | 14.1±0.8 | 18.9±0.9 | 17.8±0.6 |

На основании данных противомикробной активности лечебно-профилактических ополаскивателей для рта (табл.1) и векторной теории были рассчитаны интегральные показатели противомикробной активности и квадрат коэффициента корреляции представлено в табл.2.

Таблица 2 – Интегральные показатели противомикробной активности лечебно-профилактических ополаскивателей для рта вычисленные с помощью векторной теории

| Название препарата | Интегральный показатель противомикробной активности, A | Квадрат коэффициента корреляции, r^2 |
|--|--|--|
| 1. Эликсир для ополаскивания полости рта. Комплексное действие | 2.16±0.02 | 0.98 |
| 2. Ополіскувач порожнини роту «Доктор Біокон» евкалипт та ментол | 2.15±0.02 | 0.98 |
| 3. Ополіскувач Colgate Plax | 2.15±0.02 | 0.98 |
| 4. Ополаскиватель на отваре трав «Лесной бальзам» шиповник и календула | 1.53±0.03 | 0.98 |
| 5. Ополаскиватель для полости рта «Listerine Expert» | 1.41±0.03 | 0.66 |
| 6. Ополаскиватель для полости рта «Colgate. Total 12 Pro» | 1.59±0.03 | 0.99 |
| Среднее значение | 1.83 | 0.93 |

Как видно из результатов табл.2 интегральные показатели противомикробной активности лечебно-профилактических ополаскивателей для полости рта находятся на среднем уровне $A=1.83$ и $r^2=0.93$, что можно использовать при создании новых средств гигиены полости рта.

Рассчитанные интегральные показатели противомикробной активности исследуемых средств несколько превышают групповые показатели спиртоводных извлечений из растительного сырья содержащего гидрохинон, нафтохинон, антрахинон

производные $A=1.77$, $r^2=0.87$; алкалоиды $A=1.61$, $r^2=0.79$; и дубильные вещества $A=1.56$, $r^2=0.79$, опубликованные ранее [12-14]. Однако, следует заметить, что эти извлечения готовились при соотношении сырья и экстрагента 1:7 (масс.:об.) и при меньшем соотношении могут иметь большую активность сравнимую с активностью изученных ополаскивателей.

Результаты исследования противомикробной активности лечебно-косметических зубных паст диффузионным методом «колодцев» представлены в табл.3.

Таблица 3 - Противомикробная активность лечебно-косметических зубных паст

| Название препарата | Диаметры зон задержки роста в мм; Число повторов, n=6, P=0.95 | | | | | |
|-------------------------|---|---------------------------|---------------------------------|------------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| | <i>S. aureus</i> ATCC 25923 | <i>E. coli</i> ATCC 25922 | <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 | <i>P. vulgaris</i> ATCC 4636 | <i>B. subtilis</i> ATCC 6633 | <i>C. albicans</i> ATCC 885/653 |
| 1. Зубная паста «Леной» | 20.3±0.6 | 16.4±0.8 | 14.2±0.7 | 14.0±0.9 | 22.9±0.5 | 16.5±0.7 |

| | | | | | | |
|--|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| бальзам» прополис, зверобой» | | | | | | |
| 2. Зубная паста «Parodontax» | 23.8±0.9 | 20.3±0.8 | 20.9±0.8 | 21.0±0.7 | 24.7±0.6 | 20.6±0.8 |
| 3. Зубная паста «Splat» | 22.2±0.5 | 20.3±0.8 | 20.1±0.6 | 19.4±0.9 | 24.5±0.7 | 17.0±0.8 |
| 4. Зубная паста «Lacalut activ» | 20.2±0.8 | 19.4±0.5 | 16.2±0.7 | 15.8±0.6 | 23.9±0.9 | 17.7±0.8 |
| 5. Зубна паста «Blend-a-med. Pro-expert» | 22.7±0.7 | 20.9±0.8 | 19.7±0.6 | 19.2±0.5 | 24.3±0.7 | 13.2±0.9 |

На основании данных противомикробной активности лечебно- косметических зубных паст (табл.3) и векторной теории были рассчитаны интегральные показатели противомикробной активности и квадрат коэффициента корреляции (табл.4).

Таблица 4 – Интегральные показатели противомикробной активности лечебно-косметических зубных паст вычисленные с помощью векторной теории

| Название препарата | Интегральный показатель противомикробной активности, A | Квадрат коэффициента корреляции, r^2 |
|--|--|--|
| 1.Зубная паста «Леной бальзам» прополис, зверобой» | 1.73±0.03 | 0.97 |
| 2. Зубная паста «Parodontax» | 2.15±0.03 | 0.99 |
| 3. Зубная паста «Splat» | 2.03±0.03 | 0.99 |
| 4. Зубная паста «Lacalut activ» | 1.87±0.03 | 0.98 |
| 5. Зубна паста «Blend-a-med. Pro-expert» | 1.99±0.03 | 0.97 |
| Среднее значение | 1.98 | 0.98 |

Как видно из результатов табл.4 интегральные показатели противомикробной активности лечебно-косметических зубных паст находятся на среднем уровне $A=1.98$ и $r^2=0.98$, что можно использовать для ориентировки при создании новых средств гигиены рта. Это достаточно высокие интегральные показатели противомикробной активности, но с ними могут конкурировать отдельные извлечения из определенных видов растительного сырья содержащего гидрохинон, нафтохинон, антрахинон производные, алкалоиды и дубильные вещества из приведенных выше источников.

Таким образом, извлечения из растительного сырья могут быть основой для создания лечебно-косметических средств с противомикробной активностью и быть достойной альтернативой импортным средствам для гигиены полости рта.

Выводы

Определена противомикробная активность промышленных лечебно-косметических средств

содержащих отвары на основе лекарственных растений, применяемых в стоматологии в виде эликсиров, ополаскивателей и зубных паст.

Рассчитаны средние значения интегрального показателя противомикробной активности и квадрат коэффициента корреляции для ополаскивателей - $A=1.83$, $r^2=0.93$ и зубных паст - $A=1.98$, $r^2=0.98$.

В результате сравнения интегральных показателей лечебно-косметических средств с аналогичными интегральными показателями спиртоводными извлечений из растительного сырья, содержащего алкалоиды, дубильные вещества, гидрохиноны, нафтохиноны и антрахиноны, показана перспективность дальнейшей разработки отечественных лечебно-профилактических и косметических средств с противомикробной активностью на основе спиртоводных извлечений из растительного сырья.

References

1. Müller J.P. Periodontology [Text]. Sci. Ed. ed. to Russian. lang. prof. A.M. Politun. Trans. from German. - Lviv: GalDent, 2004. - 256 p.

2. Klitynska O.V. Current opinions of the microflora impact in the development of dental diseases and gastrointestinal lesions [Text] / O.V. Klitynska, Iu.O. Mochalov, N.V. Pupena // *Young Scientist*. – 2014. – №11(14). – C.217-220.
3. Blashkova S.L., Makarov N.A., Giniyatullin I.I. Quality criteria of pathogenetic therapy of chronic generalized periodontitis [Text]: Monograph. - Kazan, 2010. - 136 p.
4. The official website of the Compendium in Ukraine as of 01.02.2015: Access: <http://compendium.com.ua>
5. Paddmanabhan P. Antimicrobials in treatment of periodontal disease – A review [Text] / P. Paddmanabhan // *Journal of Dental and Medical Sciences*. – 2013. – Vol. 4, Issue 5. – P.19-23.
6. Lukashiv O.I. Research of the assortment of medical plant-based products for local use in dentistry and ent practice [Text] / O.I. Lukashiv, L.V. Vronska, I.L. Benzel // *Pharmaceutical review*. – 2013. - № 1. – C.146-151.
7. Boyko N.N. Antimicrobial activity of medicines for the treatment of infection diseases of periodontium [Text] / N.N. Boyko, A.I. Zaytsev, T.P. Osolodchenko, A.L. Melnik, V.V. Nevmerzhitkiy, T.O. Volkov, V.V. Kazmirchuk // *Phitoterapiya Chasopis*. – 2015. - № 2. – P. 22-25.
8. Dontsova D.A. The comparative character of antimicrobial activity of liquid means of hygiene of an oral cavity [Text] / D.A. Dontsova, Ye.M. Rjabokon, T.P. Osolodchenko, L.G. Shteecker // *Medicine Today and Tomorrow*. – 2009. - № 3-4. – P. 154-158.
9. Volyanskiy Yu. L. The study of the specific activity of antimicrobial drugs: a method. recommendations [Text] / Yu. L. Volyanskiy, I. S. Gritsenko, V. P. Shyrokobokov et al. – Kiev : StEntScPhC Ministry of Helthcare of Ukraine, 2004. – 38 p.
10. State Pharmacopoeia of Ukraine [Text] / State Enterprise "Scientific and Expert Pharmacopoeias Centre." – 1st Ed. – H.: RIREH, 2001. - Appendix 1. – 2004. – 520 p.
11. Zaytsev O.I. The method of integral evaluation of antimicrobial activity of drugs [Text] / O.I. Zaytsev, L. V. Yakovleva, M. M. Boyko and others. // *Newsletter of innovations in health care № 65-2015*. Ministry of Health Care of Ukraine; Ukrainian Centre for Scientific Health Information and Patent licensing work (Ukrmedpatentinform). – Kiev, 2015. – 4 p.
12. Boyko N.N. Screening of antimicrobial properties of ethanolic extracts from some kinds of raw materials with quinonderivatives [Text] / N.N. Boyko, A.I. Zaytsev, T.P. Osolodchenko // *Annals of Mechnikov Institute*. – 2014. - №4. – P. 67-72.
13. Boyko N.N. Determination of antimicrobial activity of ethanolic extracts from some kinds of raw materials with tannins [Text] / N.N. Boyko, A.I. Zaytsev, T.P. Osolodchenko // *Annals of Mechnikov Institute*. – 2015. - №1. – P. 49-54.
14. Boyko Nikolay N. Screening of Antimicrobial Activity of Ethanolic Extracts from Raw Materials Containing Alkaloids / Nikolay N. Boyko, Alexander I. Zaytsev, Tatiana P. Osolodchenko [Text] // *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*.- 2015. – Vol.7, Issue 5.- P. 160-166.

UDC 615.451.13:615.28

STUDY OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF MEDICAL-COSMETIC PRODUCTS USED IN DENTISTRY

Boyko, N.N., Zaytsev, A.I., Osolodchenko, T.P., Melnik, A.L., Dovga, I.N.

Introduction. According to statistics, the incidence of caries, gingivitis and periodontal disease in children and adults, both Ukraine and the world in general, is increasing. For medical and medical-cosmetic purposes in dentistry used medications on the basis of synthetic and natural substances that complement the basic therapy in the form of mouthwashes, toothpastes and elixirs. The purpose of this work is to study antimicrobial activity of commercially available medical-cosmetic products (mouthwashes, elixirs, and toothpastes) used for treatment of teeth and gums and comparison of integrated indexes with those of water-ethanol extracts from some plant raw material.

Materials and methods. Microbiological method of studying antimicrobial properties of eleven products, agar well diffusion method has been applied on standard microorganism test strains: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, and *Candida albicans* ATCC 885/653; specific mathematic method for comparison of antimicrobial properties of products, vector theory, has been used. The microbial burden was 10^7 CFU/mL of the medium and was determined in accordance with McFarland standard. 18-24-hour microorganism culture was taken into work. Mueller-Hinton agar and MPA were used for bacteria. Agar Saburo was used for *Candida albicans*. For comparison of the antimicrobial activity preparations between themselves, calculating an average value group of identical preparations and preparation selection of the most active among these authors used vector theory. Vector theory makes it possible to present antimicrobial activity of the medications on the basis of single test strains of microorganisms as a unified vector in n-dimensional space. In this case, the vector is characterized by the following: A - integrated index of antimicrobial activity (describes the "strength" of antimicrobial activity of the medication); r^2 - the square of the correlation coefficient (describes the spectrum of action of the medication on test strains of microorganisms studied), its range of values is from 0 to 1.

Results and discussion. High level of antimicrobial activity has been demonstrated by all medical-cosmetic products studied (mouthwashes, elixirs, and toothpastes). The averages of the complex index of antimicrobial activity for mouthwashes and elixirs are $A=1.83$, $r^2=0.93$ and the ones for toothpastes are $A=1.98$, $r^2=0.98$. It has been shown that some extracts from raw materials containing different kinds of hydroquinones, naphthoquinones, anthraquinones, alkaloids, and tannins have high potential to be used in complex phytochemical

medications for dentistry as their main antimicrobial components.

Keywords: antimicrobial activity, therapeutic and preventive medicines, dentistry.