

Борисенко А.В.,
 Кач О.Б.,
 Волощук О.М.

МІКРОБІОЛОГІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ НАНОЧАСТОЧОК ЗОЛОТА ТА СРІБЛА ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ПЕРІОДОНТИТІВ

Національний медичний університет імені А.А. Богомольця

Резюме. В статті представлені результати вивчення *in vitro* антимікробних властивостей високодисперсних гелів, що містять на своїй поверхні золота і срібло. В якості тест-мікроорганізмів були використані штами *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* та змішана мікрофлора кореневих каналів. Встановлена виражена антибактеріальна активність силікагелів.

Ключові слова: силікагель, що містить золото і срібло, антибактеріальное действие

Підвищення якості ендодонтічного лікування є однією з головних проблем сучасної практичної стоматології [5,8]. Його ефективність, на жаль, залишається досить низькою: якісної медикаментозної обробки вдається досягти не більше 70% добре прохідних корневих каналів [2,4,7]. Недосконалі механічна обробка кореневого каналу і неповна його стерилізація залишаються істотними недоліками, оскільки наявність мікробної колонізації в дентині каналу кореня зуба в майбутньому приводить до виникнення патологічного осередку в періодонті [1]. Необхідно враховувати також швидке звикання умовнопатогенної мікрофлори до традиційних антибактеріальних препаратів. Всіляка мікрофлора кореневого каналу має різну чутливість до антибактеріальних препаратів, а у багатьох випадках є резистентною до них. Враховуючи це, розробка нових антибактеріальних препаратів є актуальним завданням терапевтичної стоматології.

Одним з нових напрямів в розробці медикаментозних препаратів є використання нанотехнологій з використанням наночастинок металів, що наділенні антибактеріальною дією. Серед них найбільшу увагу привертає застосування наночастинок золота і срібла. Унаслідок дуже маленьких розмірів наночастки можуть легко проникати в усі відгалуження кореневого каналу і в дентинні трубочки. Особливістю золота, срібла і інших металів є те, що вони легко утворюють кластери і колоїди [6]. Вони мають велику питому поверхню, що збільшує область контакту срібла з бактеріями або вірусами, значно підвищуючи його бактерицидні властивості. Таким чином, вживан-

ня срібла у вигляді наночастинок дозволяє в сотні раз понизити його концентрацію із збереженням всіх бактерицидних властивостей.

Окрім цього, срібло є потужним імуномодулятором, порівняним із стероїдними гормонами. Залежно від дози, срібло може як стимулювати, так і пригнічувати фагоцитоз. Під впливом срібла підвищується кількість імуноглобулінів класів А, М, G, збільшується відсотковий вміст абсолютної кількості Т-лімфоцитів. Наночастки золото, що мають цілий ряд унікальних характеристик [оптичні властивості, міцність, висока площа поверхні] можуть служити для посилення сигналу при проведенні імуноферментного аналізу за рахунок їх зв'язування з антитілами.[6]

Дані властивості наночастинок срібла і золота можуть бути використані для лікування всіляких патологічних процесів, викликаних мікроорганізмами. Зокрема в стоматології вони можуть застосовуватися для лікування гнійних захворювань щелепно-лицьової області: періодонтиту, абсцесів, флегмон, фурункулів, карбункулів, лімфаденіту та ін.[9].

У даному дослідженні було проведено вивчення антибактеріальних властивостей наночастинок золота і срібла стосовно умовнопатогенної мікрофлори корневих каналів при хронічному періодонтиті.

Матеріали і методи досліджень

В даному дослідженні використані високодисперсні силікагелі, що містять на поверхні нанорозмірні кластери золота і срібла із заданою різною поверхневою концентрацією [50–400 мкг/г силікагеля] і розміром наночастинок благо-

родних металів [таблиця. 1]. Вони прожарювалися при температурі 6000 С при якій з силікагеля вигоряють всі органічні речовини. Силікагель, прожарений при 8000 С незворотно втрачає здатність поглинати вологу [стає гідрофобним], тому виник інтерес зіставити біологічну активність зразків, прожарених при 6000 С, з такими ж зразками, прожареними при 8000 С [таблиця. 1].

Для визначення антимікробної дії досліджуваних зразків [сполуки №№ 1–9] були вибрані різні за таксономічним положенням грампозитивні та грамнегативні бактерії, а також дріжджеподібні гриби роду *Candida albicans* [таблиця. 2]. Це були референтні тестові штами мікроорганізмів, отримані з музею живих культур лабораторії загальної мікробіології інституту Київського НДІ епідеміології і інфекційних хвороб АМН України.

У роботі також була досліджена змішана мікрофлора, виділена з корневих каналів зубів

хворих з хронічним гранулюючим періодонтитом і кістогранулемою.

Для визначення протимікробної дії досліджуваних зразків силікагелей був використаний метод дифузії в агар [метод "колодязів"] [3].

Чашки Петрі встановлювали на строго горизонтальну поверхню і заливали двома шарами твердого живильного середовища. Нижній шар – 10 мл розтопленого "голодного" агару АГВ, верхній шар – живильне середовище для відповідної добової культури тест-штама мікроорганізма [для *E.coli* – м'ясо пептонний агар [МПА], для *S.aureus*, – МПА з додаванням 1,0% глюкози [глюкозний МПА], для *Candida albicans* – середовище Сабуро]. Після охолодження нижнього шару агару на ньому встановлювали на однаковій відстані один від одного і від краю чашки дев'ять сталевих тонкостінних циліндрів [внутрішній діаметр – 6,0+0,1 мм, висота – 10,0+0,1 мм]. Довкола циліндра заливали верхній

Таблиця 1.

Зразки матеріалів, взятих для дослідження

№ Зразка	Концентрація наночастинок металу [мікрограм/г сорбента]			
	Золото [Au]			Срібло [Ag]
	Температура прокалювання			
	600°С	800°С		
1	50 мкг/г			
2	100 мкг/г			
3			тах кількість, яку можна нанести - біля 400мкг/г	
4	400 мкг/г			
5	200 мкг/г			
6		50 мкг/г		
7		100 мкг/г		
8		200 мкг/г		
9		тах кількість, яку можна нанести - біля 400мкг/г		

Таблиця 2.

Мікроорганізми, використані в даному дослідженні

Мікроорганізми	Кількість штамів	Джерело мікроорганізмів
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	1	Музей живих культур Киевского НИИ эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В. Громашевского
<i>E.coli</i> 001 048	1	-//-
<i>Candida albicans</i> ATCC885-653	1	-//-

шар – 13,5 мл розтопленого і охолодженого до 45–48 °С агару, змішаного з посівною дозою тест-мікроорганізму [1,5 мл мікробної суспензії відповідної концентрації] [3]. Після охолодження верхнього шару агару циліндри виймали стерильним пінцетом і в отримані лунки розміщали 25,0–30,0 міліграм досліджуваного препарату. Облік результатів проводили через 24 години шляхом визначення зони затримки зростання мікроорганізмів в мм, включаючи і діаметр лунок.

Результати досліджень

Визначення антимікробної дії досліджуваних зразків силікагелей з наночастками металів до референтних тестових штамів мікроорганізмів показало наступне [таблиця. 3].

Приведені в таблиці 3 дані свідчать про те, що сполуки №№ 1 і 2 не виявляють антибактеріальної активності по відношенню до всіх досліджуваних референтних тестових штамів мікроорганізмів. Сполуки №№ 3 – 9 виявляють виражену активність як до грамнегативної мікрофлори [E.coli], так і до грампозитивної – S.aureus. По відношенню до грибів роду Candida albicans були

активними лишесполуки №№ 3, 4, 5 і 7. Найбільшу антибактеріальну активність до всіх досліджуваних мікроорганізмів, у тому числі і до грибів роду Candida albicans, виявляє сполука № 3 [що містить максимальну кількість наночасток срібла].

Визначення антимікробної дії досліджуваних сполук до змішаної мікрофлори, виділеної з кореневих каналів зубів хворих з хронічним гранулюючим періодонтитом і кістогранулемою показало наступне [таблиця. 4].

Як видно з приведених в таблиці 4 даних, при застосуванні кров'яного МПА для визначення чутливості змішаної мікрофлори кореневих каналів зубів до досліджуваних сполук всі зразки показали виражену антибактеріальну активність. Зони затримки росту корелюють з даними, отриманими при дослідженні референтних штамів бактерій [див. таблиці. 3]. Виявлено, що активність препаратів істотно не змінюється залежно від періоду, коли матеріал було взято для

Таблиця 3.

Антимікробна дія досліджуваних зразків силікагелей з наночастками металів на референтні тестові штами мікроорганізмів

Вид мікроорганізмів	Діаметр зони затримки роста [мм]								
	Досліджуваний матеріал [№]								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
S.aureus 25923	0	0	20	18	16	16	17	16	21
E.coli 001048	0	0	17	18	17	15	16	16	17
C. albicans 885	0	0	32	16	13	0	16	0	0



Фото 1. Антибактеріальна дія досліджуваних матеріалів [зразки №№ 1-9] на референтні тестові штами мікроорганізмів: А - E. coli; Б - Candida; В - S. aureus

Таблиця 4.

Антимікробна дія досліджуваних зразків силікагелей з наночастками металів на змішану мікрофлору корневих каналів

Характер патологічного вогнища змішаної мікрофлори	Діаметр зони затримки росту [мм]								
	Досліджуваний матеріал [№]								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. Хронічний гранулюючий періодонтит [на кров'яному агарі]	0	0	16	16	16	16	16	13	15
2. Кістогранульома	16	15	18	15	14	17	17	15	19
3. Хронічний гранулюючий періодонтит	18	15	20	16	16	14	12	16	18

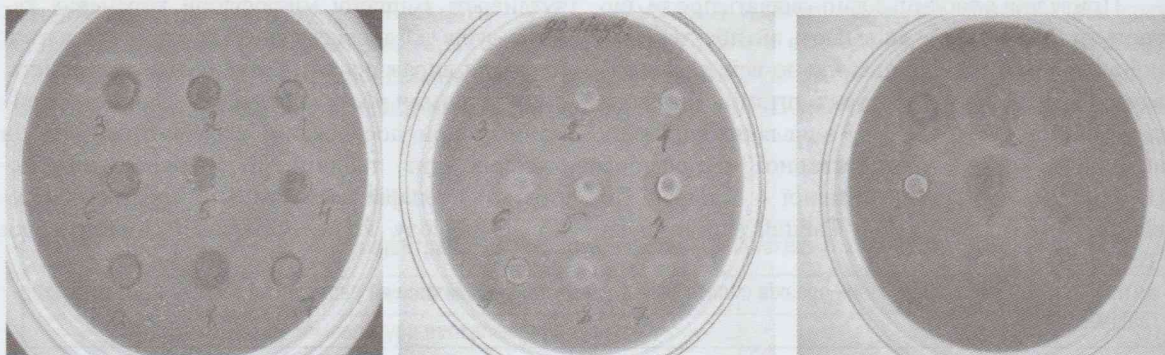


Фото 2. Антибактеріальна дія досліджуваних матеріалів [зразки №№ 1-9] на змішану мікрофлору корневих каналів: 1. Хронічний гранулюючий періодонтит [на кров'яному агарі]; 2. Кістогранульома; 3. Хронічний гранулюючий періодонтит [раніше лікований]

дослідження [до або після ендодонтичного лікування] – достовірної різниці в діаметрах зон затримки зростання мікроорганізмів немає.

Висновки

Отримані результати проведених мікробіологічних досліджень в результаті показали, що практично всі зразки, в тій чи іншій мірі володіють хорошою антимікробною активністю як на референтні тестові штами мікроорганізмів, так і на мікробну флору кореневого каналу при

різних запальних процесах в пері апікальній ділянці.

Найбільш виражена антимікробна дія виявлена у зразка №3 – силікагель з максимальною концентрацією сорбованих наночасток срібла.

Не виявлено достовірної різниці в діаметрах зон затримки зростання мікроорганізмів в зразках з різними розмірами наночасток металів. Це дає підставу для клінічного використання силікагелів із сорбованими наночастками золота різного розміру і концентрації для лікування запальних процесів в періодонті.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА И СЕРЕБРА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПЕРИОДОНТИТОВ

Борисенко А.В., Ткач О.Б., Волощук Е.М.

Национальный медицинский университет имени О.О. Богомольца

Резюме. В статье представлены результаты изучения *in vitro* антибактериальных свойств высокодисперсных силикагелей, содержащих на поверхности наноразмерные кластеры золота и серебра. В качестве тест-микроорганизмов были использованы штаммы *Streptococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* и смешанная микрофлора корневых каналов с хроническими периодонтитами. Установлена выраженная антибактериальная активность силикагелей.

Ключевые слова: силикагель, содержащий золото и серебро, антибактериальное действие

MICROBIOLOGICAL RATIONALE FOR THE USAGE OF NANOPARTICLES OF GOLD AND SILVER FOR THE TREATMENT OF APICAL PERIODONTITIS

Borysenko A., Tkach O., Voloshchuk E.

O.O. Bohomolets National Medical University

Abstract. The paper presents the results of *in vitro* investigation antibacterial properties of highly dispersed silicagels, which contain nano-sized clusters on the surface of gold and silver. The strains of *Streptococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* and a mixed microflora of teeth root canals with chronic apical periodontitis were used as the microorganisms' test. The pronounced antibacterial effect of silicagels was revealed.

Keywords: silicagel, which contains gold and silver, an antibacterial effect

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бір Р., Бауманн М., Ким С. Ендодонтологія. Атлас по стоматології // М.: МЕДПресс-інформ. - 2004. - 368 с.
2. Боровський Е.В., Клінічна ендодонтія // М., 1999, 175 с.
3. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів. Методичні рекомендації // ДФЦ МОЗ України, протокол №9 від 30.10.2003 р.
4. Лукіних Л.М., Шестопалова Л.В., Пульпіт: клініка, діагностика, лікування. 3-е видання // Издательство Нижегородської державної медичної академії. - 2004. - С. 88
5. Максимовський Ю.М., Терапевтична стоматологія: підручник // М.: "Медицина" - 2001. - С. 640
6. Москаленко В.Ф., Лісовий В.М., Чекман І.С., Горчакова Н.О., Звягінцева Т.В., Небесна Т.Ю., Сирова Г.О., Загородній М.І. Наукові основи наномедицини, нанофармакології та нанофармації // Науковий вісник національного медичного університету імені О.О.Богомольця. - 2009. - № 2. - С. 17-31.
7. Ніколішин А.К. Сучасна ендодонтія практичного лікаря // Полтава. - 1998. - С. 155
8. Скрипнікова Т.П., Просандеева Г.Ф., Скрипніков П.Н. Клінічна ендодонтія // Посібник для лікарів - стоматологів - Полтава. - 1999. - С. 41
9. Чекман І.С., Маланчук В.А., Гордейчук М.А. Нанотехнології і наноматеріали: застосування в стоматології і щелепно-лицьовій хірургії // Укр. Мед. Часопис - 2009. - № 6 [74] - XI/XII - С. 95-97