

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ПРЕПАРАТІВ З НАНОЧАСТКАМИ ЗОЛОТА НА УМОВНО-ПАТОГЕННУ МІКРОФЛОРУ КОРЕНЕВОГО КАНАЛУ

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

Національний медичний університет ім. А.А. Богомольця

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

Ключові слова: силікагель, що містить золото та срібло, антибактеріальна дія.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТОВ С НАНОЧАСТИЦАМИ ЗОЛОТА НА УСЛОВНО-ПАТОГЕННУЮ МІКРОФЛОРУ КОРНЕВОГО КАНАЛА

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

Резюме

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

Ключевые слова: силкагель, содержащий золото и серебро, антибактериальное действие.

INVESTIGATION OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF SILVER, GOLD NANOPARTICLES PREPARATIONS ON THE PATHOGENIC MICROFLORA OF ROOT CANALS

A. Borysenko, O. Tkach, E. Voloshchuk

Summary

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.

Key words: silicagel, which contains gold and silver, an antibacterial effect.

Ефективність ендодонтичного лікування в Україні й сьогодні, на жаль, залишається досить низькою — усього 16 %. Тому підвищення якості ендодонтичного лікування пульпіту й періодонтиту залишається однією з головних проблем сучасної терапевтичної стоматології [5, 8]. Проведені дослідження показали, що якісної медикаментозної обробки добре прохідних корневих каналів вдається досягти не більше ніж у 70 % випадків [2, 4, 7]. Тому істотними недоліками ендодонтичного лікування залишаються недосконала механічна обробка кореневого каналу і його неповна стерилізація. Наявність мікробної колонізації в системі кореневого каналу зуба в подальшому призводить до виникнення патологічних змін у періодонті [1]. Необхідно враховувати також швидке звикання умовно-патогенної мікрофлори кореневого каналу до традиційних антибактеріальних препаратів. У багатьох випадках мікрофлора кореневого каналу є резистентною до них, тому розробка нових антибактеріальних препаратів є актуальним завданням терапевтичної стоматології.

Для розробки нових, більш ефективних антибактеріальних препаратів починають використовувати нанотехнології і вводити у склад антибактеріальних препаратів наночастки металів, які мають антибактеріальну дію. Серед них найбільшу увагу привертає застосування наночасток золота та срібла. Вони мають дуже маленькі розміри, тому можуть легко проникати в усі розгалуження кореневого каналу й дентинні трубочки. Особливістю наночасток золота, срібла та інших металів є те, що вони легко утворюють кластери й колоїди [6]. Ці кластери мають велику питому поверхню, що значно збільшує ділянку контакту наночасток металів з бактеріями або вірусами та підвищує їх бактери-

цидні властивості. Використання золота та срібла у вигляді наночасток дозволяє в сотні разів знизити їх концентрацію зі збереженням усіх бактерицидних властивостей.

Окрім цього наночастки золота мають цілу низку унікальних характеристик: міцність, високу площу поверхні, оптичні властивості тощо. Це може слугувати для посилення сигналу при проведенні імуноферментного аналізу за рахунок їх зв'язування з антитілами [6]. Срібло, у свою чергу, є потужним імуномодулятором порівняно зі стероїдними гормонами і залежно від дози може стимулювати або пригнічувати фагоцитоз. Під впливом срібла підвищується кількість імуноглобулінів класів А, М, G, збільшується відсотковий вміст абсолютної кількості Т-лімфоцитів.

Ці властивості наночасток золота та срібла можна використовувати для лікування багатьох патологічних процесів, викликаних мікроорганізмами. Безпосередньо у стоматології вони можуть застосовуватися для лікування

гнійних захворювань щелепно-лицьової ділянки, таких як періодонтит, абсцес, флегмона, фурункули, карбункули, лімфаденіт тощо [9].

У даному дослідженні був вивчений вплив наночасток золота та срібла на умовно-патогенну мікрофлору кореневих каналів при хронічному періодонтиті.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Для мікробіологічного дослідження були використані високодисперсні силікагелі, на поверхні яких були розміщені нанорозмірні кластери золота та срібла. Вони мали різну поверхневу концентрацію (50–400 мкг/г силікагелю) і розмір наночасток металів (табл. 1). Силікагелі прожарювали при температурі 600°C, при якій вигорали всі органічні речовини. Силікагель, прожарений при 800°C, незворотно втрачає здатність поглинати вологу (стає гідрофобним), тому представляло певний інтерес співставлення біологічної активності зразків, прожарених при 600°C, з такими самими зразками, прожареними при 800°C (табл. 1).

Таблиця 1

Зразки матеріалів, узятих для дослідження

№ зразка	Концентрація наночасток метала (мікрограм/г сорбента)		
	Золото (Au)		Срібло (Ag)
	Температура прожарювання		
	600°C	800°C	
1	50 мкг/г		
2	100 мкг/г		
3			макс. кількість, яку можна нанести, — приблизно 400 мкг/г
4	400 мкг/г		
5	200 мкг/г		
6		50 мкг/г	
7		100 мкг/г	
8		200 мкг/г	
9		макс. кількість, яку можна нанести, — приблизно 400 мкг/г	

Таблиця 2

Мікроорганізми, використані в даному дослідженні

Мікроорганізми	Кількість штамів	Джерело мікроорганізмів
S. aureus ATCC 25923	1	Музей живих культур Київського НДІ епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського
E. coli 001 048	1	Музей живих культур Київського НДІ епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського
Candida albicans ATCC885-653	1	Музей живих культур Київського НДІ епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського

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

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

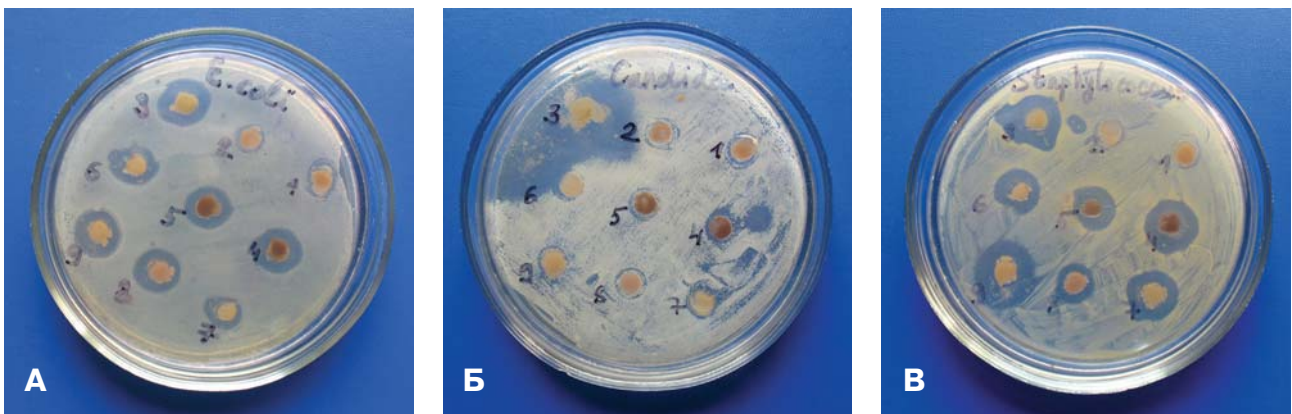


Фото 1. Антибактеріальна дія досліджених матеріалів (зразки №№ 1–9) на референтні тестові штами мікроорганізмів: А – *E. coli*; Б – *Candida*; В – *S. Aureus*.

Антибактеріальну дію різних зразків (сполуки №№ 1–9) визначали на основі їх дії на різні грампозитивні та грамнегативні бактерії, а також дріжджоподібні гриби роду *Candida albicans* (табл. 2). В основному це референтні тестові штами мікроорганізмів, отримані з музею живих культур лабораторії загальної мікробіології інституту Київського НДІ епідеміології та інфекційних хвороб АМН України.

Для більш точного визначення впливу даних силікагелів на мікрофлору кореневого каналу була також досліджена змішана мікрофлора, виділена з корневих каналів зубів хворих із хронічним гранулювальним періодонтитом і кістогранульомаю. При проведенні даних мікробіологічних досліджень був використаний метод дифузії в агар – метод «колодязів» [3].

Чашки Петрі в горизонтальному положенні заливали двома шарами твердого поживного середовища. Нижній шар – 10 мл розтопленого «голодного» агару АГВ, верхній шар – поживне середовище для відповідної добової культури тест-штаму мікроорганізмів (для *E. coli* – м'ясо-пептонний агар (МПА), для *S. aureus* – МПА з додаванням 1,0 % глюкози (глюкозний МПА), для *Candida albicans* – середовище Сабура). Після охолодження нижнього шару агару на ньому на однаковій відстані один від одного й від краю чашки встановлювали дев'ять сталевих тонкостінних циліндрів (внутрішній діаметр – $6,0 \pm 0,1$ мм, висота – $10,0 \pm 0,1$ мм). Довкола циліндрів заливали верхній шар – 13,5 мл розтопленого й охолодженого до $45-48^\circ\text{C}$ агару, змішаного з посівною дозою тест-мікроорганізму (1,5 мл мікробної суспензії відповідної концентрації) [3]. Після охолодження верхнього шару агару циліндри виймали сте-

рильним пінцетом і в отримані лунки поміщали 25,0–30,0 мг досліджуваного препарату. Облік результатів проводили через 24 години шляхом визначення зони затримки росту мікроорганізмів у мм, включаючи й діаметр лунки.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Визначення антимікробної дії досліджуваних зразків силікагелів з наночастками металів до референтних тестових штамів мікроорганізмів показало таке (табл. 3).

Приведені в таблиці 3 дані свідчать про те, що сполуки №№ 1 і 2 не проявляють антибактеріальну активність по відношенню до всіх досліджених референтних тестових штамів мікроорганізмів. Сполуки №№ 3–9 проявляють виражену активність як до грамнегативної мікрофлори (*E. coli*), так і до грампозитивної – *S. aureus*. По відношенню до грибів роду *Candida albicans* були активними тільки сполуки №№ 3, 4, 5 і 7. Найбільшу антибактеріальну активність до всіх досліджуваних мікроорганізмів, у тому числі й до грибів роду *Candida albicans*, проявляє сполука № 3 (що містить максимальну кількість наночасток срібла).

Визначення антимікробної дії досліджених сполук до змішаної мікрофлори, виділеної з корневих каналів зубів хворих із хронічним гранулюючим періодонтитом і кістогранульомаю, показало таке (табл. 4).

Як видно з даних табл. 4, при застосуванні кров'яного МПА для визначення чутливості змішаної мікрофлори корневих каналів зубів до досліджених сполук усі зразки показали виражену антибактеріальну активність. Зони затримки росту корелюють з даними, отриманими при дослідженні референтних штамів бактерій

Антимікробна дія досліджених зразків силікагелів з наночастками металів на змішану мікрофлору кореневих 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 (лікований раніше)	18	15	20	16	16	14	12	16	18

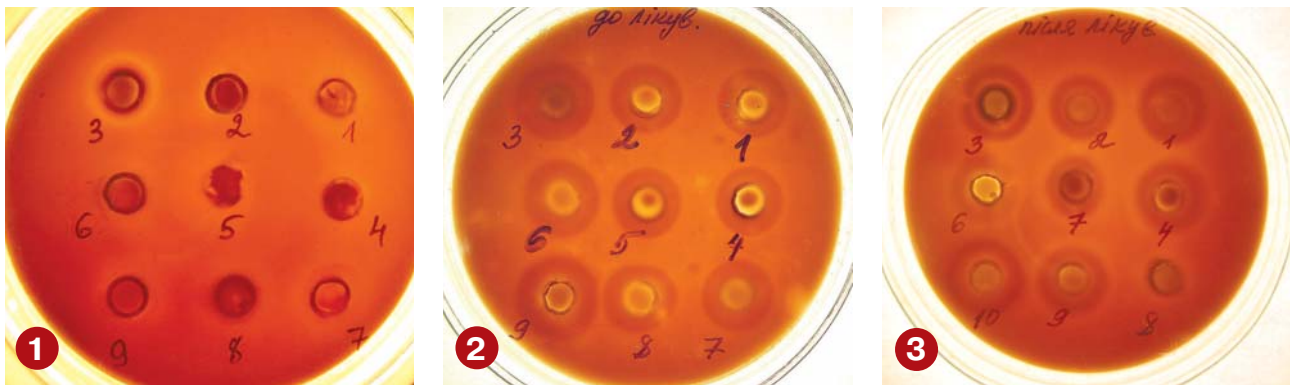


Фото 2. Антибактеріальна дія досліджених матеріалів (зразки №№ 1–9) на змішану мікрофлору кореневих каналів:

1. Хронічний гранулюючий періодонтит (на кров'яному агарі).
2. Кістогранульома.
3. Хронічний гранулюючий періодонтит (лікований раніше).

(див. табл. 3). Виявлено, що активність препаратів істотно не змінюється залежно від моменту взяття матеріалу для дослідження (до або після ендодонтичного лікування) — достовірної різниці в діаметрах зон затримки росту мікроорганізмів не виявлено.

ВИСНОВКИ

Результати проведених мікробіологічних досліджень показали, що практично всі зразки силікагелів у тій чи іншій мірі справляють антимікробну дію як на референтні тестові штами мікроорганізмів, так і на мікробну

флору кореневого каналу при різних запальних процесах періапикальної ділянки.

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

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Бир Р., Бауманн М., Ким С. Эндодонтология. Атлас по стоматологии. — М.: МЕДпресс-информ. — 2004. — 368 с.
2. Боровский Е.В. Клиническая эндодонтия. — М., 1999, 175 с.
3. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів. Методичні рекомендації // ДФЦ МОЗ України, протокол № 9 від 30.10.2003 р.
4. Лукинх Л.М., Шестопалова Л.В. Пульпит: клиника, диагностика, лечение. 3-е изд. // Издательство Нижегородской государственной медицинской академии. — 2004. — С. 88.
5. Максимовский Ю.М. Терапевтическая стоматология: учебник. — 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. Николішин 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., Гордійчук М.А. Нанотехнології і наноматеріали: застосування у стоматології і щелепно-лицьовій хірургії // Укр. мед. часопис. — 2009. — № 6 (74). — XI–XII. — С. 95–97.

Єдина рекомендація. Здорові зуби на все життя!



Електричні зубні щітки Oral-B мають виняткові якості та функціональні переваги. Незалежним дослідженням доведено, що зворотно-обертальна технологія, розроблена компанією Oral-B, дає змогу досягти чудових результатів чищення зубів у порівнянні з використанням звичайних мануальних щіток.

**Ваш досвід і наші технології
для стоматологічного здоров'я
пацієнтів.**



Oral-B®

№1

Зубна щітка Oral-B® — рекомендація стоматологів №1 у всьому світі*

*згідно з дослідженнями, проведеними у 2009-2010 рр.

Справжня турбота про пацієнта не закінчується в кабінеті стоматолога

