

А.В. Борисенко, О.Б. Ткач

## Порівняльне вивчення протимікробної активності силікагелю з наночастинками золота та антисептиків різних груп відносно мікрофлори пародонтальних кишень

Національний медичний університет імені О.О.Богомольця, м. Київ, Україна

**Мета:** визначення порівняльної протимікробної дії силікагелю з наночастинками золота на стандартні штами мікроорганізмів і змішану мікрофлору пародонтальних кишень при хронічному пародонтиті.

**Матеріали та методи.** Антибактеріальні властивості силікагелю з наночастинками золота визначали за рівнем затримки росту. В якості тест-мікроорганізмів були використані штами *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* та змішана мікрофлора пародонтальних карманів, застосовуючи метод дифузії в агар.

**Результати.** Порівняння не виявило відмінності середнього значення діаметру зони затримки росту тест культур мікроорганізмів для високодисперсних силікагелів з наночастинками Au від значень отриманих для інших досліджуваних препаратів.

**Висновки.** Силікагель з наночастинками золота пригнічує тестові штами мікроорганізмів і може бути рекомендований для клінічного використання при лікуванні хронічного пародонтиту.

**Ключові слова:** силікагель з наночастинками золота, антибактеріальна дія, тест культури мікроорганізмів.

Пародонтит на сьогодні залишається дуже поширеним стоматологічним захворюванням, прогресування якого призводить до втрати зубів. Незважаючи на досягнення сучасної медицини, лікування пародонтиту залишається надзвичайно складним завданням.

Серед багаточисленних несприятливих чинників, які призводять до розвитку запальних захворювань пародонту, важливе місце займають біологічні властивості мікроорганізмів порожнини рота й зубного нальоту [1, 2, 8, 9, 10, 12].

Останнім часом провідним фактором в етіології періодонтиту визнають патогенну дію мікроорганізмів зубного нальоту.

Інтенсивність утворення зубного нальоту майже в 90 % випадків пародонтиту визначає тяжкість ураження.

Численні дослідження показують, що тривалий контакт між мікробами зубної бляшки і тканинами пародонту призводить до виникнення гіперчутливості до інфекційного агента, а це у свою чергу є елементарною передумовою до розвитку запалення й імунної відповіді [8].

В останні роки відзначається зростання швидко прогресуючих форм хронічного пародонтиту, резистентних до стандартної антибактеріальної терапії з перебігом без помітних ознак одужання. Як відомо, основне значення у виникненні цих форм належить пародонтопатогенній мікрофлорі.

Крім запально-деструктивних і швидкопрогресуючих форм пародонтиту на особливу увагу заслуговують захворювання пародонту, які характеризуються уповільненим маловираженим запальним процесом [6, 10]. На думку В.К. Леонтьєва, Е.В. Боровського, форма прояву захворювання переважно атрофічної або запально-дистрофічної природи з вираженою гностичею і без неї залежить від мікробної флори ясенної кишені [4]. Однак Г.В. Журавська зі співавт. (2007) пов'язують дану патологію із загальною варіабельною імунною недостатністю [7]. Дані, наведені В.Н. Царьовим, Р.В. Ушаковим, М.М. Давидовою (1996), свідчать про те, що в основі атрофічного типу захворювань пародонту лежать пато-

генетичні механізми гіпореактивного патологічного процесу [13]. На думку М.Д. Перової (2005), при існуванні різних клінічних типів пародонтиту механізми тканинної деструкції залишаються єдині. Відмінності ознак і симптомів хвороби пов'язані з реалізацією захисних механізмів організму хазяїна.

Таким чином, можна припустити, що виникнення, ступінь тяжкості, а також інтенсивність розвитку запально-деструктивних захворювань пародонту безпосередньо залежать від якісного та кількісного складу мікрофлори порожнини рота.

Як наслідок, основне завдання при лікуванні захворювань пародонту полягає у зниженні кількості мікроорганізмів до рівня, прийняттого для організму. Недостатня ефективність антибактеріальних препаратів щодо аеробних і анаеробних бактерій спонукає до пошуку ефективних антибактеріальних препаратів. Серед різних засобів представляють цікавість препарати на основі наночастинок металів, зокрема золота.

### Матеріали та методи дослідження

Для порівняльного дослідження визначення чутливості мікрофлори були використані наступні препарати:

1. Високодисперсні силікагелі з наночастинками золота, що містять на своїй поверхні нанорозмірні кластери золота і срібла із заданою різною поверхневою концентрацією [50–400 мкг/г силікагелю] і розміром наночастинок благородних металів
  2. Умкалор – 1,2 % – антибіотик рослинного походження (*Pelargonium Sidoides*) – екстракт коренів герані.
  3. Хлоргексидин - 0,05% - антисептик хлорвмісних галогенових сполук.
  4. Етоній – 0,5% – антисептик групи біс четвертинних – амонієвих сполук.
  5. Мірамістин – 0,01 % – катионна поверхнево-активна речовина з антисептичною дією.
  6. Хлорофіліпт – 1 % – спиртовий розчин - рослинний антисептик (суміш хлорофілів листків евкаліпту).
- Методика визначення чутливості стандартних штамів мікроорганізмів до вказаних препаратів.

В якості стандартних штамів в дослідженні використані *Staphilococcus aureus* (ATCC 27923), *Escherichia coli* (ATCC 27922), *Candida albicans* (885 663).

Також була досліджена змішана мікрофлора, виділена з пародонтальних кишень хворих на генералізований пародонтит.

Для визначення антибактеріальної дії досліджуваних зразків силікагелей був використаний метод дифузії в агар [метод «колодязів»] [5].

Чашки Петрі встановлювали на суворо горизонтальну поверхню й заливали двома шарами твердого поживного середовища. Нижній шар – 10 мл розтопленого «голодного» агару АГВ, верхній шар – поживне середовище для відповідної добової культури тест-штаму мікроорганізму [для *E. coli* – м'ясопептонний 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 на однаковій відстані один від одного й від краю чашки встановлювали дев'ять сталевих тонкостінних циліндрів [внутрішній діаметр – 6,0±0,1 мм, висота – 10,0±0,1 мм]. Довкола циліндрів заливали верхній шар – 13,5 мл розтопленого й охолодженого до 45–48°C агару, змішаного з посівною дозою тест-мікроорганізму [1,5 мл мікробної суспензії відповідної концентрації] [5]. Після охолодження верхнього шару агару стерильним пінцетом виймали циліндри 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 лунок.

Облік результатів проводили, урахувавши діаметри зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунок з антимікробними препаратами. Оцінку антибактеріальної активності матеріалів визначали за розміром (у мм) діаметра зон затримки росту мікроорганізмів навколо кожного зразка (Тетерина Л.Н., 1997). Оцінку антибактеріальної ефективності проводили за такими критеріями:

- 11–14 мм – незначний антибактеріальний ефект;
- 15–19 мм – помірно виражений антибактеріальний ефект;
- 20–40 мм – високий антибактеріальний ефект.

Антимікробна активність високодисперсного силікагеля з наночастками золота була порівняна з результатами дослідження антимікробної активності препаратів умкалор – 1,2 %, етоній – 0,5 %, хлоргексидин – 0,05 %, мірамістин – 0,01 %, хлорофіліпт – 1 % [3].

Визначення чутливості вказаних вище препаратів у терапевтичних концентраціях проводили методом дифузії антибактеріального засобу в агар. З цією метою матеріал засівали на 5 % кров'яний м'ясо-пептонний агар в кількості 0,1 мл й розтирали шпателем до повного висихання.

Після цього в агарі робили лунки стандартного діаметру (6 мм) і вносили відповідні концентрації препаратів у кількості 0,08 мл. Чашки з посівами інкубували в термостаті при температурі 37°C – 24 години. Облік проводили, вимірюючи зони затримки росту бактерій для кожної досліджуваної групи препаратів. Кожний з експериментів для статистичної достовірності повторювали 7–8 разів.

Для проведення аналізу отриманих результатів були використані методи біостатистики, розрахунки проводилися за допомогою пакету "R" v.3.2.0 (R Foundation for Statistical Computing, 2015). Для представлення даних розраховувалося середнє значення показника ( $\bar{X}$ ) і стандартна похибка  $\pm m$ . Для проведення порівняння результатів використовувався критерій Крускала-Уолліса [11]. Критичний рівень значущості дорівнював 0,05.

### Результати дослідження та їх обговорення

Результати порівняння визначення антибактеріальної дії зразків силікагелей з наночастками Au (фото 2) та антибактеріальних препаратів (фото 1) відносно стандартних тестових штамів відображено в таблиці 1.

Велике значення похибки ( $\pm m$ ) для Au пов'язано з тим, що в деяких зразках діаметр затримки росту = 0. При проведенні порівняння не було виявлено відмінності середнього значення діаметру для Au від значень отриманих для інших досліджуваних препаратів ( $p > 0,05$ ).

Результати визначення антибактеріальної дії зразків силікагелей з наночастками золота відносно змішаної мікрофлори, взятої з кореневих каналів і пародонтальних кишень відображено в таблиці 2 та на фото 3.

Таблиця 1

Досліджувані препарати	Тест культури мікроорганізмів, $\bar{X} \pm m$ , мм		
	<i>Staphilococcus aureus</i> (ATCC 27923)	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 27922)	<i>Candida albicans</i> (885 663)
Вискодисперсний силікагель з наночастками золота	13,0±2,9	12,4±2,7	5,5±2,7
Умкалор – 1,2 %	18,5±0,3	34,5±0,3	16,5±0,3
Хлоргексидин – 0,05 %	18,5±0,2	16,5±0,2	11,9±0,2
Етоній – 0,5 %	18,6±0,1	16,4±0,4	11,6±0,2
мірамістин – 0,01 %	18,6±0,1	15,6±0,2	15,6±0,2
Хлорофіліпт – 1 %	14,6±0,2	13,6±0,2	13,6±0,2

Таблиця 2

Характер патологічного вогнища змішаної мікрофлори	Діаметр затримки зони росту, $\bar{X} \pm m$ , мм	Рівень значущості відмінності, p
Хронічний гранулюючий пародонтит	11,5±2,5	0,38
Кісто гранульома	16,0±0,6	
Хронічний гранулюючий пародонтит, раніше лікований	15,6±0,7	
Хронічний пародонти	15,5±0,7	



Фото 1. Антибактеріальна дія досліджуваних препаратів на референтні тестові штами мікроорганізмів  
 А. *Staphylococcus aureus*. Б. *Escherichia coli*. В. *Candida albicans*.  
 1. Умкалор – 1,2 %. 2. Хлоргексидин – 0,05 %. 3. Етоній – 0,5%. 4. Мірамістин – 0,01 %. 5. Хлорофіліпт – 1 %.

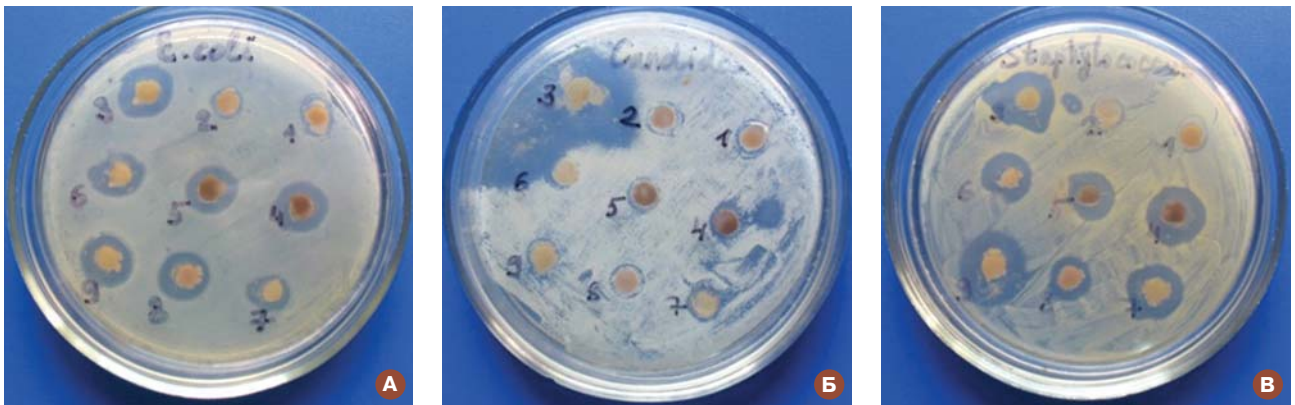


Фото 2. Антибактеріальна дія досліджуваних матеріалів [зразки №№ 1–9] на референтні тестові штами мікроорганізмів  
 А – *E. coli*; Б – *Candida*; В – *S. Aureus*.

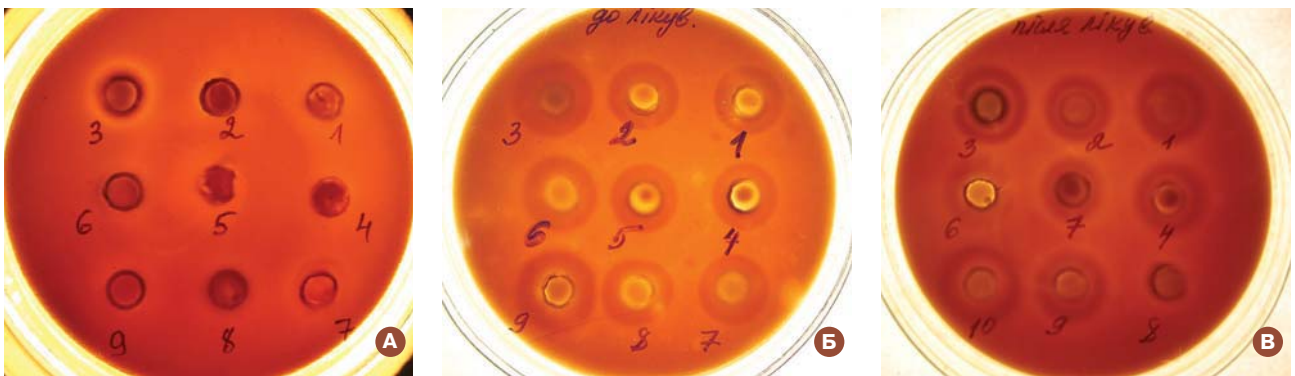
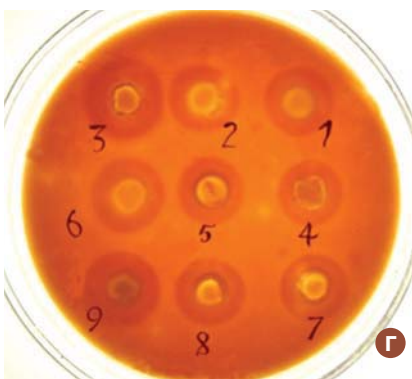


Фото 3. Антибактеріальна дія досліджуваних матеріалів (зразки №№ 1–9)  
 на змішану мікрофлору корневих каналів і пародонтальних кишень.

- А. Хронічний гранулюючий періодонтит (на кров'яному агарі).
- Б. Кістогранульома.
- В. Хронічний гранулюючий періодонтит (раніше лікований).
- Г. Хронічний генералізований пародонти.



При проведенні аналізу не виявлено статистично значущої відмінності ( $p = 0,38$  за критерієм Крускала-Уолліса) середніх значень діаметра зони затримки росту (таблиця 2) у патологічних вогнищах різного характеру.

Проведені мікробіологічні дослідження показали, що всі зразки силікагелів з наночастками Au в тій чи іншій мірі мають виражену антимікробну активність як на референтні тестові штами мікроорганізмів, так і на змішану мікробну флору кореневих каналів і пародонтальних кишень хворих на генералізований пародонтит.

На основі результатів порівняльного аналізу антимікробної активності високодисперсного силікагелю з наночастками золота з іншими препаратами з антимік-

робною дією можна стверджувати, що досліджуваний препарат може стати в ряд з іншими антисептиками, які використовуються при лікуванні хворих на хронічний пародонтит і є препаратом вибору.

### Висновки

Високодисперсний силікагель з наночастками золота показав високі антибактеріальні якості стосовно тест культур і змішаної мікрофлори кореневих каналів і пародонтальних кишень. Отримані позитивні мікробіологічні результати дозволяють пропонувати препарат для клінічного використання при лікуванні хронічного пародонтиту.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Барер Г.М. Роль интерферона и других цитокинов в возникновении и развитии заболеваний пародонта / Г.М. Барер, С.С. Григорян, Н.В. Постнова // *Cafedra*. – 2006. – Т. 5, № 3. – С. 54–60.
2. Безрукова И.В. Агрессивные формы пародонтита. / И.В. Безрукова, А.И. Грудянов – М.: ООО «Медицинское информационное агентство». – 2002. – 127 с.
3. Борисенко А.В. Порівняльне вивчення протимікробної активності дії умкалору на мікрофлору кореневих каналів зубів / А.В. Борисенко, О.Ф. Несін, Л.З. Гаврилова // *Современная стоматология*. – 2009. – № 2. – С. 17–20.
4. Боровский Е.В. Биология полости рта / Е.В. Боровский, В.К. Леонтьев. – М.: Медицина. – 1991. – 304 с.
5. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів. Методичні рекомендації // ДФЦ МОЗ України, протокол №9 від 30.10.2003 р.
6. Дунызина Т.М. Концепция перекиснолизосомальных механизмов в развитии заболеваний пародонта / Т.М. Дунызина // *Новое в стоматологии*. – 1993. – № 1. – С. 8–12.
7. Журавская Г.В. Клиникоиммунологические особенности заболеваний пародонта у больных с общей вариабельной иммунной недостаточностью / Г.В. Журавская, Н.Х. Сет-

8. Шоловалов, В.Д. Шаповалов, М.И. Варфоломеева // *Имунопатология и клиническая иммунология*. – 2007. – № 7. – С. 165–167.
9. Иванов В.С. Заболевания пародонта / В.С. Иванов. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство». – 2001. – 296 с.9.
10. Иорданишвили А.К. Заболевания эндодонта, пародонта и слизистой оболочки полости рта / А.К. Иорданишвили. – М.: МЕДпресс-информ. – 2008. – 344 с.
11. Модина Т.Н., Принципы планирования комплексного лечения взрослых пациентов с быстро прогрессирующим пародонтитом / Т.Н. Модина, Г.Б. Оспанова // *Клиническая стоматология*. – 2001. – № 1. – С. 52–56.
12. Петри А. Наглядная статистика в медицине / Пер. с англ. В.П. Леонова / Петри А., Сэбин К. – М.: ГЭОТАР-МЕДИА. 2009. – 166 с.
13. Царев В.Н. Лекции по клинической микробиологии для стоматологических факультетов / В.Н. Царев, Р.В. Ушаков, М.М. Давыдова. – Иркутск, 1996. – 80 с.

## Сравнительное изучение противомикробной активности силикагеля с наночастицами золота и антисептиков различных групп в отношении микрофлоры пародонтальных карманов

А.В. Борисенко, О.Б. Ткач.

**Цель:** определение сравнительного противомикробного действия силикагеля с наночастицами золота на стандартные штаммы микроорганизмов и смешанную микрофлору пародонтальных карманов при хроническом пародонтите.

**Материалы и методы.** Антибактериальные свойства силикагеля с наночастицами золота определяли по уровню задержки роста. В качестве тест-микроорганизмов были использованы штаммы *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* и смешанная микрофлора пародонтальных карманов, применяя метод диффузии в агар.

**Результаты.** Сравнение не выявило различия среднего значения диаметра зоны задержки роста тест культур микроорганизмов для высокодисперсных силикагелей с наночастицами Au от значений полученных для других исследуемых препаратов.

**Выводы.** Силикагель с наночастицами золота подавляет тестовые штаммы микроорганизмов и его можно рекомендовать для клинического использования при лечении хронического пародонтита.

**Ключевые слова:** силикагель с наночастицами золота, антибактериальное действие, тест культуры микроорганизмов.

## Comparative study of antimicrobial activity of silica gel with gold nanoparticles and antiseptics of different groups in relation to the microflora of periodontal pockets

A. Borysenko, O. Tkach.

**Objective:** determining the comparative antimicrobial activity of silicagel with the nanoparticles of gold to the standard strains of microorganisms and mixed microflora of periodontal pockets in chronic periodontitis.

**Materials and Methods.** The antibacterial properties of silicagel with the nanoparticles of gold were determined by the level of stunted growth. As test microorganisms were used strains of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* and mixed microflora of periodontal pockets using agar diffusion method.

**Results.** The comparison revealed no differences in the mean diameter of the zone of stunted growth of test cultures of microorganisms for highly dispersed silicagels with the nanoparticles with Au from the values obtained from other investigational drugs.

**Conclusions.** Silicagel with the nanoparticles of gold inhibits the test strains of microorganisms and can be recommended for clinical use in the treatment of chronic periodontitis.

**Key words:** silicagel with the nanoparticles of gold, antibacterial activity, test of microorganisms' culture.

А.В. Борисенко – Національний медичний університет імені О.О.Богомольця, м. Київ, Україна.

О.Б. Ткач – Національний медичний університет імені О.О.Богомольця, м. Київ, Україна.