

О.Б. Ткач, О.М. Волощук

Мікробіологічне обґрунтування застосування наночасточок золота та срібла для лікування запальних захворювань тканин пародонту

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

Актуальність. Для лікування захворювань пародонту застосовують велику кількість антибактеріальних і протизапальних препаратів. Але можливості багатьох препаратів, особливо антибіотиків, суттєво обмежені внаслідок швидкого звикання та втрати чутливості до них пародонтопатогенної мікрофлори. Тому розробка нових антибактеріальних препаратів, до яких чутливість пародонтопатогенної мікрофлори буде зберігатися протягом більш тривалого часу, є актуальною проблемою.

Мета: визначення антибактеріальних властивостей наночасток золота і срібла для умовно-патогенної мікрофлори, виділеної з пародонтальних кишень хворих на генералізований пародонтит.

Матеріали та методи. У дослідженні використані високодисперсні силікагелі, що містять на своїй поверхні нанорозмірні кластери золота і срібла, референтні тестові штами мікроорганізмів і змішана мікрофлора пародонтальних кишень хворих на генералізований пародонтит. Для визначення антибактеріальної дії досліджуваних зразків силікагелів був використаний метод дифузії в агар.

Результати. Вивчення *in vitro* антимікробних властивостей високодисперсних гелів, що містять на своїй поверхні наночастки золота і срібла, відносно тестових штамів проявляли антибактеріальну активність різного рівня.

Визначення антибактеріальної дії досліджуваних сполук відносно змішаної мікрофлори, виділеної з пародонтальних кишень хворих на генералізований пародонтит, показало наявність вираженої антибактеріальної активності всіх зразків силікагелів.

Висновки. Результати мікробіологічних досліджень свідчать про виражену антибактеріальну активність усіх зразків силікагелів з наночастками металів відносно референтних тестових штамів мікроорганізмів, а також мікробну флору пародонтальних кишень хворих на генералізований пародонтит.

Ключові слова: силікагелі з наночастками металів, антибактеріальна дія.

Останнім часом особливий інтерес серед багатьох напрямів розробки медикаментозних препаратів викликає використання наночасточок металів, які мають антибактеріальну дію. Серед них найбільшу увагу привертає застосування наночасточок золота і срібла. Особливістю цих металів є здатність легко утворювати кластери та колоїди [2]. Посилення бактеріцидних властивостей відбувається завдяки тому, що вони мають велику поверхню. Це збільшує ділянку контакту з бактеріями або вірусами. Таким чином, застосування срібла у вигляді наночасточок дозволяє в сотні раз зменшити його концентрацію зі збереженням всіх бактеріцидних властивостей.

Залежно від дози срібло може як стимулювати, так і пригнічувати фагоцитоз. Під впливом срібла підвищується кількість імуноглобулінів класів А, М, G, Т-лімфоцитів. Це вказує на потужні імуномодулювальні властивості срібла. Наночастки золота мають цілий ряд унікальних властивостей: оптичні властивості, міцність, висока площа поверхні. Вони можуть слугувати для посилення сигналу при проведенні імуноферментного аналізу за рахунок їх зв'язування з антитілами [2].

Таким чином, дані властивості наночасточок срібла і золота можна використовувати для лікування різноманітних патологічних процесів, викликаних мікроорганізмами. Наприклад, у стоматології їх можна застосовувати для лікування гнійних захворювань щелепно-лицьової ділянки: періодонтиту, абсцесів, флегмон, фурункулів, карбункулів, лімфаденіту тощо [3].

Матеріали та методи досліджень

У даному дослідженні були використані високодисперсні силікагелі, що містять на своїй поверхні нанорозмірні кластери золота і срібла із заданою різною поверхневою концентрацією (50–400 мкг/г силікагелю) і розміром

наночасточок благородних металів (табл. 1). Їх прожарювали при температурі 600°C, при якій з силікагелю вигорять усі органічні речовини. Прожарений при 800°C силікагель необоротно втрачає здатність поглинати вологу – стає гідрофобним. Це спонукало вивчити та зіставити біологічну активність різних зразків (сполуки №№ 1–9), прожарених при 600°C, з такими ж зразками, прожареними при 800°C (табл. 1).

Таблиця 1

Зразки матеріалів, взятих для дослідження

Зразок	Концентрація наночастинок металу (мікрограм/г сорбенту)		
	Золото (Au)		Срібло [Ag]
	Температура прожарювання		
	600°C	800°C	
1	50 мкг/г		
2	100 мкг/г		
3			тах кількість, яку можна нанести, – близько 400 мкг/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, – близько 400 мкг/г

Таблиця 2

Тест-штами використаних в даному дослідженні мікроорганізмів

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

Таблиця 3

Вид мікроорганізмів	Діаметр зони затримки росту (в мм)								
	Досліджуваний матеріал (№)								
	3	1	2	4	5	6	7	8	9
	Ag	600°C				800°C			
		400 mkg/g	50 mkg/g	100 mkg/g	400 mkg/g	200 mkg/g	50 mkg/g	100 mkg/g	200 mkg/g
<i>S.aureus</i> 25923	20	0	0	18	16	16	17	16	21
<i>E.coli</i> 001048	17	0	0	18	17	15	16	16	17
<i>C. albicans</i> 885	32	0	0	16	13	0	16	0	0

Таблиця 4

Антибактеріальна дія досліджуваних зразків силікагелей з наночастками металів на змішану мікрофлору пародонтальних кишень

Характер патологічного вогнища змішаної мікрофлори	Діаметр зони затримки росту (в мм)								
	Досліджуваний матеріал (№)								
	3	1	2	4	5	6	7	8	9
	Ag	600°C				800°C			
		400 mkg/g	50 mkg/g	100 mkg/g	400 mkg/g	200 mkg/g	50 mkg/g	100 mkg/g	200 mkg/g
Змішана мікрофлора, виділена з пародонтальних кишень хворих на генералізований пародонтит	20	16	15	16	16	14	12	16	19

Для дослідження були вибрані різні за таксономічним положенням грампозитивні, грамнегативні бактерії та дріжджоподібні гриби роду *Candida albicans* (табл. 2). Ці референтні тестові штами мікроорганізмів були отримані з музею живих культур лабораторії загальної мікробіології Київського НДІ епідеміології та інфекційних хвороб НАМН України.

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») [1].

Чашки Петрі встановлювали на строго 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 та охолодженого до 45–48°C агару, змішаного з посівною дозою тест-мікроорганізму (1,5 мл мікробної суспензії відповідної концентрації) [1]. 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.

Результати досліджень

Визначення антибактеріальної дії зразків силікагелей з наночастками металів на референтні тестові штами мікроорганізмів показало таке (табл. 3).

Приведені в табл. 3 дані свідчать, 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 лише сполуки №№ 3, 4, 5 і 7. Найбільшу антибактеріальну активність стосовно всіх досліджуваних мікроорганізмів, у тому числі і грибів роду *Candida albicans*, має сполука № 3 [містить максимальну кількість наночасточок срібла].

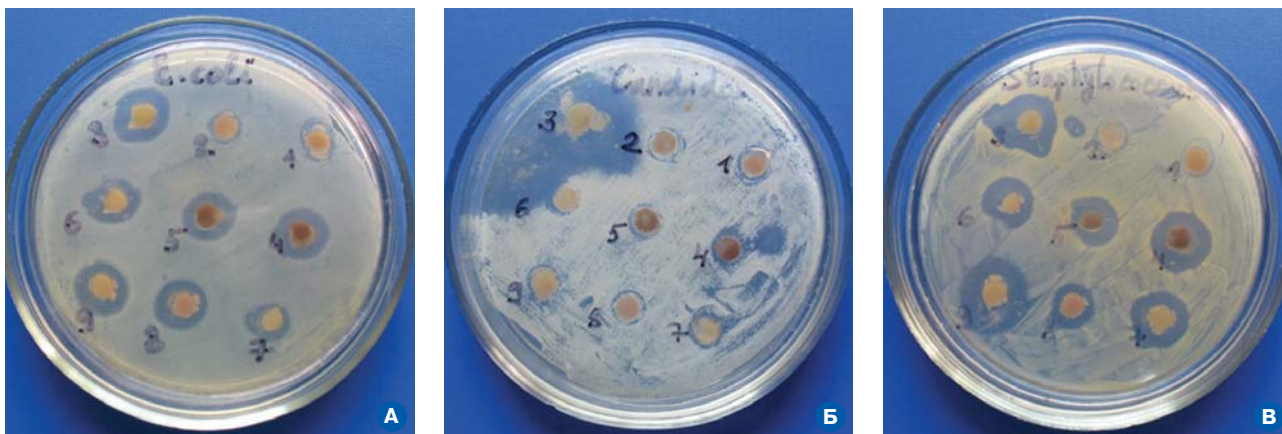


Фото 1. Антибактеріальна дія досліджуваних матеріалів [зразки №№ 1–9] на референтні тестові штами мікроорганізмів А – *E. coli*; Б – *Candida*; В – *S. aureus*.

Результати визначення антибактеріальної дії досліджуваних сполук до змішаної мікрофлори, виділеної з пародонтальних кишень хворих на генералізований пародонтит представлені у табл. 4.

Як видно з приведених в табл. 4 даних всі зразки показали виражену антибактеріальну активність. Зони затримки росту корелюють з даними, отриманими при дослідженні референтних штамів бактерій [див. табл. 3].

Висновки

Проведені мікробіологічні дослідження показали, що всі зразки силікагелей з наночастками металів, в тій чи іншій мірі, мають виражену антимікробну активність як на

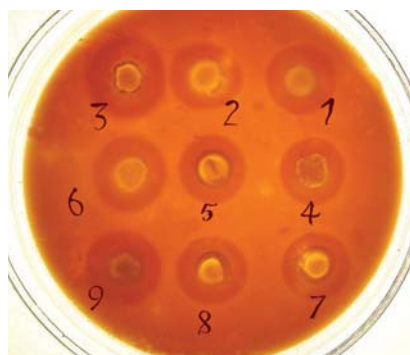


Фото 2. Антибактеріальна дія досліджуваних матеріалів [зразки №№ 1–9] на змішану мікрофлору пародонтальних кишень хворих на генералізований пародонтит.

референтні тестові штами мікроорганізмів, так і на мікробну флору пародонтальних кишень хворих на генералізований пародонтит.

Найбільш виражену антимікробну дію мають зразки № 3 та № 9 – силікагелі з максимальною концентрацією сорбованих наночасточок срібла та золота.

Не виявлено достовірної різниці в діаметрах зон затримки росту мікроорганізмів зразків з різними розмірами наночасточок металів. Це дає підставу для клінічного використання силікагелів із сорбованими наночастками золота різного розміру і концентрації можуть бути використанні як антибактеріальні препарати для лікування запальних процесів в тканинах пародонта.

ЛІТЕРАТУРА

1. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів. Методичні рекомендації // ДФЦ МОЗ України, протокол № 9 від 30.10.2003 р.
 2. Москаленко В.Ф. Наукові основи наномедицини, нанофармакології та нанофармації / В.Ф. Москаленко, В.М. Лісовий, І.С. Чекман, Н.О. Горчакова, Т.В. Звягінцева, Т.Ю. Небесна, Г.О. Сирова, М.І. Загордний // Науковий вісник національного медичного університету імені О.О.Богомольця. – 2009. – № 2. – С. 17-31.
 3. Чекман І.С. Нанотехнології і наноматеріали: застосування в стоматології і щелепно-лицьовій хірургії / І.С. Чекман, В.А. Маланчук, М.А. Гордейчук // Укр. Мед. Часопис – 2009. – № 6 (74) – XI/XII – С. 95–97

Мікробіологічне обґрунтування застосування наночасточок золота та срібла для лікування запальних захворювань тканин пародонту

О.Б. Ткач, О.М. Волощук

Актуальність. Для лечения заболеваний пародонта применяют большое количество антибактериальных и противовоспалительных препаратов. Но возможности многих препаратов, особенно антибиотиков, существенно ограничены вследствие быстрого привыкания и потери чувствительности к ним пародонтопатогенной микрофлоры. Поэтому разработка новых антибактериальных препаратов, к которым чувствительность пародонтопатогенных микрофлоры будет сохраняться в течение более длительного времени, является актуальной проблемой.

Цель: определение антибактериальных свойств наночастиц золота и серебра по отношению к условно-патогенной микрофлоре, выделенной из пародонтальных карманов больных генерализованным пародонтитом.

Материалы и методы. В исследовании использованы высокодисперсные силікагели, содержащие на своей поверхности наноразмерные кластеры золота и серебра, референтные тестовые штаммы микроорганизмов и смешанная микрофлора пародонтальных карманов больных генерализованным пародонтитом. Для определения антибактериального действия исследуемых образцов силікагеля был использован метод диффузии в агар.

Результаты. Изучение *in vitro* антимикробных свойств высокодисперсных гелей, содержащих на своей поверхности наночастицы золота и серебра, относительно тестовых штаммов показало антибактериальную активность разного уровня.

Определение антибактериального действия исследуемых соединений относительно смешанной микрофлоры пародонтальных карманов больных генерализованным пародонтитом показало наличие выраженной антибактериальной активностью всех образцов силікагелей.

Выводы. Результаты микробиологических исследований свидетельствуют о выраженной антибактериальной активности всех образцов силикагеля с наночастицами металлов относительно референтных тестовых штаммов микроорганизмов, а также микробной флоры пародонтальных карманов больных генерализованным пародонтитом.

Ключевые слова: силикагели с наночастицами металлов, антибактериальное действие.

Microbiological background of the inflammatory periodontal diseases treating with gold and silver nanoparticles

O. Tkach, O. Voloshchuk

Actuality. A significant number of antibacterial and anti-inflammatory drugs are used for the treatment of periodontal diseases. However, the potentialities of many drugs, especially antibiotics, are severely limited due to the rapid addiction and loss of sensitivity of periodontopathogenic microflora to them. Therefore, the development of new antibiotics to which sensitivity of periodontopathogenic microflora will be preserved for a longer time is an actual problem.

Aim: to determine the antibacterial properties of silver and gold nanoparticles concerning pathogenic microorganisms isolated from periodontal pockets of patients with generalized periodontitis.

Materials and methods. The study used highly dispersed silicagels containing on its surface nanoparticles of silver and gold, reference test strains and mixed microflora of periodontal pockets of patients with generalized periodontitis. The method of agar diffusion was used to determine the antibacterial action of silicagels' samples.

Results. Study of in vitro antimicrobial properties of silicagels containing nanoparticles of gold and silver regarding test strains has showed various levels of antibacterial activity.

Determination of the antibacterial action of the compounds regarding mixed microflora isolated from periodontal pockets of patients with generalized periodontitis has showed a presence of a pronounced antibacterial activity of silicagels' samples.

Conclusions. The results of microbiological studies show a severe antibacterial activity of silicagels' samples with nanoparticles of metals relative to the reference test of microorganisms and microbial flora of periodontal pockets of patients with generalized periodontitis.

Key words: silicagels with metals nanoparticles, antibacterial activity.

*Ткач Оксана Борисівна – асистент кафедри стоматології
інституту післядипломної освіти Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.
Тел.: (050) 542-95-47, (098) 080-96-20. E-mail: tkach_o.b.75@inbox.ru.
О.М. Волощук – Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна.*

VITAPLANT®

ДЕНТАЛЬНЫЕ ИМПЛАНТАТЫ



(067) 611-04-50
(097) 784-00-76
(061) 212-22-03