© Коллектив авторов, 2014
УДК 614.083.22.09.201.09.27.203-09.054
DOI – <http://dx.doi.org/10.14300/mnnc.2014.09097>
ISSN – 2073-8137

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ЛАБОРАТОРНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПЕРИОДОНТИТА

Е. В. Щетинин, С. В. Сирак, О. Н. Игнатиади, А. Г. Сирак, М. К. Демурова, Э. А. Дыгов

Ставропольский государственный медицинский университет

В этиологии и патогенезе одонтогенных гнойно-воспалительных процессов значительную роль играют ассоциации различных видов аэробных и строгих анаэробных микроорганизмов [1, 2, 3]. Весьма частое обнаружение в корневом канале анаэробных неспорообразующих микроорганизмов-бактероидов отягощает течение заболевания и служит причиной осложнений [4, 5, 6]. Известно, что бактериоиды в присутствии аэробных микроорганизмов вырабатывают коллагенолитические ферменты, некротизирующие ткани в очаге поражения. Поэтому положительный клинический эффект можно получить, применяя комплекс лекарственных веществ, направленных как на аэробную, так и на анаэробную микрофлору [7, 8, 9]. Наиболее рационально при лечении больных периодонтитом учитывать не только антибактериальную активность препаратов [10], но и исключать возможное токсическое воздействие на периодонтальные околоврешечные ткани [11].

Цель работы – выбор препарата, обладающего максимальным антибактериальным эффектом и минимальной токсичностью для лечения больных периодонтитом.

Щетинин Евгений Вячеславович, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой патологической физиологии Ставропольского государственного медицинского университета; тел.: (8652)352684; e-mail: patphysiology@stgmu.ru

Сирак Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой стоматологии Ставропольского государственного медицинского университета; тел.: (8652) 350551; e-mail: sergejsirak@yandex.ru

Игнатиади Ольга Николаевна, заочный аспирант кафедры стоматологии Ставропольского государственного медицинского университета; тел.: (8652)352628; e-mail: mailto:sergejsirak@yandex.ru

Сирак Алла Григорьевна, доктор медицинских наук, профессор кафедры стоматологии Ставропольского государственного медицинского университета; тел.: (8652)352628; e-mail: sirakalla@yandex.ru

Демурова Мадина Казбековна, аспирант кафедры стоматологии Ставропольского государственного медицинского университета; тел.: (8652)352628; e-mail: mailto:sergejsirak@yandex.ru

Дыгов Эльдар Анатольевич, старший лаборант кафедры стоматологии Ставропольского государственного медицинского университета; тел.: (8652)352628; e-mail: mailto:sergejsirak@yandex.ru

Материал и методы. Исследовали антибактериальную активность широко применяемых в стоматологической практике для медикаментозной обработки канала зуба препаратов: 1 % раствора хинозола, 0,5 % раствора хлоргексидина, 1 % раствора диоксидина. Учитывая, что эти препараты недостаточно эффективны в отношении анаэробов, в исследования включен 0,1 % изотонический раствор лизоцима. Данный фермент не только является фактором естественной гуморальной защиты организма, но и обладает противовоспалительным и анестезирующим действием.

Использовали микроорганизмы, выделенные из содержимого корневых каналов больных острым гнойным и обострившимся хроническим гранулирующим периодонтитом.

Чувствительность микроорганизмов *Staphylococcus aureus* (10 штаммов), *Streptococcus pyogenes* (5 штаммов), *Proteus vulgaris* (4 штамма), *Pseudomonas aeruginosa* (5 штаммов), *B. fragilis* (10 штаммов) к диоксидину, хинозолу, хлоргексидину определяли методом двукратных серийных разведений на жидких питательных средах.

Чувствительность *B. fragilis* к лизоциму определяли в твердой питательной среде для культивирования анаэробов в модификации [11]. Минимальную подавляющую рост микробов концентрацию (МПК) препаратов учитывали после 18–24 ч инкубации посевов с препаратами.

Токсичность препаратов определяли на культурах клеток фибробластов эмбрионов человека и перевиваемых культурах клеток L-41, полученных из лейкоцитов больного лейкоемией. Клетки культивировали в среде Игла, в которую добавляли 10 % сыворотки крупного рогатого скота и антибиотики. Клетки выращивали на покровных стеклах.

С целью анализа чувствительности к препаратам пролиферирующих клеток в среду на 2-е сутки роста клеток добавляли изучаемые препараты. Для подсчета митотического индекса клетки монослоя фиксировали смесью Лилли и окрашивали по методу Фельгена. Митотический индекс выражали числом митозов в промилле к общему числу клеток.

Материалы исследования подвергнуты математической обработке на персональном компьютере с помощью пакетов статистических

программ Excel 2007, Statistica for Windows 5.0. При сравнении значений исследуемого показателя для оценки достоверности различий использовались непараметрические методы: U-критерий Манна – Уитни и метод ранговой корреляции Спирмена.

Результаты и обсуждение. Изучение чувствительности микробной флоры к препаратам показало, что наиболее активным в отношении грамположительных и грамотрицательных аэробных микроорганизмов является хлоргексидин. МПК хлоргексидина для изучавшихся штаммов стафилококка колебалась от 1,5 до 25 мкг/мл, для стрептококка – от 0,3 до 6,2 мкг/мл, для синегнойной палочки – от 7,8 до 31,2 мкг/мл, для протей – от 31,2 до 125 мкг/мл.

Хинозол, подобно хлоргексидину, был активен в отношении изучавшихся штаммов стафилококка, стрептококка и протей. Концентрации препарата, обеспечивавшие бактериостатический эффект, были близкими к таковым хлоргексидина.

Заметны различия в чувствительности микроорганизмов к хлоргексидину, хинозолу и диоксидину. Диоксидин уступает по степени активности хлоргексидину и хинозолу. Эффективные концентрации диоксида в отношении большинства микроорганизмов колебались от 100 до 2500 мкг/мл.

Все изучавшиеся штаммы стафилококка, стрептококка, протей и синегнойной палочки были устойчивы к лизоциму. Лизоцим был активен в отношении грамотрицательных неспорообразующих анаэробных палочек *B. fragilis*. В концентрации 0,3–6,25 мкг/мл лизоцим оказывал стойкое бактерицидное действие на все штаммы *B. fragilis*.

По токсическому действию на L-клетки и фибробласты препараты распределялись следующим образом: хинозол > хлоргексидин > диоксидин > лизоцим. Гибель фибробластов наблюдалась при следующих концентрациях препаратов: хинозола $2,5 \times 10^{-4}$, хлоргексидина $3,1 \times 10^{-3}$, диоксида $6,2 \times 10^{-2}$. Двукратное разведение препаратов вызывало отчетливо выраженную дегенерацию клеток, митотический показатель был в 4 раза ниже, чем в контроле. Слабое цитотоксическое действие на клетки оказывали следующие концентрации препаратов: хинозола $6,25 \times 10^{-5}$, хлоргексидина $7,0 \times 10^{-4}$, диоксида $1,25 \times 10^{-2}$, лизоцима 5×10^{-1} . Фибробласты были нечувствительны к следующим

разведениям препаратов: хинозола $3,1 \times 10^{-5}$, хлоргексидина $3,5 \times 10^{-4}$, диоксида $6,2 \times 10^{-3}$, лизоцима $2,5 \times 10^{-2}$. Однако в этих концентрациях хинозол и хлоргексидин достоверно ускоряли деление клеток по сравнению с контролем. При добавлении хинозола митотический индекс равнялся $110,7 \pm 14,9$ ($p < 0,001$), хлоргексидина – $80,5 \pm 10,3$ ($p < 0,02$), диоксида – $54,6 \pm 7,8$, лизоцима – $33,0 \pm 4,5$. В контроле насчитывалось 48 ± 5 митозов на 1000 клеток.

В отличие от фибробластов L-клетки оказались более чувствительными к действию препаратов (табл.). Препараты в 2–4 раза меньших концентраций вызывали те же изменения, что и в культурах фибробластов.

Таблица
Влияние различных концентраций препаратов на рост L-клеток

Препарат	Гибель клеток	Дегенерация клеток	Слабое токсическое действие	Отсутствие различий с контролем
Хинозол	$1,25 \times 10^{-4}$	$6,25 \times 10^{-5}$	$3,12 \times 10^{-5}$	$1,56 \times 10^{-5}$
Хлоргексидин	$1,25 \times 10^{-3}$	$6,35 \times 10^{-4}$	$3,25 \times 10^{-4}$	$1,65 \times 10^{-4}$
Диоксидин	$2,5 \times 10^{-2}$	$1,25 \times 10^{-2}$	$6,25 \times 10^{-4}$	$3,15 \times 10^{-3}$
Лизоцим	–	$5,5 \times 10^{-1}$	$2,6 \times 10^{-1}$	$1,25 \times 10^{-1}$

Изучение активности антибактериальных препаратов в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов позволило выявить преимущество хлоргексидина и хинозола перед диоксидином. Лизоцим был высокоактивным только в отношении анаэробов.

Высокая антибактериальная активность хинозола и хлоргексидина сочеталась с их высокой токсичностью при добавлении в культуры клеток L-41 и культуры фибробластов. Причем токсическое действие соответствующей концентрации хинозола совпадало с антибактериальным или даже превосходило последнее в несколько раз. У хлоргексидина антибактериальная активность была выше токсической в 5 раз, у диоксида – в 10 раз.

Закключение. Таким образом, лизоцим в виде 0,1 % изотонического раствора ввиду низкой токсичности и высокой антибактериальной активности в отношении анаэробной микрофлоры можно с успехом применять для лечения и профилактики одонтогенных воспалительных процессов, протекающих в периапикальных тканях и обусловленных анаэробной флорой.

Литература

- Будзинский, Н. Э. Определение антимикробной активности мирамистина, иммобилизованного на композиционном полисорбе, на микрофлору корневых каналов при остром и обостившемся хроническом периодонтите и процесс остеофикации в эксперименте на животных / Н. Э. Будзинский, С. В. Сирак, Е. М. Максимова, А. Г. Сирак // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 7-3. – С. 518–522.
- Будзинский, Н. Э. Особенности лечения хронического верхушечного периодонтита с использованием мирамистина, иммобилизованного на композиционном полисорбе / Н. Э. Будзинский, С. В. Сирак // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 3. – С. 133.
- Григорьянц, Л. А. Показания и эффективность использования различных хирургических вмешательств при лечении больных с одонтогенным гайморитом, вызванным выведением пломбировочного материала в верхнечелюстной синус / Л. А. Григорьянц, С. В. Сирак, Р. С. Зекерьяев, К. Э. Арутюнян // Стоматология. – 2007. – Т. 86, № 3. – С. 42–46.

4. Сирак, С. В. Профилактика кариеса и воспалительных заболеваний пародонта с использованием зубных эликсиров / С. В. Сирак, И. М. Быков, А. Г. Сирак, Л. В. Акопова // Кубанский научный медицинский вестник. – 2013. – № 6 (141). – С. 166–169.
5. Сирак, С. В. Изучение противовоспалительных и регенераторных свойств стоматологического геля на основе растительных компонентов, глюкозамина гидрохлорида и димексида в эксперименте / С. В. Сирак, М. В. Зекеряева // Пародонтология. – 2010. – Т. 15, № 1. – С. 46–50.
6. Сирак, С. В. Вопросы повышения качества эндодонтических вмешательств по данным анкетирования врачей-стоматологов / С. В. Сирак, И. А. Копылова // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2010. – № 2. – С. 127–129.
7. Сирак, С. В. Осложнения, возникающие на этапе пломбирования корневых каналов зубов, их прогнозирование и профилактика / С. В. Сирак, И. А. Шаповалова, И. А. Копылова // Эндодонтия Today. – 2009. – № 1. – С. 23–25.
8. Сирак, С. В. Особенности выбора антимикробных препаратов для местного лечения воспалительных заболеваний пародонта у детей и подростков /

- С. В. Сирак, И. А. Шаповалова, Ю. Н. Пугина и др. // Стоматология детского возраста и профилактика. – 2008. – Т. 7, № 4. – С. 61–63.
9. Страчунский, Л. С. Сравнительная активность антибактериальных препаратов, входящих в лекарственные формы для местного применения, в отношении *Staphylococcus aureus*: результаты российского многоцентрового исследования / Л. С. Страчунский, А. В. Дехнич, Ю. А. Белькова, Г. Е. Афиногенов [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2002. – Т. 4, № 2. – С. 157–163.
10. Stratchounski, L. S. Antimicrobial resistance of nosocomial strains of *Staphylococcus aureus* in Russia: results of a prospective study / L. S. Stratchounski, A. V. Dekh-nich, V. A. Kretchikov [et al.] // Journal of Chemotherapy. – 2005. – Vol. 17, № 1. – P. 54–60.
11. Sirak, S. V. Clinical and morphological substantiation of treatment of odontogenic cysts of the maxilla / S. V. Sirak, A. V. Arutyunov, E. V. Shchetinin et al. // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2014. – Vol. 5, № 5. – P. 682–690.

References

1. Budzinskiy N. E., Sirak S. V., Maksimova E. M., Sirak A. G. *Fundamentalnie issledovaniya. – Fundamental research.* 2013;7-3:518-522.
2. Budzinskiy N. E., Sirak S. V. *Sovremennye problem nauki i obrazovaniya. – Modern problems of science and education.* 2013;3:133.
3. Grigoryants L. A., Sirak S. V., Zekeraev R. S., Arutunyan K. E. *Stomatologiya. – Dentistry.* 2007;3:42-46.
4. Sirak S. V., Bykov I. M., Sirak A. G., Akopova L. V. *Kubanskiy nauchniy medicinskiy vestnik. – Kuban scientific medical journal.* 2013;6(141):166-169.
5. Sirak S. V., Zekeraeva M. V. *Periodontologiya. – Periodontics.* 2010;15(1):46-50.
6. Sirak S. V., Kopylova I. A. *Vestnik Smolenskoy medicinskoj akademii. – Bulletin of the Smolensk state medical Academy.* 2010;2:127-129.
7. Sirak S. V., Shapovalova I. A., Kopylova I. A. *Endodontiya segodnya. – Endodontics Today.* 2009;1:23-25.
8. Sirak S. V., Shapovalova I. A., Pugin N. A., Lolaeva A. K., Afanasyeva O. V., Loktionova M. V. *Stomatologia detsk-*

ogo vozrasta i profilaktika. – Stomatology of children's age and prevention. 2008;4:61-63.

9. Stratchounski L. S., Technic A. V., Belkova Y. A., Afino-genov G. E., Akhmetov L. I., Boronina L. G., Huge-size E. N., Gudkov L. V., Zdzitowiecki D. E., Ilyin V. N., Krejczikova O. I., Marusina N. E., Multich I. G., Pylaeva S. I., Smirnov I. V., Suvorova T. N., Taraban V. K., Fureletova N. M., Khasanova Y. E., Shchetinin E. V. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya химиотерапия. – Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy.* 2002;4(2):157-163.
10. Stratchounski L. S., Dekhnic A. V., Kretchikov V. A., Edelstain I. A., Narezkina A. D., Afinogenov G. E., Akhmetova L. I., Boronina L. G., Gugutcidze E. N., Gudkova L. V., Zdzitovetcki D. E., Ilyina V. N., Kretchikova O. I., Marusina N. E., Multich I. G., Pylaeva S. I., Smirnov I. V., Suborova T. N., Taraban V. K., Fureletova N. M., Shchetinin E. V. *Journal of Chemotherapy.* 2005;17(1):54-60.
11. Sirak S. V., Arutyunov A. V., Shchetinin E. V., Sirak A. G., Akkalaev A. B., Mikhailchenko D. V. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences.* 2014;5(5):682-690.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ЛАБОРАТОРНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПЕРИОДОНТИТА

Е. В. ЩЕТИНИН, С. В. СИРАК, О. Н. ИГНАТИАДИ,
А. Г. СИРАК, М. К. ДЕМУРОВА, Э. А. ДЫГОВ

В статье обосновывается выбор препарата, обладающего максимальным антибактериальным эффектом и минимальной токсичностью для лечения больных периодонтитом. Исследование проведено в отношении антибактериальной активности 3 наиболее широко применяемых в стоматологической практике для медикаментозной обработки канала зуба препаратов: 1 % раствора хинозола, 0,5 % раствора хлоргексидина, 1 % раствора диоксида и дополнительно – изотонический раствор лизоцима. Установлено, что цели исследования в наибольшей степени соответствует лизоцим в виде 0,1 % изотонического раствора, поскольку обладает низкой токсичностью и высокой антибактериальной активностью в отношении анаэробной микрофлоры.

Ключевые слова: периодонтит, антибактериальные препараты, анаэробная флора

EXPERIMENTAL RATIONALE FOR THE CHOICE OF ANTIBACTERIAL DRUG FOR TREATMENT OF PERIODONTITIS

SHCHETININ E. V., SIRAK S. V., IGNATIADI O. N.,
SIRAK A. G., DEMUROVA M. K., DIGOV E. A.

The aim was to evaluate the antibacterial effect and toxicity of antibiotics for treatment of periodontitis. Three most widely used in dental practice preparations for tooth canals treatment – 1 % chinosol solution, 0,5 % chlorhexidine solution, 1 % dioksidine solution and additionally isotonic solution of lysozyme were studied. The data obtained had proved the low toxicity of isotonic lysozyme and its high antibacterial activity against anaerobic microorganisms.

Key words: periodontitis, antibacterial drugs, anaerobic flora