

Исследование антисептической активности глинистых минералов, обогащенных антоцианами

А.А. КОПЫТОВ*, к.м.н., доц.
Л.А. ДЕЙНЕКА**, к.х.н., доц.
Н.Н. ШИНКАРЕНКО***, к.б.н., доц.
В.А. БОРОЗЕНЦЕВА*, соискатель
М.Ю. ИГИШЕВА**, соискатель
*Кафедра стоматологии
**Кафедра общей химии
***Кафедра микробиологии

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования
«Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

Investigation of antiseptic activity of clay minerals enriched with anthocyanins

A.A. KOPYTOV, L.A. DEINEKA, N.N. SHINKARENKO, V.A. BOROZENTSEVA, M.YU. IGISHEVA

Резюме: Зубы с элементами деструкции в периапикальной области являются очагами хронической инфекции, для лечения которой применяются различные виды антисептиков. Пелоидотерапия реализуется в гастроэнтерологии, урологии, при лечении инфекционных заболеваний. Авторы поставили задачу разработать и испытать в клинике терапевтической стоматологии альтернативный метод воздействия обогащенных антоцианами глин на биоценоз системы корневых каналов и периапикальных тканей. Целью данного исследования было определить влияние антоцианов на бактерицидную активность глин Новонелидовского и Нечаевского месторождений Белгородской области в отношении биоценоза периапикальных тканей. Представлены результаты первого этапа разработки антисептика на основе глинистых минералов, обогащенных антоцианами. В отношении биоматериала, полученного из системы корневых каналов у пациентов, страдавших хроническим периодонтитом, выявлена различная бактерицидная способность исследуемых глин в зависимости от места их добычи и способа приготовления. Полученные результаты демонстрируют перспективность разработки средств антисептической обработки системы корневых каналов на основе природных ионитов, обогащенных антоцианами.

Ключевые слова: перспективные методы лечения периодонтита, бактерицидная активность глин, антоцианы, антисептическая обработка системы корневых каналов, пелоидотерапия.

Abstract: Teeth with the elements of destruction in the periapical area are centers of chronic infection, which is used to treat different types of antiseptics. Pelotherapy implemented in gastroenterology, urology, the treatment of infectious diseases. The authors set the task to develop and test in clinical dentistry an alternative method of exposure of anthocyanins-rich clays in the biocenosis of the root canal system and periapical tissues. The aim of this study was to determine the effect of anthocyanins on the bactericidal activity of clays from Novonelikidovskogo and Nechaevsky deposits of the Belgorod region on the biocenosis of periapical tissues. The results of the first phase of the development of antiseptic on the basis of clay minerals enriched in anthocyanins are presented. With respect to biological material derived from the root canal system in patients suffering from chronic periodontitis, revealed a different bactericidal capacity of the studied clays, depending on their place of production and method of preparation. These results demonstrate the promising perspectives in development of preparations for antiseptic treatment of the root canal system based on natural ion exchangers rich by anthocyanins.

Key words: perspective methods of treatment of periodontitis, bactericidal activity of clay, anthocyanins, antiseptic treatment of root canals system, pelotherapy.

Главным фактором неудачной эндодонтической терапии является устойчивое существование микробных ассоциаций внутри системы корневых каналов и в периапикальной области. Не вызывает сомнений тот факт, что достаточная чистота корневых каналов, достигнутая в процессе механиче-

ской и химической обработки, обуславливает ровное проведение терапии и снижает риск осложнений. Как направление оптимизации лечения периодонтитов представляется перспективным разработка и применение новых средств воздействия на микрофлору корневых каналов.

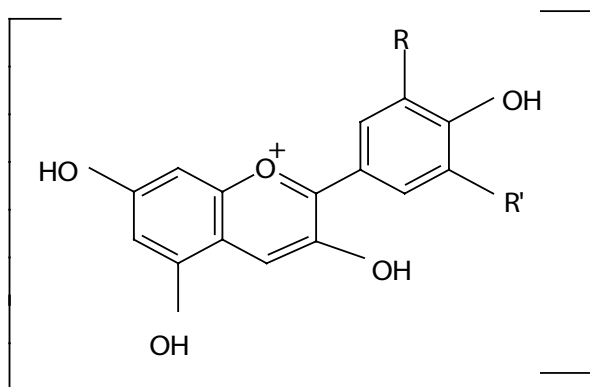


Рис. 1. Общая структурная формула антоцианидинов

Результат химической обработки системы корневых каналов и периапикальной области во многом зависит от концентрации применяемых растворов антисептиков. Растворы высоких концентраций начинают атаковать живые ткани, и чем выше концентрация, тем сильнее поражение витальных клеток [5]. В работах [10, 11] сообщается о том, что при этом возможны тяжелые повреждения периапикальных тканей в виде острого воспаления, болей, отеков. С этой точки зрения, в химии антисептических препаратов возникает объективное противоречие между необходимостью повысить терапевтический эффект разрабатываемых составов и возможностью ятрогенного повреждения периапикальных тканей.

Также в настоящее время, на основании социального отклика, все большую популярность приобретают медицинские технологии, в основе которых лежит экологический подход. Рассматриваются различные аспекты «...воздействия химической (лекарственной) нагрузки на организм человека, которая может быть уменьшена, если приложить усилия по реабилитации природной среды, внести коррекцию в мировоззрение людей, что значительно улучшит социальную и экономическую сферу их существования» [2, 9].

Понимая актуальность вышеуказанных аспектов, мы поставили задачу разработать и испытать в клинике

терапевтической стоматологии альтернативный метод воздействия на биоценоз системы корневых каналов и периапикальных тканей, удовлетворяющий современным требованиям и решающий описанные проблемы.

Обзор литературы свидетельствует о перспективности использования в качестве основы профилактических и лекарственных составов глинистых (слоистых) минералов. В целом идея пелоидотерапии не нова и реализуется в гастроэнтерологии [1, 4], урологии [3], при лечении инфекционных заболеваний [4, 6].

Глинистые минералы обладают ярко выраженными ионообменными свойствами, что совместно с малым размером частиц и высокой удельной поверхностью определяет их высокую адсорбционную способность. Известна возможность активации и модификации глини химическими реагентами, а также ее термическая обработка, что приводит к изменению характеристик порового пространства, адсорбционной емкости [7].

Учитывая данные литературы [12, 13] о бактериостатических свойствах антоцианов (рис. 1), в поисках желаемого антибактериального синергизма разрабатываемой композиции, в исследуемые глины для проведения сравнительного анализа добавлялся экстракт черной смородины.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить влияние антоцианов на бактерицидную активность глин Новонелидовского и Нечаевского месторождений Белгородской области в отношении биоценоза периапикальных тканей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Образцы глин обогащали методом отмучивания: к 50 г исходного материала добавляли дистиллированную воду в соотношении 1:5, тщательно перемешивали в течение 10 мин., полученную взвесь оставляли на 24 ч. Воду с осадка сливали декантацией, удаляя при этом большую часть водорастворимых солей. К остатку добавляли новую порцию дистиллированной воды в соотношении 1:30, тщательно перемешивали и оставляли на 0,5 ч. Верхнюю часть взвеси декантиро-

Таблица 1. Возможность глин, приготовленных различным образом, ингибировать рост микроорганизмов, полученных из корневых каналов пациентов группы А

Маркировка чашки	Пациент А1		Пациент А2		Пациент А3	
	КОЕ/мл	ингибирование роста, %	КОЕ/мл	ингибирование роста, %	КОЕ/мл	ингибирование роста, %
0	4,5	24,4	4,5	22,2	4,8	18,7
1	3,4		3,5		3,9	
0	4,2	40,4	4,5	44,4	4,7	44,6
2	2,5		2,5		2,6	
0	4,3	25,5	4,7	19,1	4,3	23,3
3	3,2		3,8		3,3	
0	4,5	35,6	4,5	37,6	4,8	39,5
4	2,9		2,8		2,9	

вали в сосуд для отстаивания тонкодисперсной глины, которую отделяли от воды декантацией и сушили при 100-110°C. Перед использованием высушенный материал растирали в порошок в фарфоровой ступке и просеивали через сито 0,1 мм.

Для приготовления экстракта 200 г измельченных ягод черной смородины заливали 200 мл 0,1 н HCl, и выдерживали в растворе для достижения полноты экстракции антоцианов в течение 24 ч. Экстракт отделяли от остатка фильтрованием через бумажный фильтр.

К 50 г сухой глины добавляли полученный экстракт, перемешивали в течение 30 мин. Смесь центрифугировали и раствор сливали с осадка (с глины с сорбированными антоцианами). Осадок высушивали на воздухе при $t^0 \sim 40^{\circ}\text{C}$ до воздушно-сухого состояния.

Для исследования брали биоматериал, полученный из корневого канала стерильными пинами-

абсорберами у пациентов: с обострением хронического фиброзного периодонтита – группа А (n = 3); с обострением хронического гранулирующего периодонтита – группа Б (n = 3); с обострением хронического гранулематозного периодонтита – группа В (n = 3). Диагностика хронического периодонтита осуществлялась согласно Международной классификации болезней Десятого пересмотра (1999) на основании анамнеза, осмотра пораженного зуба, данных рентгенодиагностики. Во всех случаях исследовался «закрытый» очаг инфекции.

Для накопления анаэробной микрофлоры посев осуществлялся в пробирки с тиогликолевой средой, которые помещались в термостат лабораторный с анаэробной газовой средой CO_2 MCO -15 AC (Sanyo Electric Co., Ltd., Япония) на 48 ч. Микроскопические исследования морфологических свойств возбудителя проводили с использованием микроскопа Микмед 6 (АО

Таблица 2. *Возможность глин, приготовленных различным образом, ингибировать рост микроорганизмов, полученных из корневых каналов пациентов группы Б*

Маркировка чашки	Пациент Б1		Пациент Б2		Пациент Б3	
	КОЕ/мл	ингибирование роста, %	КОЕ/мл	ингибирование роста, %	КОЕ/мл	ингибирование роста, %
0	4,7	28,0	4,1	21,9	4,4	20,5
1	3,4		3,2		3,5	
0	4,3	39,6	4,4	40,9	4,9	36,7
2	2,6		2,6		3,1	
0	4,4	31,8	4,2	16,7	4,8	18,8
3	3,0		3,5		3,9	
0	4,6	41,3	4,3	37,2	4,8	35,4
4	2,7		2,7		3,1	

Таблица 3. *Возможность глин, приготовленных различным образом, ингибировать рост микроорганизмов, полученных из корневых каналов пациентов группы В*

Маркировка чашки	Пациент В1		Пациент В2		Пациент В3	
	КОЕ/мл	ингибирование роста, %	КОЕ/мл	ингибирование роста, %	КОЕ/мл	ингибирование роста, %
0	4,5	31,1	4,4	25,0	4,6	30,4
1	3,1		3,3		3,2	
0	4,5	44,4	4,5	42,2	4,7	40,5
2	2,5		2,6		2,8	
0	4,4	27,3	4,3	23,3	4,4	29,5
3	3,2		3,3		3,1	
0	4,5	42,2	4,3	41,8	4,5	42,2
4	2,6		2,5		2,6	

«ЛОМО» Россия). Приготовленные препараты окрашивали по Граму. В культуральном материале обнаружены грамотрицательные анаэробные палочки. Наличие в препаратах грамотрицательных аспорогенных палочек, расположенных цепочками или в виде нитей, свидетельствует о возможном присутствии в материале бактериоидов или фузобактерий. Затем, для полуколичественного определения концентрации микроорганизмов, полученная анаэробная микрофлора каждого пациента засеивалась в четыре чашки Петри на плотную питательную среду (Вильсон-Блер, ППС-А 199), по 100 мкл в каждую чашку, разделенную на два равных сектора, в один из которых после посева была добавлено по 0,2 г различным образом обогащенной глины. Чашки (сектора) маркировались следующим образом: 0/1 – чистая глина новонелидовского месторождения; 0/2 – глина новонелидовского месторождения, обогащенная антоцианами; 0/3 – чистая глина нечаевского месторождения; 0/4 – глина нечаевского месторождения, обогащенная антоцианами. Индексом 0 отмечался сектор чашки, на поверхность которого глина не наносилась.

Культивирование анаэробов осуществлялось в анаэроstate при 37°C в течение 24 ч., после чего из полученного материала готовились препараты, которые окрашивались по Граму. Идентификация выделенных микроорганизмов проводилась на основании морфологических, культуральных признаков в соответствии с классификацией Берджи. Количество микроорганизмов в 1 мл материала, полученное в секторах чашек Петри пациентов, страдающих обострением хронического периодонтита, определялось в КОЕ/мл. Подсчет колоний микроорганизмов, выращенных в каждом из секторов, производили, пользуясь таблицей ориентировочных показателей обсемененности исследуемого материала согласно [8]. Критический уровень микроорганизмов в 1 мл исследуемого материала оставил в среднем 10^4 , в

глине, обработанной антоцианами, он был на порядок меньше и составил 10^3 .

В отношении биоматериала, полученного из системы корневых каналов, у пациентов, страдавших хроническим периодонтитом, выявлена различная бактерицидная способность исследуемых глин, зависящая от их места добычи и способа приготовления (табл. 1-3).

В группе А, по сравнению с чистыми секторами, в секторах, обработанных глинами, величина КОЕ/мл повсеместно снижалась. В чашках: 0/1 в среднем на 21,7%; 0/2 – на 43,1%; 0/3 – на 22,6%; 0/4 – на 37,5%.

В группе Б также произошло уменьшение величины КОЕ/мл в секторах, обработанных глиной. В чашках 0/1 в среднем на 23,4%; 0/2 – на 39,0%; 0/3 – на 22,4%; 0/4 – на 37,9%.

В группе В уменьшение величины КОЕ/мл в секторах, обработанных глиной, в среднем составило в чашках: 0/1 – 19,5%; 0/2 – 42,3%; 0/3 – 26,6%; 0/4 – 42,0%.

Выводы

1. Антоцианы усиливают бактерицидный потенциал глинистых минералов, причем ингибирование роста колоний микроорганизмов более выражено на поверхностях, обработанных глиной новонелидовского месторождения.

2. Полученные результаты демонстрируют перспективность разработки средств антисептической обработки системы корневых каналов на основе природных ионов, обогащенных антоцианами.

Поступила 02.03.2012

Координаты для связи с авторами:
308015, г. Белгород, ул. Победы, д. 85
НИУ «БелГУ»
Кафедра стоматологии

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- Дюбук Ж. П., Жером М. С., Триа Ж. М. Терапевтическое применение медицинских глин в гастроэнтерологии // Российский медицинский журнал. 2006. №1. С. 35-39.
- Djubuk Zh. P., Zherom M. S., Tria Zh. M. Terapevticheskoe primenenie medicinskih glin v gastroenterologii // Rossijskij medicinskij zhurnal. 2006. №1. С. 35-39.
- Захаров В. В., Козинец Г. И., Погорелов В. М., Высоцкий В. В., Оприщенко С. А. Кровь и лекарства (фармакология). – М.: Практическая медицина, 2008. – 272 с.
- Zaharov V. V., Kozinec G. I., Pogorelov V. M., Vysotskij V. V., Oprishchenko S. A. Krov' i lekarstva (farmekologija). – M.: Prakticheskaja medicina, 2008. – 272 s.
- Крайниченко С. В. Комплексное лечение больных хроническим абактериальным простатитом (III-b), осложненного сексуальными расстройствами с использованием пеллоидотерапии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Саратов, 2009. – 28 с.
- Krajnichenko S. V. Kompleksnoe lechenie bol'nyh hronicheskim abakterial'ny'm prostatitom (III-b), oslozhnennogo seksual'ny'mi rassstrojstvami s ispol'zovaniem peloidoterapii: Avtoref. dis. ... kand. med. nauk. – Saratov, 2009. – 28 s.
- Маев И. В., Самсонов А. А., Голубев Н. Н. Аспекты клинического применения энтеросорбента «Неосмектин» // Российский медицинский журнал. 2008. №2. С. 62.
- Maev I. V., Samsonov A. A., Golubev N. N. Aspekty klinicheskogo primeneniya enterosorbenta «Neosmektin» // Rossijskij medicinskij zhurnal. 2008. №2. С. 62.
- Рачитский Г. И., Чуев В. П., Камалов Р. Х., Сметаняк С. М., Колченко Л. А. Гипохлорит натрия в стоматологии // Стоматолог. 2006. №10. С. 51-54.
- Rachitskij G. I., Chuev V. P., Kamalov R. H., Smetanjak S. M., Kolchenko L. A. Gipohlorit natriza v stomatologii // Stomatolog. 2006. №10. С. 51-54.
- Токмалев А. К. Применение энтеросорбентов в лечении острых кишечных инфекций // Лечащий врач. 2001. №5. С. 1-6.

Tokmalev A. K. Primenenie enterosorbentov v lechenii ostryh kishechnykh infekcij // Lechashchij vrach. 2001. №5. С. 1-6.

7. Шумяцкий Ю. И., Афанасьев Ю. М. Адсорбция: процесс с неограниченными возможностями. – М.: Высшая школа, 1998. – 76 с.

Shumjackij Ju. I., Afanas'ev Ju. M. Adsorbcija: process s neogranichennymi vozmozhnostjami. – M.: Vysshaja shkola, 1998. – 76 s.

8. Калиниченко Н. Ф., Бирюкова С. В., Исаева С. Я. и др. Лабораторная диагностика гнойно-воспалительных заболеваний, обусловленных аспорогенными анаэробными микроорганизмами: Методические рекомендации. – Харьков: МЗ УССР, 1985. – 20 с.

Kalinichenko N. F., Birjukova S. V., Isaeva S. Ja. i dr. Laboratornaja diagnostika gnojno-vospalitel'nyh zabolevanij, obuslovlennyh asporogennymi anaerobnymi mikroorganizmami: Metodicheskie rekomendacii. – Har'kov: MZ USSR, 1985. – 20 s.

9. Gresham J. E. Effects of root canal irrigants // Br Dent J. 1983. Oct. 22. №155 (8). P. 259.

10. Hong S. I., Rhim J. W. Antimicrobial activity of organically modified nano-clays // J Nanosci Nanotechnol. 2008. Nov. №8 (11). P. 5818-5824.

11. Olivella S. M., Zarelli V. E. et al. A comparative study of bacteriostatic activity of synthetic hydroxylated flavonoids // Braz J of Microbiol. 2001. V. 32. P. 229-232.

12. Pratt D. E., Powers J. J., Spmaatmadja D., Anthocyanins. I. The influence of strawberry and grape anthocyanins on the growth of certain bacteria // J Food Sci. 1960. V. 25. P. 26-32.

13. Haydel S. E., Remenih C. M., Williams L. B. Broad-spectrum in vitro antibacterial activities of clay minerals against antibiotic-susceptible and antibiotic-resistant bacterial pathogens // J Antimicrob Chemother. 2008. Feb. №61 (2). P. 353-361.