

УДК 616.314-089.322-035

С.Н. Григоров, А.А. Стебляно

Харьковский национальный медицинский университет

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА ФИТОПРЕПАРАТОВ ДЛЯ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ В ХИРУРГИЧЕСКОЙ СТОМАТОЛОГИИ

Изучена антимикробная активность многокомпонентных фитосредств на спиртовой основе, содержащих комплексы лекарственных трав: «Стоматофит», «Стоматоклин» и «Фитодент» *in vitro* – методом диффузии в агар (методом «колодцев») и методом посева на жидкую среду с последующим высевом на плотную питательную среду в целях обоснования их применения в комплексном лечении острого гнойного одонтогенного периостита челюстей. Антимикробная активность к изучаемым микробным штаммам выявлена у всех исследуемых фитопрепаратов. Полученные результаты дают предпо-сылки для дальнейшего углубленного изучения многокомпонентных препаратов на растительной основе в качестве противомикробных средств в комплексном лечении воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области.

Ключевые слова: острый гнойный периостит челюстей, антимикробная активность, микробные штаммы, комплексные препараты на растительной основе.

В клинике хирургической стоматологии лечение пациентов с острыми гнойными воспалительными заболеваниями является одной из самых актуальных проблем [1, 2]. Традиционное лечение предполагает применение антибиотикотерапии. Однако прием препаратов, оказывающих тотальное антибактериальное действие, влияет на общий клеточный и гуморальный иммунитет, поэтому необходимо минимизировать негативные последствия для всего организма с сохранением имеющегося положительного эффекта. Для достижения оптимального результата лечения следует сократить во временном интервале послеоперационное воздействие антибактериальных препаратов на организм больного. Современный подход к лечению такого рода заболеваний подразумевает использование противовоспалительной, антибактериальной, десенсибилизирующей и противоотечной терапии [3–7].

Одними из важных моментов считают применение дополнительных средств медикаментозного лечения и качество послеоперационного лечения пациентов с гнойно-вос-

палительными заболеваниями стоматологического профиля [8, 9]. В комплексном лечении острого гнойного одонтогенного периостита челюстей в послеоперационном периоде одним из перспективных направлений сегодня является применение комбинированных препаратов из растительного сырья, обладающих обезболивающими, противомикробными и противовоспалительными свойствами. Использование таких препаратов позволяет одновременно воздействовать на различные звенья патогенеза и симптомы заболевания [10, 11].

Целью нашего исследования явилась оценка антимикробной активности некоторых комплексных препаратов на растительной основе *in vitro* для их последующего применения в клинической хирургической практике.

Материал и методы. Для изучения антимикробной активности были выбраны комплексные препараты на растительной основе «Стоматофит» (Фитофарм Кленка, Польша), «Стоматоклин» (ГНЦЛС, Украина), «Фитодент» (АО «Эффект», Украина). В качестве контроля использовали 40 и 70%-ный этило-

© С.Н. Григоров, А.А. Стебляно, 2016

вый спирт, поскольку все исследуемые препараты в своем составе содержат этиловый спирт, который также оказывает антимикробное действие. Содержание его в препарате «Стоматофит» – 70 %, в препаратах «Стоматоклин» и «Фитодент» – по 40 %.

Все изучаемые препараты являются многокомпонентными средствами на спиртовой основе, содержащими комплексы лекарственных трав, и разработаны специально для лечения воспалительных заболеваний полости рта. Их состав подобран таким образом, чтобы обеспечивать воздействие на различные группы микроорганизмов ротовой полости независимо от этиологического фактора, вызвавшего заболевание полости рта [9, 12].

«Стоматофит» представляет собой извлечение 70%-ным этиловым спиртом (0,65:1) из смеси семи видов лекарственного растительного сырья: коры дуба, цветков ромашки, травы арники, тимьяна обыкновенного, мяты перечной, листьев шалфея и корневища аира; оказывает противовоспалительное, антисептическое и вяжущее действие.

Действие препарата «Стоматоклин» обусловлено лечебным эффектом входящих в его состав компонентов: смеси жидких экстрактов корневища аира и бадана, корневища с корнями дягиля и кровохлёбки, цветков календулы и ромашки лекарственной, травы лабазника, лепестков розы, спирта этилового 40%-ного. Биологически активные вещества компонентов препарата способствуют купированию местного воспалительного процесса, создают оптимальные условия для усиления и ускорения заживления повреждённых тканей полости рта, обладают антисептическим, обеззараживающим, кровоостанавливающим и болеутоляющим свойствами, а также антимикробной активностью по отношению к патогенной микрофлоре.

«Фитодент» – комплексное лекарственное средство, содержащее активные растительные компоненты: корневище аира, цветки календулы, ромашки, софоры японской, листья крапивы и чистотела, плоды шиповника, а также спирт этиловый 40%-ный. Настойка «Фитодент» оказывает антисептическое, противомикробное, фунгицидное, противовоспалительное, антихолинэстеразное, репаративно-трофическое и гемостатическое действие.

В данном микробиологическом исследовании используемые препараты представлены в виде образцов: № 1 – «Стоматофит», № 2 – «Стоматоклин», № 3 – «Фитодент», № 4 – 40%-ный спирт (контроль), № 5 – 70%-ный спирт (контроль).

Антимикробную активность опытных образцов изучали *in vitro* методом диффузии в агар (методом «колодцев») в двух повторениях и методом посева на жидкую среду с последующим высевом на плотную питательную среду [13, 14].

Метод «колодцев» основан на способности исследуемых активно действующих веществ диффундировать в агаровую среду, которая предварительно инокулирована культурами микроорганизмов [14, 15]. Результаты исследований позволяют характеризовать как выраженность антимикробной активности препарата, так и способность антимикробных веществ высвобождаться из основы, поскольку зоны задержки роста микроорганизмов образуются в результате диффузии этих веществ в плотную питательную среду. Приготовленные образцы исследуемых препаратов хранили в условиях холодильника при температуре (5±3) °С. Антимикробную активность определяли сразу после приготовления образцов. Для этого использовали чистые культуры, стандартные тест-культуры, рекомендованные ВОЗ: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, а также дрожжеподобные грибы *Candida albicans* ATCC 885/653. Использовали 18–24-часовые культуры микроорганизмов, при этом культуру *Candida albicans* предварительно подращивали на среде Сабуро с 2%-ным раствором глюкозы, остальные культуры – на агаре Мюллера–Хинтона (HiMedia, Индия).

При проведении опытов использовали односуточные суспензии бактериальных микроорганизмов в физиологическом растворе и двухсуточную культуру *Candida albicans*. Микробная нагрузка представляла собой 10⁹ микробных клеток в 1 мл питательной среды (делали одномиллиардную взвесь в физиологическом растворе по стандарту мутности). В чашки Петри, установленные на горизонтальной поверхности, вносили по 10 мл рас-

плавленной «голодной» неинокулированной микроорганизмами агаризованной среды. После застывания слоя агара на его поверхность на равном расстоянии один от другого и от края чашки размещали 5 стерильных стальных тонкостенных цилиндров диаметром $(8,0 \pm 0,1)$ мм, высотой $(10,0 \pm 0,1)$ мм. Вокруг цилиндров заливали второй слой инокулированной питательной среды, который состоял из 13,5 мл расплавленного и охлажденного до 40–45 °С питательного агара и 1,5 мл микробной суспензии. При работе с бактериальными культурами для второго слоя использовали агар Мюллера–Хинтона, при работе с дрожжеподобными грибами – агар Сабуро. После застывания верхнего слоя агара цилиндры вынимали стерильным пинцетом и в полученные лунки вносили исследуемые образцы препаратов, полностью заполняя лунку (по 5 капель). Чашки Петри выдерживали на протяжении 30–40 минут при комнатной температуре и затем помещали в термостат при температуре 37 °С (бактериальные культуры – на 18–24 часа, культуру дрожжеподобных грибов – на 48 часов).

Результаты оценивали по диаметру зон задержки роста вокруг «колодца», включая и диаметр самого «колодца». В случае, когда зона угнетения роста имела различные полигональные формы, измеряли наибольший и наименьший диаметры зоны и вычисляли среднюю величину, которую и принимали за показатель. Отсутствие зон задержки роста микроорганизмов вокруг «колодца» указывало на то, что исследуемая культура нечувствительна к данному препарату. Зоны задержки роста диаметром более 10 мм указывали на чувствительность исследуемых культур к данному препарату. Чем больше зона задержки роста испытуемой культуры, тем выше её чувствительность к данному препарату [4, 12, 14].

Антимикробную активность исследуемых растительных препаратов в отношении эталонных штаммов микроорганизмов изучали методом посева на жидкую среду с последующим высевом на плотную питательную среду. Для этого проводили раститровку бактериальной культуры *Staphylococcus aureus*, так как её наиболее часто выделяют из очагов при острых одонтогенных воспалительных заболеваниях. Из суточной культуры, выросшей

на агаре Мюллера–Хинтона или Сабуро, делали одномиллиардную взвесь в физиологическом растворе по стандарту мутности, а затем титровали до 10^5 (рабочее разведение). В каждую пробирку (3 опытные и 3 контрольные) добавляли по 0,1 мл из раствора рабочего разведения. Контрольные пробирки: К1 – физиологический раствор + микробная взвесь; К2 – 40%-ный спирт + микробная взвесь; К3 – 70%-ный спирт + микробная взвесь; опытные пробирки: № 1 – стоматофит; № 2 – стоматоклин; № 3 – фитодент. Из К1 сразу делали высев на чашку с агаром. Затем все пробирки, в том числе и К1, ставили в термостат при температуре 37 °С на 24 часа. Высев на чашки с агаром из опытных и контрольных пробирок через 24 и 48 часов выполняли пипеткой (0,1 мл) и растирали шпателем по всей поверхности для получения изолированных колоний. Учет роста во всех случаях проводили через 24 часа после посева на плотную среду.

Исследование выполнено на кафедре клинической иммунологии и микробиологии Харьковской медицинской академии последипломного образования.

Результаты и их обсуждение. Результаты микробиологического исследования свидетельствовали о том, что при определении антимикробной активности опытных образцов *in vitro* методом диффузии в агар (методом «колодцев») в двух повторениях данных задержки роста микроорганизмов в виде ободка (кайма ~1 мм) не наблюдалось, кроме *B. subtilis* ATCC 6633, которые показали 15 мм (разница 6 мм с диаметром «колодца», составившим 6 мм).

Исходя из описанного, можно заключить, что методика исследования по изучению диаметра зон задержки роста вокруг «колодца» оказалась непоказательной, так как посева помещались в термостат при температуре 37 °С в течение 24 часов, что способствовало быстрому испарению спирта, который содержится в исследуемых комплексных препаратах на растительной основе.

Результаты, полученные при определении антимикробной активности растительных препаратов в отношении эталонных штаммов микроорганизмов методом посева на жидкую среду с последующим высевом на плотную питательную среду, иллюстрирует таблица.

Влияние исследуемых составов на рост колоний в чашках Петри в термостате (метод посева на жидкую среду с последующим высевом на плотную питательную среду)

Исследуемые составы	Число колоний при сроке исследования, ч	
	24	48
Физиологический раствор + микробная взвесь	537 колоний	853 колонии
40%-ный спирт + микробная взвесь	Роста нет	Роста нет
70%-ный спирт + микробная взвесь	Роста нет	Роста нет
«Стоматофит»	Роста нет	Роста нет
«Стоматоклин»	Роста нет	Роста нет
«Фитодент»	3 колонии	10 колоний

По данным таблицы, антимикробную активность проявили все исследуемые препараты. Отсутствие роста микроорганизмов отмечено через 24 и 48 ч при высеве на питательные среды комплексных препаратов на растительной основе «Стоматофит» и «Стоматоклин», лишь единичные колонии обнаружены при высеве препарата «Фитодент» – 3 и 10 колоний соответственно.

Выводы

Антимикробная активность установлена у всех исследуемых комплексных препаратов на растительной основе при использовании метода посева на жидкую среду с последующим высевом на плотную питательную среду, причем «Стоматофит» и «Стоматоклин» проявили более выраженную антимикробную активность к изучаемым микробным штаммам, чем препарат «Фитодент».

Метод «колодцев» для определения антимикробной активности комплексных пре-

паратов на растительной основе оказался непоказательным.

Перспективность дальнейших исследований. Полученные данные дают основание для дальнейшего углубленного изучения комплексных препаратов на растительной основе в качестве противомикробных препаратов для лечения острых гнойных одонтогенных периоститов, вызванных грамположительной и грамотрицательной микрофлорой.

Перспективным является исследование механизма действия отдельных компонентов изучаемых составов, помимо спиртовой основы при гнойных воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области.

Представляет интерес выбор оптимального разведения препаратов для дальнейшего изучения их антимикробной активности при гнойных воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области.

Список литературы

1. Тимофеев А. А. Руководство по челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии / А. А. Тимофеев. – [изд. 4-е, перераб. и доп.]. – К. : Червона Рута-Туре, 2004. – 1062 с.
2. Koerner K. R. Manual of minor oral surgery for the general dentist / K. R. Koerner. – Ames, Iowa : Blackwell Munksgaard, 2006. – 320 p.
3. Рациональная фармакотерапия в стоматологии : руководство для практикующих врачей / [Барер Г. М., Зорян Е. В., Агапов В. С. и др.] ; под ред. Г. М. Барера, Е. В. Зорян. – Рациональная фармакотерапия : серия руководств для практикующих врачей. – Т. 11. – М. : Литтерра, 2006. – 568 с.
4. Микроэкология полости рта и ее роль в развитии стоматологических заболеваний : монография / [В. С. Крамарь, С. В. Дмитриенко, Т. Н. Климова и др.]. – Волгоград : Бланк, 2010. – 250 с.
5. Коломиец Л. И. Комплексное лечение больных острым одонтогенным периоститом, альвеолитом, острым и обострившимся хроническим перикоронаритом с применением диметилсульфоксида, эктерицида и оксациллина : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук : спец. 14.00.21 «Стоматология» / Л. И. Коломиец. – К., 1983. – 20 с.
6. Чекмарева И. А. Процессы репаративной регенерации в ранах при лечении биологически активными перевязочными средствами (экспериментально-морфологическое исследование) : автореф. дис. на соискание ученой степени д-ра биол. наук : спец. 03.00.25 «Гистология, цитология, клеточная биология» / И. А. Чекмарева. – М., 2002. – 40 с.

7. *Branstetter B. F.* Infection of the facial area, oral cavity, oropharynx, and retropharynx / B. F. Branstetter, J. L. Weissman // *Neuroimaging Clinics of North America*. – 2003. – V. 13, № 3. – P. 393–410.
8. Клиника, диагностика, лечение и профилактика воспалительных заболеваний лица и шеи : руководство для врачей / под ред. А. Г. Шаргородского. – М. : ГЭОТАР-МЕД, 2002. – 528 с.
9. *Максимовский Ю. М.* Препарат «Стоматофит» в комплексном лечении воспалительных заболеваний пародонта / Ю. М. Максимовский, Т. Д. Чиркова, М. А. Ульянова // *Пародонтология*. – 2008. – № 4 (49). – С. 3–6.
10. *Николаев Н. А.* Алгоритмы эмпирической антибактериальной терапии в амбулаторной стоматологической практике / Н. А. Николаев, В. Б. Недосеко // *Клиническая стоматология*. – 2003. – № 4. – С. 32–36.
11. *Анисимова И. В.* Клиника, диагностика и лечение заболеваний слизистой оболочки полости рта / И. В. Анисимова, В. Б. Недосеко, Л. М. Ломиашвили. – М. : Медицинская книга, 2008. – 194 с.
12. Можливості використання препаратів на основі лікарських рослин у практиці лікаря-стоматолога / О. В. Ганчо, Т. М. Мошель, Т. Д. Бублій, Е. В. Ніколішина // *Питання експериментальної та клінічної стоматології : зб. наук. праць*. – Вип. 12. – Харків : ХНМУ, 2016. – С. 53–58.
13. *Павлович С. А.* Микробиология с вирусологией и иммунологией / С. А. Павлович. – Минск : Высшая школа, 2005. – С. 754–756.
14. *Маслій Ю. С.* Мікробіологічне обґрунтування вибору АФІ та їх концентрації у складі стоматологічного гелю / Ю. С. Маслій, О. А. Рубан, О. П. Стрілець // *Український біофармацевтичний журнал*. – 2017 – № 1 (48). – С. 54–59.
15. *Поздеев О. К.* Медицинская микробиология / О. К. Поздеев ; [под ред. акад. РАМН В. И. Покровского]. – М. : ГЭОТАР-МЕД, 2002. – 768 с.

С.М. Григоров, А.О. Стеблянко

МІКРОБІОЛОГІЧНЕ ОБґРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ФІТОПРЕПАРАТІВ ДЛЯ КЛІНІЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ У ХІРУРГІЧНІЙ СТОМАТОЛОГІЇ

Вивчено антимікробну активність багатокомпонентних фітозасобів на спиртовій основі, що містять комплекси лікарських трав: «Стоматофит», «Стоматоклін» та «Фітодент» – *in vitro* методом дифузії в агар (методом «колодязів») і методом посіву на рідке середовище з подальшим висівом на щільне живильне середовище з метою обґрунтування їх застосування в комплексному лікуванні гострого гнійного одонтогенного періоститу щелеп. Антимікробна активність до досліджуваних мікробних штамів виявлена в усіх досліджуваних фітопрепаратах. Отримані результати дають передумови для подальшого поглибленого вивчення багатокомпонентних препаратів на рослинній основі як протимікробних засобів в комплексному лікуванні запальних захворювань щелепно-лицьової ділянки.

Ключові слова: *гострий гнійний періостит щелеп, антимікробна активність, мікробні штами, комплексні препарати на рослинній основі.*

S.N. Grigоров, A.O. Steblyanko

MICROBIOLOGICAL SUBSTANTIATION OF THE SELECTION OF PHYTOPREPARATES FOR CLINICAL APPLICATION IN OPERATIVE DENTISTRY

Antimicrobial activity of multicomponent phytopreparations on an alcohol basis containing herbal complexes «Stomatophyte», «Stomatoklin», «Phytodent» – was studied *in vitro* by diffusion into agar (well method) and by seeding on a liquid medium followed by sowing on a dense nutrient medium to justify their use in complex treatment of acute purulent odontogenic periostitis of jaws. Antimicrobial activity to the studied microbial strains was detected in all studied phytopreparations. The obtained results provide conditions for further enhanced study of multicomponent phytopreparates on a plant basis as antimicrobial agents in complex treatment of inflammatory diseases in maxillofacial region.

Keywords: *acute purulent periostitis of jaws, antimicrobial activity, microbial strains, complex preparates on plant basis.*

Поступила 27.10.16