

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Лашко И.С.¹, Царев В.Н.², Олесов Е.Е.¹, Миргазизов М.З.¹, Глазкова Е.В.¹, Олесова В.Н.¹

СРАВНИТЕЛЬНОЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИКРОФЛОРЫ ПОЛОСТИ РТА К ПРЕПАРАТАМ КРЕЗАЦИН ДЕНТА И МЕТРОГИЛ ДЕНТА

¹ Академия постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, 125371, г. Москва;

² Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, 127473, г. Москва

Средства антисептического воздействия на микрофлору полости рта при лечении пародонтита постоянно совершенствуются в связи с негарантированностью результатов лечения и полиэтиологичностью заболевания. Проведено микробиологическое исследование по обоснованию антимикробного действия препарата Крезацин дента различной концентрации по отношению к ряду пародонтопатогенов и грибов рода Candida. Активными веществами Крезацин дента являются крезацин – 3 или 5% и метронидазол. Исследование проведено в биореакторе с автоматическим определением оптической плотности культуры пародонтопатогенов в присутствии препаратов. Проведено идентичное исследование препаратом Метрогил дента. Установлено, что Метрогил дента практически не влияет на культуру Candida albicans, в то время как Крезацин дента в концентрации 0,5 и 1,5% подавляет рост Candida albicans на 13,6%, а в более выраженных концентрациях – до 26,6%. Относительно S. Aureus, Метрогил дента снижает оптическую плотность культуры указанного пародонтопатогена на 34,7%, Крезацин дента – на 49,8% в концентрации 5,0%. Так, S. Constellatus снижал свою концентрацию в присутствии Метрогила дента на 12,4%, тогда как в присутствии Крезацина дента – на 30,9%, начиная с концентрации 3%. Таким образом, можно констатировать более выраженное антимикробное действие Крезацина дента в сравнении с Метрогилом дента.

Ключевые слова: микрофлора; чувствительность; Метрогил дента; Крезацин дента.

Для цитирования: Лашко И.С., Царев В.Н., Олесов Е.Е., Миргазизов М.З., Глазкова Е.В., Олесова В.Н. Сравнительное микробиологическое исследование чувствительности микрофлоры полости рта к препаратам крезацин дента и метрогил дента. *Российский стоматологический журнал*. 2019; 23 (3-4): 149-152. <http://dx.doi.org/10.18821/1728-2802-2019-23-3-4-149-152>

Lashko I.S.¹, Tsarev V.N.², Olesov E.E.¹, Mirgazizov M.Z.¹, Glazkova E.V.¹, Olesova V.N.¹

COMPARATIVE MICROBIOLOGICAL RESEARCH OF SENSITIVITY OF MICROFLORA OF THE ORAL CAVITY TO THE DRUGS KREZACIN DENTA AND METROGYL DENTA

¹Academy of Postgraduate Education FSBI FNCC FMBA of Russia, 125371, Moscow;

²Moscow State Medical-Dental University named after A.I. Evdokimov 127473, Moscow

Means of antiseptic effects on the microflora of the oral cavity in the treatment of periodontitis are constantly being improved in connection with the non-guaranteed treatment results and the polyetiology of the disease. A microbiological study was conducted to substantiate the antimicrobial effect of the drug Krezacin denta of different concentrations in relation to a number of periodontopathogens and fungi of the genus Candida. The active substances of Krezacin dent are Krezacin 3% or 5% and metronidazole. The study was conducted in a bioreactor with automatic determination of the optical density of the culture of periodontopathogens in the presence of drugs. An identical study was conducted using the drug Metrogil dent. It was found that Metrogil denta has practically no effect on the culture of Candida albicans, while Krezacin denta inhibits the growth of Candida albicans at a concentration of 0.5% and 1.5% by 13.6%, and in more pronounced concentrations - up to 26, 6% Regarding S.aureus, Metrogil denta reduces the optical density of the culture of the indicated periodontopathogen by 34.7%, Krezacin denta by 49.8% at a concentration of 5.0%. S. Constellatus decreased its concentration in the presence of Metrogyl dent by 12.4%, while in the presence of Krezacin dent by 30.9%, starting from a concentration of 3%. Thus, we can state a more pronounced antimicrobial effect of Krezacin dent in comparison with Metrogil dent.

Key words: microflora; sensitivity; Metrogil denta; Krezacin denta.

For citation: Lashko I.S., Tsarev V.N., Olesov E.E., Mirgazizov M.Z., Glazkova E.V., Olesova V.N. Comparative microbiological research of sensitivity of microflora of the oral cavity to the drugs Krezacin denta and Metrogyl denta. *Rossiyskii stomatologicheskii zhurnal*. 2019; 23(3-4): 149-152. <http://dx.doi.org/10.18821/1728-2802-2019-23-3-4-149-152>

For correspondence: Olesova Valentina Nikolaevna, Dr. Med. Sci., professor, E-mail: olesova@implantat.ru

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 03.03.2019

Accepted 16.04.2019

Проблема эффективности лечения заболевания пародонта не теряет своей актуальности в связи с чрезвычайной распространенностью пародонтита, недостаточной культурой гигиенического ухода за

полостью рта, а также с невысокой эффективностью местных противомикробных средств при лечении заболеваний пародонта [1, 2]. Общеизвестна этиология микрофлоры полости рта в развитии гингивита и пародонтита [3–5].

Поиск новых препаратов для местного лечения и профилактики заболеваний пародонта продолжается.

Для корреспонденции: Олесова Валентина Николаевна, д-р мед. наук, профессор, E-mail: olesova@implantat.ru

Привлекают внимание потенциальные возможности препарата Крезацин дента – иммуностимулирующего препарата синтетического происхождения для местного применения в стоматологии. Активными веществами Крезацина дента являются: трис (2-гидроксиэтил) аммония, орто-крезоксацетат (крезацин 3% или 5%) и метронидазол. Крезацин дента разработан в НИИ химии и технологии элементоорганических соединений в дополнение к ранее разработанному иммуномодулятору и адаптагену Трекрезан, промышленно выпускаемому в таблетированной форме. Трекрезан стимулирует выработку альфа и гамма интерферонов, влияет на иммунный статус организма за счет активации клеточного и гуморального звеньев иммунитета, стимулирует фагоцитарную активность макрофагов. Эффективность Крезацин дента изучена недостаточно, в частности, требуются микробиологические исследования по изучению влияния препарата на микрофлору полости рта.

Цель исследования – изучение чувствительности ряда пародонтопатогенов и грибов рода *Candida* к Крезацину дента разной концентрации в сравнении с Метрогилом дента, а также к хвойному препарату Комплекс хвойный CGNC.

Материал и методы

В данной статье приведены результаты микробиологического исследования относительно следующих штаммов микроорганизмов: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus constellatus*, *Candida albicans*. Штаммы выделяли и культивировали в соответствии с практическими рекомендациями [6, 7]. В экспериментальной части использовали биореактор «Реверс-Спиннер RTS-1» (BioSan, Латвия). Результаты интерпретировали по изменению оптической плотности культуры микроорганизмов (OD) при длине волны $\lambda = 850$ нм. Оценка контроля роста соответствующего вида бактерий отражалась в изменении параметров оптической плотности, на основании которых была построена кривая с фазами роста микроорганизмов: адаптивная (лаг-фаза), экспоненциальная (лог-фаза), стационарная, отмирания.

Изучались следующие концентрации Крезацина дента в культуральной среде: 0,5, 1,5, 3,0, 3,0 (Oil) и 5,0% (соответственно образцы под маркировкой К-1, К-2, К-3, К-4, К-5). Для сравнения взят известный комбинированный противомикробный препарат Метрогил дента, в состав которого входят два антибактериальных компонента: метронидазол и хлоргексидин (образец М-6). Кроме того, изучен хвойный препарат – 5,0% Комплекс хвойный CGNC на основе хлорофиллокаротиновой пасты.

Результаты исследования

По результатам культивирования референтного штамма *S. aureus* (см. рисунок а на вклейке) в контрольной пробирке адаптивная фаза отмечалась до 2 ч культивирования. Явных периодов развития бактериальных клеток (период первоначального роста и ускоренного развития) не наблюдается, и экспоненциальная фаза отмечена резким и интенсивным скачком оптической плотности вследствие максимальной

скорости развития культуры, при которой интервалы между появлением предыдущего и последующего поколения оставались относительно постоянны. Продолжительность экспоненциальной фазы – 2–6 ч; максимальный пиковый показатель в окончании истинного логарифмического прироста – $2,54 \pm 0,3$ mcf (показатель α). Начиная с 6-го часа культивирования, отмечается снижение скорости бактериального прироста, в результате которого популяция перешла в отрицательное ускорение (до 14-го часа), после чего была достигнута М-концентрация – $3,33 \pm 0,3$ mcf (показатель β). С 14-го по 20-й час отмечается стационарное развитие культуры. В данной фазе количество вновь образовавшихся клеток равно количеству отмерших и автолизированных (разрушенных клеточными ферментами). Средний показатель оптической плотности в данной фазе – $3,23 \pm 0,3$ mcf. Общее время культивирования 48 ч.

В образцах К-1 и К-2 отмечалось снижение скорости генерации новых популяций в период экспоненциального развития. В окончании истинного прироста клеток отмечено снижение показателя оптической плотности относительно контрольного образца, однако существенной достоверной разницы между данными образцами не отмечалось. Период отрицательного ускорения также был укорочен относительно контрольной пробирки и относительно друг к другу (К-1 – до 10 ч; К-2 – до 12 ч). М-концентрация: К-1 – $2,7 \pm 0,3$ mcf; К-2 – $2,67 \pm 0,3$ mcf. Стационарная фаза характерна для контрольного образца с суммарным средним показателем оптической плотности по двум образцам – $2,68 \pm 0,3$ mcf.

В исследуемых образцах К-3 и К-4 отмечалось наличие периода ускоренного развития клеток (2–4 ч), что способствовало задержке наступления фазы экспоненциального развития. Логарифмическая фаза и период отрицательного ускорения по своей тенденции совпадала с характером развития клеток в контрольном образце, однако показатель β был немного ниже. Средний суммарный показатель оптической плотности для двух образцов – $2,93 \pm 0,3$ mcf.

В образце К-5 также, как и в предыдущих образцах, отмечался период ускоренного развития, что и способствовало задержке наступления экспоненциальной фазы. Истинный логарифмический прирост в данном образце незначителен, и максимальный показатель оптической плотности в данном периоде (показатель α) – $1,39 \pm 0,3$ mcf (8-й час). Продолжительность периода отрицательного ускорения сопоставима с предыдущими образцами с последующим выходом культуры в стационарное равновесие. Средний показатель оптической плотности в стационарной фазе – $1,62 \pm 0,3$ mcf.

В исследуемом образце сравнения (М-6) отмечалась существенная пролонгация начальных этапов развития бактериальных клеток (удлинение периодов первоначального роста и развития), однако по истечении экспоненциальной фазы пиковый показатель оптической плотности был достоверно выше в сравнении с образцом К-5. Сохранялась М-концентрация и при стационарном равновесии на длительном временном промежутке. Средний показатель оптической плотности в стационарной фазе – $2,11 \pm 0,3$ mcf.

По результатам культивирования клинического изолята *S. constellatus* (см. рисунок б на вклейке) в контрольной пробирке адаптивная фаза продолжалась до 2-го часа культивирования. На промежутке с 2-го по 4-й час эксперимента отмечалось изменение показателя оптической плотности в связи с первоначальным развитием бактериальных клеток, а с 4-го по 6-й час – по причине логарифмического роста. Экспоненциальный скачок сопровождался резким изменением оптической плотности с последующим резким снижением скорости генерации новых популяций. Максимальный показатель оптической плотности в окончании данного периода (показатель α) – $1,68 \pm 0,3$ mcf (6 ч).

Начиная с 7-го часа культивирования, отмечается период отрицательного ускорения, обусловленный истощением питательной среды и накоплением в культуральной жидкости токсических веществ, которые способствовали ингибированию процессов развития культуры. На 8-м часу отмечалось достижение М-концентрации (наивысшее накопление микробной массы в единице объема). Стационарная фаза характеризовалась продолжительным течением, незначительным колебанием оптической плотности со средним показателем – $1,78 \pm 0,3$ mcf. Общее время культивирования 48 ч.

В исследуемых образцах К-1 и К-2 отмечалось пролонгирование фазы адаптации микробных клеток до 6-го часа культивирования. На промежутке 4–6 ч. выявлено наличие первоначального роста клеток, а явный период ускоренной генерации не прослеживался, тем самым культура сразу перешла в логарифмический период. Скорость генерации новых популяций в экспоненциальной фазе была сопоставима с контрольным образцом. Максимальный показатель оптической плотности в окончании лог-периода: образец К-1 – $1,84 \pm 0,3$ mcf (12-й час), образец К-2 – $1,28 \pm 0,3$ mcf (10-й час). Период отрицательного ускорения нестабильный, со скачкообразным возрастанием оптической плотности, удлиннен по сравнению с контрольным образцом. Переход культуры в стационарное равновесие также был более поздним – 14-й час, продолжительностью 4 ч. Средний суммарный показатель оптической плотности для данных образцов – $1,43 \pm 0,3$ mcf, что на 19% ниже, чем в контрольном образце.

В образцах К-3 и К-4 наблюдалась аналогичная тенденция к задержке наступления фаз развития популяции, причем как относительно контрольного образца, так и образцов К-1 и К-2. Истинный логарифмический период укорочен, и средний показатель оптической плотности в положении α – $0,98 \pm 0,3$ mcf (10-й час). В течение 6 ч у образца К-3 отмечается фаза отрицательного ускорения с последующим достижением М-концентрации (показатель β) на 16-й час эксперимента – $1,24 \pm 0,3$ mcf. Образец К-4 имел диауксийный период развития клеток (14–16-й час) с последующим резким выходом в стационарное равновесие. Средний показатель оптической плотности в стационарной фазе (для данных образцов) – $1,23 \pm 0,3$ mcf, что ниже на 30% в сравнении с контрольным образцом.

В образце К-5 отмечалась задержка адаптивного периода до 6-го часа эксперимента. Логарифмическая

фаза по-своему характеру не отличалась от контрольного образца, правда, была немного короче. После 8-го часа культивирования культура перешла в отрицательное ускорение, однако увеличение биомассы продолжалось интенсивно, что и было отмечено по показателю оптической плотности при достижении М-концентрации – $1,27 \pm 0,3$ mcf (12-й час).

Образец М-6 также показал задержку лаг-фазы, однако скорость развития клеток в экспоненциальном периоде была почти сопоставима с контрольным образцом. Пиковый показатель оптической плотности в точке α – $1,45 \pm 0,3$ mcf (8-й час), что существенно выше, чем в предыдущих образцах. Стационарная фаза – продолжительная – до 22-го часа. Средний показатель оптической плотности в стационарной фазе – $1,56 \pm 0,3$ mcf.

По результатам культивирования клинического изолята *C. albicans* (см. рисунок в на вклейке) адаптивная фаза в контрольной пробирке отмечалась до 4-го часа культивирования. На графике кривой роста отчетливо наблюдается период начального развития популяции – 4–9-й час. Экспоненциальное развитие клеток отмечалось скачкообразным увеличением показателя оптической плотности до 14-го часа эксперимента, с максимальным показателем оптической плотности на пике данного периода – $6,08 \pm 0,3$ mcf. Период перед достижением показателя β (М-концентрация) был длителен, с постепенным снижением скорости генерации новых популяций. Пик данного периода отмечали спустя сутки от начала эксперимента, с показателем – $7,52 \pm 0,3$ mcf. Стационарная фаза средняя по продолжительности, со средним показателем оптической плотности – $7,94 \pm 0,3$ mcf. Общее время культивирования – 48 ч.

По результатам культивирования исследуемых образцов К-1 и К-2 отмечалась пролонгация адаптивной фазы до 8 и 10-го часа соответственно. Продолжительность и тенденция генерации новых клеток в период ускоренного развития и в лог-фазе совпадала с контрольным образцом, однако общий валовый показатель прироста был ниже и составил: для образца К-1 – $5,78 \pm 0,3$ mcf (18-й час), для образца К-2 – $5,73 \pm 0,3$ mcf (24-й час). Начало и продолжительность стационарного равновесия клеток также были укорочены, но наблюдался небольшой прирост биомассы. Средний показатель оптической плотности для двух образцов – $6,86 \pm 0,3$ mcf.

По результатам культивирования исследуемых образцов К-3 и К-4, также, как и в предыдущих образцах прослеживалась тенденция к задержке фазы интенсивного развития (до 8-го часа). Экспоненциальная фаза была укорочена по времени относительно контроля, и пиковый показатель оптической плотности в окончании интенсивного деления клеток (для двух образцов) – $5,12 \pm 0,3$ mcf (16-й час). Период отрицательного ускорения почти отсутствовал с последующим наступлением стационарной фазы. Средний показатель оптической плотности (суммарный для двух образцов) – $5,83 \pm 0,3$ mcf. В образце К-3 в период стационарного равновесия наблюдался линейный тип прироста клеток (до 38-го часа).

В образце К-5 отмечалось небольшое удлинение адаптивной фазы, и показатели роста клеток были

близки к образцам К-1 и К-2. Пик логарифмического роста отмечен на 16-й час культивирования с показателем оптической плотности $5,48 \pm 0,3$ мсф. Средний показатель в стационарной фазе развития – $6,32 \pm 0,3$ мсф. На промежутке стационарного равновесия, аналогично образцу К-3, отмечался линейный характер развития культуры.

В образце М-6 тенденция развития клеток во всех периодах и фазах была аналогична контрольной пробирке. Показатели оптической плотности достоверно не отличались от контрольного образца.

В пробирке с культурой *S. aureus* при добавлении 5,0% Комплекса хвойного CGNC отмечается пролонгация фазы адаптации до 6-го часа культивирования в сравнении с контролем. Фаза ускоренного роста прослеживается в течение последующих 2 ч, с последующим началом логарифмического роста. Экспоненциальная фаза непродолжительная и имеет пониженный показатель оптической плотности. Начиная с 10-го часа культивирования скорость генерации новых популяций в данной пробирке начала постепенно снижаться и с 12-го часа отмечается фаза замедленного роста культуры. Максимальный пиковый показатель оптической плотности в окончании логарифмического роста – $2,34 \pm 0,3$ мсф. В фазе линейного роста культуры (12–22-й час) отмечается понижение скорости деления клеток, и выход в стационарный рост отмечен с показателем оптической плотности $3,2 \pm 0,3$ мсф. Средний показатель в стационарной фазе – $3,18 \pm 0,3$ мсф.

В культуре *S. Constellatus* в присутствии 5,0% Комплекса хвойного CGNC отмечается пролонгация фазы адаптации до 8-го часа культивирования. Экспоненциального увеличения бактериальной популяции не наблюдается вследствие преобладания линейного роста популяций. Окончание интенсивного роста и переход в стационарную фазу отмечается с 22-го по 26-й час эксперимента. Средний показатель оптической плотности для образца $2,38 \pm 0,3$ мсф.

В культуре *C. albicans* при добавлении 5,0% Комплекса хвойного CGNC адаптивная фаза и фаза ускоренного роста не отличались от предыдущих образцов. Логарифмический рост характеризуется падением скорости бактериального прироста пикового значения оптической плотности $2,9 \pm 0,3$ мсф (20-й час). Средний показатель оптической плотности в стационарной фазе – $3,1 \pm 0,3$ мсф.

Заключение

Гель Метрогил дента практически не оказывает влияния на культуру клинического изолята *C. albicans*, поскольку показатель оптической плотности культуры в присутствии Метрогила дента не отличается от контрольного, в то время как Крезацин дента в концентрации 0,5 и 1,5% подавляет рост *C. albicans* в на 13,6%, а в более выраженных концентрациях – до 26,6%. Относительно *S. aureus* Метрогил дента снижает оптическую плотность культуры указанного пародонтопатогена на 34,7%, Крезацин дента – на 49,8% в концентрации 5,0%. *Constellatus* снижал свою концентрацию в присутствии Метрогила дента на 12,4%, тогда как в присутствии Крезацина дента – на 30,9%, начиная с концентрации 3%.

Комплекс хвойный CGNC характеризуется большим влиянием на *C. Albicans*.

Таким образом, можно констатировать более выраженное антимикробное действие Крезацина дента в сравнении с Метрогилом дента, а также антигрибковое действие Комплекса хвойного CGNC.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Грудянов А. И. *Заболевания пародонта*. Москва: Медицинское информационное агентство; 2009.
2. Усманова И.Н., Кабирова М.Ф., Хуснарзанова Р.Ф., Сафиуллина Р.А. Особенности микробного пейзажа полости рта при хроническом гингивите и пародонтите у лиц молодого возраста. *Актуальные вопросы стоматологии: сборник Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 85-летию со дня рождения профессора Г.Д. Овруцкого*. Казань; 2013: 298–301.
3. Царев В.Н., Арутюнов С.Д., Малазония Т.Т. и др. Оценка антимикробного действия фотодинамической терапии на возбудителей неклостридиальной анаэробной инфекции пародонта в экспериментальных и клинических исследованиях. *Клиническая стоматология*. 2015; 4: 14–9.
4. Богачева Н.В., Тунева Н.А. Изучение микробной ассоциации зубодесневых карманов у больных хеликобактериозом. *Вятский медицинский вестник*. 2018; 3(59): 85–90.
5. Разина И.Н., Чеснокова М.Г., Недосеко В.Б. Влияние фотодинамической терапии на эпителиально интегрированную микробиоту тканей пародонта при лечении хронического генерализованного пародонтита. *Лазерная медицина*. 2014; 3 (18):13–7.
6. Давыдова М.М., Плахтий Л.Я., Царев В.Н. Методы микробиологического исследования, применяемые в стоматологии. *Микробиология, вирусология, иммунология полости рта*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013: 223–68.
7. Ушаков Р.В., Царев В.Н. *Антимикробная терапия в стоматологии. Принципы и алгоритмы*. М.: Практическая медицина; 2019: 36–42.

REFERENCES

1. Grudyanov A.I. *Periodontal disease*. Moscow: MIA; 2009. (in Russian)
2. Usmanova I.N., Kabirova M.F., Khusnarizanova R.F., Safiullina R.A. Features of the microbial landscape of the oral cavity in chronic gingivitis and periodontitis in young people. *Actual issues of dentistry: a collection of the All-Russian Scientific and Practical Conference dedicated to the 85th anniversary of the birth of Professor G.D. Ovrutsky*. Kazan; 2013: 298-301. (in Russian)
3. Tsarev V.N., Arutyunov S.D., Malazonia T.T., et al. Evaluation of the antimicrobial effect of photodynamic therapy on causative agents of non-clostridial anaerobic periodontal infection in experimental and clinical studies. *Klinicheskaya stomatologiya*. 2015; 4: 14–9. (in Russian)
4. Bogacheva N.V., Tuneva N.A. Study of the microbial association of periodontal pockets in patients with helicobacteriosis. *Vyatskiy meditsinskiy vestnik*. 2018; 3 (59): 85–90. (in Russian)
5. Razina I.N., Chesnokova M.G., Nedoseko V.B. The effect of photodynamic therapy on the epithelially integrated microbiota of periodontal tissues in the treatment of chronic generalized periodontitis. *Lazernaya meditsina*. 2014; 3 (18): 13–7. (in Russian)
6. Davydova M.M., Plakhtiy L.Ya., Tsarev V.N. Methods of microbiological research used in dentistry. *Mikrobiologiya, virusologiya, immunologiya polosti rta*. Moscow: GEOTAR-Media; 2013: 223–68. (in Russian)
7. Ushakov R.V., Tsarev V.N. *Antimicrobial therapy in dentistry. Principles and Algorithms*. Moscow: Prakticheskaya meditsina; 2019: 36-42. (in Russian)

Поступила 03.03.2019

Принята в печать 16.04.2019