

Źródło: <http://www.czytelniamedyczna.pl/2380,dzialanie-dentoseptu-a-na-bakterie-beztlenowe-wyodrebnione-z-zakazen-w-obrebie-j.html>

© Borgis - Postępy Fitoterapii 1/2006, s. 11-15

*Anna Kędzia

Działanie Dentoseptu A na bakterie beztlenowe wyodrębnione z zakażeń w obrębie jamy ustnej

The activity of Dentosept A against anaerobic bacteria isolated from infections of oral cavity

Zakład Mikrobiologii Jamy Ustnej AM w Gdańsku

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Anna Kędzia

Summary

The sensitivity to Dentosept A (Phytopharm, Klęka) 118 strains of anaerobic bacteria isolated from 21 patients with infections of oral cavity were tested. The susceptibility (MIC) anaerobes were determined by means of plate dilution technique in Brucella agar supplemented with 5% defibrinated sheep blood. Inoculum containing 10^6 CFU per spot were seed with Steers replicator upon the surface of agar. Incubation was performed for 48 h. at 37°C in anaerobic jar containing 10% CO₂, 10% H₂ and 80% N₂, in presence of palladium catalyst and indicator of anaerobiosis. The MIC was interpreted as the lowest concentration Dentosept A inhibiting the growth of anaerobic bacteria. The results of investigations indicated, strains belonging to genera Prevotella (40%) and Porphyromonas (33%) were the most sensitive to Dentosept A (MIC in ranges =0,6-1,2 mg/ml). The strains from genera of Fusobacterium (25%, MIC=0,6-1,2 mg/ml) and Bacteroides (38%, MIC=1,2 mg/ml) were less sensitive to his drug. From among Gram-positive anaerobic bacteria the most sensitive were the strains belonging to genera Eubacterium (100%, MIC=0,6 mg/ml) and Micromonas (50%, MIC =0,6-2,5 mg/ml). The strains of Veillonella spp. Were much less susceptible to Dentosept A. MIC of the strains were in the ranges 5,0–20,0 mg/ml.

Key words: anaerobes, antibacterial activity, infections of oral cavity, dentosept a.

Informacje o stosowaniu ziół zostały znalezione już w starożytnym Egipcie, w napisach umieszczonych na ścianach świątyń lub grobowców pochodzących z 300 r. p.n.e. Natomiast znaleziony przez Georga Ebersa w 1872 r. 20-metrowy papirus pochodzący z 1550 r. p.n.e. zawierał opisy 190 roślin wykorzystywanych w leczeniu przez egipskich kapłanów. Dzieła opisujące wiele roślin napisali Arystoteles ze Stagiry (384-322 r. p.n.e.) oraz Teofrast z Erosom (372-287 r. p.n.e.). Abu Ali ibn Sina, zwany Avicenną (980-1037) scharakteryzował ponad 400 roślin z terenów Azji i Europy w dziele pt. „Canon medicine”. Claudius Galenus (130-210), uważany za „ojca medycyny rzymskiej” opisał preparaty z ziół do przygotowania których użyto wody lub wina. Natomiast Teofrastus Bombastus Paracelsus (1495-1541) był twórcą teorii, że nie cała roślina leczy, ale zawarte w niej składniki, które należy wyodrębnić.

Obecnie coraz częściej zarówno w profilaktyce, jak i w terapii różnych schorzeń w obrębie jamy ustnej, stosuje się preparaty roślinne. Leki te zwykle nie wywołują niepożądanych objawów i wspomagają oddziaływanie stosowanych równocześnie leków syntetycznych. W stomatologii znajdują zastosowanie preparaty ziołowe działające przeciwdrobnoustrojowo, przeciwkrwotocznie, przeciwzapalnie i immunomodulująco. Leki te są produkowane w formie płynów do płukania, tabletek do ssania, maści i żeli. Szereg substancji roślinnych, w tym olejki eteryczne, dodawanych jest do leczniczych past do zębów i płynów antyseptycznych.

Wśród preparatów stosowanych w różnych schorzeniach jamy ustnej są też Dentosept i Dentosept A (Phytopharm, Klęka). Oba preparaty zawierają płynne wyciągi: z kory dębu, koszyczków rumianku, liści szalwii (po 13,0 g); wyciągi z kwiatów arniki, kłączy tataraku, ziela mięty i tymianku (po 6,5 g), standaryzowanych na zawartość olejków eterycznych (nie mniej niż 0,25%) i garbników (mniej niż 1,5%). Preparaty zawierają między innymi: garbniki, cyneol, pinen, triterpeny, kwasy fenolowe, alkohole seskwiterpenowe i flawonoidy. Olejki eteryczne, pochodzące z ziela tymianku, liści mięty i szalwii, kwiatów arniki i kłączy tataraku, wywierają działanie przeciwbakteryjne i przeciwzapalne (1,

3, 4, 7, 10, 11, 12, 14, 16, 17, 19). Dentosept A (100,0 g) poza głównym składnikiem, którym jest Dentosept (50,0 g), zawiera dodatkowo boraks (4,0 g), metylocelulozę (1,5 g), anestezynę (2,0 g), wodę destylowaną (24,45 g), glicerynę (14,0 g) i etanol 95° (4,05 g). Dentosept A różni się od Dentoseptu przede wszystkim zawartością anestezyny, która działa miejscowo znieczulająco i boraksem działającym odkażająco, a także substancjami zagęszczającymi, wpływającymi na zwiększenie przyczepności preparatu do tkanek, co przedłuża jego obecność w miejscu zapalenia i zwiększa skuteczność działania. Przeciwwzpalne i ściągające działanie preparatu jest możliwe dzięki synergistycznemu oddziaływaniu składników zawartych w Dentosepcie. Dentosept A stosowany jest miejscowo do pędzlowania w stanach zapalnych błony śluzowej jamy ustnej, ropnym zapaleniu dziąseł, chorobach przyzębia, zapaleniach języka, w aftach, stomatopatiach protetycznych, zakażeniach okołoinplantowych i innych zakażeniach bakteryjnych i grzybiczych jamy ustnej. Celem badań była ocena wrażliwości na Dentosept A bakterii beztlenowych wyizolowanych z różnych zakażeń w obrębie jamy ustnej.

Materiał i metody

Materiały do badań pobrano od 21 pacjentów z zapaleniem przyzębia (5 osób), z owrzodzeniem błony śluzowej jamy ustnej (5), z ropnym zapaleniem dziąseł (4), ze stomatopatią protetyczną (4) i z zakażeniem okołoinplantowym (3). Próbkę pobierano aseptycznie i umieszczano w płynie transportowym, przygotowanym metodą PRAS, który zapewniał warunki beztlenowe (1). Materiał po ujednoczeniu (mieszalnik mimośrodowy) posiewano na powierzchni jednego podłoża wzbogaconego z dodatkiem 5% odwłóknionej krwi baraniej i 6 podłoży selektywnych (1). Hodowlę próbek prowadzono przez 10 dni w temperaturze 37°C, w anaerostatach zawierających mieszaninę gazów: 10% CO₂, 10% H₂ i 80% N₂ oraz katalizator palladowy i wskaźnik warunków beztlenowych (1). Wyhodowane drobnoustroje były identyfikowane według schematów przedstawionych w Virginia Anaerobe Laboratory Manual (2), Bergey's Manual (3), z uwzględnieniem najnowszych zmian taksonomicznych (4). W ocenie bakterii beztlenowych brano pod uwagę cechy morfologiczne, fizjologiczne i biochemiczne (z wykorzystaniem testów API 20A i innych, oznaczaniem wytworzonych z glukozy kwasów tłuszczowych od C₁ do C₆, kwasu mlekowego i bursztynowego) oraz zdolności kolonii do naturalnej fluorescencji w promieniach UV (5).

Ocenie wrażliwości poddano 118 szczepów bakterii beztlenowych należących do następujących rodzajów: *Bacteroides* (10 szczepów), *Dialister* (5), *Porphyromonas* (15), *Prevotella* (28), *Fusobacterium* (12), *Veillonella* (3), *Anaerococcus* (1), *Fingoldia* (4), *Micromonas* (10), *Peptoniphilus* (1), *Peptostreptococcus* (1), *Ruminococcus* (2), *Propionibacterium* (11), *Actinomyces* (8), *Eubacterium* (4), *Clostridium* (3) oraz 4 szczepy wzorcowe: *Bacteroides fragilis* ATCC 25285, *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, *Propionibacterium acnes* ATCC 11827 i *Peptostreptococcus anaerobius* ATCC 27337.

Wrażliwość (MIC) bakterii beztlenowych na Dentosept A badano metodą seryjnych rozcieńczeń w agarze. Rozcieńczenia preparatu przygotowywano w jałowej wodzie bezpośrednio przed doświadczeniem. Następnie odpowiednie stężenia Dentoseptu A dodawano do agaru Brucela zawierającego 5% odwłóknionej krwi baraniej (5, 6). *Inokulum* zawierające 10⁶ żywych komórek bakteryjnych w 1 ml przenoszono za pomocą inokulatora Steersa na powierzchnię podłoży z odpowiednimi rozcieńczeniami preparatu oraz bez preparatu (kontrola wzrostu szczepu). Inkubację podłoży prowadzono przez 48 godzin w temp 37° C w anaerostatach w warunkach beztlenowych. Za najmniejsze stężenie hamujące (MIC) przyjęto takie rozcieńczenie preparatu, które całkowicie hamowało wzrost badanych bakterii beztlenowych.

Wyniki i ich omówienie

Uzyskane wyniki badań wrażliwości bakterii beztlenowych na Dentosept A zostały zebrane w dwóch tabelach. Z tabeli 1 wynika, że spośród Gram-ujemnych bakterii beztlenowych największą wrażliwość na oceniany preparat wykazały pałeczki z rodzaju *Prevotella*. Stężenia wynoszące od ≤0,6 do 1,2 mg/ml hamowały wzrost 10 szczepów (40%), a kolejne stężenie (2,5 mg/ml) wzrost 6 szczepów (21%). Natomiast 5 (18%) szczepów wymagało do zahamowania wzrostu wysokich stężeń (≥20 mg/ml). Niskie stężenia preparatu, w zakresie ≤0,6 do 1,2 mg/ml hamowały wzrost 33% szczepów pałeczek *Porphyromonas* i 25% szczepów z rodzaju *Fusobacterium*. Jednak dla 5 (42%) szczepów

wrzecionowców oraz 3 (33%) szczepów z rodzaju *Prevotella* stężenie hamujące wzrost szczepów wynosiło ≥ 20 mg/ml lub więcej. Na niskie stężenia preparatu (1,2 mg/ml) były wrażliwe 3 (38%) szczepy z rodzaju *Bacteroides*, które słyną z wysokiej oporności na częściej stosowane antybiotyki. W zakresie stężeń wynoszących od 1,2 do 5 mg/ml Dentosept A hamował wzrost 7 (70%) szczepów tych pałeczek. Dwa szczepy wymagały do zahamowania wzrostu stężeń w wysokości ≥ 20 mg/ml.

Tabela 1. Wrażliwość na Dentosept A Gram-ujemnych bakterii beztlenowych.

Drobnoustroje	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenia hamujące MIC [mg/ml]						
		$\leq 0,6$	1,2	2,5	5,0	10,0	15,0	$\geq 20,0$
<i>Bacteroides fragilis</i>	2						1	1
<i>Bacteroides forsythus</i>	6		3	1	1			1
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	2			1		1		
<i>Dialister pneumosintes</i>	5			1		1		3
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	2				1			1
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	13	1	4		1	3		4
<i>Prevotella bivia</i>	1					1		
<i>Prevotella buccalis</i>	2			2				
<i>Prevotella denticola</i>	2		1	1				
<i>Prevotella heparinolytica</i>	1					1		
<i>Prevotella intermedia</i>	16	9		2		2		3
<i>Prevotella oralis</i>	3	1						2
<i>Prevotella oris</i>	3			1		2		
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	8	2		1	1		1	3
<i>Fusobacterium mortiferum</i>	2							2
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	1				1			
<i>Fusobacterium russii</i>	1		1					
Gram-ujemne pałeczki ogółem	70	13	9	10	5	11	2	20
<i>Veillonella atypica</i>	2				1			1
<i>Veillonella parvula</i>	1							1
Gram-ujemne bakterie łącznie	73	13	9	10	6	11	2	22

Spośród Gram-ujemnych bakterii beztlenowych najmniej wrażliwe na oceniany preparat były szczepy ziarniaków z rodzaju *Veillonella* i pałeczek z rodzaju *Dialister*. Wzrost wszystkich badanych szczepów z rodzaju *Veillonella* był hamowany w zakresie stężeń wynoszących od 5,0 do ≥ 20 mg/ml, a szczepów z rodzaju *Dialister* w zakresie od 2,5 do ≥ 20 mg/ml. Wykonane wcześniej badania oceniające wrażliwość beztlenowców na Dentosept wskazują, że wykazał on największą aktywność wobec szczepów z rodzaju *Bacteroides* oraz *Porphyromonas* (7). Wzrost 50% i 43% wymienionych pałeczek odpowiednio, był hamowany w stężeniach wynoszących $\leq 0,6$ mg/ml. Wynika z tego, że oba preparaty

wykazały wysoką aktywność wobec pałeczek *Porphyromonas*, które często uczestniczą w zakażeniach w obrębie jamy ustnej. Natomiast oba preparaty były najmniej aktywne wobec szczepów z rodzaju *Veillonella* oraz szczepów laseczek z rodzaju *Clostridium* (7).

Z danych zgromadzonych w tabeli 2 wynika, że wśród Gram-dodatnich bakterii beztlenowych nieznacznie bardziej niż pałeczki były wrażliwe ziarniaki. Wzrost 4 (21%) szczepów był hamowany w zakresie stężeń wynoszących od $\leq 0,6$ do 1,2 mg/ml, a tylko 3 (15%) w stężeniach ≥ 20 mg/ml. Pozostałe szczepy wymagały do zahamowania wzrostu stężeń w zakresie od 2,5 do 10 mg/ml. Wśród ziarniaków najbardziej wrażliwe na oceniany preparat okazały się szczepy z gatunku *Micromonas micros*, z których połowa była wrażliwa na niskie stężenia preparatu w zakresie $\leq 0,6$ -2,5 mg/ml. Jedynie 2 szczepy wymagały do zahamowania wzrostu stężeń w wysokości ≥ 20 mg/ml. Podobnie było w przypadku Dentoseptu, który także w niskich stężeniach ($\leq 0,6$ -1,2 mg/ml) był skuteczny wobec Gram-dodatnich ziarniaków (39% szczepów wrażliwych) (7).

Tabela 2. Wrażliwość na Dentosept A Gram-dodatnich bakterii beztlenowych.

Drobnoustroje	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenia hamujące MIC [mg/ml]						
		$\leq 0,6$	1,2	2,5	5,0	10,0	15,0	$\geq 20,0$
<i>Anaerococcus prevotii</i>	1						1	1
<i>Fingoldia magna</i>	4		3	1	1			1
<i>Micromonas miros</i>	10			1		1		
<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>	1			1		1		3
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1				1			1
<i>Ruminococcus productus</i>	2	1	4		1	3		4
Gram-dodatnie ziarniaki ogółem	19	13	9	10	5	11	2	20
<i>Propionibacterium acnes</i>	8					1		
<i>Propionibacterium granulosum</i>	1			2				
<i>Propionibacterium propionicus</i>	2		1	1				
<i>Actinomyces israelii</i>	4					1		
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	2	9		2		2		3
<i>Actinomyces viscosus</i>	2	1						2
<i>Eubacterium alactolyticum</i>	2			1		2		
<i>Eubacterium lentum</i>	2	2		1	1		1	3
Gram-dodatnie pałeczki ogółem	23							2
<i>Clostridium spp.</i>	3				1			
Gram-dodatnie bakterie łącznie	45		1					

Dentosept A okazał się najmniej aktywny wobec Gram-dodatnich pałeczek z rodzaju *Propionibacterium*. Wśród nich 45% szczepów wymagało do zahamowania wzrostu stężeń w zakresie od 5,0 do 10,0 mg/ml, a pozostałe 20 mg preparatu w 1ml lub więcej. Natomiast szczepy promieniowców charakteryzowały się jedynie nieznacznie niższą wrażliwością, w porównaniu z

rodzajem *Propionibacterium*. Połowa szczepów była wrażliwa w zakresie stężeń od 2,5 do 10,0 mg/ml, a pozostałe szczepy na stężenia wynoszące ≥ 20 mg/ml. Podobnie jak w przypadku bakterii Gram-ujemnych zauważa się też różnice we wrażliwości bakterii Gram-dodatnich na działanie poszczególnych preparatów. Wobec Gram-dodatnich pałeczek bardziej aktywny był Dentosept w porównaniu z Dentoseptem A. Oceniane szczepy z rodzaju *Propionibacterium* i *Actinomyces* były wrażliwe na niskie stężenia Dentoseptu w zakresie $\leq 0,6$ do 1,2 mg/ml w odsetku wynoszącym 37% (7). W podobnym zakresie stężeń Dentosept A nie hamował wzrostu Gram-dodatnich pałeczek z wymienionych wyżej rodzajów.

Wyhodowane z badanych materiałów laseczki z rodzaju *Clostridium* były wrażliwe na Dentosept A w zakresie stężeń wynoszących 1,2-5,0 mg/ml. Znacznie mniej wrażliwe były one na Dentosept (10^{-2} do 10^{-4} mg/ml) (7).

Wzrost szczepów wzorcowych był hamowany w stężeniach wynoszących ≥ 20 mg/ml, poza *Peptostreptococcus anaerobius* ATCC 27337, który był wrażliwy na 10,0 mg Dentoseptu A w 1 ml. Podsumowując uzyskane wyniki, należy zaznaczyć, że Gram-ujemne bakterie beztlenowe okazały się bardziej wrażliwe na Dentosept A w porównaniu z drobnoustrojami Gram-dodatnimi. W zakresie niskich stężeń hamował on wzrost 30% spośród badanych Gram-ujemnych bakterii i 20% spośród wszystkich ocenianych drobnoustrojów Gram-dodatnich. Natomiast najwyższe testowane stężenie, wynoszące ≥ 20 mg/ml, hamowało wzrost podobnej liczby szczepów tych bakterii (30% i 29% odpowiednio).

Biorąc pod uwagę fakt, że w praktyce stosuje się preparat nierozcieńczony, skuteczność jego działania wobec bakterii beztlenowych należy ocenić jako wysoką. Może on być stosowany pomocniczo w profilaktyce i leczeniu różnych zakażeń w obrębie jamy ustnej.

Wnioski

1. Najbardziej wrażliwe na Dentosept A okazały się szczepy z rodzaju *Prevotella*, *Porphyromonas* i *Eubacterium*.
2. Szczepy z rodzaju *Veillonella* charakteryzowały się najniższą wrażliwością na oceniany preparat.
3. Preparat wykazał dużą aktywność wobec badanych drobnoustrojów beztlenowych.
4. Dentosept A może być stosowany pomocniczo zarówno w profilaktyce jak i w terapii różnych zakażeń w obrębie jamy ustnej.

Piśmiennictwo

1. Kałowski M., Kędzia A.: Nieprzetrwalnikujące drobnoustroje beztlenowe. W: Diagnostyka mikrobiologiczna w medycynie. (red. W. Kędzia) PZWL, Warszawa 1990.
2. Holdeman L.V., Cato E.P., Moore W.E.C.: Anaerobe Laboratory Manual. V.P.I. Blacksburg 4th ed., Baltimore M.D., Virginia 1977.
3. Holt J.G.: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Williams and Wilkins ed. 9th ed., Baltimore M.D. 1993.
4. Olsen I., Shah H.N.: Review and outcome of the Meetings held in Manchester, UK, June 2000 by the International Committee on the Systematic of Prokaryotes Subcommittee on the Taxonomy of Gram-negative Anaerobic Rods. *Anaerobe*, 2001,7,329-331.
5. Wexler H.M., Finegold S.M.: Antibacterial susceptibility tests: anaerobic bacteria. *Manual of Clinical Microbiology*. Balows ed. Am.Soc.Microbiol., 5th ed., Washington 1991, 1133-1137.
6. Baron E.J., Finegold S.M.: *Bailey and Scotts Diagnostic Microbiology*. C.M. Mosby Co., 8th ed. St Louis 1990.
7. Kędzia A.: Działanie Dentoseptu na bakterie beztlenowe wyizolowane z kieszonek dziąsłowych. *Czas. Stomat.*, 2000, LIII,8,487-492.

otrzymano: 2005-02-14

zaakceptowano do druku: 2005-10-21

Adres do korespondencji:

*Anna Kędzia

Zakład Mikrobiologii Jamy Ustnej AM w Gdańsku

ul. Smoluchowskiego 14, 80-214 Gdańsk

tel. (0-58) 349-21-85

e-mail: zmju@amg.gda.pl