

УДК 616.314-008.8-022.7-053.2-085.218-085.849.19

Назарян Р.С.<sup>1</sup>, д.мед.н., проф., Філімонова Н.І.<sup>2</sup>, д.мед.н., проф.,Спірідонова К.Ю.<sup>1</sup>, асист.<sup>1</sup>Харківський національний медичний університет<sup>2</sup>Національний фармацевтичний університет, ХарківNazaryan R.S.<sup>1</sup>, Filimonova N.I.<sup>2</sup>, Spiridonova K.Yu.<sup>1</sup><sup>1</sup>Kharkiv National Medical University<sup>2</sup>National University of Pharmacy, Kharkiv

## Фотодинамічна інактивація інфекційних агентів зубного нальоту Photodynamic Inactivation of Infectious Agents of Dental Plaque

Адреса для кореспонденції:  
Спірідонова Ксенія Юріївна  
e-mail: ksushaS\_87@mail.ru

**МЕТА:** Визначити та оптимізувати умови для фотодинамічної інактивації патогенної мікрофлори зубного нальоту поєднаною дією лазерного випромінювання синього спектра та розчину етакридину лактату. **МЕТОДИ:** Матеріал для досліджень відбирали у 90 пацієнтів без супутньої соматичної патології, віком 6–7 років. Збір матеріалу проводили з використанням стандартних стоматологічних інструментів. Виконали мікробіологічне дослідження антимікробного впливу фотодинамічної терапії на мікробіоценоз зубного нальоту, порівнюючи дані контролю (контролем слугували суспензії бактерій, які не обробляли сенсibiliзатором і не піддавали опроміненню) і досліду (після лазерного опромінення, застосування фотосенсибілізатора та опромінення фотосенсибілізованих клітин). **РЕЗУЛЬТАТИ:** Проведені дослідження показали, що лазерне випромінювання з довжиною хвилі 445 нм не має антибактеріальної дії на мікрофлору зубного нальоту. Встановлено, що збільшення тривалості опромінення не впливає на появу антибактеріального ефекту. В результаті серії досліджень нами встановлені часові межі (60 с) використання розчину етакридину лактату як фотосенсибілізатора для проведення антимікробної фотодинамічної терапії. Вивчення комбінованого впливу 0,1% водного розчину етакридину лактату і лазерного випромінювання синього спектра довело виражену антимікробну дію, що проявляється зниженням мікробного числа, було встановлено умови для фотодинамічної інактивації інфекційних агентів зубного нальоту. Зіставляючи дані контролю (початкове число колоній, що виростили) і кількість колоній, що виростили після проведення фотодинамічної терапії, встановлено, що антимікробна дія перебуває у безпосередній залежності від тривалості опромінення. **ВИСНОВКИ:** Під час дослідження була встановлена виражена антимікробна дія поєднаного застосування розчину етакридину лактату та лазерного світла синього спектра на мікрофлору зубного нальоту. Визначені умови для фотодинамічної інактивації інфекційних агентів зубного нальоту: 0,1% розчин етакридину лактату (тривалість експозиції 60 с) з подальшим опроміненням лазерним світлом з довжиною хвилі 445 нм протягом 120 с.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** антимікробна фотодинамічна терапія, лазерне опромінення, фотосенсибілізатор, мікрофлора зубного нальоту, антимікробна дія, етакридину лактат.

**PURPOSE:** To identify and optimize the conditions for photodynamic inactivation of pathogenic microflora of dental plaque by combined using of laser radiation and ethacridine lactate solution. **Methods:** The material for the study was collected from 90 patients without somatic pathology at the age of 6-7 years. Material made using standard dental instruments. Comparing the data control (the initial number of grown colonies) and experience (the number of colonies grown after using laser radiation, ethacridine lactate solution and photoactivated disinfection)

we study antibacterial action of photoactivated disinfection of microflora of dental plaque. **RESULTS:** Studies have shown that the laser radiation with a wavelength of 445 nm doesn't have antibacterial effect of microflora of dental plaque. It was found that increasing the exposure time of using laser radiation does not cause antibacterial activity. In a series of studies, we established maximally possible time of influence of ethacridine lactate solution as a photosensitizer for antimicrobial photodynamic therapy. This time was 60 seconds. Has been established antimicrobial action of the combined combined using of laser radiation and ethacridine lactate solution, which is manifested decrease in the total number of microbial and identify the conditions for photodynamic inactivation of infectious agents of dental plaque. Comparing the data control (the initial number of grown colonies) and experience (the number of colonies grown after the antimicrobial photodynamic therapy) we found that antibacterial action of antimicrobial photodynamic therapy depends on the duration of exposure. **CONCLUSIONS:** Thus, the experiment was found that the combined use of ethacridine lactate solution and blue laser radiation has antimicrobial effect. Conditions have been identified for photodynamic inactivation of infectious agents of dental plaque: 0,1% ethacridine lactate solution (exposure time of 60 seconds) and laser radiation with a wavelength of 445 nm 120 seconds.

**KEY words:** antimicrobial photodynamic therapy, laser radiation, photosensitizer, microflora of dental plaque, antimicrobial action, ethacridine lactate.

## Вступ

Зниження карієсогенних властивостей зубного нальоту при профілактиці та лікуванні карієсу зубів є важливим напрямком, зважаючи на мікробну етіологію розвитку цього захворювання [4, 7].

Серед методів спрямованого впливу на склад і властивості зубної бляшки важливе місце належить місцевим антисептикам [1, 10]. Застосовувані в стоматології традиційні засоби і методи антимікробної терапії мають недостатню ефективність, особливо при наявності резистентних штамів, та низку побічних ефектів: призводять до розвитку мікробної стійкості або, навпаки, знищення всього біотопу порожнини рота [8], що спонукало до пошуку нових методів антимікробного впливу. Одним із них є антимікробна фотодинамічна терапія, що ґрунтується на селективному знищенні патогенної мікрофлори, сенсibilізованої спеціальними препаратами і активованої лазерним світлом з відповідною довжиною хвилі [2, 3, 9].

Як фотосенсibilізатори найчастіше виступають ароматичні сполуки (барвники), що мають інтенсивні сму-

ги поглинання у видимому світлі та ультрафіолетовому діапазоні видимого світла [5]. У стоматологічній практиці застосовується комбінація 2% розчину метиленового синього та лазерного випромінювання з довжиною хвилі 620–660 нм, що, звісно, створює певні труднощі у зв'язку з ймовірністю забарвлення твердих тканин зубів. У літературі є дані, що свідчать про можливість застосування розчину етакридину лактату як фотосенсibilізатора та лазерного випромінювання з довжиною хвилі 400–500 нм [6]. Мета дослідження – визначити та оптимізувати умови для фотодинамічної інактивації патогенної мікрофлори зубного нальоту поєднаним впливом лазерного випромінювання синього спектра та розчину етакридину лактату.

## Матеріал і методи

Матеріал для досліджень відбирали у 90 пацієнтів віком 6–7 років без супутньої соматичної патології. Забір матеріалу робили з використанням стандартних стоматологічних інструментів.

Для вивчення антимікробної дії низькоінтенсивного лазерного ви-

промінювання сукупну мікрофлору зубного нальоту поміщали у 0,9 мл цукрового бульйону. Мікродозатором по 0,05 мл висівали на чашки Петрі з 5% кров'яним агаром. Одна крапля, що не піддавалась опроміненню, слугувала контролем. Краплі в інших чашках піддавали дії лазерного випромінювання синього спектра з довжиною хвилі 445 нм, щільність потужності 100 мВт/см<sup>2</sup> (як джерело світла використовували напівпровідниковий лазерний терапевтичний апарат Ліка-терапевт М, «Фотоника Плюс», Україна) в різних режимах (30, 60 та 120 с). Після цього матеріал ретельно розподіляли шпателем по поверхні агару. Чашки поміщали у термостат на 24–36 годин при 37 °С, потім підраховували кількість колоній (КУО/мл).

Для вивчення антимікробної дії фотосенсibilізатора (0,1% розчин етакридину лактату) мікрофлору зубного нальоту емульгували в 0,9 мл цукрового бульйону. Мікродозатором забирали 0,05 мл, висівали на чашку Петрі з 5% кров'яним агаром. Цей висів слугував контролем. Згодом у пробірку вносили 0,1 мл 0,1% водного розчину етакридину лактату. Після закінчення часу експозиції (30, 60,

90 та 120 с) мікродозатором по 0,05 мл висівали на чашки Петрі з 5% кров'яним агаром. Далі матеріал ретельно розподіляли шпателем по поверхні агару. Чашки поміщали в термостат на 24–36 годин при 37 °С, після чого підраховували кількість колоній (КУО/мл).

Для вивчення антимікробної дії фотоактивованої дезінфекції сукупну мікрофлору зубного нальоту поміщали в 0,9 мл цукрового бульйону. У пробірку вносили 0,1 мл 0,1% водного розчину етакридину лактату (тривалість експозиції 60 с). Після закінчення періоду сенсibilізації з пробірки мікродозатором відбирали суспензію об'ємом 0,05 мл і вносили на поверхню чашки з 5% кров'яним агаром. Дослідні чашки Петрі піддавали дії низькоінтенсивного лазерного випромінювання синього спектра з довжиною хвилі 445 нм (щільність потужності 100 мВт/см<sup>2</sup>). Тривалість дії становила 60 і 120 с. Після опромінення матеріал ретельно розподіляли шпателем по поверхні агару. Чашки поміщали в термостат на 24–36 годин при 37 °С, після чого підраховували число колоній, що вирости. Порівнюючи дані контролю (контролем слугували суспензії бактерій, які не обробляли сенсibilізатором і не піддавали опроміненню) і досліді (після опромінення фотосенсibilізованих клітин), можна судити про дію лазерного випромінювання на сенсibilізовану розчином етакридину лактату мікрофлору зубного нальоту.

### Результати та їх обговорення

При вивченні впливу лазерного випромінювання на мікрофлору зубного нальоту в різних часових режимах встановлено, що в усіх випадках кількість КУО/млу контролю –  $5,6 \pm 0,84 \times 10^3$  незначно відрізняється від значень, отриманих після опромінення протягом 30, 60 та 120 секунд ( $5,56 \pm 0,86 \times 10^3$

КУО/мл,  $5,56 \pm 0,84 \times 10^3$  КУО/мл та  $5,52 \pm 0,84 \times 10^3$  КУО/мл, відповідно, ( $p > 0,05$ ), що свідчить про відсутність антибактеріальної дії лазерного випромінювання. Отже, збільшення тривалості опромінення не призводить до появи антибактеріального ефекту. Враховуючи те, що 0,1% водний розчин етакридину лактату має антисептичні властивості, необхідно встановити оптимальний час його дії як фотосенсibilізатора. У результаті серії досліджень встановлено, що дія 0,1% водного розчину етакридину лактату впродовж 30 с не супроводжується вираженою кількісною зміною мікробної популяції. Так, кількість колоній, що зросли без обробки розчином етакридину лактату становила  $5,6 \pm 0,84 \times 10^3$  КУО/мл, кількість колоній після обробки –  $5,44 \pm 0,82 \times 10^3$  КУО/мл ( $p > 0,05$ ). Встановлено, що 0,1% водний розчин етакридину лактату при експозиції 60 с пригнічує, однак не припиняє росту бактерій зубного нальоту: мікробне число становило  $3,48 \pm 0,58 \times 10^3$  КУО/мл. Визначено, що 90-секундна експозиція

розчину етакридину лактату має бактерицидну дію на мікроорганізми і зниження мікробної популяції від  $5,6 \pm 0,84 \times 10^3$  КУО/мл у контролі до  $2,74 \pm 0,42 \times 10^3$  КУО/мл у досліді ( $p < 0,05$ ). Подальше збільшення тривалості експозиції розчину етакридину лактату до 120 с не підвищує його антимікробних властивостей: кількість КУО/мл становить  $2,72 \pm 0,42 \times 10^3$ .

Під час дослідження встановлено, що етакридину лактат має виражену протимікробну дію стосовно грампозитивних бактерій та дуже незначну антимікробну дію стосовно грамнегативних бактерій, а також щодо антибіотикочутливих та лікарськостійких штамів бактерій.

Отримані результати дали підстави встановити часові межі (60 с) використання розчину етакридину лактату як фотосенсibilізатора для проведення фотоактивованої дезінфекції. У результаті вивчення комбінованого впливу 0,1% водного розчину етакридину лактату і лазерного випромінювання синього спектра була встановлена виражена антимікроб-

**Таблиця.** Характеристика антимікробної дії фотоактивованої дезінфекції на мікрофлору зубного нальоту фісур перших постійних молярів залежно від тривалості експозиції (n=15)

№ досліді	Концентрація бактерій КУО/мл $\times 10^3$		
	Контроль	Етакридину лактат 60 с + НІЛВ 60 с	Етакридину лактат 60 с + НІЛВ 120 с
1	3,22±0,02	0,16±0,01	0,03±0,01
2	6,21±0,02	1,6±0,04	0,35±0,02
3	2,45±0,02	0,83±0,04	0,16±0,01
4	1,7±0,03	0,39±0,03	0,17±0,01
5	5,4±0,02	1,15±0,06	0,51±0,01
6	6,47±0,02	1,4±0,02	0,37±0,01
7	8,26±0,02	2,0±0,01	0,5±0,004
8	5,77±0,02	1,14±0,02	0,21±0,01
9	14,38±0,02	2,49±0,08	1,05±0,02
10	0,51±0,01	0,09±0,004	0,005±0,002
11	5,97±0,02	1,2±0,01	0,33±0,02
12	6,68±0,05	1,48±0,03	0,66±0,02
13	4,25±0,02	0,91±0,04	0,22±0,02
14	6,97±0,02	1,36±0,02	0,39±0,01
15	5,64±0,02	1,15±0,03	0,17±0,01
Середнє значення	5,6±0,84	1,16±0,17*	0,34±0,07*

Примітка: \* – статистично значущі розбіжності у зіставленні даних контролю та досліді,  $p < 0,05$

на дія, що проявляється зниженням мікробного числа, та умови для фотодинамічної інактивації інфекційних агентів зубного нальоту.

Зіставляючи дані контролю (початкове число колоній, що виростили) щодо кількості колоній, що виростили після проведення фотодинамічної терапії встановлено, що антимікробна дія перебуває у безпосередній залежності від тривалості опромінення. Так, ефективність антимікробної фотодинамічної терапії з тривалістю опромінення впродовж 120 с у 3,4 рази перевищує протимікробну активність з тривалістю експозиції 60 с. Кількість КУО/мл у першому випадку –  $1,16 \pm 0,17 \times 10^3$

( $p < 0,05$ ) та у другому, відповідно,  $0,34 \pm 0,07 \times 10^3$  ( $p < 0,05$ ) (табл.).

## Висновки

Отримані результати дослідження свідчать про відсутність антимікробного впливу низькоінтенсивного лазерного випромінювання з довжиною хвилі 445 нм на сукупну мікрофлору зубного нальоту. Встановлені часові межі використання 0,1% розчину етакридину лактату як фотосенсибілізатора – 60 секунд. З'ясована виражена антимікробна дія комбінованого впливу 0,1% роз-

чину етакридину лактату і лазерного випромінювання синього спектра, що проявляється зниженням мікробного числа. Визначено, що антимікробна дія фотодинамічної терапії перебуває у безпосередній залежності від тривалості опромінення.

Під час проведеного дослідження були встановлені умови для фотодинамічної інактивації інфекційних агентів зубного нальоту: поєднане застосування 0,1% розчину етакридину лактату (час експозиції 60 с) з подальшим опроміненням лазерним світлом з довжиною хвилі 445 нм впродовж 120 секунд.

## Список використаної літератури

1. Бутвилевский А.В. Изучение антимикробной активности при 30-секундной экспозиции опытных образцов препаратов для контроля кариесогенной микрофлоры / А.В. Бутвилевский, И.С. Кармалькова, В.Э. Бутвилевский // Медицинский журнал. – 2013. – №2. – С. 157–158.
2. Залевский И.Д. Перспективы использования в стоматологии методов силовой лазерной терапии / И.Д. Залевский // Медицинский алфавит. Стоматология I. – 2007. – С. 22–23.
3. Золоев Р.В. Эффективность лечения хронического периодонтита с использованием лазерной терапии / Р.В. Золоев, Н.П. Бычкова // Труды молодых ученых. – Выпуск №2. – 2010. – С. 123–128.
4. Кариес временных зубов у детей раннего возраста: обоснование этиопатогенетических подходов к профилактическому лечению / [Кисельникова Л.П., Зуева Т.Е., Крузалова О.А., Кириллова Е.В.] // Стоматология детского возраста и профилактика. – 2007. – №2. – С. 19–22.
5. Кречина Е.К. Патогенетическое обоснование лечения заболеваний пародонта методом фотодинамической терапии / Е.К. Кречина, Н.В. Ефремова, В.В. Маслова // Стоматология. – 2006. – Т. 85, №4. – С. 20–25.
6. Курочкина А.Ю. Классификация фотосенсибилизаторов антимикробной фотодинамической терапии заболеваний периодонта / А.Ю. Курочкина, В.Ю. Плавский, Н.А. Юдина // Медицинский журнал. – 2010. – №2. – С. 131–133.
7. Микробиологический мониторинг состояния биопленки зуба при применении хлоргексидина и ксилита в комплексном лечении кариеса у детей раннего возраста / [Е.Н. Кириллова, В.Н. Царев, Л.П. Кисельникова, В.О. Артемова] // Стоматология детского возраста и профилактика. – 2009. – №2. – С. 86–94.
8. Наумович С.А. Фотодинамическая терапия в лечении заболеваний периодонта (экспериментальное исследование) / С.А. Наумович, А.В. Кувшинов // Мед. журнал. – 2007. – №1. – С. 71–75.
9. Рисованный С.И. Лазерные технологии – стратегия успеха эндодонтического лечения / С.И. Рисованный, О.Н. Рисованная // Дентал Юг. – 2008. – №2. – С. 28–31.
10. Соловьева А.М. Зубные пасты с местными антисептиками и их роль в комплексном лечении основных стоматологических заболеваний / А.М. Соловьева // Новое в стоматологии. – 2009. – №8. – С. 1–6.

## REFERENCES

1. Butvilovskij, A.V., Karmal'kova, I.S., & Butvilovskij, V.Je. (2013). Izuchenie antimikrobnnoj aktivnosti pri 30-sekundnoj jekspozicii opytnyh obrazcov preparatov dlja kontrolja kariesogennoj mikroflory. *Medicinskij zhurnal*, 2, 157–158 (in Russian).
2. Zalevskij, I.D. (2007). Perspektivy ispol'zovanija v stomatologii metodov silovoj lazernoj terapii. *Medicinskij alfavit. Stomatologija I*, 22–23 (in Russian).
3. Zoloev, R.V., & Bychkova, N.P. (2010). Jekfektivnost' lechenija hronicheskogo periodontita s ispol'zovanijem lazernoj terapii. *Trudy molodyh uchenyh*, Vol. 2, 123–128 (in Russian).
4. Kisel'nikova, L.P., Zueva, T.E., Kruzhalova, O.A., & Kirillova, E.V. (2007). *Karies vremennyh zubov u detej rannego vozrasta: obosnovanie jetiopatogeneticheskij podhodov k profilakticheskomu lecheniju*, 2, 19–22 (in Russian).
5. Krechina E.K., Efreмова N.V., & Maslova V.V. (2006) Patogeneticheskoe obosnovanie lechenija zabolevanij parodonta metodom fotodinamicheskoy terapii. *Stomatologija detskogo vozrasta i profilaktika*, Vol. 85, 4, 20–25 (in Russian).
6. Kurochkina, A.Ju., Plavskij, V.Ju., & Judina, N.A. (2010). Klassifikacija fotosensibilizatorov antimikrobnnoj fotodinamicheskoy terapii zabolevanij periodonta. *Medicinskij zhurnal*, 2, 131–133 (in Russian).
7. Kirillova, E.N., Carev, V.N., Kisel'nikova, L.P., & Artemova, V.O. (2009). Mikrobiologicheskij monitoring sostojanija biopljonki zuba pri primenenii hlorgeksidina i ksilita v kompleksnom lechenii kariesa u detej rannego vozrasta. *Stomatologija detskogo vozrasta i profilaktika*, 2, 86–94. (in Russian).
8. Naumovich, S.A., & Kuvshinov, A.V. (2007). Fotodinamicheskaja terapija v lechenii zabolevanij periodonta (jeksperimental'noe issledovanie). *Med. Zhurnal*, 1, 71–75 (in Russian).
9. Risovannyj, S.I., & Risovannaja, O.N. (2008). Lazernye tehnologii – strategija uspeha jendodonticheskogo lechenija. *Dental Jug*, 2, 28–31 (in Russian).
10. Solovjeva, A.M. (2009). Zubnye pasty s mestnymi antiseptikami i ih rol' v kompleksnom lechenii osnovnyh stomatologicheskij zabolevanij. *Novoe v stomatologii*, 8, 1–6 (in Russian).