

УДК 616.31-022.6:576.851.48]-085.849.19

М.А. Панас, М.І. Панас, Х.А. Кирик, І.В. Тимчук

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

ЗАСТОСУВАННЯ НЕМЕДИКАМЕНТОЗНОГО ЛІКУВАННЯ ПРИ ЗАХВОРЮВАННЯХ РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ, СПРИЧИНЕНИХ *E. coli*

У статті представлені результати дослідження впливу низькоінтенсивного лазерного випромінювання з довжиною хвилі 445 нм у різний час роботи та потужності опромінення на ріст культур *E. coli*. Об'єктами дослідження були еталонний штам *Escherichia coli* ATCC № 25922 і штами, виділені при пародонтиті та карієсі зубів. Результати порівнювали з контролем неопромінених культур. Встановлено, що низькоінтенсивне лазерне випромінювання може викликати пригнічуючий вплив при спільному використанні з наночастинками при потужності променя 700 мВт.

Ключові слова: *E. coli*, низькоінтенсивне лазерне випромінювання, пародонтит, карієс зубів.

Слизова оболонка порожнини рота постійно контамінується великою кількістю мікроорганізмів, що надходять із повітрям, їжею, водою та ін. Незважаючи на це, склад мікрофлори ротової порожнини здорової людини є досить сталим, і це – свідчення її важливої ролі для організму людини в цілому та для функціонування системи травлення зокрема [1]. Разом із їжею, водою, повітрям у порожнину рота постійно потрапляє велика кількість мікроорганізмів, серед яких можуть бути і патогенні [2].

Виділення штамів родини *Enterobacteriaceae* з ротової порожнини було продемонстровано у дослідженнях Barbosa зі співавт., які оцінили стан пародонтальних кишень у пацієнтів із пародонтитом та виділили *E. coli*, *E. aerogenes*, *E. cloacae* та *E. gergoviae* [3, 4].

Широке нераціональне застосування антибактеріальних препаратів спричиняє зростання захворюваності, що супроводжується імунодефіцитними станами та призводить до збільшення уражень різних органів і тканин організму людини патогенними та умовно-патогенними інфекціями [5].

Лазерні технології відкривають нові перспективні напрямки в лікуванні захворювань ротової порожнини. Антибактеріальна дія ла-

зерного випромінювання є важливим аспектом його багатофакторного впливу на біологічні системи. Даний ефект у комплексі з його унікальними біостимулюючими властивостями може бути використаний для селективного пригнічення патогенної мікрофлори, яка сенсibilізована препаратами, що активуються лазерним світлом відносно невеликої потужності. Фотодинамічна терапія при інфекційних процесах базується на концепції поєднаної дії фотосенсibilізатора, який поглинає світло, та лазерного променя відповідної довжини хвилі у присутності кисню, які спричиняють цитотоксичний ефект на мікроорганізми [6–8].

Метою даної роботи було вивчення ефективності застосування немедикаментозного лікування при захворюваннях ротової порожнини, зокрема карієсу зубів та пародонтиту, спричинених *E. coli*.

Матеріал і методи. Об'єктами досліджень були 10 штамів *E. coli*, виділених з ротової порожнини у осіб 46–58 років із карієсом зубів та пародонтитом.

Матеріалом для мікробіологічного дослідження слугував вміст пародонтальних кишень та каріозних порожнин. Біологічний субстрат засівали на м'ясопептонний агар протягом 1 год з моменту взяття матеріалу,

© М.А. Панас, М.І. Панас, Х.А. Кирик, І.В. Тимчук, 2015

потім інкубували при 37 °С протягом 24 год. Чисті культури, виділені від хворих, було використано для проведення подальших досліджень впливу лазерного випромінювання. Для контролю досліджували референтний штам *E. coli* ATCC № 25922.

Як джерело синього випромінювання використовували прилад із лазердіодним променем з довжиною хвилі $\lambda=445$ нм з максимальною потужністю 700 мВ, експериментальний прилад ВАКУ ВК-1502DD («AixiZ», США). Передумовою застосування наночастинок є унікальність з точки зору розмірної залежності та їх оптичних і теплофізичних характеристик, які визначають ступінь їх біологічної активності.

Метод лазерної терапії застосовується при лікуванні багатьох патологічних процесів. Він базується на взаємодії фотоактивних агентів (барвників) та світла, як правило, у видимому спектрі при певній довжині хвилі. Збудження барвника призводить до формування синглетного кисню всередині клітин-приймачів, який знищує мікроорганізми [9–11]. Вирішенням проблеми адресного постачання фотоактивних речовин стали наночастишки [12–14]. У всіх експериментах опромінення здійснювали нерухомим променем при поєднаному використанні із наночастишками TiO_2 , Ag/TiO_2 , S/TiO_2 впродовж 5 хв.

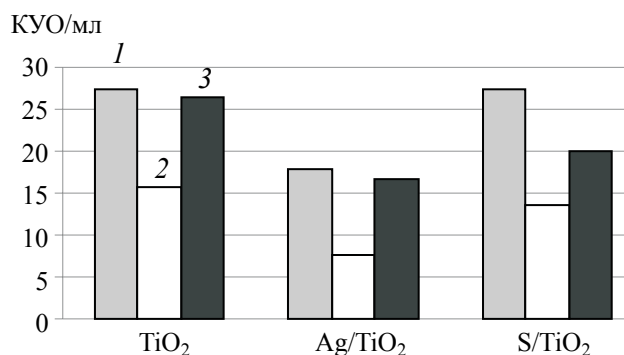
Проводили опромінення за висі культури *E. coli* із стандартом мутності 0,5 McFarland, яку розводили до 10^3 КУО/мл. В отримані розведення наночастинок 0,1; 0,5 та 1,0 мг/мл у планшети додавали добову завись культури *E. coli*. Після дії низькоінтенсивного лазерного випромінювання весь об'єм зависі висівали мікропіпеткою на щільне поживне се-

редовище, рівномірно розсівали шпателем і витримували у термостаті при температурі 37 °С протягом 24 год. Через 24 год підраховували кількість колоній та порівнювали отримані результати із показниками контрольної групи, яка не піддавалась опроміненню.

Варіаційно-статистичне опрацювання результатів дослідження проводили за допомогою пакета прикладних програм для статистичного аналізу даних медико-біологічних та епідеміологічних досліджень «InStat» (GraphPad Software Inc., 1993).

Результати та їх обговорення. При застосуванні наночастинок спостерігались значні зміни з боку бактерицидного ефекту штамів залежно від походження (рисунок). Так, при використанні TiO_2 із концентрацією наночастинок 0,1 та 1,0 мг/мл зафіксовано ріст ізолятів у кількості ($27,5 \pm 1,4$) та ($26,5 \pm 1,2$) КУО/мл, а при концентрації TiO_2 0,5 мг/мл спостерігалось зниження кількості пророслих колоній, виділених із ротової порожнини, до 40 % – до ($15,6 \pm 1,8$) КУО/мл. При використанні наноконкомплексів S/TiO_2 на виділені ізоляти із ротової порожнини при їх концентрації 0,1 мг/мл кількість колоній становила ($27,5 \pm 1,8$) КУО/мл, при концентрації 1,0 мг/мл їх кількість незначно знизилась до рівня ($20,1 \pm 1,9$) КУО/мл, при застосуванні концентрації S/TiO_2 0,5 мг/мл кількість виділених ізолятів становила ($13,5 \pm 1,1$) КУО/мл.

При застосуванні наноконкомплексів Ag/TiO_2 спостерігались кращі результати, що свідчили про вищу ефективність їх дії у порівнянні із іншими наночастишками. При концентрації Ag/TiO_2 0,1 та 1,0 мг/мл рівень висівання *E. coli* становив ($17,9 \pm 1,9$) та ($16,6 \pm 1,0$) КУО/мл відповідно, а при концентрації 0,5 мг/мл за-



Ріст клінічних штамів *E. coli* при поєднаному застосуванні наночастинок та низькоінтенсивного лазерного випромінювання: 1 – 0,1 мг/мл; 2 – 0,5 мг/мл; 3 – 1 мг/мл

фіксовано найкращий результат, оскільки кількісний показник знизився до 53 % у порівнянні з іншими наночастинками, що становило $(7,6 \pm 0,3)$ КУО/мл ($p < 0,001$).

Висновки

Характерним при поєднаному застосуванні наночастинок та наноконкомплексів (TiO_2 , S/TiO_2 та Ag/TiO_2) із низькоінтенсивним лазерним випромінюванням синього спектра протягом 5 хв експозиції було значне зниження кількісних показників росту досліджуван-

них умовно-патогенних мікроорганізмів та мікробоцидного ефекту Ag/TiO_2 із концентрацією 0,5 мг/мл відносно *E. coli*. При застосуванні концентрацій наночастинок 1,0 мг/мл спостерігається гальмування очікуваного ефекту. Поясненням даного феномена може бути механізм часткової коагуляції при дії більш високої концентрації наночастинок та дії лазерного випромінювання з утворенням захисної плівки, водночас концентрація 0,5 мг/мл виявляє найвищу ефективність.

Список літератури

1. *Мащенко І. С.* Клініко-мікробіологічний і імунологічний статус генералізованого катарального гінгівіту і його корекція / І. С. Мащенко, А. В. Самойленко, Т. О. Піндус // Вісник стоматології. – 2006. – № 1. – С. 46–50.
2. *Черета В. В.* Скринінгова оцінка колонізаційної резистентності слизової оболонки порожнини рота / В. В. Черета, Т. О. Петрушанко, Г. А. Лобань // Вісник стоматології. – 2011. – № 2. – С. 33–35.
3. Effects of low-level laser therapy as an adjunct to standard therapy in acute pericoronitis, and its impact on oral health-related quality of life / U. Sezer, A. Eltas, K. Ustun [et al.] // Photomedicine and Laser Surgery. – 2012. – V. 30, № 10. – P. 592–597.
4. Pharmacological agents in dentistry: a review / M. Mohan, A. Gupta, V. Shenoy, A. Parolia // Brit. J. Pharmaceut. Res. – 2011. – V. 3, № 1. – P. 66–87.
5. *Царєв В. Н.* Микробиология полости рта : [учеб.-метод. пособие] / В. Н. Царєв, М. М. Давыдова. – М. : УМО МЗ, 2008. – 50 с.
6. Nanoparticulate silver coated-titania thin films-photo-oxidative destruction of stearic acid under different light sources and antimicrobial effects under hospital lighting conditions / Ch. W. Dunnill, K. Page, Z. A. Aiken [et al.] // J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry. – 2011. – V. 220, issue 2–3. – P. 113–123.
7. Dental adhesives with bioactive and on-demand bactericidal properties / K. Welch, Y. Cai, H. Engqvist, M. Stromme // Dental materials. – 2010. – V. 26, № 5. – P. 491–499.
8. Preparation, characterization and visible-light photocatalytic activity of AgI/AgCl/TiO_2 / Jing Cao, B. Xu, B. Luo [et al.] // Applied Surface Science. – 2011. – V. 257, № 16. – P. 7083–7089.
9. Antibacterial performance of nanoscaled visible-light responsive platinum-containing titania photocatalyst in vitro and in vivo / Yao-Hsuan Tseng, Der-Shan Sun, Wen-Shiang Wu [et al.] // Biochem. et Biophys. Acta – General Subjects. – 2013. – V. 83, issue 6. – P. 3787–3795.
10. Efficient destruction of pathogenic bacteria with AgBr/TiO_2 under visible light irradiation / Yongqing Lan, Chun Hu, Xuexiang Hu, Jiuhui Qu // Applied Catalysis B: Environmental. – 2007. – V. 73, № 3. – P. 354–360.
11. *MacFarlane J. W.* Sterilization of microorganisms on jet spray formed titanium dioxide surfaces / J. W. MacFarlane, H. F. Jenkinson, T. B. Scott // Applied Catalysis B: Environmental. – 2011. – V. 106, № 1. – P. 181–185.
12. *Ibanez J. A.* Photocatalytic bactericidal effect of TiO_2 on enterobacter cloacae comparative study with other Gram(-)bacteria / J. A. Ibanez, Marta I. Litter, Ramon A. Pizarro // J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry. – 2003. – V. 157. – P. 81–85.
13. Visible light photocatalytic inactivation of *Escherichia coli* with combustion synthesized TiO_2 / Sharad Sontakke, C. Mohan, Jayant Modak, Giridhar Madras // Chemical Engineering J. – 2012. – V. 189–190. – P. 101–107.
14. Antibacterial effect of silver nanoparticles on *Staphylococcus aureus* / F. Mirzajani, A. Ghassempour, A. Aliahmadi, M. Ali Esmaeili // Res. Microbiol. – 2011. – V. 162, № 5. – P. 542–549.

М.А. Панас, М.И. Панас, К.А. Кирик, И.В. Тимчук

ПРИМЕНЕНИЕ НЕМЕДИКАМЕНТОЗНОГО ЛЕЧЕНИЯ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ, ВЫЗВАННЫХ *E. coli*

В статье представлены результаты исследований низкоинтенсивного лазерного излучения с длиной волны 445 нм в различное время работы и мощности облучения на рост культур *E. coli*. Объектами исследования были эталонный штамм *Escherichia coli* ATCC № 25922 и штаммы, выделенные при пародонтите и кариесе зубов. Результаты сравнивали с контролем необлученных культур. Установлено, что низкоинтенсивное лазерное излучение может вызывать угнетающее влияние на рост бактериальной флоры при совместном использовании с наночастицами при мощности луча 700 мВт.

Ключевые слова: *E. coli*, низкоинтенсивное лазерное излучение, пародонтит, кариес зубов.

М.А. Panas, M.I. Panas, C.A. Kyryk, I.V. Tymchuk

APPLICATION OF NONMEDICAMENTAL TREATMENT OF DISEASES OF THE ORAL CAVITY CAUSED BY *E. coli*

The article are present the results of studies of low-intensity laser radiation with a wavelength of 445 nm at different time and irradiation power on the growth of strain of *E. coli*. The objects of the study were used the reference strain of *Escherichia coli* ATCC № 25922, and strains isolated from periodontitis and dental caries. The results were compared with the control cultures. It was found, that low-intensity laser radiation in the combined with the nanoparticles can cause a depressing effect on the growth of the bacterial flora in the beam power of 700 mW.

Keywords: *E. coli*, low-intensity laser radiation, periodontitis, dental caries.

Поступила 07.10.15