
МЕДИЦИНА

УДК 616.314.17-002.3-08:615.831

Канд. мед. наук, асс. *Бычкова Н. П.*
Кубанский государственный медицинский университет

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ МЕТОДА
БАКТЕРИОТОКСИЧЕСКОЙ СВЕТОТЕРАПИИ
НА ENTEROCOCCUS FAECALIS –
ОДНОГО ИЗ ОСНОВНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ
ОДОНТОГЕННОЙ ИНФЕКЦИИ
(ИССЛЕДОВАНИЕ IN VITRO)**

Среди важнейших проблем стоматологии осложнения кариеса занимают одно из ведущих мест. Современный уровень знаний об этиологии этих заболеваний однозначно определяет микрофлору как доминирующий местный фактор. Перспективным направлением лечения воспалительных заболеваний тканей периодонта является использование лазерных технологий.

Верхние дыхательные пути, включающие нос, полость рта, носо- и ротоглотку, колонизированы широким спектром грамположительной и грамотрицательной флоры, лишёнными клеточной стенки аэробами, а также анаэробными микроорганизмами. Состав микрофлоры полости рта является динамичным и изменяется в зависимости от возраста, гормонального фона, диеты, общего состояния здоровья индивидуума. Кроме этого, извне постоянно аспирируется в дыхательные пути и попадает в желудочно-кишечный тракт большое количество различных микроорганизмов. Точный видовой состав микрофлоры полости рта значительно варьирует у разных людей, а также у одного и того же индивидуума в разное время. Всего из периодонтальных карманов выделяют до 300 различных видов микроорганизмов, причём, до 100 видов может быть выделено из одного участка [1].

Воспалительные заболевания челюстно-лицевой области чрезвычайно широко распространены. Они вызываются в большинстве случаев микроорганизмами, входящими в состав обыч-

ного биоценоза микробов кожных покровов лица и слизистой оболочки полости рта. Большинство состояний, относящихся к инфекциям в стоматологии, имеют одонтогенную природу. Существенное значение оказывает и качество оказания медицинской помощи при заболеваниях зубов и пародонта.

Большинство инфекций полости рта вызываются, в основном, ассоциациями грамположительных аэробов и различных анаэробов. Анаэробы являются нормальными представителями микрофлоры полости рта, и их количество превышает число аэробов от 10 до 100 раз, поэтому они будут играть основную роль в развитии инфекций в стоматологии. Во всех случаях инфекционных заболеваний пародонта отмечается существенное увеличение количества анаэробов и изменение естественного баланса между различными видами микроорганизмов. Наиболее часто при воспалительных процессах в полости рта выделяют *Enterococcus faecalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* и *Porphyromonas gingivalis*. Реже встречаются *Bacteroides forsythus*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Fusobacterium spp.*, *Peptostreptococcus micros*, *Carnocytophaga spp.*, *Treponema denticola*, *Treponema sokranski* [2–5].

Enterococcus faecalis с множественной лекарственной устойчивостью могут стать причиной инфекций, резистентных к традиционному лечению, например, верхушечного периодонтита [6].

В проведенном нами исследовании были использованы резцы крупного рогатого скота (бычьи) одного возраста, так как по морфологии, размеру полости и плотности дентинных канальцев они схожи с резцами человека. Их размер также делает их доступными для эксперимента. Человеческие зубы трудны для стандартизации в связи с возрастной облитерацией канальцев.

Колонии *Enterococcus faecalis* были культивированы на овечьем кровяном агаре (Oxoid CM 331 с 5 %-ной стерильной овечьей кровью FSR 1055). Чашки с питательной средой, засеянной анаэробами, помещали в “GENbox” фирмы bioMerieux (Франция) емкостью 2,5 литра. Анаэробные условия создавали с помощью газового генератора внутреннего действия “GENbox anaer” фирмы bioMerieux. Емкость 2,5 литра вмещает 12 чашек диаметром 90 мм. Инкубатор с засеянными чашками помещали в термостат при температуре 37 °C на 24 часа.

Для приготовления суспензии использовали 24-часовую культуру *Enterococcus faecalis*. Выросшую культуру снимали стерильным ватным тампоном на держателе и погружали в стерильный 0,9 %-ный физиологический раствор, ротируя его для получения равномерной взвеси. Суспензию доводили о мутности стандарта 0,5 McFarland – конечная концентрация $145,5 \cdot 10^8$ бактерий / 1 мл. Приготовленную описанным выше способом суспензию бактериальных клеток в объеме 1 мл помещали в стерильную одноразовую пластиковую чашку диаметром 40 мм и подвергали обработке в соответствии с условиями проводимого эксперимента.

Корневые каналы 10 зубов обрабатывались по стандартной схеме. После открытия системы корневого канала, производили экстирпацию пульпы. Далее с помощью ручных эндодонтических инструментов препарировали корневые каналы. Расширение канала заканчивалось использованием последнего профайла размером № 40 по ISO. Все подготовленные зубы помещали в автоклав и высушивали продувочным шприцем.

Первая серия эксперимента была проведена с целью изучения бактерицидной активности фотосенсибилизатора без лазерной активации. С помощью шприца в каналы зубов вводили 0,1 мл подготовленной бактериальной суспензии и добавляли 0,1 мл фотолон.

Во второй серии эксперимента была изучена бактерицидная активность только лазерного излучения диодного лазера. Исследовали лазерное излучение мощностью 0,6 Ватт без добавления фотосенсибилизатора. Суспензию бактериальных клеток в объеме 0,1 мл вводили в каналы зубов. Обработку проводили в соответствии с алгоритмом: плотность энергии $E = 300 \text{ Дж/см}^2$ мощностью 1,1 Вт в течение 200 секунд.

Третья серия опытов была посвящена собственно бактериотоксической светотерапии (БТС-терапии): изучению сочетанного воздействия фотосенсибилизатора и облучения лазером. С помощью шприца в каналы зубов вводили 0,1 мл подготовленной бактериальной суспензии и добавляли 0,1 мл фотолон, экспонировали, после чего в непрерывном режиме и мощностью 1,1 Ватт спиралеобразными движениями при медленном выведении эндодонтического световода обрабатывали боковые стенки канала. Время облучения 200 сек.

После каналы зубов орошали 1 мл физиологического раствора, который тщательно собирали в пробирку. Собранный таким образом раствор разбавляли серийно объемным методом: 0,1 мл исследуемой пробы в соотношении 1:10 (разведение 10^{-1}) помещали в стерильный физиологический раствор. Далее в четырех пробирках, содержащих по 4,5 мл того же раствора, последовательно готовили разведения 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , перенося по 0,5 мл субстрата из предыдущего разведения.

Для количественного учета *Enterococcus faecalis* из каждого разведения высевали по 0,1 мл на пластинчатый кровяной агар, тщательно растирая нанесенный на поверхность среды материал при помощи шпателя. Все чашки помещали в термостат. Подсчет колоний производили через 24 часа. При подсчете выросших колоний их число умножали на соответствующее разведение (из которого производили высев на чашку) и на 10, т. к. высеянная доза составляла 0,1 мл.

Эффект оценивали, сравнивая число выживающих клеток бактерий в экспериментальной модели и контроле. Всего было подвергнуто соответствующей обработке 66 образцов с последующим анализом.

В результате первой серии эксперимента нами было установлено, что фотосенсибилизатор без лазерной активации не обладает бактерицидным действием, поскольку число колоний *Enterococcus faecalis* не изменилось.

Вторая серия эксперимента показала, что излучение диодного лазера не обладает бактерицидным действием в отношении *Enterococcus faecalis*.

В серии экспериментов по исследованию бактерицидного эффекта БТС-терапии с фотолоном установлено, что совместное воздействие лазерного излучения с плотностью энергии 300 Дж/см^2 и мощностью 1,1 Вт и фотолона на чашках Петри рост отсутствует, т. е. происходит полная гибель бактерии во взвеси.

Таким образом, БТС-терапия сочетает в себе управляемое бактериотоксическое действие активированного диодным лазером фотосенсибилизатора на очаг воспаления и биостимулирующее действие лазерного излучения: ее эффективность зависит от четкого соблюдения алгоритма лечения и параметров лазерного

излучения. В этом случае достигается желаемый клинический результат. БТС-терапия является экологически чистым, высокоэффективным, малоинвазивным, имеющим минимум противопоказаний, экономически приемлемым методом лечения воспалительных заболеваний полости рта.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Haffajee A. D., Socransky S. S.* 1994; 5:78-111.
2. Клиника, диагностика, лечение и профилактика воспалительных заболеваний лица и шеи: Руководство для врачей / Под ред. А. Г. Шаргородского. М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. 528 с.
3. *Brook I., Frazier E. H., Gher M. E.* Aerobic and anaerobic microbiology of periapical abscess // *Oral Microbiol Immunol.* 2012; 6:123–125.
4. *Brook I., Douma M.* Antimicrobial Therapy Guide for the Dentist. Newtown, Pa : Handbooks in Health Care Co.; 2011.
5. *Eick S., Pfister W., Straube E.* Antimicrobial susceptibility of anaerobic and capnophilic bacteria isolated from odontogenic abscesses and rapidly progressive periodontitis // *Int J Antimicrob Agents.* 2008 Jun;12(1):41–43.
6. *Reynaud Af Geijersstam A. H., Ellington M. J , Warner M., Woodford N., Haapasalo M.* // *Oral Microbiol Immunol.* 2006 Jun;21(3):164–8.).

