

УДК 576.85:616.314.17-002.3-085.849.19

М.А. Панас, О.П. Корнійчук, А.Я. Баріляк

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

ДІЯ НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ СИНЬОГО СПЕКТРА НА *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* І *ESCHERICHIA COLI* ПРИ ПАРОДОНТИТІ

Наведено результати досліджень впливу низькоінтенсивного лазерного випромінювання синього спектра з довжиною хвилі 445 нм при різних експозиції та потужності на динаміку росту культур *Staphylococcus aureus* та *Escherichia coli*. Об'єктами досліджень були референтні тест-штами *Staphylococcus aureus* ATCC №25923 (F-49) і *Escherichia coli* ATCC № 25922 та штами цих видів, що висіяні при пародонтиті. Отримані результати порівнювали з результатами контрольних (неопромінених) культур. Встановлено, що лазерне випромінювання низької інтенсивності синього спектра з довжиною хвилі 445 нм має бактерицидний ефект при певному часі та потужності променя на стафілококи ротової порожнини.

Ключові слова: лазерне випромінювання, пародонтит, мікроорганізми, потужність опромінення.

Ротова порожнина колонізована мікроорганізмами, кількість яких становить приблизно 15–17 % від їх загальної кількості в організмі людини [1, 2]. Особливість цієї екосистеми полягає в тому, що вона контактує із зовнішнім середовищем і мікрофлорою, що є у цій екологічній ніші, і постійно зазнає подвійного впливу: різних факторів зовнішнього середовища, з одного боку, і регуляторних захисних механізмів макросистеми – з другого [3].

Стоматологічні захворювання, як правило, розвиваються як наслідок змін мікробіоценозу ротової порожнини. До таких захворювань належать запальні хвороби пародонта. До етіологічних чинників виникнення запальних захворювань пародонта відносять патогени з суттєвою асоціацією: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*, *Prevotella intermedia*; патогени з помірною асоціацією: *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Petrostreptococcus micros*, *Selenomonas species*, *Eubacterium species*, *Streptococcus intermedius*, *Spiro-*

chetes, та у деяких випадках мають значення *Staphylococcus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Enterococcus spp.*, *Escherichia coli*, *Candida spp.* [4].

Хвороби пародонта – це переважно ендогенні інфекції, пов'язані з певними передумовами: наявність екологічної ніші, з якої іде транслокація; зміни складу і збільшення кількості певних видів симбіотичної мікрофлори порожнини рота; зміна стану захисних сил організму, що сприяє розвитку й активації умовно-патогенної флори [5].

Пародонтит є одним із найбільш розповсюджених захворювань у ротовій порожнині серед дорослого населення [6]. Основною причиною його появи є неадаптоване і нерациональне використання антибактеріальних препаратів, які спричинюють виникнення підвищеної кількості полірезистентних штамів бактерій [7–8]. Процес зростання кількості стійких штамів мікроорганізмів до хіміотерапевтичних препаратів, які широко застосовуються у клініці, погіршують результати лікування, зокрема, стафілокової та ентерокової етіології [9].

© М.А. Панас, О.П. Корнійчук, А.Я. Баріляк, 2013

Низькоінтенсивне лазерне випромінювання, особливо в діапазоні довжин хвиль 405–470 нм, привертає все більшу увагу практичної медицини у зв'язку з притаманною антимікробною дією без додавання екзогенних фотосенсибілізаторів. Крім того, це світло меншою мірою спричинює пошкодження клітин, ніж ультрафіолетове опромінення, що є ще однією основою до антибактеріальної терапії. Було встановлено, що через синій лазерний промінь світло може регулювати активність рецепторів при васмодії бактерій з клітинами та міжклітинних зв'язків і перешкоджати утворенню біоплівки, а потім посилювати процеси інактивації [10–11].

Відомо, що при виражених дисбіотичних станах у ротовій порожнині у важких ступенях розвиваються запальні процеси на слизовій оболонці, зростає кількість стафілококів і з'являється не характерна для цієї екологічної ніші мікрофлора, зокрема ентеробактерії. Тому модельними для дослідження впливу низькоінтенсивного лазерного випромінювання в діапазоні 445 нм синього спектра були *Staphylococcus aureus* і *Escherichia coli*.

Метою дослідження було встановити ступінь впливу низькоінтенсивного лазерного випромінювання з довжиною 445 нм при різній потужності та експозиції на *S. aureus* та *E. coli*, що виділені з пародонтальних кишень ротової порожнини.

Матеріал і методи. Мікробіологічні дослідження провели по загальноприйнятій схемі [12]. Було обстежено 25 осіб віком 30–45 років із пародонтитом у стадії загострення. Матеріал забирали за допомогою стерильного екскаватора з наступним бактеріологічним дослідженням мікрофлори пародонтальних кишень. Виділено 12 штамів *S. aureus* та 3 штами *E. coli*, які були ідентифіковані за біохімічною активністю та фагочутливістю. Досліджено наявність факторів патогенності в ізолятах *S. aureus* (активність плазмокоагулази та лецитинази). Всі виділені штами стафілокока були метицилінчутливими. Чисті культури, виділені від хворих, було використано для проведення подальших досліджень впливу лазерного випромінювання. Для контролю досліджувалися референтний штам *S. aureus* ATCC № 25923 (F-49) та *E. coli* ATCC № 25922. Джерелом лазерного випромінювання був лазерний діодний модуль синьо-

го спектра, вихідна потужність якого задавалася постійним струмом накачування.

Опромінення зависі культури *S. aureus* і *E. coli* із стандартом мутності 1,0 McFarland здійснювали у логарифмічній фазі росту в стерильних планшетах об'ємом 0,1 мл лазерним променем синього спектра з довжиною хвилі 445 нм потужністю 170–750 мВт при експозиції 5, 10, 15, 20 та 30 хв у безперервному статичному режимі. Після опромінення весь об'єм зависі культури (0,1 мл) пересіювали мікропіпеткою на тверде поживне середовище, розсівали шпателем і витримували у термостаті при температурі 37 °С. Через 24 години підраховували кількість колоній та порівнювали отримані результати з результатами контрольної групи (неопроміненої культури).

Результати та їх обговорення. Експеримент включав вивчення дії лазеродіодного джерела випромінювання на референтні тест-штами факультативно-анаеробних бактерій *S. aureus* ATCC № 25923 (F-49), які використовуються в якості стандарту, та *S. aureus*, які виділено із пародонтальних кишень, при потужності 730 мВт протягом 5, 10, 15, 20 та 30 хв.

Наступний експеримент полягав у низькоінтенсивному лазерному опроміненні культури *E. coli*, яка була виділена із пародонтальних кишень, а також референтних штамів *E. coli* ATCC № 25922.

Криві росту тест-штаму *S. aureus* ATCC № 25923 (F-49) та *S. aureus*, виділеного із пародонтальних кишень, *E. coli*, виділеного із пародонтальних кишень, та референтного штаму *E. coli* ATCC № 25922, взятого з концентрацією мутності 1,0 McFarlanda (3,0·10⁸ КУО/мл) з наступним трикратним розведенням до 10⁴ КУО/мл, представлені на рис. 1.

Як видно із даних рис. 1, виживання мікробних клітин залежало від часу опромінення. Спостерігалось значне зменшення мікроорганізмів роду *S. aureus* лише після експозиції 20 хв, але повного пригнічення не виявлено. Після опромінення *E. coli* спостерігалася стимуляція росту на 10-ту хвилину опромінення з наступним поступовим зменшенням кількості мікроорганізмів порівняно з неопроміненою культурою.

При опроміненні культури *S. aureus*, виділеної з пародонтальних кишень, і референт-

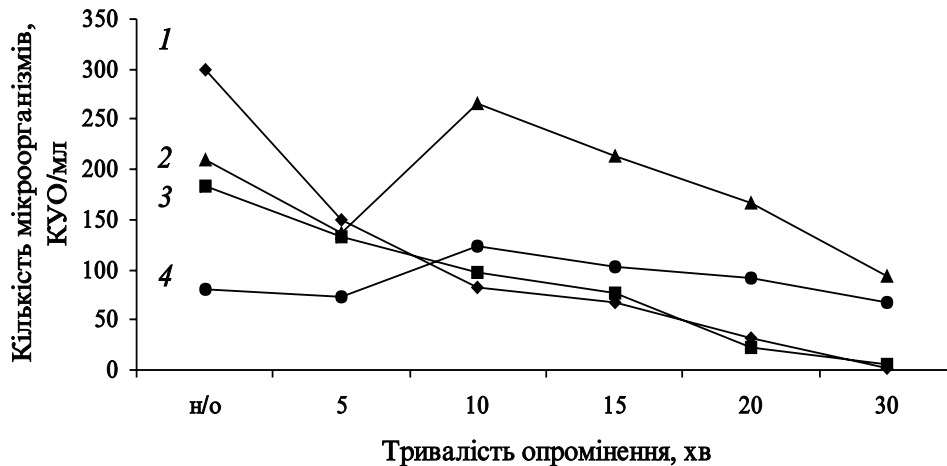


Рис. 1. Криві росту *S. aureus* і *E. coli* при опроміненні потужністю 730 мВт:
1 – *S. aureus* ATCC № 25923 (F-49); 2 – *E. coli* ATCC № 25923;
3 – *S. aureus* з пародонтальних кишень; 4 – *E. coli* з пародонтальних кишень

них штамів потужністю 700 мВт відмічено відсутність росту мікроорганізмів на 30-ту та 20-ту хвилини та значне зменшення опромінення на 15-ту хвилину – $(2,9 \pm 0,9)$ КУО/мл, на 10-ту – $(26,9 \pm 3,4)$ КУО/мл та на 5-ту – $(41,6 \pm 2,1)$ КУО/мл, $p < 0,001$, у порівнянні з неопроміненою культурою – $(71,5 \pm 3,4)$ КУО/мл. Для *E. coli* була наявна стимуляція росту на 5-ту хвилину – до $(58,4 \pm 1,7)$ КУО/мл, при неопроміненій культурі – $(53,0 \pm 4,4)$ КУО/мл. Із збільшенням експозиції кількість колоній поступово зменшувалась: при 10 хв вона складала $(45,9 \pm 2,9)$ КУО/мл, при 15 хв – $(34,1 \pm 2,2)$ КУО/мл, при

20 хв – $(17,1 \pm 1,9)$ КУО/мл та при 30 хв – $(16,1 \pm 1,3)$ КУО/мл, $p < 0,001$ (рис. 2).

При опроміненні потужністю 170 мВт культур *S. aureus* та *E. coli* з пародонтальних кишень не встановлено пригнічення їх росту, а спостерігалась стимуляція росту з 5-ї до 30-ї хвилини, у зв'язку з чим кількість колоній не підлягала підрахунку.

Отже, з метою використання антимікробного ефекту слід застосовувати низькоінтенсивне лазерне випромінювання потужністю 700 мВт при експозиції опромінення 20 хв.

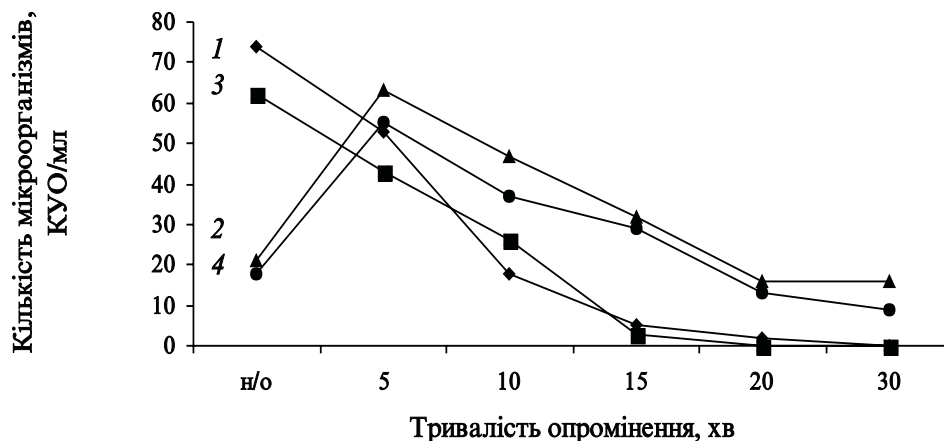


Рис. 2. Криві росту *S. aureus* і *E. coli* при опроміненні потужністю 700 мВт:
1 – *S. aureus* ATCC № 25923 (F-49); 2 – *E. coli* ATCC № 25923;
3 – *S. aureus* з пародонтальних кишень; 4 – *E. coli* з пародонтальних кишень

Висновки

Встановлено різний ступінь впливу лазерного опромінення з різною потужністю на мікроорганізми *S. aureus* і *E. coli*. Характерними є відсутність кількісних показників стафілокока при потужності променя 700 мВт на 20-ту та 30-ту хвилину опромінення та їх зменшення вже після 5-ї хвилини.

При опроміненні *E. coli* потужністю 700 мВт спостерігалась стимуляція росту на 5-й хвилині, що, можливо, обумовлено структурою бактеріальної клітини, із поступовим зменшенням, але з наявним ростом при тривалішому часі опромінення.

При опроміненні потужністю 170 мВт відмічено стимулюючий вплив на два види мікроорганізмів, а при 700–730 мВт спостерігається інгібуюча дія на стафілокок.

Низькоінтенсивне лазерне випромінювання може спричиняти як пригнічувальний, так і стимулюючий вплив на ріст бактеріальної флори при потужності променя 700 мВт і експозиції 20 хв, оскільки він дає оптимальні показники для зниження кількості мікробних клітин. З метою використання антимікробного ефекту слід застосовувати низькоінтенсивне лазерне опромінення потужністю 700 мВт при експозиції 20 хв.

Список літератури

1. *Левицький А.П.* Физиологическая микробная система полости рта / А.П. Левицкий // Вестник стоматологии. – 2007. – № 2. – С. 6–11.
2. Микробиоценоз полости рта в норме и при патологии / И.И. Олейник, В.Н. Покровский, В.Н. Царев [и др.] // Медицинские аспекты микробной экологии. – М., 1992. – С. 61–64.
3. *Гончаренко О.В.* Порівняльна характеристика мікробного балансу ротової порожнини в нормі та при стоматологічній патології / О.В. Гончаренко // Одеський медичний журнал. – 2008. – № 6 (110). – С. 36–37.
4. *Bauermeister C.D.* Микробиологическая диагностика заболеваний тканей пародонта. Тесты для идентификации штаммов патогенных бактерий (microDent®) и генетического анализа риска возникновения заболевания (GenoType® PST) / C.D. Bauermeister // Новое в стоматологии. – 2003. – № 7 (115). – С. 27–30.
5. *Черета В.В.* Мікрофлора як фактор виникнення запальних хвороб пародонта / В.В. Черета // Український стоматологічний альманах. – 2007. – № 1. – С. 77–79.
6. *Байрамов Г.Р.* Исследование пародонто-патогенной микрофлоры и ее этиологическая значимость в формировании разных клинических форм воспалительных заболеваний пародонта / Г.Р. Байрамов // Пародонтология. – 2010. – № 2 (54). – С. 84–86.
7. *Зорина О.А.* Микробиоценоз полости рта в норме и при воспалительных заболеваниях пародонта / О.А. Зорина, А.А. Кулаков, А.И. Грудянов // Стоматология. – 2011. – № 1. – С. 73–78.
8. *Пантьо В.В.* Вплив низькоінтенсивного лазерного випромінювання на біологічні об'єкти та чутливість мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів / В.В. Пантьо, В.І. Ніколайчук, В.І. Пантьо // Фотобіологія та експериментальна фотомедицина. – 2010. – № 1, 2. – С. 80–87.
9. *Вишневская А.А.* Лазерный кюретаж пародонтальных карманов в комплексном лечении генерализованого пародонтита / А.А. Вишневская, Ю.Г. Чумакова // 36. тез конференції. – 2013. – С. 171–173.
10. Vtrahas blue light for infectious diseases: Propionibacterium acnes, Helicobacter pylori, and beyond? / Dai Tianhong, Gupta Asheesh, Murray K. Clinton, S. Mark // Drug Resistance Updates. – 2012. – № 15. – С. 223–236.
11. The role of oxygen in the visible-light inactivation of Staphylococcus aureus / M. Maclean, S.J. MacGregor, J.G. Anderson, G.A. Woolsey // J. Photochemistry and Photobiology B: Biology. – 2008. – № 92. – С. 180–184.
12. Державні санітарні правила та норми, гігієнічні нормативи. 9. Епідеміологія. 9.5. Стан здоров'я населення у зв'язку з впливом мікробіологічного фактора «Правила влаштування і безпеки роботи в лабораторії мікробіологічного профіля» Державні санітарні правила ДСП 9.9.5.-080-02. МОЗ України. Головне санітарно-епідеміологічне управління. – К., 2002.

М.А. Панас, Е.П. Корнийчук, А.Я. Баріляк

ДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ СИНЕГО СПЕКТРА НА STAPHYLOCOCCUS AUREUS И ESCHERICHIA COLI ПРИ ПАРОДОНТИТЕ

Представлены результаты исследований влияния низкоинтенсивного лазерного излучения синего спектра с длиной волны 445 нм при различных экспозиции и мощности на динамику роста культур *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*. Объектами исследований были референтные тест-штаммы *Staphylococcus aureus* ATCC № 25923 (F-49) и *Escherichia coli* ATCC № 25922 и штаммы этих видов, высеянные при пародонтите. Полученные результаты сравнивали с результатами контрольных (необлучённых) культур. Установлено, что лазерное излучение низкой интенсивности синего спектра с длиной волны 445 нм обладает бактерицидным эффектом при определённом времени и мощности луча на стафилококки ротовой полости.

Ключевые слова: лазерное излучение, пародонтит, микроорганизмы, мощность облучения.

М.А. Panas, O.P. Korniychuk, A.Ya. Barylyak

EFFECTS OF LOW-LASER RADIATION IN THE BLUE SPECTRUM STAPHYLOCOCCUS AUREUS AND ESCHERICHIA COLI IN PERIODONTITIS

The results of studies of the impact of low-laser blue spectrum with a wavelength of 445 nm in various time and power irradiation on the dynamics of growth of cultures *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The objects of study were the reference test strains *Staphylococcus aureus* ATCC № 25923 (F-49) and *Escherichia coli* ATCC № 25922 and strains of these types cultured in periodontitis. The results were compared with the control (non-irradiated) cultures. Found that laser radiation of low intensity blue spectrum with a wavelength of 445 nm has a bactericidal effect with a certain time and power ray on staphylococci mouth.

Key words: laser light, periodontitis, microorganisms, power irradiation.

Поступила 18.09.13