НОВИНИ СТОМАТОЛОГІЇ

НС

ТЕМА НОМЕРА

НОВІТНІ ТЕХНОЛОГІЇ У СТОМАТОЛОГІЇ

науково-практичний журнал

№1 (52) 2011

Що таке «ІнСпе Сервіс» у деталях

ІнСпе

УДК 616.31.615.32.035

Використання лазерного випромінювання для дезінфекції кореневих каналів, інфікованих Enterococcus faecalis: стадія in vitro

Using Laser for Disinfection Root Canals Infected with Enterococcus faecalis: Stage in vitro

Потапчук А.М., д.мед.н., проф.,
Рак Ю.В., магістр,
Мельничук Н.І., старший викладач,
Миня О.Й., к.фіз.-мат.н.
Державний вищий навчальний заклад «Ужгородський національний університет»
Potapchuk A.M., Rak Yu.V.,
Melnychuk N.I., Mynia A.Y.
State Higher Educational Establishment Uzhgorod National University

Адреса для кореспонденції:
Потапчук Анатолій Мефодійович
e-mail: Stomatkafedra@mail.ru

Мета: Дослідити вплив лазерного випромінювання на мікрофлору кореневих канал зубів, яким необхідне повторне ендодонтичне лікування. **Методи:** Провели мікробіологічні дослідження вмісту кореневих каналів зубів у 15 пацієнтів, які потребували по вторного ендодонтичного лікування і яким, за клінічними та рентгенологічними ознаками, діагностували хронічний апікальний періодонтит. Відокремили чисту культуру, як використовували для вирощування біоплівки на фантомі кореневого каналу. Вивчали вплив лазерного випромінювання на досліджувані мікроорганізми. **Результати:** Довели високу бактеріостатичну та бактерицидну дію напівпровідникового лазера з довжиною хвилі 940 нм на *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*), показавши залежність антибактеріальної дії від потужності випромінювання. Виконали порівняльні дослідження методу фотодинамічної терапії (ФДТ) та дії інфрачервоного лазера. **Висновки:** Результати досліджень показали високу бактеріостатичну та бактерицидну дію напівпровідникового лазера з довжиною хвилі 940 нм на *E. faecalis*.

Ключові слова: ендодонтичне лікування, антибактеріальна терапія, діодний лазер, фотодинамічна терапія, біоплівка, *E. faecalis*, хронічні періодонтити.

Purpose: To investigate the influence of laser radiation on the microflora of root canals derived from teeth that require endodontic treatment. **Methods:** The study included microbiological investigation of the root canals contents of 15 patients requiring recurrent endodontical treatment and who were diagnosed with chronic periodontitis on the basis of clinical and radiological signs. A pure culture for growing biofilms on the root canal phantom has been developed. The influence of laser radiation on microorganisms has been studied. **Results:** High bacteriostatic and bactericidal effect of semiconductor laser with a wavelength of 940 nm relative to *E. faecalis* has been demonstrated. The dependence of the antibacterial effect on radiation power has been proved. The comparative study of photodynamic therapy (PDT) method and infrared laser has been performed. **Conclusions:** The results have shown high bacteriostatic and bactericidal effect of semiconductor laser with a wavelength of 940 nm relative to *E. faecalis*.

Key words: endodontic treatment, antibacterial therapy, diode laser, photodynamic therapy, biofilm, *E. faecalis*, chronic periodontitis.

Вступ

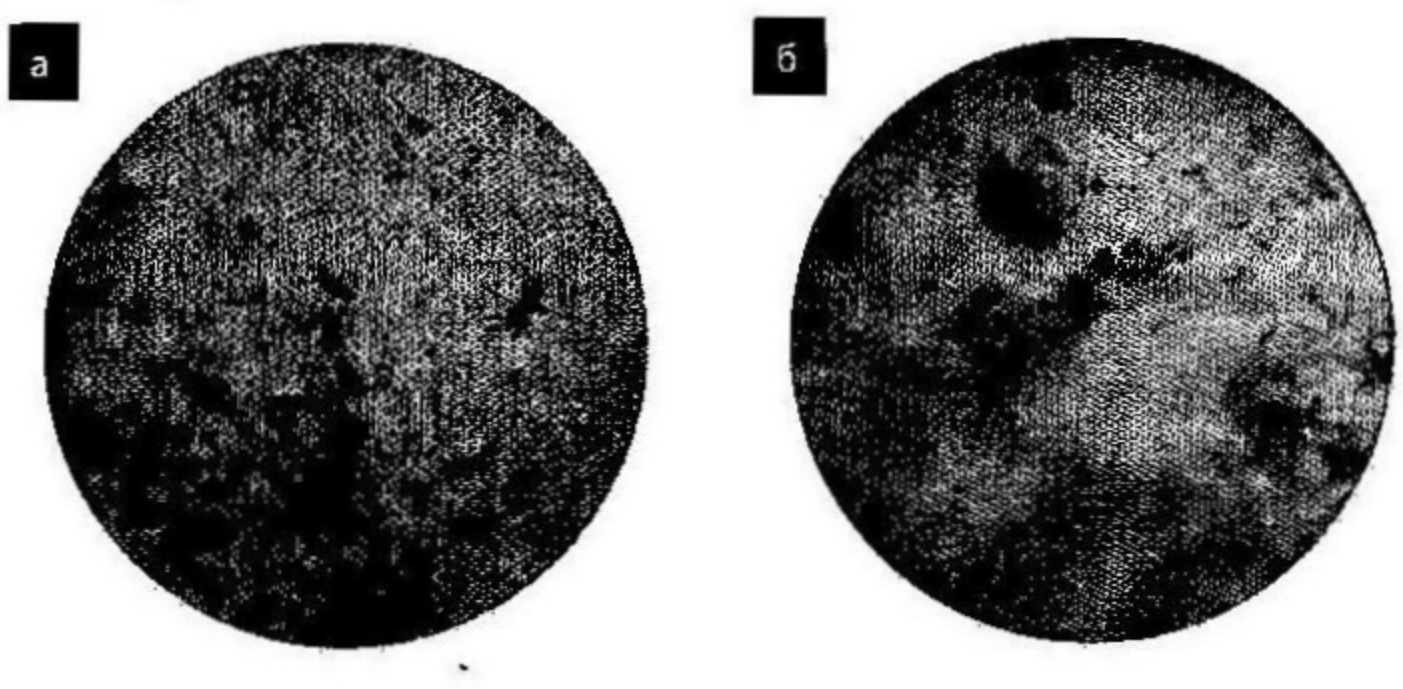
Проблема бактеріальної інфекції в ендодонтії не втрачає актуальності, адже саме від успішно проведеної антибактеріальної терапії залежить ефективність ендодонтичного лікування. Тому пошук оптимального антибактеріального засобу є перспективним напрямом досліджень. Вимоги до лікаря незмінні — результат лікування має бути довготривалим та без подальших ускладнень. Потрібно враховувати, що більшості ендодонтично лікованих зубів необхідна естетична реабілітація дорогими ортопедичними конструкціями, довготривалість функціонування яких безпосередньо залежить від якості ендодонтичного лікування. Незважаючи на те, що у сучасній практиці лікарі-стоматологи дедалі частіше застосовують новітні технології лікування, такі як обертові NiTi-файли, ендомотори, апекслокатори, матеріали і методи іригації та обтурації, необхідність повторного ендодонтичного лікування є високою [1, 2]. Причинами невдач можуть бути нерівномірність поперечного перерізу системи кореневих каналів та складна анатомія, апікальні дельти, облітерації, що призводять до утворення ділянок акумулювання бактерій [3, 4]. Дослідження показали, що інструментально очистити внутрішні поверхні кореневого каналу неможливо саме через його складну анатомічну будову, а використання традиційних антисептиків, за різними даними, дає бажаний антибактеріальний ефект у 50–70% випадків [9–13]. G. Shuping та співавт. (2000 р.) дослідили, що використання гіпохлориту натрію 1,25% з механічною обробкою не має достатньої антибактеріальної дії, бактерій не виявили лише у 61,9% каналів [9]. R. McGurkin-Smith та співавт. (2005 р.) застосовували 5,25% гіпохлорит натрію, лікування проводили за схемою GT-file+$NaClO_5$,25%+EDTA17%, відтак інфекцію виявили у 52,72% каналів [10]. J. Vera та співавт. (2012 р.) перед видаленням зубів обробляли мезіальні канали та проводили гістобактеріологічний аналіз. Механічну обробку виконували системою файлів K3 та Light speed, а також системою ProTaper® («Dentsply Maillefer», Швейцарія) з подальшою медикаментозною обробкою: гіпохлорит натрію (NaClO) 5,25%+EDTA17%+2% водний розчин хлоргексидину. У 100% випадків спостерігали залишкові мікроорганізми. Найінфікованішими були топографічно складні ділянки — апікальна, пришийкова, а також латеральні відгалуження [11].

При застосуванні гідроксиду кальцію антибактеріальної дії досягають у 85–95% випадків [9–11]. Проте такий метод неефективний під час повторного ендодонтичного лікування в разі виявлення у каналі *E. faecalis*, стійкість яких до дії гідроксиду кальцію є результатом здатності бактерій виділяти водень із протонного насосу, що, з'єднуючись із гідроксильними іонами гідроксиду кальцію нейтралізує високий показник pH препарату та, щільно з'єднуючись із колагеном і глибоко проникаючи у дентинні канальці, дозволяє їм утворювати високорезистентні до несприятливих факторів біоплівки [8, 15].

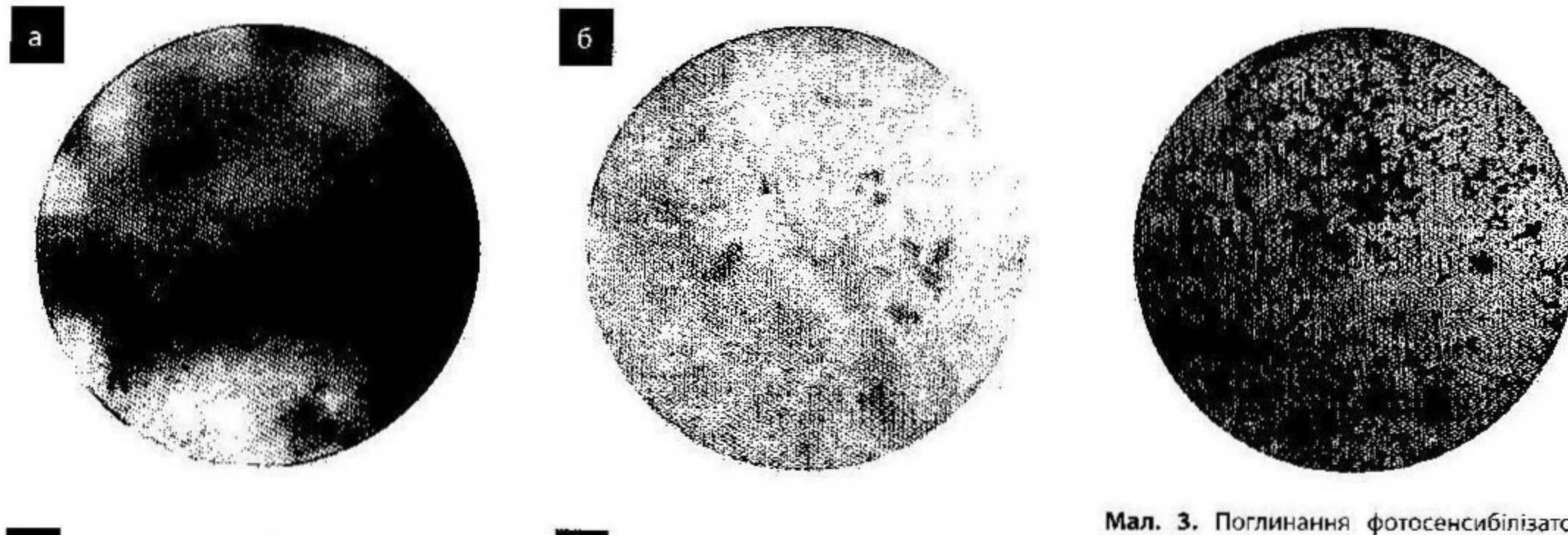
Найчастіше первинне ендодонтичне лікування є невдалим через наявність *Enterococcus, Prevotella, Propionibacterium і Actinomyces*. Хоча *E. faecalis* є складовою нормальної мікрофлори людини, саме з ними пов'язують неефективність ендодонтичного лікування через персистувальну інфекцію. У 30–48% випадків зуби залишаються інфікованими після проведеного лікування [6]. Попри різноманіття засобів і методик, у складних клінічних випадках, зокрема при повторному ендодонтичному лікуванні, виникає потреба у застосуванні додаткових засобів антибактеріальної терапії.

Матеріал і методи

Провели мікробіологічні дослідження вмісту кореневих каналів у 15 пацієнтів, які потребували повторного ендодонтичного лікування і яким, на основі клінічних та рентгенологічних ознак, діагностували хронічний апікальний періодонтит. Для мікробіологічних досліджень, які проводили у Науково-дослідному центрі молекулярної мікробіології та імунології слизових оболонок Ужгородського національного університету, з кореневих каналів забирали біологічний матеріал. За результатами дослідження, у 9 пацієнтів ви-



Мал. 1. Мікроскопія біоплівки: а — 1-й день інкубування; б — 5-й день інкубування, біоплівка утворена



Мал. 2. Мікроскопія зразка: а — опромінення при потужності лазера 0,5 Вт/см²; б, в — 1 Вт/см²; г — 2 Вт/см²

Мал. 3. Поглинання фотосенсибілізатора бактеріальними клітинами, мікрознімок

явили інфекцію *E. faecalis*. За допомогою системи ENTEROtest 24 в 1 пацієнта ідентифікували *Citrobacter freundii*. Виокремили чисту культуру та утворили бактеріальну суспензію, що використовували для вирощування біоплівки. Бактеріальну суспензію готували із *E. faecalis* та *Citrobacter freundii* (2×10^8 за McFarland), отриманих у результаті мікробіологічних досліджень, помістили її у фантом кореневого каналу Endo Training Bloc («Dentsply Maillefer», Швейцарія) і витримували у термостаті при температурі 36 °С. Упродовж 5 днів спостерігали за ростом біоплівки (мал. 1, а). На 3-й день інкубування відбулося пригнічення росту *Citrobacter freundii*, на 4-й — загибель культури. Відтак біоплівку вдалося отримати лише з культури *E. faecalis*. На думку мікробіологів, загибель *Citrobacter freundii* в асоціації із *E. faecalis* відбулась через супресорну дію *E. faecalis*. На 5-й день інкубування бактеріальної суспензії утворилася біоплівка *E. faecalis* (мал. 1, б).

Досліджували антибактеріальну дію інфрачервоного лазерного випромінювання при різній вихідній потужності на біоплівку *E. faecalis*, яку згодом висівали на поживні середовища м'ясопептонного та ентерококового агарів. Опромінені взірці досліджували під мікроскопом (мал. 2, а–г). Для опромінення використовували діодний лазер iLase («Biolase» США) з довжиною хвилі 940±15 нм при різних вихідних потужностях: 0,5; 1; 1,5; 2 Вт/см². Для порівняння різних методів лазерної терапії застосовували інфрачервоний діодний лазер з довжиною хвилі 940±15 нм та рекомендованою потужністю 0,5 Вт/см² червоний діодний лазер з довжиною хвилі 650±15 нм потужністю 0,1 Вт/см². Сенсибілізатором слугував 1% водний розчин метиленового синього (мал. 3). Фотосенсибілізатор обирали зважаючи на пік адсорбції світла для цієї речовини. Спектр адсорбції метиленового синього, згідно з молярним коефіцієнтом поглинання, є максимальним (98% пройденого світла) при довжині хвилі 664 нм (мал. 4). Опромінювали бактеріальну суспензію досліджуваних мікроорганізмів *E. faecalis* з початковою концентрацією бактерій 1×10^8 КУО/мл у пробірках Еппендорфа, які розподілили на дві дослідних групи. У контрольній групі опромінення не виконували. Загальна тривалість експозиції при дії інфрачервоного лазера становила 90 с, а червоного лазера із фотосенсибілізатором — 180 с. Після обробки лазером матеріали кількісно висівали на поживні середовища.

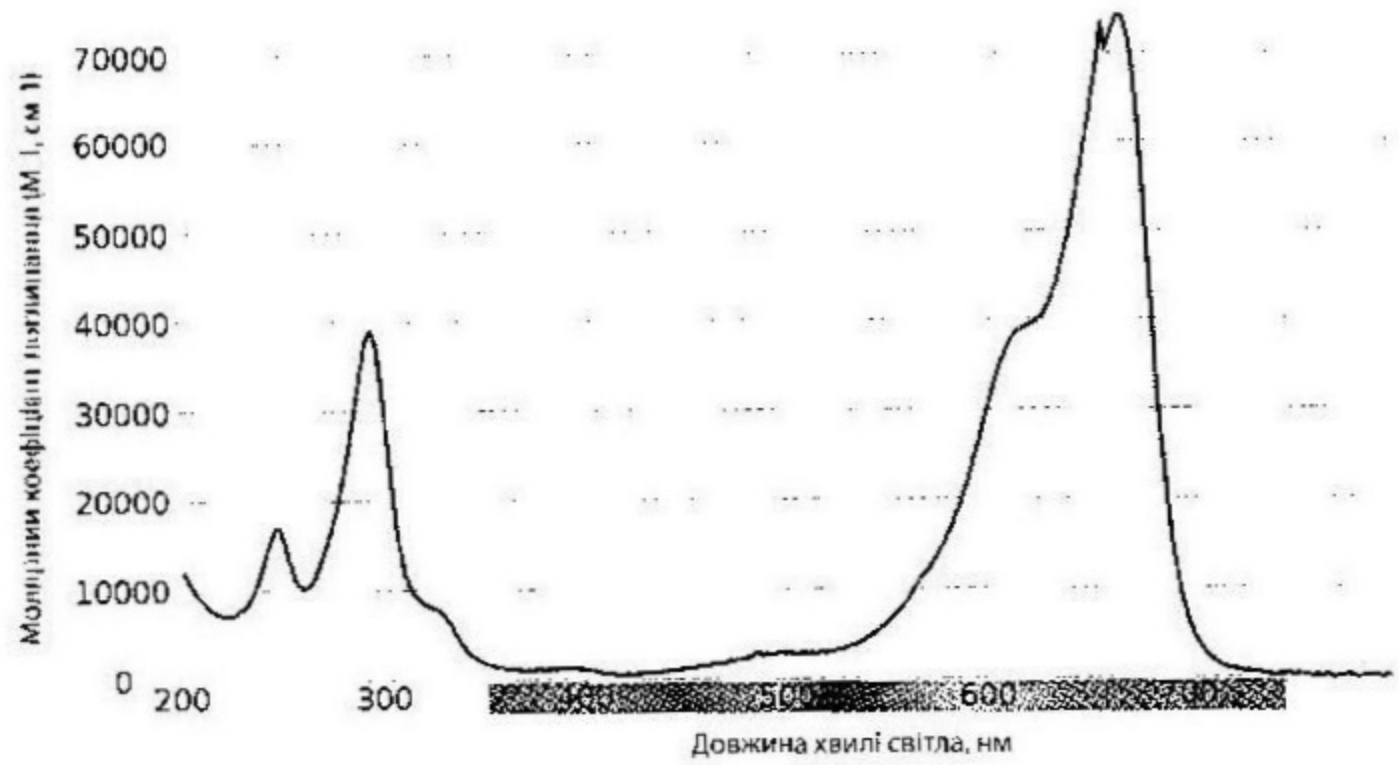
Таблиця 1. Результати мікробіологічного дослідження взірців, опромінених різними методами

Групи дослідження	Кількість колоній одиниць утворення, КУО/мл	
	Фотодинамічна терапія	Інфрачервоний лазер
1	$1,25\times10^7\pm0,09\times10^7$*	$6,0\times10^6\pm0,38\times10^7$*
2	$1,30\times10^7\pm0,1\times10^7$*	$3,3\times10^6\pm0,49\times10^7$*
Контрольна	$1,65\times10^7\pm0,11\times10^7$	$1,65\times10^7\pm0,11\times10^7$

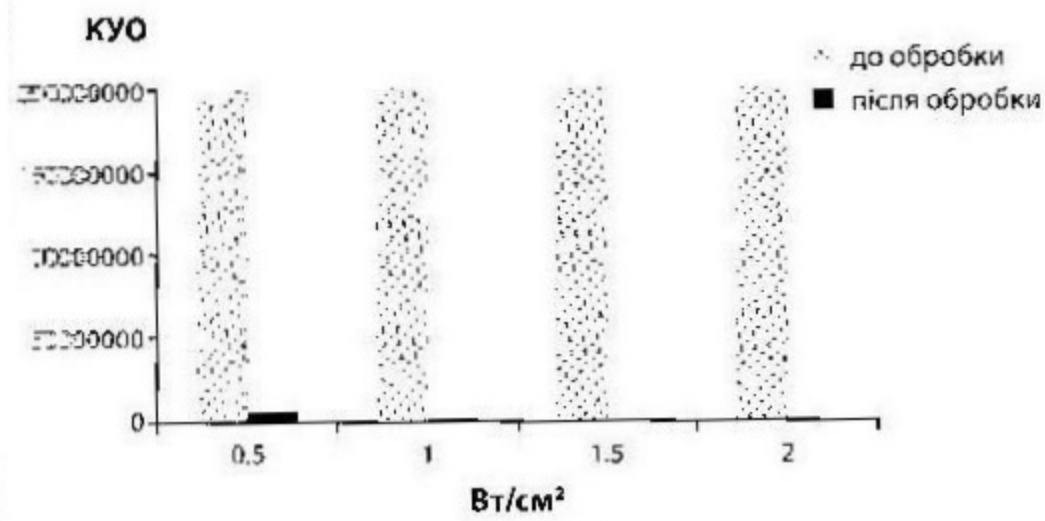
*Примітка: * результати, які вірогідно відрізняються від показників групи контролю*

Результати та їх обговорення

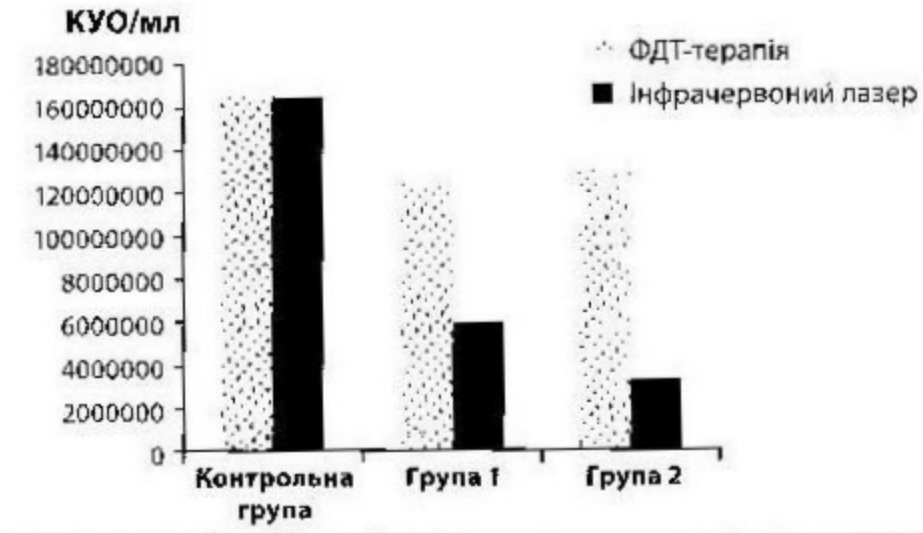
Після лазерної обробки інфрачервоним діодним лазером з довжиною хвилі 940±15 нм при різній вихідній



Мал. 4. Спектр адсорбції метиленового синього, згідно з молярним коефіцієнтом поглинання



Мал. 5. Залежність антибактеріальної дії лазерного випромінювання від потужності лазера



Мал. 6. Результати мікробіологічного дослідження взірців, опромінених методом ФДТ, та інфрачервоного лазерного випромінювання

потужності, з опроміненням 0,5 Вт/см² кількість бактерій зменшилась із $2\times10^8\pm0,63\times10^8$ до $0,5\times10^4\pm0,15\times10^4$ ($p<0,001$) КУО, при потужності 1 Вт/см² – із $2\times10^8\pm0,63\times10^8$ до $0,7\times10^2\pm0,28\times10^2$ ($p<0,001$) КУО. При потужностях 1,5 та 2 Вт/см² росту бактерій не спостерігали (табл. 1).

Відзначили уповільнення росту досліджуваних мікроорганізмів *E. faecalis* при використанні методу ФДТ в обох групах дослідження, порівняно із контрольною групою, де опромінення не проводили. При дії інфрачервоного лазера з довжиною хвилі 940±15 нм та потужністю 0,5 Вт/см² простежували значне зменшення кількості *E. faecalis*, хоча за попередніми результатами досліджень, оптимальний показник потужності становив 1,5 Вт/см² (мал. 5, 6). Згідно з результатами дослідження, вищим був показник антибактеріальної дії інфрачервоного лазера, аніж метод ФДТ з метиленовим синім, що не вирізнявся чіткою антибактеріальною дією на *E. faecalis*. Отримані результати збігаються з даними J. Souza та співавт. (2009), які не виявили суттєвого впливу ФДТ на ефективність дезінфекції кореневих каналів, інфікованих *E. faecalis* [19].

У численних дослідженнях, описаних у сучасній науковій літературі, наведено переваги застосування діодних лазерів у додатковій антибактеріальній терапії. Порівнювати дослідження досить важко через різні характеристики налаштувань лазера, довжину хвилі, та умови проведення експерименту. Однак вплив лазерного випромінювання на широкий спектр мікрофлори кореневого каналу, а також взаємодія його з іншими лікувальними засобами недостатньо вивчені. Сьогодні без лазерної терапії не обходяться у світовій ендодонтичній практиці, але необхідними є ґрунтовні клінічні випробування та модифікації протоколів застосування у різних клінічних випадках.

Незважаючи на наукові дослідження, за допомогою яких вдалося досягти високої антибактеріальної дії фотодинамічної терапії під час ендодонтичного лікування [19], чітко вираженої антибактеріальної дії ФДТ на *E. faecalis* не отримали. Запропонований метод, безумовно, перспективний, але потребує подальших порівняльних досліджень ефективності для використання в ендодонтичній практиці.

Висновки

Результати досліджень показали високу антибактеріальну дію інфрачервоного лазерного випромінювання, бактеріостатичну і бактерицидну дію напівпровідникового лазера з довжиною хвилі 940 нм на *E. faecalis* та залежність антибактеріальної дії від потужності випромінювання. Найвищого показника антибактеріальної дії досягли при потужностях випромінювання 1,5 і 2 Вт/см², росту мікрофлори

не спостерігали як під час дослідження чистої культури, так і на біоплівках. У порівняльних дослідженнях методу ФДТ з метиленовим синім та інфрачервоного напівпровідникового лазера з довжиною хвилі 940 нм, кращої антибактеріальної дії досягли за помогою напівпровідникового лазе на *E. faecalis*.

Список використаної літератури

1. Барер Г.М. Обеспечение успеха повторного эндодонтического вмешательства / Г.М. Барер, И.А. Овчинникова, В.А. Завьялова, В.Г. Маслий / Клин. стоматол. — 2003. — №2. — С. 38–40.
2. Потапчук А.М. Сучасна фізіотерапія та діагностика в стоматології / А.М. Потапчук, П.П. Добра, В.В. Русин, О.Ю. Рівіс. — Ужгород: ФОП Береза, 2012. — 449 с.
3. Ніколішин А.К Індивідуальний підбір матеріалів для обтурації кореневих каналів у хворих на хронічний верхівковий періодонтит за методом Р. Фолля / А.К. Ніколішин, Т.Д. Бублій // Галиц. лікар. вісн. — 2003. — 10, №1. — С. 123–126.
4. Геранін С.І. Антибактеріальна активність ендодонтичних іригантів і гемостатичних засобів при незворотних формах пульпітів / С.І. Геранін, А.К. Ніколішин, О.В. Ганчо // Соврем. стоматология. — 2010. — №5. — С. 27–30.
5. Бариляк А.Я. Нанолазерна дезінфекція системи каналу кореня зуба (експериментальне дослідження) [Рукопис]: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.22. — Львів, 2009. — 180 с.
6. Molander A., Reit C., Dahlen G., Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis // Int. Endod. J. — 1998; 31:1–7.
7. Bellido J.L., Guirao G.Y., Zufiaurre N.G., Manzanares A.A. Efflux-mediatic antibiotic resistance in gram-positive bacteria // J. Med. Microbiol. Rev. — 2002. — Vol. 13. — P. 1–13.
8. Kishen A., George S., Kumar R. Enterococcus faecalis-mediated biomineralized biofilm formation on root canal dentine in vitro // J. Biomed. Mater. — 2006;77:406–15.
9. Shuping G.B. Reduction of intracanal bacteria using nickel-titanium rotary instrumentation and various medications / G.B. Shuping, D. Orstavik, A. Sigurdsson, M. Trope // Journal of Endodontic. — 2000. — Vol. 26, No. 12, Dec.
10. McGurkin-Smith R., Trope M., Caplan D., Sigurdsson A. Reduction of intracanal bacteria using GT rotary instrumentation, 5.25% NaOCl, EDTA and Ca(OH)2 // JOE. — 2005.— Vol. 31, No 5, May.
11. Vera J. One-versus two-visit endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: a histobacteriologic study / J. Vera, J.F. Siqueira, D. Ricucci, S. Loghin, N. Fernandez, B. Flores, A.G. Cruz // JOE. — 2012. — Vol. 5, No 5, May.
12. Dobson J., Wilson M. Sensitization of oral bacteria in biofilms to killing by light from a low-power laser // Arch. Oral. Biol. 37: 1992:883–887.
13. Griffiths M.A., Wren B.W., Wilson M. Killing of methicillin-resistant Stapyilococcus aureus in vitro using aluminium disulphonated phthalocyanine, a light-activated antimicrobial agent. Antimicrob Chemother 40: 873–876, 1997.
14. Sjögren U. Success and failure in endodontics. Umeå, Sweden: University of Umeå, Odontological Dissertation. — 1996. — No. 60.
15. Brett E.G. Endodontic retreatment: Achieving success the second time around. Roots №3, 2012.
16. Xiaogu Wang, Yichao Sun, Yuichi Kimura, Jun-Ichiro Kinoshita, Nelson Tatsunari Ishizak, Koukichi Matsumoto. Effects of diode laser irradiation on si layer removal from root canal walls and apical leakage after obturation // Photomedicine and La Surgery. — 2005. — Vol. 23, No 6.
17. Da Costa Ribeiro A., Nogueira G.E., Antoniazzi J.H. Moritz A., Zezell D.M. Effects of diode laser (810 n irradiation on root canal walls: thermographic an morphological studies // J. Endod. — 2007, 33(3):252–255.
18. Митронин А.В., Чунихин А.А. Важные аспекты применения диодного лазера при эндодонтическом лечении хронического пулы Анализ клинико-лабораторного исследования Стоматология. — 2011. — №4.
19. Leti´cia C. Souza, Patri´cia R.R. Brito, Julio C. Macl de Oliveira, Flarvio R.F. Alves, Edson J.L. Moreira, Herlio R. Sampaio-Filho, Isabela N. Ro €cëas, Jose Siqueira, Jr. Photodynamic therapy with two diffe photosensitizers as a supplement to instrumenta Irrigation Procedures in Promoting Intracanal reduction of Enterococcus faecalis // J. Endod. — 2009; 1–5.
20. Gutknecht N. Lasers in Endodontics // Journal of t Laser and Health Academy. 2008; No. 4/1.
21. Schoop U., Moritz A., Kluger W., Patruta S., Gohar K., Sperr W., Wernisch J., Gattringer R., Mrass P., Georgopoulos A. The Er:YAG laser in endodontics: results of an in vitro study // Lasers Surg Med. — 2002;30(5):360–4.

Стаття надійшла в редакцію 23 грудня 2014