

Оценка эффективности антимикробного воздействия метода фотодинамической терапии на микрофлору корневого канала у пациентов с заболеваниями пульпы и периодонта

И.М. РАБИНОВИЧ*, д.м.н., проф., зав. отделением

Н.А. ДМИТРИЕВА**, к.м.н., зав. лаб.

С.А. ГОЛУБЕВА*, асп.

*Отделение кариесологии и эндодонтии ФГБУ Минздрава РФ, г. Москва

**Лаборатория микробиологии ФГБУ Минздрава РФ, г. Москва

Evaluation of antimicrobial effect of photodynamic therapy (PDT) on root canal microflora in patients with diseases of the pulp and periodontal tissues

I.M. RABINOVICH, N.A. DMITRIEVA, S.A. GOLUBEVA

Резюме: Целью исследования явилось изучение эффективности метода фотодинамической терапии при лечении заболеваний пульпы и периодонта. Применялась светодиодная лампа FOTOSAN, генерирующая свет с длиной волны 625-635 нм. В качестве фотосенсибилизатора использовали толуидиновый синий. Были исследованы 73 пробы содержимого корневых каналов до и после ФДТ. Результаты проведенного исследования доказывают антимикробную эффективность ФДТ при эндодонтическом лечении.

Ключевые слова: пульпит, периодонтит, фотодинамическая терапия, антимикробная эффективность, светодиодная лампа FOTOSAN, толуидиновый синий.

Abstract: Research is aimed at studying the antimicrobial efficacy of photodynamic therapy in treatment patients with pulpitis and periodontitis. Light-emitting-diode lamp «FOTOSAN» with wavelength 625-635nm was used as light source. Toluidine blue was used as photosensitizer. 73 specimens of root canal content before and after PDT were tested. The current study results prove the antimicrobial efficacy of PDT in endodontic treatment.

Key words: pulpitis, periodontitis, photodynamic therapy, antimicrobial efficacy, light-emitting-diode lamp «FOTOSAN», toluidine blue.

Лазерные технологии открывают новое перспективное направление в лечении кариеса и его осложнений. Антибактериальное воздействие лазера является важным аспектом его многофакторного влияния на биологические системы. Данный эффект лазерного излучения в комплексе с его уникальными биостимулирующими свойствами может быть использован для селективного подавления патогенной микрофлоры, сенсibilизированной препаратами, активируемыми лазерным светом относительно небольшой мощности (Рисованный С.И. с соавт., 2007).

В настоящее время достигнуты значительные успехи в изучении вопросов этиологии и патогенеза кариеса и его осложнений. Исследования последних лет указывают на ведущую роль в развитии данной группы заболеваний микробного фактора (Бонсор С. Дж., 2009; Давыдова Т. Р., 2001; Дмитриева Н. А., 1997). Сегодня в различных областях медицины с успехом применяется новая технология, имеющая несколько названий: фотодинамическая терапия (ФДТ), фотоактивируемая дезинфекция (ФАД), бактериотоксическая терапия (БТС-терапия). Суть этого метода заключается в избирательном повреждении патологически измененных

клеток и патогенных микроорганизмов за счет накопления ими светочувствительных веществ (фотосенсибилизаторов). При последующей активации фотосенсибилизатора светом лазера или светодиодной лампы определенной длины волны происходит фотохимическая реакция, в результате которой молекулярный триплетный кислород превращается в синглетный, с образованием большого количества свободных радикалов, что приводит к гибели бактериальной клетки (Странадко Е. Ф., 2000).

Впервые фотодинамическое воздействие стало применяться в онкологии. Данный метод с успехом используется для лечения доброкачественных и злокачественных новообразований любой локализации, но наиболее распространен при терапии заболеваний кожи, дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, мочевого пузыря (Наумович С. А., Плавский В. Ю., 2007). Также доказана эффективность применения ФДТ для лечения язвенной болезни желудка, ассоциированной с микроорганизмом *Helicobacter pylori* (Заблудский А. Н., 2003).

На сегодняшний день показания для применения метода фотодинамической терапии значительно рас-

ширились. В литературе появились данные, подтверждающие эффективность данного воздействия на микрофлору инфекционного очага (Гельфонд Б. Р., 2001; Яшунский Д. В., 2002; Maisch T., 2004). Получены положительные результаты лечения гнойных заболеваний мягких тканей, трофических язв и синуситов (Емельяненко Л. А., 2001; Коробоев У. М., 2001). Выявленный антибактериальный эффект ФДТ лег в основу использования данного метода в стоматологии, в частности в пародонтологии (Кречина Е. К., 2006), эндодонтии (Bonsor S. J., 2006) и при лечении кариеса зубов (Рабинович И. М., 2010; Величко И. В., 2011).

Для проведения успешного эндодонтического лечения помимо инструментальной обработки системы корневых каналов с последующей трехмерной его obturацией, необходима тщательная антисептическая обработка. Более чем в 60% случаев после успешно проведенной санации корневых каналов у пациентов вновь развиваются клинические и рентгенологические признаки патологии периодонта (Ostavik D., 2008). Это связано с наличием устойчивых к воздействию стандартных методов обработки корневых каналов микроорганизмов, что приводит к последующим рецидивам и различным осложнениям. Кроме того, в значительном числе случаев при пломбировании корневых каналов врачи вынуждены «запечатывать» микроорганизмы в канале.

Группа условно патогенных видов микроорганизмов *St. aureus*, *C. albicans*, *E. faecalis* и *E. coli* достаточно часто выделяется при воспалительных заболеваниях пульпы и периодонта. Токсины и ферменты этих микроорганизмов агрессивно воздействуют на ткани пульпы и периодонта, проявляют способность расти в монокультуре и выживать в условиях ограничения питательных веществ и резистентны к различным методам медикаментозной обработки корневых каналов (Cardoso M. G., 2008; Estrela C., 2008; Saleh I. M., 2004; Valera M. C., 2010). Это обусловлено жизнедеятельностью микроорганизмов в системе биопленки корневого канала.

Проведенное нами ранее лабораторное исследование (Рабинович И. М., Дмитриева Н. А., Голубева С. А., 2012) продемонстрировало эффективность метода фотодинамического воздействия на *St. aureus*, *C. albicans*, *E. faecalis* и *E. coli*. По результатам исследования *in vitro* наилучший антибактериальный эффект был достигнут при использовании лазерного аппарата «Латус-04» (Россия) с длиной волны 661 нм и геля «Фотодитазин», а также комплекса для проведения фотодинамической терапии Fotosan производства CMS (Дания). В комплекс Fotosan входит светодиодная лампа, генерирующая свет с длиной волны 625-635 нм. В данном диапазоне излучения находится пик поглощения световой энергии толуидиновым синим, который составляет основу фотосенсибилизатора Fotosan.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка эффективности метода фотодинамической терапии на основе использования комплекса Fotosan при лечении заболеваний пульпы и периодонта в клинической практике.

Материалом исследования служило содержимое корневого канала зуба у пациентов с пульпитом и периодонтитом до и после лечения. Под местной анестезией раскрывали полость зуба, определяли длину корневых каналов. После чего в каждый корневой канал на всю его длину помещали стерильный бумажный пин на

30 сек., затем пин извлекали и переносили в пробирку с 1,0 мл фосфатного буфера. Материал забирали дважды – до и после проведения механической обработки и фотодинамической терапии корневых каналов «проблемного зуба». Пробы сразу же передавали в лабораторию. В лаборатории полученный материал гомогенизировали и делали десятичные разведения. Посев производили на дифференциально-диагностические среды: кровяной агар, среда Сабура, желточно-солевой агар, среда Эндо, энтерококкагар, среду для культивирования лактобактерий. Посевы помещали в термостат при температуре 37°C. Учет результатов проводили через 48 ч.

Под наблюдением находились пациенты возрасте от 17 до 65 лет, которым было проведено эндодонтическое лечение пульпита и периодонтита. Всего были исследованы 73 пробы содержимого корневых каналов (38 до лечения и 35 после лечения).

Лечение проводили с использованием ротационных Ni-Ti инструментов. Во время инструментальной обработки для ирригации каналов с целью предотвращения образования дентинной пробки в апикальной трети корневого канала использовали стерильную дистиллированную воду. После адекватного расширения каждый корневой канал заполнялся фотосенсибилизатором толуидиновым синим. Затем стерильным ручным К-файлом проходили канал на всю рабочую длину для того, чтобы убедиться, что жидкость достигла апикальной трети. Экспозиция в канале составляла 10 сек. Фотосенсибилизатор активировался светодиодной лампой Fotosan в течение 1 мин. в каждом канале. Затем каналы промывали стерильной дистиллированной водой и высушивали, после чего брали повторный посев стерильным бумажным пином. На завершающем этапе обработки проводили ирригацию корневых каналов раствором гипохлорита натрия 3% и 0,12% хлоргексидином. Каналы пломбировали методом латеральной конденсации с использованием герметика. Полость зуба закрывали временной пломбой и проводили рентгенологический контроль пломбирования корневых каналов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют о значительном разнообразии представителей аэробных микроорганизмов. Выделенная микробная флора отражает микробный состав «экологических ниш» полости рта. Нами был получен рост микробной флоры в 100% посевах проб, взятых до начала лечения. Результаты микробиологического исследования до и после лечения представлены в табл. 1.

Посевы проб, взятые после механической обработки корневых каналов и последующего фотодинамического воздействия, имеют значительные отличия от первичных посевов. Количество микроорганизмов снизилось на один порядок. Однако полного освобождения от микробов нам удалось достигнуть лишь у семи пациентов, что составило 20%. Но даже в этом случае говорить о стерильности корневых каналов после лечения было бы неправомерно. Отсутствие роста в пробе может быть связано с рядом факторов: недостаточным количеством микроорганизмов в пробе, наличием в исследуемом субстрате анаэробных видов микроорганизмов и других факторов.

В научной литературе появились статьи, посвященные изучению роли *E. faecalis* в развитии одонтогенных вос-

Таблица 1. Динамика микрофлоры корневых каналов до и после лечения (КОЕ)

Число наблюдений, N = 73	ОМЧ	Стрептококк гемолитический	Стрептококк зеленящий	Эпидермальный стафилококк	Стрептококк золотистый	БГКП	Энтерококки	Лактобактерии	Грибы Кандида
До лечения, n = 38	4,3 x 10 ³	3,1x10 ³	2,9 x 10 ²	3.8 x 10 ³	0	1,5 x 10 ¹	1,3 x 10 ²	0	2,6 x 10 ¹
После лечения, n = 35	1,9 x 10 ²	1,3x10 ²	3,8 x 10 ¹	1,1 x 10 ¹	0	0	3,5 x 10 ¹	0	0

КОЕ – колонеобразующие единицы

БГКП – бактерии группы кишечной палочки

ОМЧ – общее микробное число

Таблица 2. Изменение частоты выделения микроорганизмов после проведенного лечения с использованием фотодинамической терапии (%)

Этап исследования	Стрептококк негемолитический	Стрептококк зеленящий	Эпидермальный стафилококк	Стрептококк золотистый	БГКП	Энтерококки	Лактобактерии	Грибы Кандида
До начала лечения	61,5	92,3	84,6	0	15,4	61,5	0	23,1
После лечения	33,4	6,7	46,2	0	0	22,3	0	0

БГКП – бактерии группы кишечной палочки

палений (F. Foschi, F., 2005; Sedgley C. M., 2005; Kuştarci A., 2009; Lee Y., 2008; Saleh I. M., 2004). Исследователи подтвердили способность энтерококка выживать в дентинных трубочках. При хронических воспалениях в корневых каналах часто определяют *Enterococcus faecalis*, который относится к факультативно-анаэробным грамположительным коккам. В нашем исследовании (до проведения лечения) *E. faecalis* был выделен в 61,5% случаев. После лечения количество проб, в которых были выделены энтерококки, снизилось на две трети и составило 22,3% (табл. 2).

Снижение частоты выделения отдельных видов микроорганизмов под влиянием фотосенсибилизирующей терапии нами отмечено у большинства изученных нами микробов. Но наиболее подвержены этому воздействию оказались стрептококки. Наиболее устойчив к данной терапии эпидермальный стафилококк. Интересно отметить, что ни в одном случае нам не удалось выделить золотистый (патогенный) стафилококк и лактобактерии. До лечения в 23,1% случаев были выделены грибы рода кандиды, после облучения роста этих микроорганизмов мы не отмечали. Это касается и представителей кишечной флоры.

Заключение

Недостаточная эффективность традиционных методов медикаментозной обработки корневых каналов говорит о необходимости применения дополнительных противомикробных средств. Полученные нами данные свидетельствуют о выраженном антибактериальном эффекте фотодинамической терапии при эндодонтическом лечении, что дает основание рекомендовать применение метода ФДТ в качестве дополнения к имеющимся стандартным способам медикаментозной обработки корневых каналов.

Поступила 01.02.2013

Координаты для связи с авторами:
119991, Москва, ул. Тимура Фрунзе, д. 16
ФГБУ «ЦНИИС и ЧЛХ Минздрава РФ»
Отделение кардиологии и эндодонтии

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Величко И. В. Фотодинамическая терапия при лечении кариеса зубов: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2011.
Velichko I. V. Fotodinamicheskaja terapija pri lechenii kariesa zubov: Avtoref. dis. ... kand. med. nauk. – М., 2011.
2. Гельфанд Б. Р. Сепсис: современное состояние проблемы // Инфекции и антимикробная терапия 2001. Т. 3. №3. С. 3-4.
Gel'fand B. R. Sepsis: sovremennoe sostojanie problemy // Infekcii i antimikrobnaja terapija 2001. Т. 3. №3. С. 3-4.
3. Давыдова Т. Р., Карасенков Я. Н., Хавкина Е. Ю. К проблеме дисбиоза в стоматологической практике // Стоматология. 2001. №2. С. 23-24.
Davydova T. R., Karasenkova Ja. N., Havkina E. Ju. K probleme disbioza v stomatologicheskoi praktike // Stomatologija. 2001. №2. С. 23-24.
4. Дмитриева Н. А. Сравнительная оценка антимикробного действия некоторых антисептиков, применяемых при обработке корневых каналов // Клиническая стоматология. 1997. №3. С. 8-11.

Dmitrieva N. A. Sravnitel'naja ocenka antimikrobnogo dejstva nekotoryh antiseptikov, primenjaemyh pri obrabotke kornevyh kanalov // Klinicheskaja stomatologija. 1997. №3. С. 8-11.

5. Емельяненко Л. А., Блоцкий А. А. Иммуно-биохимическая оценка эффективности фотодинамической и антиоксидантной терапии больных хроническими синуситами // Новости отоларингологии и логопатологии. 2001. С. 54-56.

Emel'janenko L. A., Blockij A. A. Immuno-biohimicheskaja ocenka effektivnosti fotodinamicheskoi i antioksidantnoj terapii bol'nyh hronicheskimi sinusitami // Novosti otolaringologii i logopatologii. 2001. С. 54-56.

6. Заблудский А. Н., Плавский В. Ю., Мостовников В. А. и др. Эндоскопическая лазерная фотодинамическая терапия геликобактер-ассоциированной патологии у детей (клинико-экспериментальное исследование) / Материалы межд. конф. «Лазеры в биомедицине». – Минск, 2003. – С. 297-305.

Zablodskij A. N., Plavskij V. Ju., Mostovnikov V. A. i dr. Endoskopicheskaja lazernaja fotodinamicheskaja terapija gelikobakter-associrovannoj patologii u detej (kliniko-

eksperimental'noe issledovanie) / Materialy mezhd. konf. «Lazery v biomedicine». – Minsk, 2003. – S. 297-305.

7. Коробов У. М. Фотодинамическая терапия гнойных ран и трофических язв: Дис. ... д-ра мед. наук. – М., 2001. – 178 с.

Korabov U. M. Fotodinamicheskaja terapija gnojnyh ran i troficheskikh jazv: Dis. ... d-ra med. nauk. – M., 2001. – 178 s.

8. Кречина Е. К., Ефремова Н. В., Маслова В. В. Патогенетическое обоснование лечения заболеваний пародонта методом фотодинамической терапии // Стоматология. 2006. №4. С. 20-25.

Krechina E. K., Efremova N. V., Maslova V. V. Patogeneticheskoe obosnovanie lechenija zabolevanij parodonta metodom fotodinamicheskoj terapii // Stomatologija. 2006. №4. S. 20-25.

9. Наумович С. А., Плавский В. Ю., Петров П. Т., Кувшинов А. В. Новое в лечении заболеваний пародонта: фотодинамическая терапия // Современная стоматология. 2007. №2. С. 27-29.

Naumovich S. A., Plavskij V. Ju., Petrov P. T., Kuvshinov A. V. Novoe v lechenii zabolevanij periodonta: fotodinamicheskaja terapija // Sovremennaja stomatologija. 2007. №2. S. 27-29.

10. Рабинович И. М., Щербо С. Н., Величко И. В. Динамика изменения микрофлоры кариозной полости после применения фотодинамической терапии // Клиническая стоматология. 2010. №4. С. 72-74.

Rabinovich I. M., Shcherbo S. N., Velichko I. V. Dinamika izmenenija mikroflory karioznoj polosti posle primenenija fotodinamicheskoj terapii // Klinicheskaja stomatologija. 2010. №4. S. 72-74.

11. Рабинович И. М., Дмитриева Н. А., Голубева С. А. Антимикробная эффективность фотоактивируемой дезинфекции корневых каналов (in vitro) // Клиническая стоматология. 2012. №2. С. 20-22.

Rabinovich I. M., Dmitrieva N. A., Golubeva S. A. Antimikrobnaja effektivnost' fotoaktiviruemoj dezinfekcii kornevych kanalov (in vitro) // Klinicheskaja stomatologija. 2012. №2. S. 20-22.

12. Рисованный С. И., Рисованная О. Н., Бычкова Н. П. Оценка эффективности использования лазерной терапии при лечении хронического периодонтита / Актуальные вопросы клиники, диагностики и лечения в многопрофильном лечебном учреждении: материалы Восьмой всероссийской научно-практической конференции. 2007. №1 (17). С. 711.

Risovannyj S. I., Risovannaja O. N., Bychkova N. P. Ocenka effektivnosti ispol'zovanija lazernoj terapii pri lechenii hronicheskogo periodontita / Aktual'nye voprosy kliniki, diagnostiki i lechenija v mnogoprofil'nom lechebном uchrezhdenii: materialy Vos'moj vs Rossijskoj nauchno-prakticheskoj konferencii. 2007. №1 (17). S. 711.

13. Странадко Е. Ф. Механизмы действия фотодинамической терапии // Рос. онкол. журн. 2000. №4. С. 52-56.

Stranadko E. F. Mehanizmy dejstvija fotodinamicheskoj terapii // Ros. onkol. zhurn. 2000. №4. S. 52-56.

14. Яшунский Д. В. Исследование антибактериальной активности фотодинамической терапии с новым фотосенсибилизатором хлоринового ряда в эксперименте in vitro // Лазер. медицина. 2002. №6 (1). С. 44-47.

Jashunskij D. V. Issledovanie antibakterial'noj aktivnosti fotodinamicheskoj terapii s novym fotosensibilizatorom hlorinovogo rjada v jeksperimente in vitro // Lazer. medicina. 2002. №6 (1). S. 44-47.

15. Bonsor S. J., Nichol R., Reid T. M., Pearson G. J. Microbiological evaluation of photo-activated disinfection in endodontics (an in vivo study) // Br Dent J. 2006. №200 (6). P. 337-341.

16. Bonsor S. J., Nichol R., Reid T. M., Pearson G. J. An alternative regimen for root canal disinfection // Br Dent J. 2006. №201 (2). P. 101-105.

17. Cardoso M. G., de Oliveira L. D., Koga-Ito C. Y., Jorge A. O. Effectiveness of ozonated water on *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, and endotoxins in root canals // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. 2008. Vol. 105. №3. P. 85-91.

18. Estrela C., Silva J. A., de Alencar A. H., Leles C. R., Decurcio D. A. Efficacy of sodium hypochlorite and chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* - a systematic review // J. Appl. Oral Sci. 2008. Vol. 16. №6. P. 364-368.

19. Foschi F., Cavrini F., Montebugnoli L., Stashenko P., Sambri V., Prati C. Выделение бактерий из содержимого корневых каналов методом полимеразной цепной реакции и связь с определенными клиническими признаками у пациентов в Италии // Микробиология и иммунология полости рта. 2005. №20 (5). С. 289-295.

20. Kuştarci A., Sümer Z., Altunbaş D., Koşum S. Bactericidal effect of KTP laser irradiation against *Enterococcus faecalis* compared with gaseous ozone: an ex vivo study // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. 2009. Vol. 107. №5. P. 73-79.

21. Lee Y., Han S. H., Hong S. H., Lee J. K., Ji H., Kum K. Y. Antimicrobial efficacy of a polymeric chlorhexidine release device using in vitro model of *Enterococcus faecalis* dentinal tubule infection // J. Endod. 2008. Vol. 34. №7. P. 855-858.

22. Maisch T., Szeimies R. M., Jori G., Abels C. Antibacterial photodynamic therapy in dermatology // Photochem. Photobiol. Sci. 2004. №3 (10). P. 907-917.

23. Ostavik D., Pitt-Ford T. R. Essential endodontology. Prevention and treatment of apical periodontitis. – Blackwell Sciences, Hamilton-London, 2-nd ed., 2008.

24. Saleh I. M., Ruyter I. E., Haapasalo M. Survival of *Enterococcus faecalis* in infected dentinal tubules after root canal filling with different root canal sealers in vitro // Int. Endod. J. 2004. Vol. 37. P. 193-198.

25. Saleh I. M., Ruyter I. E., Haapasalo M. Survival of *Enterococcus faecalis* in infected dentinal tubules after root canal filling with different root canal sealers in vitro // Int. Endod. J. 2004. Vol. 37. P. 193-198.

26. Sedgley C. M., Molander A., Flannagan S. E., Nagel A. C., Appelbe O. K., Clewell D. B., Dahlen G. Вирулентность, фенотипические и генотипические характеристики энтерококков, выделенных из эндодонтической инфекции // Микробиология и иммунология полости рта. 2005. №20 (1). С. 10-19.

27. Valera M. C., Rosa da J. A., Maekawa L. E., Oliveira de L. D., Carvalho C. A., Koga-Ito C. Y., Jorge A. O. Action of propolis and medications against *Escherichia coli* and endotoxin in root canals // Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2010. №110 (4). P. 70-74.

ЭЛЕКТРОННАЯ ВЕРСИЯ ЖУРНАЛА

«ЭНДОДОНТИЯ Today» НА САЙТЕ

www.endodont.ru

ЖУРНАЛ

«ЭНДОДОНТИЯ Today»

Подписной индекс 15626 в объединенном каталоге «Пресса России»