

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
імені М. І. ПИРОГОВА**

**ПАНАС МАРТА АНДРІЇВНА**

**УДК 576.8.06:616.31:615.849.19.**

**ВПЛИВ НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО  
ЛАЗЕРНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА УМОВНО-ПАТОГЕННІ МІКРОБНІ  
СИМБІОНТИ РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ**

**03.00.07 – мікробіологія**

**Автореферат  
на здобуття наукового ступеня  
кандидата медичних наук**

**Вінниця – 2015**

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького МОЗ України.

**Науковий керівник:** доктор медичних наук, професор  
**Корнійчук Олена Петрівна**, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, завідувач кафедри мікробіології, вірусології та імунології.

**Офіційні опоненти:** доктор медичних наук, професор **Климнюк Сергій Іванович**, завідувач кафедри мікробіології, вірусології та імунології Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України;

кандидат медичних наук, **Кондратюк В'ячеслав Миколайович**, лікар відділення реанімації та інтенсивної терапії Військово-медичного клінічного центру Центрального регіону МО України.

Захист дисертації відбудеться 06 березня 2015 р. о 14<sup>00</sup> годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К 05.600.05 Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова за адресою: 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова за адресою: 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.

Автореферат розісланий 27 січня 2015 р.

**Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради  
кандидат медичних наук**

**О. А. Назарчук**

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Одним із основних факторів запальних та дистрофічних процесів захворювань твердих тканин зубів являється мікробна плівка (зубна бляшка), що налічує велику кількість мікроорганізмів, які мають високу патогенність, здатність до адгезії та інвазії на поверхні зубів та у тканинах (Кісельнікова Л. П., 2010, Reid G., 2011).

Одним із перспективних напрямків немедикаментозної терапії є застосування лазерного випромінювання, широкий спектр біологічної дії якого дає можливість проведення високоефективних заходів комплексного характеру. Ця властивість лазерного випромінювання забезпечується за рахунок етіотропного та патогенетичного впливу та стимуляції регенераційних процесів (Junqueira J. C., 2010).

Унікальні властивості лазерного променя відкрили широкі можливості його застосування в різних галузях медицини (стоматологія, хірургія, отоларингологія, офтальмологія та ін.) з діагностичною чи терапевтичною метою. Клінічні спостереження довели ефективність лазера ультрафіолетового, видимого та інфрачервоного спектрів для місцевого застосування на патологічний осередок і для дії на весь організм (Ніколішин А. К., 2010).

Сучасний етап розвитку науки характеризується подальшою мініатюризацією технологічних процесів, що призводить до формування принципово нового напрямку – нанотехнологій (Микитюк М. В., 2011, Бариляк А. Я., 2008, Шаторна В. Ф., 2013).

Застосування наночастинок у антимікробній терапії видається перспективним для застосування у багатьох галузях медицини, в тому числі у стоматологічній практиці, оскільки дозволяє знизити медикаментозне навантаження при досягненні високого рівня терапевтичної ефективності.

Слід зазначити, що останніми роками з'являється все більше резистентних до антимікробних препаратів мікроорганізмів, зокрема умовно-патогенних видів, які спричиняють патологічні стани в ротовій порожнині, що спонукало до пошуку засобів протимікробного впливу з використанням променевої енергії. Проте, дослідження із застосування лазерного опромінення, ізольовано чи в поєднанні з антибактеріальними препаратами або наночастинками на мікроорганізми, зокрема, симбіонти різних біотопів організму людини ( в тому числі, ротової порожнини) не проводились, що зумовило напрямок даного дослідження.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертація виконана у відповідності з планом наукових досліджень Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького і є частиною планової наукової роботи кафедри терапевтичної стоматології ФПДО «Захворювання пародонта. Їх зв'язок з патологією внутрішніх органів та станом довкілля» № державної реєстрації 0110U002155, шифр теми: ІН.30.0002.10., яка виконувалась впродовж 2010-2014 років та при науковій співпраці із кафедрою стоматології дитячого віку Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького «Вивчення впливу апаратного лікування на тверді тканини зубів та на тканини періодонту».

Тема дисертації затверджена на засіданні Вченої Ради медичного факультету №2 Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького від 06.03.2012 р., (протокол № 4) та на засіданні Проблемної комісії “Вірусологія, мікробіологія” МОЗ та НАМН України (протокол №157 від 17.09.2012 р.) та відкоригована на засіданні Вченої Ради медичного факультету №2 Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького від 07.02.2014 р., (протокол №5).

### **Мета і завдання дослідження**

**Мета** роботи полягала в оцінці характеру впливу низькоінтенсивного лазерного випромінювання (НІЛВ) на умовно-патогенні мікроорганізми, в тому числі симбіонти ротової порожнини, задіяні в розвитку карієсу зубів та пародонтиту, а також характеристика протимікробної дії поєданого застосування лазерного випромінювання з антимікробними хіміотерапевтичними препаратами та наночастинками.

Для досягнення поставленої мети в роботі вирішували наступні **завдання**:

1. Вивчити ступінь впливу лазерного випромінювання на різні групи мікроорганізмів.

2. Оцінити гранично-ефективні дози впливу НІЛВ на стандартні та клінічні штами мікроорганізмів.

3. Встановити ступінь впливу різних режимів низькоінтенсивного лазерного випромінювання на мікроорганізми зубної бляшки.

4. Дослідити ступінь впливу лазерного випромінювання на клітини бактерійних та грибкових ізолятів.

5. Вивчити поєдану дію лазерного випромінювання та протимікробних препаратів на стандартні та клінічні штами мікроорганізмів.

6. Дослідити поєдану дію низькоінтенсивного лазерного випромінювання та наночастинок на стандартні та клінічні штами мікроорганізмів.

7. Встановити режими застосування НІЛВ червоного і синього спектрів для досягнення найвищого терапевтичного ефекту при карієсі зубів та пародонтиті.

*Об'єкт дослідження* - стандартні штами мікроорганізмів та умовно-патогенні мікробні симбіонти, виділені з ротової порожнини при карієсі зубів та пародонтиті, препарати наночастинок.

*Предмет дослідження* - вплив НІЛВ з довжинами хвиль 635 та 445 нм на стандартні та клінічні штами мікроорганізмів, поєднана дія НІЛВ з антибактеріальними, антифунгальними препаратами та наночастинками на мікроорганізми.

*Методи дослідження.* Поставлені завдання вирішені шляхом застосування променевої енергії – НІЛВ (фізичний фактор) на мікробні агенти, мікроскопічного дослідження нативних і фіксованих препаратів мікроорганізмів, виділених із каріозних порожнин, поверхні зубів та пародонтальних тканин після опромінення НІЛВ червоного та синього спектрів, ультраструктурного дослідження мікробних симбіонтів ротової порожнини, в тому числі бактерій, задіяних в розвитку карієсу зубів та пародонтиту, бактеріологічного дослідження (виділення чистих культур мікроорганізмів, їх ідентифікація), морфологічного дослідження культур мікроорганізмів, що були піддані дії лазерного випромінювання з використанням

конфокально-люмінесцентної мікроскопії, статистичні дослідження.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше досліджено дію НІЛВ синього спектра на умовно-патогенні симбіонти, виділені з ротової порожнини, вплив на показники їх росту та встановлено ультраструктурні зміни клітин та клітинних структур мікроорганізмів при дії вказаного фактора. Вперше досліджено поєднаний вплив антибактеріальних та антифунгальних препаратів різних груп на досліджувані мікроорганізми. Вперше вивчено дію лазерного випромінювання при поєднанні із наночастинками, зокрема,  $TiO_2$ ,  $Ag/TiO_2$ ,  $S/TiO_2$  на мікроорганізми різних груп, вивчено адгезивні властивості виділених мікроорганізмів при дії НІЛВ. Проведено порівняння ефективності низькоінтенсивного лазерного випромінювання синього та червоного спектрів на досліджувані штами мікроорганізмів.

**Практичне значення одержаних результатів.** Отримані результати досліджень формують уявлення про методи немедикаментозного впливу на групи бактерій та грибів, зокрема, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* та *Candida albicans*. Результати роботи мають практичне значення як для мікробіологів, так і для стоматологів, оскільки розроблені нові підходи для розробки методів лікування та профілактики карієсу зубів та пародонтиту, спричинені бактеріальною інфекцією.

Результати дослідження впроваджені у наукову роботу кафедр вищих медичних навчальних закладів України: Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова, Буковинського державного медичного університету, Івано-Франківського національного медичного університету, бактеріологічної лабораторії Львівської обласної клінічної лікарні, бактеріологічної лабораторії Львівської обласної клінічної психіатричної лікарні.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертаційна робота є завершеним самостійним науковим дослідженням аспіранта кафедри мікробіології, вірусології та імунології Панас М.А. Автор самостійно виконала етапи планування дисертації і літературно-патентного пошуку, сформулювала мету й задачі, опанувала методи дослідження. Експерименти та забір матеріалу, усі морфологічні дослідження проведені особисто. Основні наукові положення, обґрунтування та висновки, відображені в дисертації, належать Панас М.А.

Самостійно формувала експериментальні групи мікроорганізмів, виконувала опромінення культур НІЛВ з подальшим дослідженням чутливості до антибіотиків та наночастинок. Дисертантом проведена первинна та кінцева обробка результатів досліджень, їх статистичний аналіз, сформульовано висновки та практичні рекомендації, забезпечено впровадження запропонованих методик у практику.

**Апробація результатів дисертації.** Результати й основні наукові положення дисертації висвітлені на засіданнях кафедри мікробіології, вірусології та імунології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Актуальні питання експериментальної, клінічної медицини та фармації» (Луганськ, 2012); XIII з'їзді Товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського (Ялта, 2013); науково-практичній конференції “Довкілля і здоров'я” (Тернопіль, 2013, 2014);

науково-практичній конференції молодих вчених і спеціалістів “Контroversійні питання сучасної клінічної медицини” (Львів, 2013); заочній науково-практичній конференції з міжнародною участю “Мікробіологія в сучасній медицині” (Казань, 2013); науково-практичній конференції студентів та молодих вчених із міжнародною участю «Інновації в медицині» (Івано-Франківськ, 2014); XVIII міжнародному медичному конгресі студентів і молодих вчених (Тернопіль, 2014); міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні питання стратегії, тактики застосування та дослідження антибіотиків, антисептиків, дезінфектантів» (Вінниця, 2014); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми епідеміології, мікробіології, гігієни та туберкульозу» (Львів, 2014); XIII міжнародному науково-практичному конгресі студентів та молодих вчених «Актуальні проблеми сучасної медицини» (Київ, 2014).

**Публікації.** Результати роботи відображені у 20 опублікованих наукових працях (7– одноосібно), 7 статей у фахових наукових виданнях рекомендованих ДАК України (2 статті опубліковані у журналах, які представлені в Scopus), у збірниках тез доповідей наукових конференцій (11). Отримано 2 патенти України на корисну модель.

**Структура і обсяг дисертації.** Дисертація викладена на 168 сторінках і складається з вступу, огляду літератури, розділу матеріалів і методів досліджень, чотирьох розділів власних спостережень, аналізу та узагальнення одержаних результатів, висновків, списку використаних джерел та додатку. Робота ілюстрована 53 рисунками, містить 17 таблиць. Список використаної літератури містить 206 джерел, серед яких 99 – україно- та російськомовних, 107 – іноземних.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**У вступі** обґрунтовано актуальність наукової роботи, визначено мету та завдання дослідження, висвітлено наукову новизну, розкрито теоретичне та практичне значення роботи. Викладено обсяг та структура дисертації.

**В огляді літератури** висвітлено сучасні принципи, що стосуються застосування низькоінтенсивного лазерного випромінювання на умовно-патогенні симбіонти ротової порожнини, як ізольовано, так і при поєднанні із антибактеріальними препаратами та наночастинками.

**Матеріали і методи дослідження.** Досліджували мікроорганізми ротової порожнини, виділені від 120 осіб. Було сформовано 3 групи: 45 осіб із карієсом зубів, 45 осіб із пародонтитом та 30 осіб без ознак стоматологічного захворювання.

Проводили лазерне опромінення червоного та синього спектра, виділених мікроорганізмів *in vitro*, а саме: *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* та стандартних штамів.

У роботі використовували наступні методи дослідження: мікроскопічне дослідження нативних і фіксованих препаратів, виділених із каріозних порожнин, поверхні зубів та пародонтальних тканин, ультраструктурне дослідження мікробних симбіонтів ротової порожнини, в тому числі бактерій, задіяних в розвитку карієсу зубів та пародонтиту, бактеріологічні дослідження (виділення чистих культур мікроорганізмів, їх ідентифікація), морфологічне дослідження

культур мікроорганізмів, що були піддані дії лазерного випромінювання з використанням конфокально-люмінесцентної мікроскопії, статистичні дослідження.

При проведенні дослідження використовували НІЛВ у видимому синьому (445 нм) та червоному (635 нм) діапазонах, які генерувалися світловими та лазерними діодами.

В якості джерела синього випромінювання використовували прилад із лазердіодним променем з довжиною хвилі  $\lambda=445$  нм, з максимальною потужністю 700 мВ, експериментальний прилад ВАКУ ВК-1502DD. Джерелом червоного випромінювання використовували прилад із довжиною хвилі  $\lambda=635$  нм, максимальна потужність якого становила 25 мВ. В якості джерела випромінювання червоного спектру використовували терапевтичний прилад “Scorpion Dental Optima”(виробництва Болгарія). Для проведення дослідження використовували добову культуру досліджуваного штаму. Бактеріальний завис готували у стерильному фізіологічному розчині із початковою мутністю 0,5 McFarland, яка розводилась до  $10^3$  КУО/мл. Із кінцевого розведення забирали завись культури об’ємом 0,1 мл та вносили до лунок у стерильні планшети. Опромінення здійснювали у логарифмічній фазі росту із поступовим збільшенням експозиції протягом 5, 10, 15, 20 та 30 хв. Після дії НІЛВ весь об’єм завису пересіювали мікропіпеткою на щільні поживні середовища у чашки Петрі, рівномірно розсівали шпателем і витримували у термостаті при температурі 37°C протягом 24-48 год. Через 24 год. та 48 год. підраховували кількість колоній та порівнювали отримані результати із контрольною групою, яку не піддавали опроміненню.

Адгезивні властивості досліджуваних культур при дії НІЛВ протягом 5 хв. експозиції визначали за допомогою формалінізованих еритроцитів людини 0 (I) групи крові резус – позитивної, яка є максимально наближеною моделлю для живих структур людського організму (метод Бриліса).

Для дослідження чутливості до антибактеріальних та антифунгальних препаратів використовували метод дворазових серійних розведень в бульйонах Мюллера–Хінтон та Сабуро. Для інокуляції використовували мікробну суспензію, еквівалентну 0,5 за стандартом McFarland, розведену в 100 разів в бульйонах Мюллер-Хінтона та Сабуро ( $5 \times 10^5$  КУО/мл). По 0,5 мл інокулума вносили в кожен пробір. Посіви інкубували в термостаті при температурі 37°C. Через 24 і 48 год. робили висів на тверде селективне середовище для підрахунку колоній. В якості тест-культур використали стандартні штами *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* та *Candida albicans*. Дослідження проведено у 4-х повторах.

Для наступного опромінення з довжиною хвилі 445 нм протягом 5 хв. експозиції використовували суббактеріостатичну концентрацію антибактеріальних препаратів, при яких спостерігався ріст виділених мікроорганізмів.

Для проведення досліджень використовували наступні наноконструкції:  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{Ag/TiO}_2$  та  $\text{S/TiO}_2$ , які мають фотокаталітичні властивості. Розведення наночастинок проводили у стерильному фізіологічному розчині. Концентрація наночастинок становила 0,1 мг/мл, 0,5 мг/мл та 1,0 мг/мл. Отримані концентрації наночастинок інокулювали до бактеріальної суспензії та піддавали лазерному опроміненню з довжиною хвилі 445 нм протягом 5 хвилин.

У дослідженні були передбачені заходи стосовно безпеки здоров'я пацієнта, дотримання його прав, людської гідності та морально-етичних норм у відповідності до принципів Гельсінської декларації прав людини, Конвенції Ради Європи про права людини і біомедицину та відповідних законів і наказів Міністерства охорони здоров'я України. Комісією з питань біоетики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (протокол № 4 від 28.04.2014 р.) встановлено, що порушень морально-етичних норм під час проведення досліджень не виявлено.

**Результати експериментальних досліджень.** Результати власних досліджень викладено у третьому-шостому розділах. В результаті бактеріологічних досліджень було виділено та проідентифіковано мікрофлору ротової порожнини в осіб із карієсом зубів, пародонтитом та осіб без ознак стоматологічного захворювання.

Від осіб із карієсом зубів було виділено наступні умовно-патогенні мікроорганізми: *S. salivarius* (44 штами), *S. mutans* (42 штами), *S. aureus* (8 штамі), *E. coli* (2 штами) та *C. albicans* (10 штамі). Від осіб із пародонтитом виділяли наступні мікроорганізми, яких піддавали дії низькоінтенсивного лазерного випромінювання: *S. salivarius* (38 штамі), *S. mutans* (29 штамі), *S. aureus* (12 штамі), *E. coli* (7 штамі) та *C. albicans* (19 штамі).

При ізольованому застосуванні лазерного випромінювання червоного спектру (рис.1.А) спостерігали незначне зниження ростових показників протягом 30 хв. експозиції для штамів *S. salivarius* та *S. mutans*, оскільки їх кількісний показник становив  $(18,9 \pm 2,0)$  та  $(15,9 \pm 2,0)$  КУО/мл при карієсі зубів, для штамів, виділених від осіб із пародонтитом –  $(19,5 \pm 1,6)$  та  $(17,5 \pm 1,0)$  КУО/мл та в осіб без ознак захворювання –  $(14,5 \pm 3,3)$  та  $(13,7 \pm 2,9)$  КУО/мл відповідно. Дія НІЛВ синього спектру спричинила більш високий летальний ефект серед досліджуваних культур, оскільки після 15 хв., ріст був відсутній. Лише після опромінення впродовж 10 хв. кількість пророслих колоній склала  $(6,2 \pm 1,0)$  та  $(5,1 \pm 1,1)$  КУО/мл при карієсі зубів, при пародонтиті –  $(1,9 \pm 0,8)$  та  $(2,2 \pm 0,9)$  КУО/мл, та в осіб без ознак захворювання –  $(0,9 \pm 0,8)$  та  $(0,7 \pm 0,1)$  відповідно (рис. 1.В).

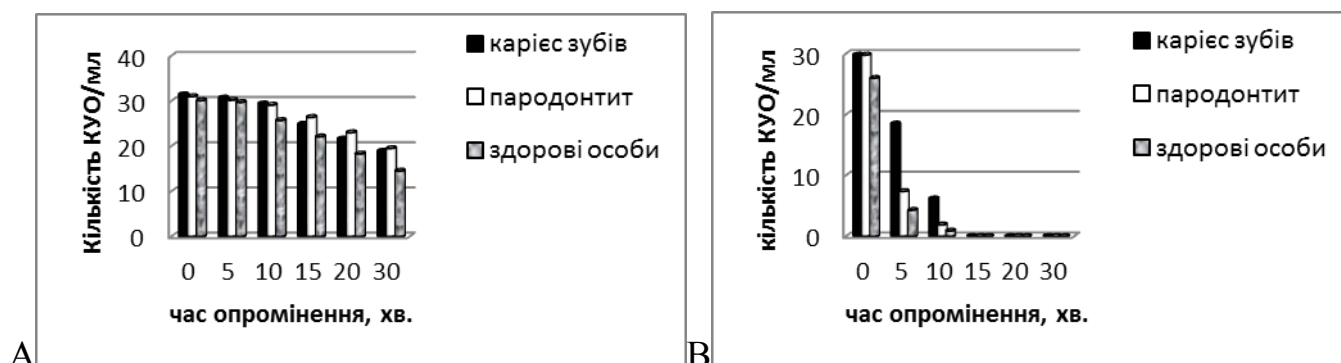


Рис. 1. Ріст *S. salivarius* та *S. mutans* після опромінення НІЛВ червоного (А) та синього (В) спектрів.

При застосуванні червоного лазера відносно ізолятів *S. aureus*, встановлено, що суттєвого зниження ростових показників не спостерігається, картина росту, при



цьому, майже повністю нагадувала ріст інтактних ізолятів (рис. 2А). При порівнянні одержаних результатів з показниками при застосуванні опромінення синього спектру, виділених ізолятів *S. aureus* у осіб із пародонтитом протягом 5 хв. ( $44,0 \pm 1,7$ ) КУО/мл та неопромінених штамів ( $73,9 \pm 1,5$ ) КУО/мл,  $p < 0,001$  встановлено значне зменшення кількості колоній, що вирости. При опроміненні протягом 5 хв. експозиції виділених ізолятів у осіб із карієсом зубів кількість пророслих колоній *S. aureus* становила ( $17,5 \pm 1,2$ ) КУО/мл ( $p < 0,001$ ). При подовженні опромінення до 15 хв. цей показник знизився до ( $1,3 \pm 1,0$ ) КУО/мл ( $p < 0,001$ ). Без впливу лазерного опромінення на ізоляти *S. aureus*, від осіб із карієсом зубів їхня кількість становила ( $68,5 \pm 1,3$ ) КУО/мл. При дії лазерного опромінення протягом 20 та 30 хв., як при карієсі зубів, так і при пародонтиті встановлено повну відсутність росту виділених стафілококів. При опроміненні протягом 5 хв. референтного штаму *S. aureus*, кількість мікробних клітин, що проросли, становила ( $42,8 \pm 1,1$ ) КУО/мл; протягом 15 хв. – ( $2,9 \pm 1,4$ ) КУО/мл ( $p < 0,001$ ), без впливу лазерного променя цей показник склав ( $70,0 \pm 1,0$ ) КУО/мл ( $p < 0,001$ ; рис.2.В).

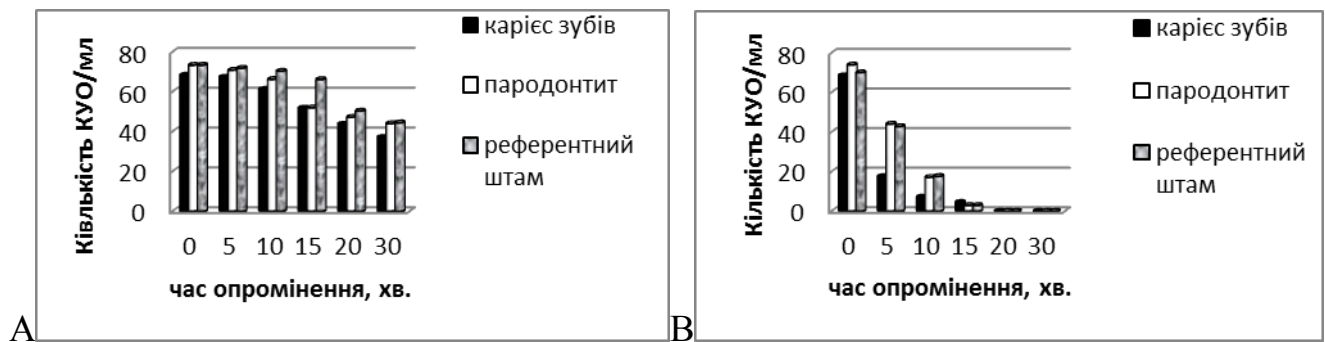


Рис. 2. Ріст *S. aureus* після опромінення НІЛВ червоного (А) та синього (В) спектрів.

При використанні променевої енергії на штами *E. coli*, спостерігали дещо інші зміни. Мав місце стимулюючий ефект НІЛВ червоного спектру з довжиною хвилі 635 нм, який не залежав від джерела ізоляції *E. coli* та був обернено пропорційний до тривалості опромінення. Так, стимулюючий ефект лазера, досягнувши максимуму при 5-ти хвилинній експозиції, набув плавної низхідної тенденції змін. 20-ти хвилинна експозиція НІЛВ червоного спектру практично не вплинула на ріст *E. coli* в порівнянні із показником росту інтактних бактерій ( $p > 0,05$ ) у трьох досліджуваних групах. Лише довготривалий (півгодинний) вплив НІЛВ червоного спектру спричинив зменшення кількості пророслих колоній *E. coli*. Кількість КУО кишкової палички, ізольованих при карієсі зубів при 30-ти хвилинній експозиції НІЛВ зменшилася незначно від  $35,9 \pm 1,4$  (інтактні штами) до  $34,7 \pm 0,8$  ( $p > 0,05$ ); при пародонтиті, відповідно, від  $35,1 \pm 1,4$  до  $32,5 \pm 1,2$  ( $p < 0,05$ ). При 5-ти хвилинній експозиції НІЛВ синього спектру, кількість колоній ешерихій зросла від ( $36,3 \pm 1,3$ ) до рівня ( $52,9 \pm 1,2$ ) КУО/мл ( $p < 0,001$ ). Дія лазера протягом 30 хв. зумовила зменшення мікробного числа *E. coli* до ( $25,7 \pm 1,3$ ) КУО/мл ( $p < 0,001$ ) (рис. 3).

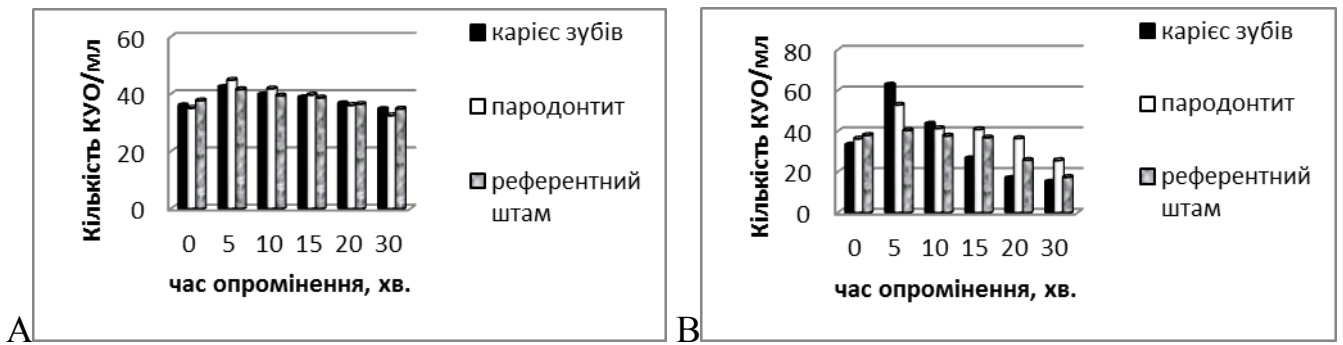


Рис. 3. Ріст *E. coli* після опромінення НІЛВ червоного (А) та синього (В) спектрів.

При аналізі дії НІЛВ на гриби роду *Candida* їх загалом виявлено винятково високу чутливість дріжджоподібних грибів до дії лазера синього спектру. Вихідні показники росту склали  $(30,1 \pm 1,0)$  КУО/мл при карієсі зубів,  $(35,6 \pm 1,2)$  КУО/мл при пародонтиті і  $(28,5 \pm 1,2)$  КУО/мл для референтного штаму. Короткотривале 5-ти хвилинне опромінення спричинило 5-6 кратне зменшення ростових показників грибів роду *Candida* ( $p < 0,001$ ). Наростання тривалості експозиції зумовило повну зупинку росту грибів у групі “карієс зубів” та практично тотальне пригнічення росту з появою лише поодиноких колоній у групах “пародонтит” та “референтний штам”(рис.4А,В).

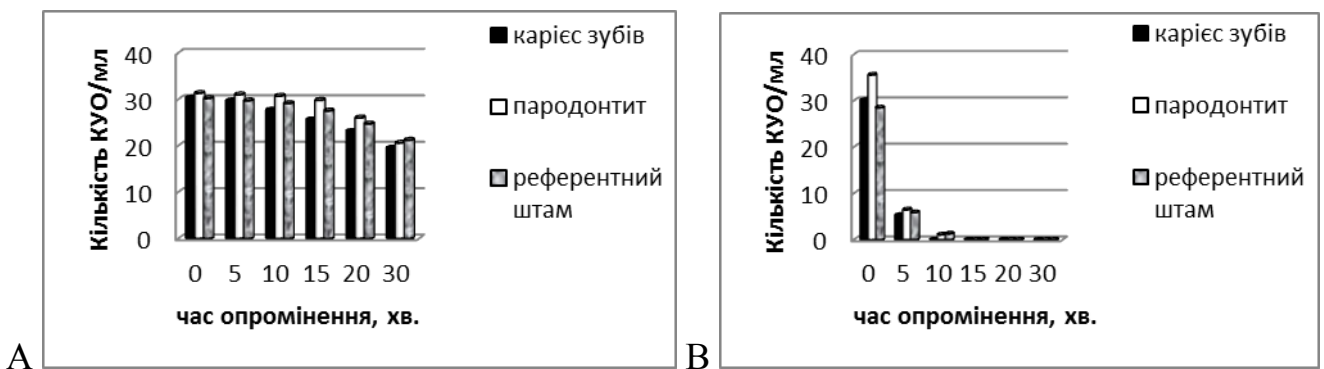


Рис. 4. Ріст *C. albicans* після опромінення НІЛВ червоного (А) та синього (В) спектрів.

В процесі експерименту по вивченню впливу НІЛВ встановлено, що після дії лазерного випромінювання адгезивна активність троєкратно знижувала як у клінічних штамів, виділених при карієсі зубів, так і штамів виділених від осіб без ознак захворювання. Під дією НІЛВ впродовж 5 хвилин встановлено ослаблення та втрату адгезивних властивостей у досліджуваних клінічних та референтних мікробних культур. Для опромінених штамів *S. salivarius*, виділених від осіб із патологією твердих тканин зубів, середній показник адгезії (СПА) та індекс адгезивності мікроорганізмів (ІАМ) становили  $(1,6 \pm 0,3)$  та  $(2,1 \pm 0,1)$ , для неопромінених культур СПА склав  $(4,0 \pm 0,2)$  та ІАМ  $(4,2 \pm 0,4)$ . Для *S. salivarius*, виділеного від здорових осіб, СПА після опромінення становив  $(1,5 \pm 0,4)$  та ІАМ –  $(1,8 \pm 0,1)$  та для неопромінених культур – СПА  $(3,7 \pm 0,7)$  та ІАМ  $(4,1 \pm 0,2)$ . При дослідженні впливу НІЛВ на адгезивні властивості *S. aureus* СПА та ІАМ

відповідно становили  $(1,6 \pm 0,6)$ ,  $(2,0 \pm 0,1)$  для опромінених культур та для неопромінених на рівні СПА  $(3,2 \pm 1,3)$  та ІАМ  $(3,7 \pm 0,3)$ . Зафіксовано також ослаблення адгезивних властивостей референтного штаму *S. aureus* після опромінення. Так, СПА для нього до опроміненого становив  $(4,1 \pm 0,3)$  та ІАМ  $(4,4 \pm 0,2)$ , а після опромінення вказані показники знизилися до  $(1,6 \pm 0,1)$  та ІАМ  $(2,1 \pm 0,1)$ .

Ще більш значним був вплив НІЛВ на *E. coli*. Для ізолятів *E. coli*, які піддавались опроміненню СПА становив  $(1,5 \pm 0,1)$  та ІАМ  $(1,7 \pm 0,1)$  для неопромінених ізолятів показник СПА склав  $(4,0 \pm 0,4)$  та ІАМ  $(4,4 \pm 0,4)$ . Для референтного штаму *E. coli*, який опромінювали протягом 5 хв. СПА знизився від  $(5,3 \pm 0,3)$  до  $(1,6 \pm 0,1)$ , а ІАМ - від  $(5,4 \pm 0,3)$  до  $(1,9 \pm 0,1)$ .

На основі результатів дослідження впливу НІЛВ на адгезивні властивості грибів *C. albicans* встановлено, що середнє значення, СПА склало  $(1,4 \pm 0,1)$  та ІАМ  $(1,9 \pm 0,1)$  проти СПА  $(3,6 \pm 0,3)$  та ІАМ  $(4,1 \pm 0,2)$  у групі неопромінених ізолятів. При опроміненні референтного штаму *C. albicans* СПА та ІАМ становили  $(1,8 \pm 0,1)$  та  $(2,2 \pm 0,1)$  відповідно. Неопромінений референтний штам *C. albicans* мав вищу адгезивність: склав СПА  $(3,8 \pm 0,3)$  та ІАМ  $(4,2 \pm 0,3)$ .

При електронномікроскопічному та конфокальномікроскопічному дослідженнях встановлені значні зміни структурних компонентів клітин мікроорганізмів (рис.5). За даними досліджень у всіх ізолятів, яких піддавали дії НІЛВ синього спектру в режимі 700 mW та експозицією 5 хв., встановлено значні деструктивні ефекти.

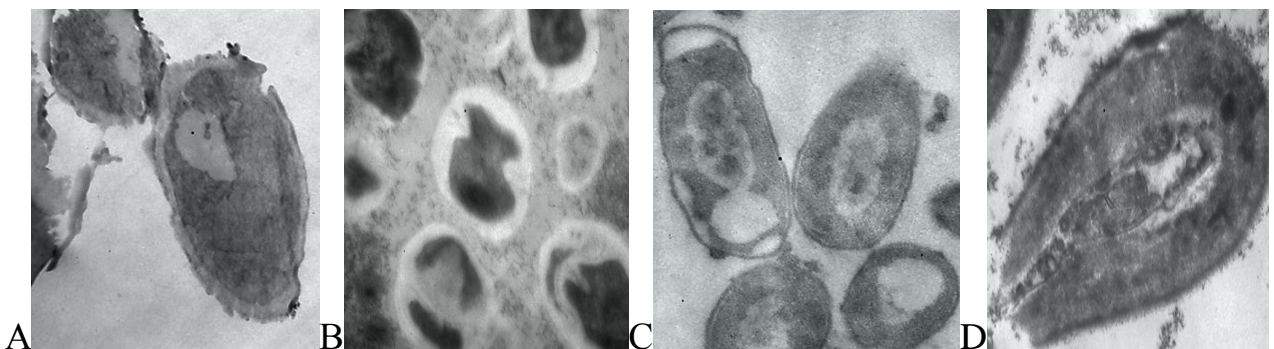


Рис. 5. Електронна мікроскопія. Збільшення 1:30000. Ультраструктурні зміни в клітинах після застосування НІЛВ протягом 10 хв. експозиції; А - *S. salivarius*, В - *S. aureus*, С - *E. coli*, D - *C. albicans*.

У клітинах бактерій спостерігали потовщення та деструкцію клітинної стінки, фрагментацію внутрішньоклітинних структур, значні зміни у нуклеїді клітин, руйнування рибосом та вивільнення внутрішніх компонентів поза межі клітини назовні. У деяких випадках спостерігали значне зниження щільності клітинної стінки бактеріальних клітин та відшарування цитоплазматичної мембрани. Також спостерігали зміни стану хроматину ядра окремих клітин в опромінених культурах *C. albicans*, що призводили до зупинки мітотичного поділу при фарбуванні з DAPI, та збільшення відсотку брунькоподібних клітин, які добре виявлялись при фарбуванні PI.

За результатами власних досліджень встановлено ефективність діючої

концентрації антибактеріальних препаратів (АБП) в поєднанні з НІЛВ синього спектру впродовж 5 хв., оскільки за рахунок активації НІЛВ знижується діюча концентрація препаратів.

Зафіксовано зниження ростових показників або відсутність росту досліджуваних мікроорганізмів при застосуванні препаратів різного походження в поєднанні з НІЛВ. Так, при ізольованому використанні таких АБП у суббактеріостатичних концентраціях, як: бензилпеніцилін, амоксициліну/клавуланат, цефалексин, цефотаксим, лінкоміцин, ципрофлоксацин, рифампіцин із суббактеріостатичною концентрацією не спостерігалось пригнічення росту клінічних та референтних штамів досліджуваних культур. При застосуванні амоксициліну/клавуланат при карієсі зубів кількість пророслих колоній *S. salivarius* та *S. aureus* становила  $(19,3 \pm 3,4)$  та  $(17,4 \pm 3,3)$  КУО/мл відповідно при пародонтиті цей показник склав  $(17,0 \pm 4,2)$  та  $(16,6 \pm 3,1)$  КУО/мл. Для референтного штаму *S. aureus* цей показник становив  $(17,4 \pm 3,3)$  КУО/мл та для *S. salivarius*, який отриманий від осіб без ознак захворювання  $(15,0 \pm 3,6)$  КУО/мл.

Для виділених штамів *E. coli* показник чутливості бактерій до поєднаної дії амоксициліну/клавуланату з НІЛВ характеризувався рівнем  $(8,0 \pm 0,8)$  КУО/мл.

При використанні цефалоспоринів 1-го та 3-го покоління ізоляти володіли вищою чутливістю до АБП, так для *S. salivarius* мікробне число склало  $(13,2 \pm 3,4)$  (цефалексин) та  $(14,4 \pm 4,3)$  КУО/мл (цефотаксим). Для *S. aureus* ці показники становили  $(15,4 \pm 4,1)$  та  $(15,1 \pm 2,5)$  КУО/мл ( $p < 0,001$ ). В порівнянні з чутливістю стрептококів антимікробна дія була нижчою на 16%. При дослідженні чутливості поєднаної дії цефалоспоринів 1-го та 3-го покоління та НІЛВ штамів *E. coli* ці показники становили  $(8,6 \pm 1,1)$  та  $(2,1 \pm 1,0)$  КУО/мл до опромінення  $(14,3 \pm 1,6)$  і  $(16,4 \pm 1,2)$   $p < 0,001$ .

Із ізольованим застосуванням фторхінолонів, а саме – ципрофлоксацину – спостерігалось зниження ростових показників для *S. salivarius* в середньому до  $(7,1 \pm 0,7)$  КУО/мл, для ізолятів *S. aureus* – до  $(12,1 \pm 2,5)$ . Для штамів *E. coli* цей рівень становив  $(13,9 \pm 1,0)$  КУО/мл.

При поєднаному застосуванні досліджуваних АБП та лазерного опромінення спостерігали повне пригнічення росту у двох видів досліджуваних штамів (*S. salivarius* та *S. aureus*) та значне зниження ростових показників *E. coli*.

При застосуванні антифунгальних препаратів із поєднанням НІЛВ синього спектру протягом 5 хв. на завісину грибів *Candida* зафіксовано повне пригнічення росту культури. При застосуванні флюконазолу первинні показники росту (без фізичного фактора) досліджуваних культур при карієсі зубів, пародонтиті та референтного штаму були на рівні  $(15,2 \pm 1,9)$ ,  $(15,4 \pm 2,9)$  та  $(16,0 \pm 1,7)$  КУО/мл. При застосуванні ністатину цей рівень склав  $(3,8 \pm 1,5)$ ,  $(4,2 \pm 2,6)$  та  $(5,8 \pm 1,5)$  КУО/мл ( $p < 0,001$ ) відповідно.

Нами проводилось дослідження із використанням НІЛВ та наночастинок 3-ох типів:  $TiO_2$  – двоокис титану,  $S/TiO_2$  – двоокис титану депонований сіркою та  $Ag/TiO_2$  – двоокис титану депонований сріблом, із концентраціями 0,1 мг/мл, 0,5 мг/мл, 1,0 мг/мл. Із вказаних наночастинок найбільший ефект спостерігався при використанні двоокису титану депонованого сріблом, оскільки кількість пророслих колоній для всіх досліджуваних мікроорганізмів склало мінімальний рівень, а саме:

при застосуванні культури *S. salivarius* – (0,4±0,1) КУО/мл, *S. aureus* – (0,7±0,1) КУО/мл, штамів *E. coli* – (7,6±0,3) КУО/мл для штамів *C. albicans* зафіксовано відсутність росту. Дані результати вказують на значний бактерицидний ефект з боку наночастинок Ag/TiO<sub>2</sub> в концентрації 0,5 мг/мл. При застосуванні TiO<sub>2</sub> та S/TiO<sub>2</sub> схожого ефекту не було зафіксовано, проте ріст знижувався у вказаній концентрації і становив для штамів *S. salivarius* (2,1±0,7) та (2,6±0,5) КУО/мл, для штамів *S. aureus* – (13,9±2,5) та (15,4±1,2) КУО/мл, для *E. coli* (15,6±1,8) та (13,5±1,1) КУО/мл. При застосуванні наночастинок відносно *C. albicans* кількість пророслих колоній знизилась до рівня (0,4±0,1) та (0,9±0,1) КУО/мл. При подальшому підвищенні концентрації наночастинок до 1,0 мг/мл, очікуваного пригнічення росту усіх видів культур мікроорганізмів не зафіксовано, навпаки їх ростові показники склали: при дії TiO<sub>2</sub> та S/TiO<sub>2</sub> – (4,1±1,9) та (5,0±1,9) КУО/мл для штамів *S. salivarius*, *S. aureus* – (13,9±2,5) та (31,0±1,4) КУО/мл, для штамів *E. coli* – (26,5±1,2) та (20,1±1,9) КУО/мл та для штамів *C. albicans* – (1,8±0,9) та (2,0±0,1) КУО/мл відповідно.

Протимікробну активність наночастинок та нанокмплексів можна розглянути як дію фотокаталізаторів, які відбивають промені від поверхні матеріалів та передають його до мікроорганізмів в ролі фотоініціатора.

Відповідно до проведених досліджень нами було досліджено вплив низькоінтенсивного лазерного випромінювання на групи мікроорганізмів, задіяних до розвитку карієсу зубів та пародонтиту. Досліджено ефективність поєднаної дії лазерного опромінення із антибактеріальними, антифунгальними препаратами та наночастинами щодо дії на клітини бактерійних та грибкових ізолятів.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та вирішення наукового завдання щодо дослідження ступеня впливу низькоінтенсивного лазерного випромінювання на групи мікроорганізмів, задіяних у розвитку карієсу зубів та пародонтиту. Отримані результати показали, що лазерне випромінювання синього спектру із поєднанням протимікробних препаратів та наночастинок викликають суттєве зниження ростової активності мікроорганізмів та зміни їх морфології.

1. Встановлені рівні протимікробної активності за летальним ефектом *in vitro* для умовно-патогенних мікроорганізмів групи карієсогенних стрептококів (*S. salivarius* та *S. mutans*), *S. aureus*, представника грамнегативної мікрофлори (*E. coli*) та дріжджоподібних грибів (*C. albicans*) після опромінення низькоінтенсивним лазерним випромінюванням синього та червоного спектрів у різних експозиційних режимах. Повний бактерицидний ефект (відсутність росту) щодо *S. salivarius* та *S. mutans* зафіксовано після 15-хвилинного опромінення, для *S. aureus* – 20 хв. опромінення за кількісним показником, *E. coli* – протягом 30 хв. експозиції ріст ізолятів пригнічувався на 50 %, *C. albicans* – 10 хв. експозиції (ріст поодиноких колоній). Повного пригнічення росту вказаних мікроорганізмів після опромінення низькоінтенсивним лазерним випромінюванням червоного спектру протягом 30 хв. експозиції не досягнуто.

2. Градуйований ефект від дії низькоінтенсивного лазерного випромінювання встановлено для досліджуваних видів мікроорганізмів, ізольованих від осіб різних клінічних груп – хворих на карієс зубів та пародонтит. За 10-хвилинної експозиції низькоінтенсивного лазерного випромінювання синього спектру рівень висівання *S. salivarius* та *S. mutans* склав – (6,2±1,0) та (5,1±1,1) КУО/мл при карієсі зубів та (1,9±0,8) та (2,2±0,9) КУО/мл при пародонтиті ( $p < 0,05$ ). Встановлено більш високу фоторезистентність *S. aureus*, оскільки суттєві зміни його ростових показників зафіксовано не менш як при 15-хвилинній експозиції опромінення. Кількісний показник росту *S. aureus* при цьому склав (1,3±1,0) КУО/мл при карієсі зубів та (2,9±1,5) КУО/мл при пародонтиті проти кількості колоній референтного штаму (2,9±1,4) КУО/мл. Еукаріотичні клітини на прикладі *C. albicans*, навпаки виявили високу чутливість до низькоінтенсивного лазерного випромінювання синього спектру. Поодинокі колонії виявлено після 10 хв. експозиції для групи ізолятів при пародонтиті – (1,1±0,6) КУО/мл та референтного штаму показник росту (1,3±0,7) КУО/мл. Для групи карієс зубів – ріст відсутній.

Відмінності у чутливості до опромінення різних штамів мікроорганізмів у залежності від джерела виділення (здорові особи, хворі на карієс та хворі з пародонтитом) перш за все слід пов'язувати з мінливістю мікробних клітин в залежності від мікрооточення та змін фізико-хімічних параметрів у ротовій порожнині в умовах здорового організму та відповідній патології.

3. Для *E. coli*, які можуть висіватися при ускладнених пародонтитах, виявлено феномен стимуляції росту при опроміненні низькоінтенсивним лазерним випромінюванням впродовж 5 хв. Так, кількість пророслих колоній *E. coli* склала (62,8±1,3) КУО/мл при карієсі зубів та (52,9±1,2) КУО/мл при пародонтиті. Після 30-хвилинного опромінення зафіксовано зниження кількісних показників росту *E. coli* до (15,1±1,0) КУО/мл при карієсі зубів та (25,7±1,3) при пародонтиті проти показника референтного штаму (17,4±1,6) КУО/мл.

4. Адгезивні властивості для всіх досліджуваних видів мікроорганізмів значно послаблюються при дії низькоінтенсивного лазерного випромінювання синього спектру, оскільки для *S. salivarius*, виділених від осіб з карієсом зубів, індекс адгезивності мікроорганізмів склав (2,1±0,1) проти індексу адгезивності мікроорганізмів неопромінених штамів (4,2±0,4);  $p < 0,05$ , та зниження його до (1,8±0,1) при опроміненні ізолятів осіб контрольної групи. Для *S. aureus* показник індексу адгезивності мікроорганізмів склав (2,0±0,1) при пародонтиті та (2,1±0,1) для референтного штаму при опроміненні та (3,7±0,3) без застосування низькоінтенсивного лазерного випромінювання. Аналогічна ефективність була характерна і для *E. coli*: індекс адгезивності мікроорганізмів становив (1,7±0,1) при дії низькоінтенсивного лазерного випромінювання та (4,4±0,4) без впливу даного чинника. Для *C. albicans* показник індекс адгезивності мікроорганізмів склав (1,9±0,1) при опроміненні та (4,1±0,2) без застосування променевої енергії.

5. Механізм мікробоцидної дії низькоінтенсивного лазерного випромінювання синього спектру за даними ультрамікроскопічного дослідження полягав у руйнуванні, потовщенні та відшаруванні клітинної стінки, було виявлено фрагментацію структур цитоплазматичної мембрани та внутрішньоклітинних

компонентів. DIC та флуоресцентна мікроскопія вказують на загибель клітин досліджуваних видів та зменшення їх кількості.

6. Поєднане застосування антибактеріальних препаратів дозволяє знизити експозицію опромінення лазером синього спектру до 5 хв., при якому спостерігають повний мікробіцидний ефект для *S. salivarius* та *S. aureus*, *E. coli* з рифампіцином та *C. albicans* із флюконазолом та ністатином.

7. Характерним при поєднаному застосуванні наночастинок та наноконструкцій ( $\text{TiO}_2$ ,  $\text{S/TiO}_2$  та  $\text{Ag/TiO}_2$ ) із низькоінтенсивним лазерним випромінюванням синього спектру протягом 5 хв. експозиції призводить до значного зниження кількісних показників росту досліджуваних умовно-патогенних мікроорганізмів та мікробіцидного ефекту  $\text{Ag/TiO}_2$  із концентрацією 0,5 мг/мл відносно *C. albicans*. При застосуванні концентрацій наночастинок 1,0 мг/мл спостерігається гальмування очікуваного ефекту. Поясненням даного феномену 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.

8. Відмінності у фоточутливості досліджених видів мікроорганізмів – чинників карієсу, пародонтиту та їх ускладнень – дозволяють розробити комплексні методи місцевого лікування вказаних патологій із максимальним зниженням як хімічного, так і променевого навантаження та максимально наближеним транспортуванням антимікробного чинника до патогена, здійсненню чого сприяє нанотехнологія.

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. В комплексі лікування карієсу зубів та пародонтиту, спричиненими умовно-патогенними мікроорганізмами, є доцільною розробка методів застосування лазерних променів різного спектру та режимів для підвищення ефективності лікування як у стоматологічній практиці, так і для інших галузей медицини.

2. Поєднання антибактеріальних хімотерапевтичних препаратів з низькоінтенсивним лазерним випромінюванням дозволяє знизити ефективні концентрації хімічних чинників. Перспективним напрямком застосування лазеротерапії є поєднання їх дії з наночастинами  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{S/TiO}_2$  та  $\text{Ag/TiO}_2$ .

3. Локальне застосування лазера, для обробки твердих тканин зубів, маючи летальну дію на мікроорганізми, дозволяє попередити передачу факторів резистентності до антибактеріальних препаратів та інших факторів вірулентності.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Панас М. А. Вплив низькоінтенсивного лазерного випромінювання синього спектра на інтенсивність росту *Candida albicans*, виділених з ротової порожнини / М. А. Панас, А. Я. Бариліак, О. П. Корнійчук // Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. – 2013. – № 4. – С. 60–64. (Дисертантом проведено забір

клінічного матеріалу, проведено експериментальні дослідження, проведено статистичну обробку матеріалу, огляд літератури, підготовлено статтю до друку).

2. Панас М. А. Дія низькоінтенсивного лазерного випромінювання синього спектра на *Staphylococcus aureus* і *Escherichia coli* пародонтиті / М. А. Панас, О. П. Корнійчук, А. Я. Бариляк // Експериментальна і клінічна медицина. – 2013. – № 4. – С. 34–38. (Дисертантом проведено експериментальні дослідження, виділення та ідентифікація клінічного матеріалу, проведено статистичну обробку матеріалу).

3. Порівняльний аналіз ефективності низькоінтенсивного лазерного випромінювання синього та червоного спектрів на *Staphylococcus aureus* виділених з ротової порожнини / О. П. Корнійчук, М. А. Панас, А. Я. Бариляк, М. І. Панас, З. Я. Швидка, Я. Г. Султан // Вісник наукових досліджень. – 2014. – № 2. – С. 72–75. (Дисертантом проведено виділення та ідентифікація клінічного матеріалу, із наступним опроміненням виділених культур, підготовлено статтю до друку).

4. Панас М. А. Поєднаний вплив низькоінтенсивного лазерного випромінювання та антибактеріальних препаратів на моделі *Escherichia coli* / М. А. Панас, О. П. Корнійчук // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2014. – № 22. – С. 85–88. (Дисертантом проведено забір клінічного матеріалу, проведено експериментальні дослідження, проведено статистичну обробку матеріалу, підготовлено статтю до друку).

5. Панас М. А. Поєднана дія низькоінтенсивного лазерного випромінювання та антибактеріальних препаратів на *Streptococcus salivarius* / М. А. Панас // Галицький лікарський вісник. – 2014. – № 2. – С. 65–68. (Дисертантом проведено забір клінічного матеріалу, проведено експериментальні дослідження, проведено статистичну обробку матеріалу, огляд літератури, підготовлено статтю до друку).

6. Panas M. A. Efficiency of applying low-level laser radiation against *Streptococcus salivarius* in case of hard dental tissue lesions / M. A. Panas // The new Armenian Medical Journal. – 2014. – Vol. 8, № 3. – P. 68–73. (Дисертантом проведено забір клінічного матеріалу, проведено експериментальні дослідження, проведено статистичну обробку матеріалу, огляд літератури, підготовлено статтю до друку).

7. Panas M. A. Application of low-level laser radiation with TiO<sub>2</sub>, Ag/TiO<sub>2</sub> and S/TiO<sub>2</sub> on *Streptococcus salivarius* isolated from the oral cavity [Electronic resource] / M. A. Panas, A. Y. Barylyak, O. P. Korniychuk // Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences. – 2014. – Vol. 28, № 3. – Mode of access to the journal : <http://www.curipms.umlub.pl/issues/volume27/no3/a04/> (Дисертантом проведено експериментальні дослідження, проведено статистичну обробку матеріалу, підготовлено статтю до друку).

8. Пат. № 75845 Україна, МПК С 12 N 1/04. Спосіб зберігання мікроорганізмів роду *Streptococcus* / Панас М. А., Павлій С. Й., Павлій Р. Б., Корнійчук О. П. – № u 2012 08079 ; заявл. 02.07.12 ; опубл. 10.12.12, Бюл. № 23. (Особистий внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, які лягли в основу патенту, участь у оформленні реферату та формули винаходу).

9. Пат. № 80749 Україна, МПК С 12 N 1/04. Спосіб зберігання музейних штамів мікроорганізмів / Панас М. А., Павлій С. Й., Павлій Р. Б. – № u 2012 14821 ; заявл. 24.12.12 ; опубл. 10.06.13, Бюл. № 11. (Особистий внесок дисертанта:



проведення експериментальних досліджень, які лягли в основу патенту, участь у оформленні реферату та формули винаходу).

10. Панас М. А. До питання культивування мікроорганізмів роду *Streptococcus* / М. А. Панас // Актуальні питання експериментальної, клінічної медицини та фармації : Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 25-26 жовтня 2012 р. – Луганськ, 2012. – С. 199–200. (Дисертантом проведено експериментальні дослідження, забір та культивування клінічного матеріалу).

11. Панас М. А. Мікробний спектр слизової ясен в хворих на хронічний катаральний гінгівіт при лазеротерапії / М. А. Панас, О. П. Корнійчук // Довкілля і здоров'я : наук.-практ. конф., 25-26 квітня 2013 р. – Тернопіль, 2013. – С. 143–144. (Дисертантом особисто проводився забір клінічного матеріалу та виділення умовно-патогенних мікроорганізмів).

12. Лещук С. Й. Визначення карієсогенних організмів у зубному нальоті у дітей хворих бронхіальною астмою / С. Й. Лещук, М. А. Панас // Контroversійні питання сучасної клінічної медицини : наук.-практ. конф., 15-17 травня 2013 р. – Львів, 2013. – С. 117–118. (Дисертантом проводився забір клінічного матеріалу у групі осіб без ознак захворювання на виділення мікроорганізмів ротової порожнини).

13. Смоляр Н. И. Микрофлора зубного налета детей, страдающих бронхиальной астмой / Н. И. Смоляр, С. Е. Лещук, М. А. Панас // Микробиология в современной медицине : мат. всеросс. заочной науч.-практ. конф. с междунар. участием, 16 марта 2013 г. : тезисы докл. – Казань, 2013. – С. 144–146. (Дисертантом особисто проводився забір клінічного матеріалу із поверхні зубів у контрольні групі осіб на виділення мікрофлори ротової порожнини).

14. Панас М. А. Дія низькоінтенсивного лазерного випромінювання на стафілококи ротової порожнини / М. А. Панас, О. П. Корнійчук, А. Я. Бариліак // XIII з'їзд Товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського, 1-6 жовтня 2013 р. – Ялта, 2013. – С. 311. (Дисертантом проведено експериментальні дослідження, статистична обробка матеріалу, підготовлено тези до друку).

15. Панас М. А. Застосування низькоінтенсивного лазерного випромінювання синього та червоного спектрів на *Streptococcus salivarius* при захворюваннях карієсу зубів / М. А. Панас // Інновації в медицині : 83-я наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених із міжнар. участю, 27-28 березня 2014 р. – Івано-Франківськ, 2014. – С. 78. (Дисертантом проведено виділення та ідентифікація клінічного матеріалу, із наступним опроміненням виділених культур, підготовлено тези до друку).

16. Панас М. А. Адгезивні властивості *Staphylococcus aureus* та *Streptococcus salivarius* при дії низькоінтенсивного лазерного випромінювання синього спектру, виділених з ротової порожнини / М.А. Панас // XVIII Міжнар. мед. конгрес студентів та молодих вчених, 28-30 квітня 2014 р. – Тернопіль, 2014. – С. 288. (Дисертантом проведено забір клінічного матеріалу, проведено експериментальні дослідження, проведено статистичну обробку матеріалу, огляд літератури, підготовлено тези до друку).

17. Панас М. А. Вплив низькоінтенсивного лазерного випромінювання на адгезивні властивості *Candida albicans*, ізольованих з ротової порожнини / М.А.

Панас // Сучасні проблеми епідеміології, мікробіології, гігієни та туберкульозу : наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 16-17 травня 2014 р. – Львів, 2014. – С. 65– 67. (Дисертантом проведено аналіз виділення та ідентифікації грибів роду *Candida*, аналіз результатів адгезивної активності, підготовлено тези до друку).

18. Тимчук І. В. Адгезивний потенціал *Candida albicans*, виділених з ротової порожнини / І.В. Тимчук, М.А. Панас // Інновації в медицині : 83-я наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених із міжнар. участю, 27-28 березня 2014 р. – Івано-Франківськ, 2014. – С. 79. (Дисертантом проведено виділення вивчення адгезивної активності ізолятів *Candida albicans*, підготовлено тези до друку).

19. Панас М. А. Вплив низькоінтенсивного лазерного випромінювання в поєднанні з антифунгальними препаратами на *Candida albicans* виділених з ротової порожнини / М. А. Панас // Довкілля і здоров'я : наук.-практ. конф., 24-25 квітня 2014 р. – Тернопіль, 2014. – С.101– 102. (Дисертантом проведено забір клінічного матеріалу, проведено експериментальні дослідження, проведено статистичну обробку матеріалу, огляд літератури, підготовлено тези до друку).

20. Панас М. А. Ефективність немедикаментозної терапії мікозів, спричинених *Candida albicans*, виділених з ротової порожнини / М. А. Панас, І. В. Тимчук // Актуальні проблеми сучасної медицини : VI (68) міжнар. наук.-практ. конгрес студентів та молодих вчених, 15-17 жовтня, 2014 р. – Київ, 2014. – С.132. (Дисертантом проведено експериментальні дослідження, проведено статистичну обробку матеріалу, огляд літератури, підготовлено тези до друку).

## АНОТАЦІЯ

**Панас М.А. Вплив низькоінтенсивного лазерного випромінювання на умовно-патогенні мікробні симбіонти ротової порожнини – На правах рукопису.**

**Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 03.00.07 - мікробіологія. – Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2014.**

Дисертація присвячена мікробіологічному дослідженню та експериментальному обґрунтуванню застосування низькоінтенсивного лазерного випромінювання синього та червоного спектрів, як ізольовано, так і в поєднанні із антибактеріальними, антифунгальними препаратами та наноконструкціями. Наведено результати досліджень чутливості умовно-патогенних мікробних симбіонтів до лазерного опромінення із різною експозицією. Вивчено вплив вказаного фактора на клінічні штами мікроорганізмів, а саме: *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* та *Candida albicans*, виділених при карієсі зубів та пародонтиті та референтних штамів.

На підставі проведеного аналізу встановлені найбільш оптимальні режими використання низькоінтенсивного лазерного випромінювання на різні групи мікроорганізмів, що спричиняють патологічні процеси в ротовій порожнині. Визначено мінімально-інгібуючі дози антибактеріальних препаратів із поєднанням лазерного випромінювання синього спектру. Вперше проведено експериментальні дослідження чутливості різних штамів мікроорганізмів із поєднанням

наноконплексів: TiO<sub>2</sub>, Ag/TiO<sub>2</sub> та S/TiO<sub>2</sub> та НІЛВ.

**Ключові слова:** низькоінтенсивне лазерне випромінювання, умовно-патогенні мікроорганізми, ротова порожнина, наночастинки

## АННОТАЦІЯ

**Панас М. А. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на условно-патогенные микробные симбионты ротовой полости - На правах рукописи.**

**Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.00.07 – микробиология. – Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова МЗ Украины, Винница, 2014.**

Диссертация посвящена микробиологическому исследованию и экспериментальному обоснованию применения низкоинтенсивного лазерного излучения синего и красного спектров, как изолированно, так и в сочетании с антибактериальными, антифунгальными препаратами и наноконплексами. Приведены результаты исследований чувствительности условно-патогенных микробных симбионтов к лазерному облучению при разной экспозиции. Изучено влияние указанного фактора на клинические штаммы микроорганизмов, а именно: *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Candida albicans*, выделенных при кариесе зубов и пародонтите и референтных штаммов.

На основании проведенного анализа установлены наиболее оптимальные режимы использования низкоинтенсивного лазерного излучения на различные группы микроорганизмов, вызывающих развитие патологических процессов в ротовой полости. Определены минимально ингибирующие дозы антибактериальных препаратов в сочетании с лазерным облучением синего спектра. Впервые проведены экспериментальные исследования чувствительности различных штаммов микроорганизмов в сочетании с наноконплексами: TiO<sub>2</sub>, Ag/TiO<sub>2</sub> и S/TiO<sub>2</sub> и НИЛИ.

**Ключевые слова:** низкоинтенсивное лазерное излучение, условно-патогенные микроорганизмы, ротовая полость, наночастицы.

## SUMMARY

**Panas M. A. Effect of low-level laser radiation on opportunistic microbial symbionts of the oral cavity. - Manuscript.**

**Dissertation for a degree of candidate of medical sciences, speciality 03.00.07 - Microbiology. – Vinnytsya National Pirogov Memorial Medical University Ministry of Health of Ukraine, Vinnytsya, 2014.**

Thesis is devoted to microbiological research and experimental substantiation of application of low-level laser light blue and red spectra, both alone and in combination with antibacterial drugs, antifungal and nanocomplex. Results of sensitivity studies of opportunistic microbial symbionts to laser irradiation with different exposures are shown. The influence of these factors was studied on the clinical strains of microorganisms:

*Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*, extracted with dental caries and periodontitis, and the reference strains.

In the application of blue laser irradiation, was observed complete bactericidal effect (no growth) for *S. salivarius* and *S. mutans* after 15-min exposure, for *S. aureus* - 20 min. exposure, *C. albicans* - 10 min. exposure, *E. coli* - after 30 min. exposure growth of isolates decreased to 50%.

The results of the effectiveness determination of the red spectrum laser radiation on *S. salivarius*, *S. mutans*, *S. aureus*, *E. coli* and *C. albicans* isolated from the oral cavity of persons with dental caries and periodontitis through in vitro experiment showed that upon irradiation by the laser beam with a wavelength of 635 nm a decrease of quantitative indicators was observed with preservation of the microorganisms. Complete inhibition of growth of these microorganisms was not achieved for 30 min. exposure after exposure LLLR by red spectrum.

After had been using of antibacterial drugs at combined with LLLR were allowed to reduce the exposure of laser irradiation by blue spectrum to 5 min. At which there was complete bactericidal effect of *S. salivarius* and *S. aureus*, *E. coli* and *C. albicans* of low concentrations of antibiotics.

At the isolated using of antibacterial drugs, such as benzylpenicillin, amoxicillin / clavulanate, cephalexin, cefotaxime, lincomycin, ciprofloxacin, rifampicin with subbacteriostatic concentration was not observed inhibition of growth of clinical and reference strains. In the application of amoxicillin/clavulanate numbers of *S. salivarius* and *S. aureus* isolated from dental caries was  $(19,3 \pm 3,4)$  and  $(17,4 \pm 3,3)$  CFU/ml and in periodontitis this level was  $(17,0 \pm 4,2)$  and  $(16,6 \pm 3,1)$  CFU/ml. For reference strain of *S. aureus*, this number was  $(17,4 \pm 3,3)$  CFU/ml and for *S. salivarius*, which is obtained from individuals without evidence of disease  $(15,0 \pm 3,6)$  CFU/ml. For selected strains of *E. coli* bacteria to rate sensitivity combined effects of amoxicillin/clavulanate characterized with level of  $(8,0 \pm 0,8)$  CFU/ml. After using cephalosporins 1st and 3rd generations isolates had higher sensitivity, throughout *S. salivarius* microbial number was  $(13,2 \pm 3,4)$  (cephalexin) and  $(14,4 \pm 4,3)$  CFU/ml (cefotaxime). For *S. aureus*, these data were  $(15,4 \pm 4,1)$  and  $(15,1 \pm 2,5)$  CFU/ml ( $p < 0,001$ ). In the study of the sensitivity of combined action of cephalosporins 1st and 3rd generations and LLLT strains of *E. coli*, were  $(8,6 \pm 1,1)$  and  $(2,1 \pm 1,0)$  CFU/ml (exposure to  $14,3 \pm 1,6$  and  $16,4 \pm 1,2$  p < 0,001). From the isolated use of fluoroquinolones, such as ciprofloxacin was observed reduction of growth parameters for *S. salivarius* an average of  $(7,1 \pm 0,7)$  CFU/ml for isolates of *S. aureus*  $(12,1 \pm 2,5)$ . For strains of *E. coli* that level was  $(13,9 \pm 1,0)$  CFU/ml.

Characteristic of combined use of nanoparticles ( $\text{TiO}_2$ ,  $\text{S/TiO}_2$  and  $\text{Ag/TiO}_2$ ) with LLLR by blue spectrum for 5 min. exposure leads to decrease of microbial numbers of opportunistic microorganisms and bactericidal effect of  $\text{Ag/TiO}_2$  with concentration of 0.5 mg/ml for strains of *C. albicans*.

Based on the analysis was established the most optimal modes of using low-level laser radiation on different groups of microorganisms causing pathological processes of oral cavity. Determine the minimum inhibitory doses of antibiotics with a combination of laser light blue spectrum. Also, experimental studies done of the sensitivity of different strains of microorganisms to a combination with nanocomplexes:  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{Ag/TiO}_2$  and

S/TiO<sub>2</sub> and LLLR.

**Keywords:** low-level laser radiation, opportunistic pathogens, oral cavity, nanoparticles.