

**Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
Высшего образования «Российский университет дружбы народов»**

На правах рукописи

Артёмова Оксана Александровна

**Клинико-лабораторное обоснование применения фотодинамической
терапии для профилактики и лечения пациентов с воспалительными
заболеваниями слизистой оболочки рта**

3.1.7. Стоматология

Диссертация

**на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

**научный руководитель:
доктор медицинских наук,
доцент Разумова С.Н.**

Москва-2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА 1. Обзор литературы: Состояние проблемы и нерешенные вопросы эффективности применения антимикробных препаратов в стоматологии	13
1.1. Антимикробные средства, применяемые в стоматологии.....	13
1.2. Обоснование антимикробной эффективности ФДТ, методы и препарат ФДТ, применяемые в медицине, в том числе в стоматологии, их клиническая эффективность и перспективы развития.....	18
1.3. Экспериментальные исследования и клиническое применение ФДТ при процессах микробной природы	23
1.4. Состояние проблемы определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам при ФДТ.....	27
1.5. Химико-физическая природа лазерно-флуоресцентной диагностики (ЛФД) и обоснование ее применения при ФДТ.....	30
1.6. Факторы, влияющие на флуоресценцию бактерий.....	36
1.7. Роль гигиены съёмных протезов в поддержании здоровья человека.....	37
1.8. Резюме по обзору литературы.....	39
ГЛАВА 2. Материалы и методы исследования	42
2.1. Общая характеристика материалов и методов исследования.....	42
2.2. Метод лазерно-флуоресцентной диагностики (Аппарат раман-флуоресцентной диагностики «ИнСпектр М»).....	45
2.3. Методы экспериментальных исследований.....	50
2.3.1. Подбор фотосенсибилизатора с наибольшим квантовым выходом флуоресценции при его облучении.....	50
2.3.2. Подбор параметров для проведения ФДТ.....	54
2.4. Микробиологические методы.....	55
2.4.1. Методика забора клинического материала (зубной налет (зубная бляшка), слюна, смывы с ортопедических конструкций (протезы).....	55

2.4.2. Методы видовой идентификации клинических штаммов микроорганизмов.....	56
2.4.3. Метод экспериментального исследования микроорганизмов.....	58
2.5. Метод экспериментального исследования на животных.....	59
2.6. Клиническое стоматологическое обследование.....	62
2.6.1. Оценка гигиенического состояния полости рта по показателям ротовой жидкости.....	66
2.6.2. Оценка гигиенического состояния зубных протезов модифицированным методом С.Б. Улитовского и А.А. Леонтьева.....	66
2.6.3. Методика оценки состояния слизистой оболочки рта пациентов на основании анкетирования.....	69
2.6.4. Активация хлорофиллсодержащего раствора.....	70
2.7. Статистические методы анализа полученных данных.....	71
ГЛАВА 3. Результаты собственных экспериментальных исследований.....	74
3.1. Результаты подбора оптимальных параметров ФДТ.....	74
3.2. Результаты исследования эффективности ФДТ на культурах микроорганизмов.....	80
3.3. Результаты исследования действия фотодинамической терапии с хлорофиллсодержащим препаратом на раневую поверхность.....	85
ГЛАВА 4. Результаты собственных клинических исследований.....	91
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	102
ВЫВОДЫ.....	112
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	113
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	114
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	115
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	137

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Заболевания микробной природы до настоящего времени наносят значительный ущерб здоровью человека и ресурсам здравоохранения в России (Сипкин А.М., 2019; Янушевич О.О. 2019; Дробышев А.Ю., 2014, 2013; Шулаков В.В., 2013). Несмотря на экономический рост нашей страны, повышение уровня жизни населения, несмотря на то, что люди уделяют все больше внимания вопросам гигиены полости рта, а также значительный прогресс в диагностике, лечении и снижении числа грозных осложнений (Teoh L., 2021; Робустова Т.Г., 2015; Zamiri B., 2012; Робустова Т.Г., 2006), проблема инфекции в стоматологии до сих пор привлекает особое внимание практикующих специалистов. Так, по данным профессора Е.В. Боровского (2003 год) 80% - 95% зубов, леченных по поводу кариеса и его осложнений, являются источником одонтогенной инфекции, что подтверждено более поздними исследованиями (Бондаренко А.Н., 2015). Органы полости рта имеют небольшие размеры, сложную анатомию, выполняют важные физиологические и психологические задачи, поэтому врачи часто сталкиваются с дилеммой сохранения функции и полного выздоровления, что приводит к неэффективному лечению или даже к полной неудаче. Кроме того, заболевания микробной природы челюстно-лицевой области встречаются у людей всех возрастных групп и категорий. Особенную опасность они представляют у младенцев, пожилых людей, беременных женщин, то есть в тех случаях, когда традиционный терапевтический подход может быть противопоказан. В свою очередь распространение полирезистентных бактериальных штаммов, изменение вирулентности микрофлоры, тяжелые хронические заболевания, иммуносупрессия в анамнезе, затрудняют лечение пациентов и ведут к развитию осложнений (Шулаков В.В., 2017; Царев В.Н., 2014; Arias-Chamorro B., 2011; Иванов С.Ю., 2008).

Принимая во внимание вышеуказанное, ведутся поиски комбинированной терапии, основанной на принципиально новых как методических, так и методологических принципах, которые бы повышали эффективность лечения, сохраняя при этом жизнеспособность тканей, и имели минимум побочных эффектов (Сипкин А.М., 2018; Тарасенко С.В., 2018; Янушевич О.О., 2018; Дробышев А.Ю., 2012; Тарасенко С.В., 2015).

Разрабатываемые средства должны отвечать современным требованиям и быть малоинвазивными, высокоизбирательными, малотоксичными, а главное совместимыми с макроорганизмом.

В качестве таковых можно рассматривать различные биологически активные соединения, например, оксид азота (NO), хлорофиллсодержащие препараты и их аналоги, которые оказывают позитивное многофакторное воздействие, как на патологический, так и на организм больного в целом [1, 3, 4, 9].

В этой связи мы предлагаем использовать фотодинамическую терапию ротовой инфекции с активацией хлорофиллсодержащего препарата вне организма, при самозапуске интракорпоральном его антимикробном действии в патологическом объекте, что является принципиально новой концепцией и методикой применения [7, 10, 11]. Преимущества данной технологии в том, отсутствует привыкание микробов полости рта и их ассоциаций к антимикробному воздействию фотодинамической терапии (ФДТ). Кроме того, используемые хлорофиллсодержащие препараты (типа Фотостим, Радохлорофилл) одновременно могут оказывать антимикробное фотодинамическое (ФД) воздействие как при дополнительной его активации лазерным излучением, так и без такового (в режиме самозапуска). Все это определяет новизну предлагаемой медицинской технологии (Патент № RU 2700407 С1) и позволяет надеется на клиническую эффективность препарата хлорофиллсодержащей группы при лечении заболеваний и процессов микробной природы в стоматологии. Следует отметить, что метод ФДТ, предлагаемый для клинической проработки применительно к стоматологии, требует для своей объективизации, оценки эффективности и длительности саногенетического применения адекватных методов контроля как самого

препарата (на этапах его пробоподготовки), так и очага инфекции на этапах его реабилитации (Патент № RU 2700407 C1). В качестве метода выбора для указанных выше целей (диагностика и объективизация ФД-терапии) предлагается использовать метод лазерной конверсионной диагностики (Раман-флюоресцентная составляющая). Касательно диагностики, следует отметить, что обычно для объективизации параметров эффективности лечения и контроля за течением воспалительного процесса, рутинно используются классические клинические и лабораторные методы, такие как бактериологическое и цитологическое исследования, которые зачастую длительны, дорогостоящие и, в настоящее время, не соответствуют современным требованиям диагностики «по месту» в онлайн режиме (так как не успевают адекватно, объективно и экспрессно отражать клинику заболевания, особенно при остром и агрессивном его течении). Кроме того, при поступлении пациента в клинику, зачастую, лечебный антимикробный препарат выбирают эмпирически без соответствующего объективного контроля его обоснованного выбора, что, в итоге затрудняет лечение и усугубляет течение заболевания [1, 34, 43].

Таким образом, в настоящее время, с целью купирования активности микрофлоры и коррекции, вызванных ею, нарушений тканевого метаболизма постоянно совершенствуется комплекс лечебных методик с использованием физических, химических, биологических факторов, как местного, так и общего воздействия. Среди них важнейшая роль, безусловно, принадлежит физико-химическим факторам. Одним из таких новых методов является метод применения хлорофиллсодержащих препаратов для ФДТ, активируемой вне организма. Экспериментально-теоретическое обоснование этой новой медицинской физико-химической технологии применительно к специфической микрофлоре полости рта и ее биотопов все еще ждет своего решения. Важность и актуальность этого вопроса заключается и в том, что в настоящее время не выявлено привыкания микробов к фотодинамической терапии. При этом важно подчеркнуть, что применение лазерного излучения, как активатора ФДТ, можно будет одномоментно использовать и для диагностики, и для лечения пациента [1, 2, 7, 11].

В этом случае предпочтительней использовать высокочувствительный метод лазерной флюоресцентной диагностики (ЛФД), который, являясь экспрессным, позволяет оценивать патологический процесс по основному этиологическому фактору – микрофлоре, что обеспечивает объективный выбор параметров фотодинамической терапии и соответствующую корректировку лечения. Предложенная методика, по-видимому, повысит эффективность терапии и сократит число осложнений таких заболеваний и процессов микробной этиологии как кариес и его осложнения, стоматиты, альвеолиты, обеспечение нормализации микробиоценоза полости рта при протезировании, дисбиозах, нормализации гигиенического состояния полости рта и других ее проявлений [1, 2, 7, 11].

Такой методологический подход соответствует современным принципам патогенетической терапии «анализа по месту лечения».

Предполагаемая лечебно-диагностическая концепция, на основе разработок современных физико-механических методов, имеющая выраженную научную направленность, позволит науке и практике в области стоматологии решать проблемные вопросы, связанные с лечением, прогнозированием течения заболеваний и реабилитации пациентов.

Степень разработанности темы диссертации

Анализ литературы свидетельствует о необходимости поиска более эффективных средств антисептической обработки и антимикробного воздействия на инфекционные очаги твердых и мягких тканей ротовой полости. Исследования, близкие к теме диссертации, были связаны с поиском не токсичных форм, используемых фотосенсибилизаторов, методов адекватного обезболивания при проведении фотодинамической терапии. Одними из перспективных препаратов, к которым не выявлено привыкания микроорганизмов и которые эффективны при каждом их применении являются препараты, используемые для ФДТ. Однако их новые формы, активируемые вне организма и действующие на весь объем (площадь) микробосодержащего патологического очага в режиме самоактивации

(то есть без лазерной активации) не имеют объективного экспериментального обоснования и клинического применения (Янушевич О.О., 2019; Янушевич О.О. 2014; Узденский А.Б., 2010.) Это положение концептуально определило цель и задачи представленной научной работы.

Цель исследования

Обоснование применения метода фотодинамической терапии для повышения эффективности профилактики и лечения воспалительных заболеваний полости рта у пациентов с полной потерей зубов, использующих съемные ортопедическое конструкции.

Задачи исследования

1. Подобрать фотосенсибилизатор с наибольшим квантовым выходом флуоресценции при облучении, как определяющий фактор фотодинамической терапии, оптимальные параметры амплитудно-спектральных характеристик, установить наиболее подходящие показатели времени и мощности излучения, оценить влияние кислорода на изменение интенсивности флуоресценции хлорофиллсодержащего препарата.

2. Оценить антимикробную эффективность объемной фотодинамической терапии хлорофиллсодержащими препаратами различной концентрации, активированными вне организма низкоинтенсивным лазерным излучением и 3% раствором перекиси водорода, на тест-объектах *Ps. Aeruginosa* и *S. Aureus in vitro*.

3. В эксперименте на животных оценить эффективность применения фотодинамической терапии с использованием хлорофиллсодержащих препаратов, активированных вне организма, с помощью экспресс-метода лазерной флуоресцентной диагностики.

4. Разработать алгоритм клинического применения исследованных диагностических и терапевтических мероприятий для профилактики и лечения

пациентов с воспалительными заболеваниями полости рта и оценить эффективность предложенной лечебно-диагностической медицинской технологии.

Новизна исследования

1. Впервые установлено, что при использовании хлорофиллсодержащего препарата в концентрации 0,7% в присутствии 3% раствора перекиси водорода зона задержки роста антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов *S. aureus* и *Ps. Aeruginosa* составляет от 20 до 30 мм.

2. Впервые разработана и объективизирована высокая эффективность лечебно-диагностической медицинской технологии и обоснованы перспективы ее клинического применения. Доказано, что однократное использование данного алгоритма снижает обсемененность ротовой жидкости и протезных конструкций микроорганизмами в 10 раз у 95% пациентов.

3. Доказана высокая эффективность чувствительности микрофлоры, выделенной из полости рта, к ФДТ с использованием хлорофиллсодержащих препаратов, активированных вне организма. Установлено сокращение на 6-7 дней сроков заживления очагов воспаления.

4. Впервые разработан способ лечения воспалительных заболеваний слизистой оболочки рта с применением фотодинамической терапии (Патент № RU 2 700 407 С1 16.09.2019 г.).

Научная значимость

1. В условиях эксперимента обоснована лечебно-диагностическая концепция по использованию лазерной флюоресцентной диагностики и нового вида фотодинамической терапии инфекции с помощью высоко эффективного антибактериального лечебного фактора –хлорофиллсодержащих препаратов, 3% раствора перекиси водорода, активированных вне организма низкоинтенсивным лазерным излучением.

2. На основании объективных спектральных характеристик флуоресценции гнойной раны экспериментальных животных и клинко-микробиологических показателей, разработаны показания и противопоказания для применения новационного метода ФДТ в клинической стоматологии.

3. В условиях поликлинического приема обоснована эффективность инновационной ФДТ медицинской технологии для нормализации гигиенического состояния полости рта у пациентов с полными съёмными протезами.

Теоретическая и практическая значимости работы

Значимость исследования заключается в теоретическом, экспериментальном и клиническом обосновании применения новых лечебно-диагностических технологий для профилактики и лечения воспалительных заболеваний слизистой оболочки рта. Обоснована концепция применения лазерной флуоресцентной диагностики гигиенического состояния полости рта у пациентов, использующих полные съёмные ортопедические конструкции.

Разработан физико-химический метод ФДТ с применением хлорофиллсодержащих препаратов, активированных вне организма, в присутствии 3% раствора перекиси водорода.

Лабораторными и клиническими исследованиями убедительно доказана возможность и высокая эффективность профилактики и лечения воспалительных заболеваний слизистой рта методом ФДТ.

Оформлено и издано методическое пособие по тематике научно-клинической работы.

Методология и методы диссертационного исследования

Для достижения поставленной цели диссертационной работы проанализированы данные отечественных и зарубежных источников литературы

по теме исследования, использованы клинические, экспериментальные, лабораторные и статистические методы.

В лабораторной части проведены: подбор хлорофиллсодержащего фотосенсибилизатора с наибольшим квантовым выходом флюоресценции; подбор оптимальных параметров амплитудно-спектральных характеристик излучения, времени и мощности; изучено влияние кислорода на интенсивность флюоресценции; микробиологические исследования тест-культуры штаммов *S. aureus* и *Ps. Aeruginosa*, проведен эксперимент на лабораторных животных белых беспородных крысах линии Wistar, массой 250+/-25 граммов.

В клинической части приняли участие 80 пациентов, из них 40 мужчин и 40 женщин, в возрасте от 50 до 70 лет, разделенных на основную группу (n=40) и две группы сравнения 1 (n=20) и 2 (n=20). Разработан алгоритм клинического применения комплексного метода диагностики и профилактики воспалительных заболеваний полости рта на основе ФДТ.

Положения, выносимые на защиту

1. Физико-химический метод ФДТ, основанный на активации молекулы фотосенсибилизатора низкоинтенсивным лазерным излучением в присутствии кислорода, высокоэффективен для профилактики и лечения воспалительных заболеваний слизистой оболочки рта.

2. Разработанный алгоритм гигиены полости рта и съемных ортопедических конструкций, уменьшает микробную контаминацию полости рта и поверхности зубных протезов, способствует улучшению навыков гигиены у пациентов.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов определяется дизайном исследования, соответствующего поставленным задачам, современными экспериментальными, клиническими и статистическими

методами, их достаточным репрезентативным уровнем. Клинические исследования проведены в соответствии с принципами доказательной медицины: использованы четкие критерии включения и исключения пациентов, их достаточный объёмом, методы диагностики и лечения, в соответствии с концепцией научно-клинической работы.

Апробация диссертационного исследования проведена на совместном заседании кафедры пропедевтики стоматологических заболеваний и хирургической стоматологии и ЧЛХ МИ ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (протокол № 03000-36-04/4 от 08. 11. 2022 г.). Результаты исследования доложены на XIII научно-практической конференции молодых ученых «Научные достижения современной стоматологии и челюстно-лицевой хирургии» в ФГБУ "ЦНИИС и ЧЛХ" Минздрава России (Москва, май 2021г.); на Международной конференции «Chronobiology in Medicine and Sports» в ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (Москва, декабрь, 2020г.).

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования используются в практической работе врачей-стоматологов клиники ООО «Эстет Дент» г. Долгопрудный, внедрены в учебный процесс на кафедре пропедевтики стоматологических заболеваний МИ ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Минобрнауки РФ, на кафедре ортопедической стоматологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует паспорту специальности 3.1.7. Стоматология (медицинские науки), а именно п. 7. Изучение этиологии, патогенеза, эпидемиологии, методов профилактики, диагностики и лечения заболеваний слизистой оболочки рта. Соответствие содержания диссертационной работы

специальности 3.1.7. Стоматология (медицинские науки), по которой она представлена к защите, подтверждается апробацией работы, ее научной новизной и практической полезностью.

Публикации по теме исследования в научной печати

По теме диссертационного исследования опубликовано 11 научных работ. Из них 2 в международных базах цитирования (1 в Scopus, 1 в Web of Science), 5 - в научных изданиях, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и образования РФ для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, 2 статьи – в других изданиях, 1 учебное пособие, 1 патент на изобретение (№ RU 2700407 С1 2019 г.)

Личный вклад автора в исследование

Автор принимал участие на всех этапах проведения исследования. Автором самостоятельно проведены систематизация и анализ данных литературы по теме научной работы, на основании чего сформулирована концепция диссертации, разработан план и дизайн исследования. Автор участвовал в подготовке и проведении лабораторных и клинических исследований. Доля личного участия автора в сборе информации, проведении исследований, интерпретации полученных данных – свыше 87%.

Структура и объем диссертации

Диссертационное исследование изложено на 139 листах машинописного текста, состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, приложений. Диссертация иллюстрирована 28 рисунками и 12 таблицами. Список литературы включает 185 источников, из которых 111 отечественных и 74 зарубежных.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Состояние проблемы и не решенные вопросы эффективности применения антимикробных препаратов в стоматологии

1.1. Антимикробные средства, применяемые в стоматологии

Проблема инфекции постоянно привлекает врачей многих специальностей, в том числе стоматологов, ввиду того что понимание патогенеза и продуктивное лечение заболеваний микробной природы, имеют решающее значение для практикующего специалиста. В свою очередь число пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области (ГВЗ ЧЛЮ) не уменьшается, однако уровень летальности, с появлением антибиотиков и современных схем антибактериальной терапии, значительно снизился (Teoh L., 2021; Fating N.S., 2014; Робустова Т.Г., 2006).

В полости рта существует большое количество анатомических углублений, в которых микроорганизмы формируют уникальную и сложную биосистему. Микробиом представлен широким спектром грамположительных и грамотрицательных видов бактерий, включающих облигатные и факультативные анаэробы. Большинство инфекций ЧЛЮ имеют одонтогенную природу и, как правило, связаны с кариесом и его осложнениями [33, 37, 72, 83, 98]. Кроме того, каждое оперативное вмешательство на лицевом скелете приводит к диссеминации бактерий в кровь. Нарушение целостности кожных покровов и слизистой оболочки в пределах полости рта приводит к проникновению микроорганизмов в организм больного. Несмотря на массовую доступность лечения (в виде хирургического вмешательства и дренирования очага воспаления, в сочетании со специфической и неспецифической лекарственной поддержкой), комплексную профилактику и эффективные меры контроля, одонтогенные инфекции могут распространяться и вызывать системные воспалительные реакции, что в свою очередь представляет угрозу для жизни и здоровья [31, 80, 102, 108].

Бесконтрольное назначение антибиотиков, перекрестная устойчивость микроорганизмов, хронические заболевания, лучевая и химио- терапии, ВИЧ-инфекция и другие факторы, осложняют течение болезни, затрудняют лечение и ухудшают прогноз.

Идентификация микробиологического профиля полезна для коррекции терапии и составления индивидуального плана лечения пациента. Кроме того, это помогает выделить этиологические факторы, ответственные за возникновение конкретного заболевания. Диагностические мероприятия, осуществляемые путем микробиологического исследования и посева образцов, требуют длительного времени, а важность ранней и точной диагностики возбудителя сложно переоценить. Таким образом, подбор антимикробных средств чаще всего осуществляется эмпирически [34, 79, 93, 99, 107]. Все это позволяет считать проблему индикации микрофлоры у больных с одонтогенной инфекцией (кариес, пульпит, периодонтит и их осложнения, стоматит, гигиеническое состояние полости рта в норме и при воздействии различных физических, химических и биологических факторов эндо- и экзогенного характера) актуальной. В настоящее время ведутся поиски таких количественных и качественных методов идентификации бактериальной микрофлоры из патологических очагов, а также методов, определяющих эффективность применения антибактериальных препаратов, которые бы позволяли сократить сроки госпитализации пациентов и снижали бы число осложнений.

Из последних предложенных методик следует отметить, такие, которые определяют присутствие патогенного агента по косвенным биохимическим признакам, например, метод ПЦР (полимеразная цепная реакция), газовая и жидкостная хроматографии, электротермометрия, рН-метрия. Однако они не всегда в полной мере решают проблемы адекватной и точной видовой идентификации микрофлоры из очага воспаления. Так хроматографические технологии трудоемки и имеют малую пропускную способность, физические (термометрия, рН-метрия)- не являются этиологическими и характеризуют, преимущественно, отдельные звенья патогенеза. Тесты ПЦР не всегда валидны и

не позволяют определить чувствительность ассоциативной микрофлоры очага одонтогенной инфекции к антисептикам и антибиотикам. В свою очередь длительность микробиологической диагностики составляют до 7 суток, что является критичным для сроков подбора эффективного антибиотика. Следует отметить, что существуют значимые для лечебного процесса различия между лабораторно выделенными из воспалительного очага микроорганизмами и их истинным количественным и качественным составами. Таким образом, лечение, назначенное на основании микробиологических методов, не всегда своевременно и эффективно. Также, с помощью описываемого метода, невозможно определить концентрацию микроорганизмов «по месту» [20, 22], чем затрудняется процесс этиотропной диагностики и саногенетической терапии стоматологических пациентов, особенно в условиях поликлинического приема. Технические сложности представляет и установление в реальном времени влияние внутрибольничной инфекции (например, *Pseudomonas aeruginosa*) на течение основного гнойно-воспалительного процесса. Данный факт приводит к эмпирическому и некорректному назначению лекарственных препаратов, что в свою очередь усугубляет течение заболеваний и затрудняет их лечение.

Несмотря на информативность следует помнить о высокой стоимости и трудоемкости микробиологических исследований, что является своего рода ограничениями в рутинной практике врача-стоматолога.

Важнейшая роль в местном лечении заболеваний микробной природы ротовой полости и челюстно-лицевой области принадлежит антисептическим препаратам, то есть таким химическим и биологическим веществам, различного происхождения, состава и назначения, которые вызывают приостановку размножения и роста микроорганизмов или их гибель [53, 67, 93, 94].

Способы и методы применения антисептических средств в клинической стоматологической практике подробно описаны в руководствах Р.В. Ушакова и В.Н. Царева (2018, 2019) [93, 94].

Согласно «Лекарственным средствам» М.Д. Машковского (переработанное, исправленное и дополненное 2021г.) существует следующая их классификация:

А - галогены и галогенсодержащие соединения (главный представитель - Хлорамин Б);

Б - окислители (к ним, в том числе, относится раствор перекиси водорода (H_2O_2));

В - кислоты и щелочи (например, кислота салициловая);

Г - альдегиды (группу представляют такие вещества/препараты, как раствор формальдегида, лизоформ, гексаметиленetetрам и другие);

Д - спирты (представителем которых является спирт этиловый в различных разведениях);

Е - соли тяжелых металлов (в свою очередь группа делится на несколько подгрупп: а) Препараты серебра, б) Препараты меди, в) Препараты цинка, г) Препараты свинца, д) Фенолы), е) красители (например, такие как, метиленовый синий, бриллиантовый зеленый), ж) детергенты (к ним относят «Катионные» мыла, и Инвертные «анионные» мыла), з) Дегти, смолы, продукты переработки нефти, минеральные масла, синтетические бальзамы, препараты, содержащие серу (с такими представителями как, Ихтиол, Деготь березовый, Парафин твердый, Озокерит медицинский, Винилин, Сульфен), и) разные противомикробные и противопаразитарные препараты природного происхождения (многочисленная подгруппа, которую представляют, например, Новоиманин, Эвкалимин, Хлорофиллипт) [53].

В современном регистре лекарственных средств, разработанном академиком Янушевичем О.О. в 2018 году, также имеется классификация антисептиков.

В настоящее время, в зависимости от силы и объема своего воздействия, принята следующая классификация антисептических препаратов: сильные, умеренные и слабые. Действие сильных антисептиков приводит к гибели всех известных микроорганизмов, включая вирусы и споры, другое их название - дезинфектанты. К ним относят хлорную известь, хлорамин, трихлоризоциануровую кислоту и другие. Область применения ограничена обеззараживанием внешней среды ввиду тератогенного, онкогенного и общетоксического резорбтивного эффектов [21].

К умеренным относят такие препараты, действие которых не распространяется на споры микроорганизмов и кислотоустойчивые микобактерии, в то время как бактерии и вирусы к ним чувствительны. Это многочисленная и широко применяемая в клинической практике группа. чувствительны. Наиболее известными представителями из этой группы в стоматологии являются растворы хлоргексидина, применяемые в диапазоне от 0,02 до 2%, диоксида, мирамистина, а также препараты для фотодинамической терапии [21, 53, 64, 66].

Слабыми антисептиками называют те, которые действуют на грамположительные и/или грамотрицательные микроорганизмы. К этой группе относят, например, перекись водорода и перманганат калия.

С клинической точки зрения антимикробные препараты делят по следующим критериям: по цели применения (например, профилактические, терапевтические и так далее), по месту аппликации (например, офтальмологические, статмологические, хирургические и другие), по механизму антимикробного действия [21, 53].

По механизму противомикробного (антимикробного) действия разделяют на: деструктивный, окислительный, мембраноатакующий, антиметаболитный и антиферментный.

Следует отметить, что под деструктивным механизмом понимают «процесс разрушения структур (органов) и макромолекул, который сопровождается необратимыми изменениями строения молекул, их механических, физико-химических, электрических и иных свойств и ведет к утрате выполняемой органом или молекулой функции» (антисептики-95% спирт, галогены, препараты для ФДТ терапии, антибиотики и т.д.) [21, 53].

Окислительным механизмом действия среди антимикробных препаратов обладают перекись водорода, калия перманганат и галогены, а также препараты для фотодинамической терапии (Александров М.Т., 2008, 2010, 2020).

Перекисная теория окисления объясняет общие закономерности окисления органических веществ микробной клетки. Согласно ей на первом этапе цепной реакции от антимикробного препарата, с окислительным механизмом действия,

происходит отсоединение кислорода и его активация, в тоже время синтезируются первые продукты окисления-пероксиды (R-O-O-R) и гидропероксиды -O-OH, кроме того идет образование других продуктов реакции с более высоким электрохимическим потенциалом, чем сам кислород. Второй этап характеризуется взаимодействием реакционноспособных групп химических соединений микробной клетки с активированным кислородом и промежуточными окислителями, образовавшимися на первом этапе [1, 41, 82, 123]. Результатом чего является либо деструкция клетки, либо образование солеобразующих или несолеобразующих аналогов мишени, которые не способны выполнять функции, присущие исходному соединению. Как правило, модификация мишени носит необратимый характер, ввиду чего препаратам-окислителям характерны микробоцидный эффект действия и отсутствие привыкания к такому воздействию [39]. Кроме того, микроорганизмы содержат существенное количество макромолекул, которые легко реагируют с окислителями, что определяет широкий спектр противомикробного действия препаратов-окислителей. Однако, этот феномен все еще не нашел широкого применения при лечении заболеваний и процессов микробной природы. Так как арсенал препаратов для ФД-терапии постоянно расширяется не только в медицине в целом, но и в стоматологии в частности, их применение и внедрение требует соответствующего экспериментально-теоретического обоснования, объективной оценки их эффективности и отработки алгоритмов клинического применения [19, 21, 38, 65, 77, 95, 106, 125].

Остановимся более подробно на препаратах и методах для ФДТ терапии в стоматологии.

1.2. Обоснование антимикробной эффективности ФДТ, методы и препараты ФДТ, применяемые в медицине, в том числе в стоматологии, их клиническая эффективность и перспективы развития

В начале XX века студент Фармакологического Института Мюнхенского Университета Oscar Raab обнаружил, что в присутствии света возрастала

токсичность красителей (в частности, акридинового), которая уничтожала одноклеточные организмы. Позже, в 1907 году, профессором Н. von Tariener был введен термин «фотодинамический эффект» для описания такой эндотермической фотохимической реакции, которая предполагает одновременное присутствие видимого света, кислорода и красителя или фотосенсибилизатора (ФС) и приводит к гибели биологических объектов. (Tariener et al., 1907). Уже в 1911 году австрийский врач W. Hausman вел целенаправленный поиск фотосенсибилизаторов для системного введения. В эксперименте на животных (мышах) он впервые доказал фототоксичность гематопорфирина при внутривенном введении (Hausmann, 1911). Затем, в 1924 году немецкие ученые объяснили феномен флуоресценции злокачественных клеток при облучении синим светом накоплением в них эндогенных порфиринов (Policard, 1924). Источники указывают на то, что две мировые войны, следующие одна за другой и подъем фармацевтической промышленности 1950-х и 1960-х годов, задержали дальнейшее становление ФДТ как метода лечения [123, 154, 183].

Дальнейшая история фотодинамической терапии характеризовалась рядом фундаментальных и клинических исследований в области онкологии, сыгравших огромную роль в становлении метода. Так, например, в США исследовательская группа Dougherty T.J. представила ряд успешных случаев лечения рака, что в 1995 году привело к одобрению процедуры FDA (Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов) для комплексной терапии онкологических заболеваний пищевода [128].

В настоящее время ФДТ вступила в эру нанотехнологий и опирается на современные технологии как в вопросах подбора фотосенсибилизаторов, так и методиках проведения.

Концепция фотодинамической терапии (ФДТ) подразумевает использование фотоактивного красителя (фотосенсибилизатора), который после местного применения или системной инъекции селективно накапливается в патологически измененных или контаминированных бактериями/вирусами клетках и активируется под воздействием света определенной длины волны в присутствии

кислорода. Согласно теории перекисного окисления, перенос энергии от активированного фотосенсибилизатора к доступному кислороду приводит к образованию токсичных форм кислорода, таких как синглетный кислород и свободные радикалы. Эти вещества обладают высокой химической активностью и могут повреждать белки, липиды, нуклеиновые кислоты и другие клеточные структуры [19, 32, 41, 65, 77, 106, 154].

Однако, успешность фотодинамической терапии зависит от глубины проникновения лазерного излучения в ткани, степени визуализации облучаемого объекта, концентрации фотосенсибилизатора в патологически измененных клетках, а также мощности используемого лазера. Совокупность вышеуказанных параметров исключает возможность осложнений и рецидивы заболеваний [7, 9, 29, 49, 61, 70, 148].

Известны частные случаи фотодинамической терапии, например, так называемая фотобиомодуляция (PhotoBioModulation (PBM)) или фотосенсибилизированное лазерное облучение крови. Считается, что PBM преимущественно действует на цитохромоксидазу в дыхательной цепи переноса электронов, облегчая транспорт последних, что приводит к увеличению трансмембранного протонного градиента, который стимулирует выработку аденозинтрифосфата (АТФ) [145]. АТФ, в свою очередь, является универсальным источником энергии в живых клетках, необходимым для всех биологических реакций, и даже небольшое повышение уровня АТФ может увеличить биодоступность для питания функций клеточного метаболизма. Однако, сложные биологические механизмы, лежащие в основе терапевтических эффектов фотобиомодуляции, полностью не выяснены, хотя и являются предметом многочисленных исследований [91, 106, 125].

Таким образом, способность фотосенсибилизатора в результате местного применения или системной инъекции накапливаться в клетках-мишенях и при катализации светом приходить в возбуждённое состояние, образуя активные формы кислорода, приводящие к необратимому повреждению клетки, тем самым достигая терапевтического эффекта, называется фотодинамической терапией [84,

91, 106]. Известно, что генерация активных форм кислорода (АФК) в результате ФДТ протекает по двум основным путям, характеризующихся различными фотохимическими механизмами и называемыми «тип I» и «тип II». Молекула фотосенсибилизатора (ФС), возбужденная видимым светом, с оптимальной длиной волны (длина волны, поглощаемая ФС), либо возвращается в основное состояние, либо переходит в долгоживущее триплетное состояние, которое, в свою очередь, может взаимодействовать с молекулярным кислородом посредством двух различных процессов: переноса энергии, то есть по типу II, или переноса электронов по типу I. Механизм типа II будет приводить к производству синглетного кислорода ($^1\text{O}_2$), в то время как механизм типа I будет формировать супероксидный анион, который может генерировать более реакционноспособные АФК, такие как гидроксильные радикалы [125]. В свою очередь молекула ФС в триплетном состоянии может вернуться в основное состояние, что сопровождается флуоресценцией. Образовавшиеся в результате химико-физических реакций вещества, вступают во взаимодействие с биологическими молекулами и окисляют их, в свою очередь активация каскада фотодинамических повреждений мембран приводит к гибели патологически измененных или бактериальных клеток [84, 91, 106].

В результате ФДТ здоровые клетки остаются неповрежденными, так как процесс накопления фотосенсибилизатора в микробных или патологически измененных клетках происходит быстрее, чем в клетках макроорганизма, кроме того, подбираются оптимальные параметры мощности и дозы облучения [97].

Несмотря на то, что механизмы фотодинамической терапии достаточно изучены, остается ряд нерешенных вопросов, таких как, например, эффективная доза препарата фотосенсибилизатора, в том числе в зависимости от дефференциации накопления ФС в различных органах и тканях, способа введения фотосенсибилизатора, временного интервала между введением фотосенсибилизатора и лазерным воздействием, выбранной длины волны лазерного облучения при интракорпоральном расположении патологического очага. Практически не исследовано применение фотодинамической терапии и

лазерных экспресс методов диагностики «по месту» для своевременного выявления патологического очага (особенно интракорпорально), профилактики его возникновения, развития и своевременного ФД лечения (в их взаимосвязи) в том числе острых и хронических воспалительных процессов и их осложнений, при генерализации инфекций [1, 4, 24, 61, 68, 71, 112].

Несмотря на ряд открытых вопросов, методика фотодинамической терапии (ФДТ) нашла прикладное применение в повседневной практике и рутинно используется с клинически значимой эффективностью в различных областях медицины [7, 13, 49, 51, 65, 70, 115, 148]. Например, в протоколы врачей-гинекологов ФДТ включена для лечения заболеваний эндометрия (дисплазии) и вульвы (склеротические и атрофические лишай); в хирургии успешно применяется при длительно незаживающих ранах и трофических язвах различной этиологии, в онкологии в терапии опухолей [14, 15, 24, 42, 47, 81, 86].

В своих работах Н.В. Кудинова, клинически позитивный механизм реакции иммунной системы в ответ на ФДТ, обосновала освобождением таких интерлейкинов как, ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α , а также инфильтрацией патологического очага моноцитами, нейтрофилами и другими клетками воспаления [42].

Эффективность фотодинамической терапии при инфекционно-воспалительных заболеваниях была показана многими учеными, кроме того, отмечено отсутствие привыкания микроорганизмов к ФДТ-воздействию [60].

Представленные аналитические данные свидетельствуют о незавершенности разработки ФДТ тематики и ее проблемных вопросов как в плане методологии, так в плане отработки объективных методов оценки качества препаратов для ФДТ (пробоподготовка), а также ее течения, ведения и эффективности применения (диагностические аспекты, реализуемые во взаимосвязи с ФДТ).

1.3. Экспериментальные исследования и клиническое применение ФДТ при процессах микробной природы

По данным литературы изучение антимикробной ФДТ проводилось на культурах микробных клеток *S. pyogenes* и *V. Fragilis*, как представителей патогенной микрофлоры полости рта (Рисованная О.Н., Рисованный С.И., Доменюк Д.А., 2013), исследовании антибактериального и антигрибкового действия ФДТ на культуры *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli* [44], экспериментальных моделях воспалительных заболеваний у животных (экспериментальный бактериальный эндофтальмит), также на основании клинического применения данного метода лечения. В клинической практике ФДТ применяли в лечении больных с нозокомиальным синуситом (НС) (Талайко Ю.В., 2012; Попова Г.П., 2021) инфицированными эхинококковыми, непаразитарными кистами и альвеококковыми полостями распада печени (Пантелеев В.С., Габдрахимов С.Р., Галеева Ж.А., 2012), апикальным периодонтитом [115], хроническим катаральным гингивитом [23], генерализованным хроническим пародонтитом [13, 26, 29, 32, 36, 51, 61, 68, 69, 70, 110, 113, 114], хроническим тонзиллитом [89, 90], а также с осложнёнными формами рожи [81], вирус-ассоциированным раком шейки матки [14, 86], гнойными процессами гортани, с микозами стоп, слизистых и ногтей. Были использованы такие фотосенсибилизаторы (ФС), как метленовый синий, с действующим веществом метилтиониния хлорид, Фотодитазин, РадаДент плюс, Радахлорин, содержащие в своем составе натриевые соли хлоринов и пурпурин, а также димексид (Диметилсульфоксид), Фотосенс (действующее вещество гидроксиалюминия трисульфоталоцианин) и катионный фталоцианин. В некоторых исследованиях проводился экспериментальный подбор концентраций ФС и параметров лазерного облучения, другие исследователи применяли ФДТ без обоснования выбора ФС. Оценку результатов ФДТ проводили в основном по клиническим (физикальным) данным, из объективных методов использовали микробиологический и гистологическое исследование [67, 96].

В исследовании Зборовской А.В. (2012) антибактериального и антигрибкового действия ФДТ на культуры *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli* использовали ФС метиленовый синий (МС) 0,1% и лазерный терапевтический аппарат «Лика-терапевт» мощностью 1 мВт, плотность мощности в пятне 0,001 мВт/мкн, длина волны 630-670 нм. Длительность облучения составляла 3 минуты. В данном исследовании установлено, что МС при его активации низкоинтенсивным лазерным излучением (НИЛИ) с длиной волны 630-670 нм значительно подавляет рост *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli* проявляя высокую антибактериальную и противогрибковую активность, но при этом отсутствует экспериментальный подбор дозы и концентрации ФС и параметров облучения. Максимальное количество КОЕ *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli* через 24 часа было зарегистрировано в контрольных образцах. Снижение КОЕ в чашках Петри с метиленовым синим после лазерного облучения в образцах со *Staphylococcus aureus* было в 30 раз, в образцах с *Candida albicans* в 7,1 раза, в образцах с *Escherichia coli* в 24 раза.

Считается, что единых объективных методов диагностики, обоснования выбора фотосенсибилизатора и оценки результатов фотодинамической терапии все еще не разработано.

Талайко Ю.В. (2012) при клиническом применении антибактериальной ФДТ (АФДТ) у больных с нозокомиальным синуситом в качестве ФС использовали метиленовый синий в концентрации 15 мкг/мл. На аппаратном комплексе (в цитируемом эксперименте «Креолка» и «Мустанг») выставлялись следующие параметры: мощность излучения (P)-500 мВт, длина волны (λ)-660 нм, время (t) длительность) экранирования-23,5 минуты. Затем световод, с рассеивающим диффузором, вводили в пазуху. Для оценки результатов авторы использовали клинические и инструментальные методы, без использования какого-либо специфически объективного метода оценки эффекта ФДТ. При этом клиническое улучшение (в какой степени и каковы индивидуальные особенности по эффективности и срокам ее проявления -не указано) удалось добиться у 100%.

Пантелеев В.С. с соавторами (2009) в комплексном лечении больных методом ФДТ с заболеваниями печени паразитарного генеза, при глубоких полостях выполняли сеанс двухэтапной фотодинамической терапии. На первом этапе наносили фотосенсибилизатор (ФС) «Фотодитазин» в виде 0,5% геля-пенетратора на 4 часа и дренировали полость. Затем подготовленную область облучали длиной волны (λ)- 661 нм., плотностью мощности (P) 1 Вт/см², энергией 40 Дж/см², время экспозиции (t) 360-460 с. (обоснование дозы не представлено). При этом проводимая комплексная терапия не имела соответствующего научно-клинического обоснования и соответствующих групп сравнения, что затрудняет объективную оценку полученных. Оценка результатов в данном исследовании велась на основании клинических методов, а также на основании микробиологического метода (анализ флоры из экссудата дренажной трубки).

В ходе применения ФДТ в лечении апикального периодонтита Шугайлов И.А., Максименко А.А., Пшепий Р.А. использовали ФС «РадаДент плюс» из расчёта 0,02 мл на один корневой канал и облучали длиной волны (λ)-662 нм, мощностью (P) 200 мВт 1 минуту. В результате эксперимента в целевой группе регистрировали клинически позитивные изменения: уменьшение гиперемии мягких тканей в области исследуемого зуба, снижение болезненности при вертикальной перкуссии и экссудации из корневого. При этом параметры лечения, все еще не были обоснованы и выбрались эмпирически.

При лечении методом ФДТ хронического катарального гингивита и генерализованного пародонтита лёгкой степени использовали ФС «РадаДент-плюс» в количестве 0,1 мл /см² в виде геля. Экспозиция ФС 45 минут на воспалённом участке ткани и зубодёсневом кармане, три сеанса с интервалом 2 суток. Длина волны (λ) при световом воздействии составляла 662 +/- 3 нм.

При гингивите доза 2,5 Дж/см², время облучение в среднем 6 минут на область одной челюсти. При пародонтите лёгкой степени доза 6 Дж/см², время облучения в среднем 12 минут. После лечения проводилось микробиологическое исследование содержимого зубодёсневых карманов, что является объективным

методом оценки результатов ФДТ. Получен выраженный противовоспалительный эффект [23].

При ФДТ осложнённых форм рожи на пораженные участки проводили аппликации салфеток, смоченных растворами фотодитазина, димексида или аппликации 0,5% фотодитазином в виде геля. Облучение проводили аппаратом «Аткус-2» при плотности энергии 30 Дж/см². Далее проводилось общее лечение, как пациентам группы контроля (антибиотикотерапия, перевязки с антисептиками и различными мазями, физиотерапия. Позитивное клинически saniрующее действие ФДТ выявлено практически во всех представленных исследованиях.

В представленных многочисленных исследованиях [13, 14, 23, 26, 29, 32, 36, 51, 61, 68, 69, 70, 81, 86, 90, 110, 113, 114, 115] отсутствуют объективные методы оценки результатов, используются лишь клинические данные. При этом практически во всех выше представленных примерах объективизация выбора ФС, его концентрации, способа введения, также, как и выбор дозы, плотности дозы на см² и времени облучения объективно не обоснованы. Об этом же свидетельствует столь существенный разброс вышеотмеченных показателей при воздействии ФДТ на микробный фактор.

Систематизация и анализ данных научно-клинической литературы, в итоге, свидетельствуют, что антимикробная фотодинамическая терапия является эффективным и перспективным методом лечения заболеваний микробной природы. У ФДТ наблюдаются бактерицидный и бактериостатический, противогрибковый и противовирусный эффекты. Данный метод способствует более быстрому купированию воспалительных процессов и заживлению поражённых участков. В качестве недочётов можно отметить отсутствие объективных критериев и методов оценки эффективности антимикробного действия ФДТ, выбора ФС, алгоритма применения ФДТ, дозы, длительности и времени лазерного облучения, что существенно затрудняет врачу-клиницисту объективный выбор медицинской клинически эффективной технологии ФДТ. И конечно при обосновании антимикробного действия ФДТ необходимо и обязательно проводить исследование диапазона его эффективности в сравнении с

современными антимикробными препаратами, что в настоящее время практически не исследуется. При этом нуждаемость в лечении заболеваний и процессов микробной природы крайне велика [34, 38, 43, 98, 99].

Эти данные позволяют считать разработку новых эффективных методов диагностики и лечения заболеваний микробной природы на основе ФДТ технологий крайне актуальной.

1.4. Состояние проблемы определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам при ФДТ

В настоящее время, наиболее используемые методы основаны на регистрации антимикробного эффекта в отношении модельных чистых или высеянных клинических культур из микробосодержащего очага. Оценка эффективности антимикробного действия происходит в искусственной среде *in vitro*, способствующей развитию тест-микроба. При этом наиболее часто используют метод дисков (чем больше зона лизиса вокруг диска, тем выше антимикробная эффективность препарата, которым смочен диск). Имеются и другие методы чтения результатов, принцип которых практически идентичен [27, 45, 52, 57].

По результатам тестирования получают кривую «доза – эффект» данного антимикробного препарата, по которой устанавливают диапазон рабочих концентраций.

При этом не учитывается, что существуют важные различия между тестами *in vitro* и условиями применения антимикробного препарата *in situ*, что существенно затрудняет экстраполяцию данных микробиологического исследования на реальные клинические случаи. Это связано прежде всего с объектом воздействия препарата, так как, зачастую, бывают многовидовые взаимосвязанные ассоциации микробов, а не монокультура (иногда может быть использовано до 5-10 клинических штаммов монокультур, но не их ассоциации). При этом в бактериологическом исследовании определяется чувствительность к

антимикробным препаратам лишь у тех культур, которые высеваются на стандартные питательные среды, которые не всегда являются ведущим патогеном в патологическом процессе. Патогенность микробной ассоциации зачастую определяется не столько ее видовым составом, сколько достижением ею определенной пороговой концентрации, что и является, в итоге, решающим, определяющим фактором для возникновения воспалительного процесса (Воложин и др., 1999). Кроме того выраженность эффекта данной дозы антимикробного препарата зависит от плотности микробной популяции и скорости ее роста, что практически не выявляют ни в баклаборатории, ни в клинике (Вельков, 1996) Кинетика адаптивного мутагенеза в исследовании чистых культур теоретически менее значима, чем в клинике микробно-ассоциированных заболеваний, но даже для референтных штаммов в стандартных условиях в соответствии с последними методическими указаниями [27, 30, 67, 93] рекомендуется проверять соответствие профиля чувствительности к антимикробным препаратам в каждом исследовании, что подчеркивает потенциальные экстремальные адаптивные возможности микробов в природе по сравнению с неполноценными условиями обитания на лабораторной среде (рисунок 1).

Одонтогенными источниками инфекции, приводящими к развитию наиболее распространенных гнойно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области (ГВЗ ЧЛО), являются кариес и его осложнения, например, периодонтиты, а также дисбиотические проявления в полости рта, нарушение микробного гомеостаза его биотопов (рисунок 1) при воздействии различных физических, химических и биологических факторов внешней и внутренней среды обитания человека. Что касается микроорганизмов, то по данным Зеленовой Е.Г. с соавторами, здесь особая роль принадлежит факультативным анаэробам (бактерии с анаэробным или смешанным анаэробно-аэробным типом дыхания), которые учувствуют в развитии тяжёлых форм заболеваний [33].

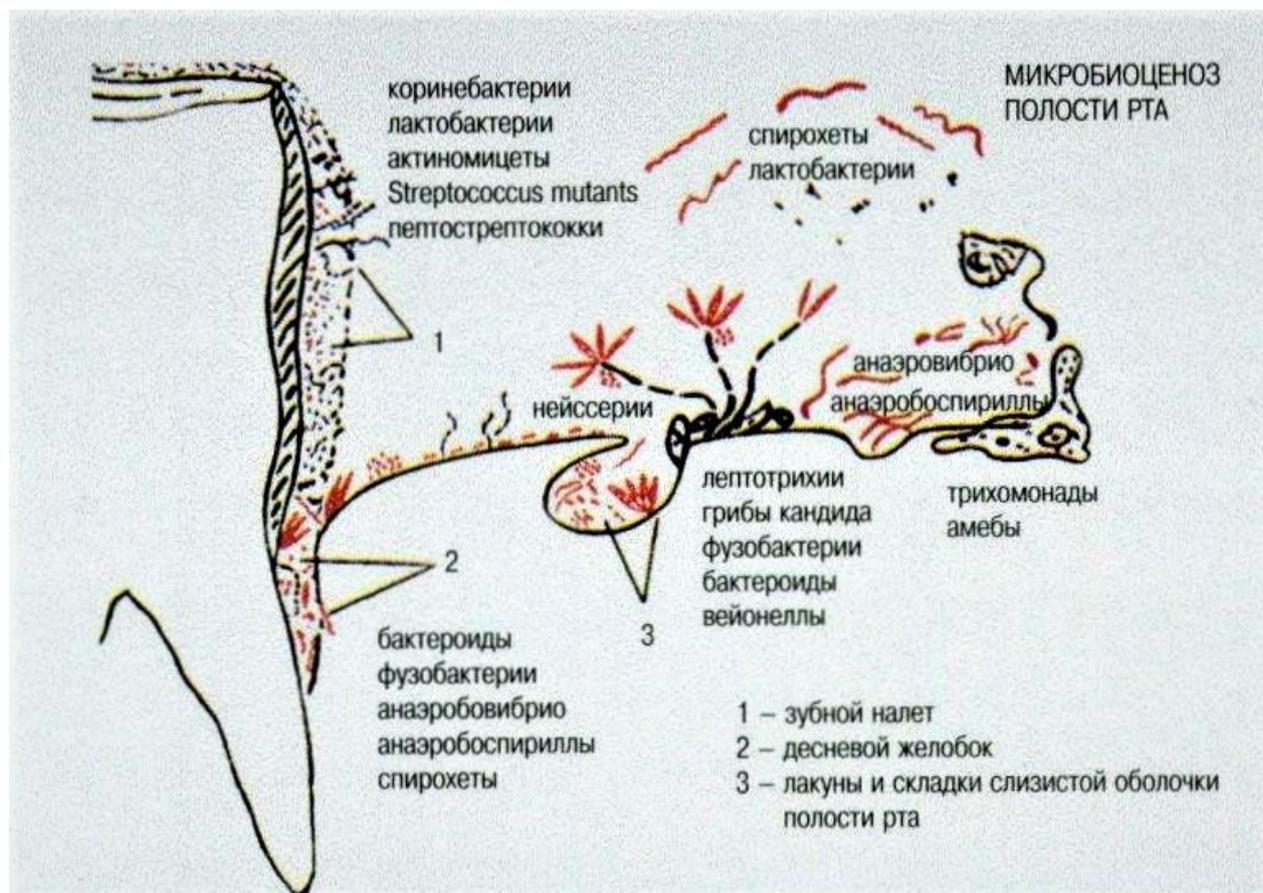


Рисунок 1-Микробиоценоз полости рта (по данным Зеленовой Е.Г. и соавторы)

Для рационального назначения антибактериальных препаратов требуются результаты бактериологического исследования из очага воспаления на чувствительность микроорганизмов к лекарственному средству. Зачастую посев раневого отделяемого на чувствительность этиологической микрофлоры требует длительного времени, ввиду чего выбор антибиотика, как правило, осуществляется эмпирическим путем, не только в стоматологии, но и в общемедицинской практике в целом. Следует помнить, что в клинической микробиологии чувствительность препарата определяют только для аэробных представителей микрофлоры раневого отделяемого. Таким образом, не культивируется более 50% видов бактерий, что в определенном смысле затрудняет определение их чувствительности к антимикробным препаратам, увеличивая тем самым койко-дни пациентов при стационарном лечении [27, 45, 56, 57, 93, 99].

Резюмируя, отметим, что считается непреложным, тот факт, что тяжесть заболевания больше связана с количеством микроорганизмов в первоначальном

очаге воспаления, чем с характером возбудителя или его ассоциаций. По этой причине высокая обсемененность полости рта микроорганизмами играет важную роль в возникновении заболеваний и процессов микробной природы в стоматологической практике.

1.5. Химико-физическая природа лазерно-флюоресцентной диагностики (ЛФД) и обоснование ее применения при ФДТ

Лазерно-флюоресцентная диагностика (ЛФД) микроорганизмов основана, на регистрации феномена флуоресценции клеток микроорганизмов под воздействием лазерного излучения, а также других сигналов, возникающих при взаимодействии лазерного излучения с материалом пробы (комбинационное рассеяние, поглощение лазерного излучения, отражение лазерного излучения, генерация излучений ИК-диапазона и т.д.). Спектры флуоресценции обладают высокой специфичностью, обусловленной всей совокупностью молекулярных структур клеток. Все исследованные микроорганизмы, при возбуждении зондирующим излучением с различными параметрами, за счет порфиринов обладают собственной флуоресценцией [2, 6, 8, 181, 178, 182, 183, 184].

Эти методы не требуют расходных материалов, неинвазивны, более дешевы и позволяют получить результат в реальном масштабе времени. Кроме того, при их применении легче соблюдать асептику (М.Т. Александров 2008, 2020). Метод, по мнению вышеуказанных авторов, позволяет в экспресс-режиме оценить общую концентрацию исследуемого микробосодержащего субстрата (всех культивируемых и некультивируемых аэробных и анаэробных микроорганизмов). Он применим также для оценки микробной обсемененности пародонтального кармана, кариозной полости, корневого канала зуба в процессе эндодонтического лечения, для оценки эффективности новых антисептических растворов, антибиотиков при лечении заболеваний пародонта, кариеса и его осложнений. Метод позволяет провести диагностику и лечение, согласно рекомендации ВОЗ, по месту лечения, *in situ*. Технология ЛФД применима как для мониторинга, так и для

оценки эффективности лечения, индивидуального выбора предпочтительного метода лечения, для объективной и своевременной коррекции лечения и определения сроков реабилитации [2, 6, 8, 32, 69, 71, 137, 171].

Важным преимуществом применения лазерной флуоресцентной диагностики (ЛФД) в стоматологической практике является большая чувствительность метода (для ЛФД этот показатель действителен при концентрации микробов 10^2 - 10^{12}) [119, 125].

Потенциальные возможности ЛФД исследованы и описаны профессором М.Т. Александровым в монографии “Лазерная клиническая биофотометрия” (М., “Техносфера”, 2008). Работы по применению лазерно-спектральных методов исследования микроорганизмов в научных и практических целях развернуты в ряде лабораторий США, Англии, Норвегии, Австрии, Австралии, Бразилии, Японии. В результате зарубежными исследователями показано, что эти методы обладают значительным полезным потенциалом, однако его использование требует разработки новых подходов к пробоподготовке и анализу получаемой информации [2, 6, 8, 32, 69, 119, 125, 137, 171].

Основными тканевыми флюорохромами являются: эластан, коллаген, триптофан, флавины, НАД·(Н), а также порфирины (таблица 1).

Таблица 1-Спектральные характеристики некоторых флюорохромов

Тканевой флюорохром	Уровень возбуждения	Уровень флуоресценции
Триптофан	250-310 нм	300-380 нм
Коллаген	300-380 нм	320-440 нм
Эластин	310-390 нм	340-450 нм
НАД·(Н)	300-450 нм	400-500 нм.
Флавины	350-440 нм	500-600 нм

порфирины	350-440 нм (Core) 500-700 нм	600-800 нм
-----------	------------------------------	------------

За исключением порфиринов, все фотореактивные химические вещества, представленные в таблице 1, возбуждаются только ультрафиолетовым излучением и незначительной частью видимого спектра в диапазоне от 250-500 нм с получением флуоресцентной эмиссии в диапазоне 350-550 нм (рисунок 2) [1, 5, 10, 65, 185]. В то время как порфирины можно возбудить в длинноволновой части (красной) видимого спектра 600-700 нм с получением флуоресцентной эмиссии в диапазоне от 600 до 900 нм (рисунок 3) [1, 5, 10, 65, 185]. Собственная флуоресценция в области 600-800 нм видимого и ближнего диапазонов спектра обусловлена эндогенными порфиринами, на чем принципиально базируется флуоресцентная составляющая диагностики [1, 5, 10, 65, 185].

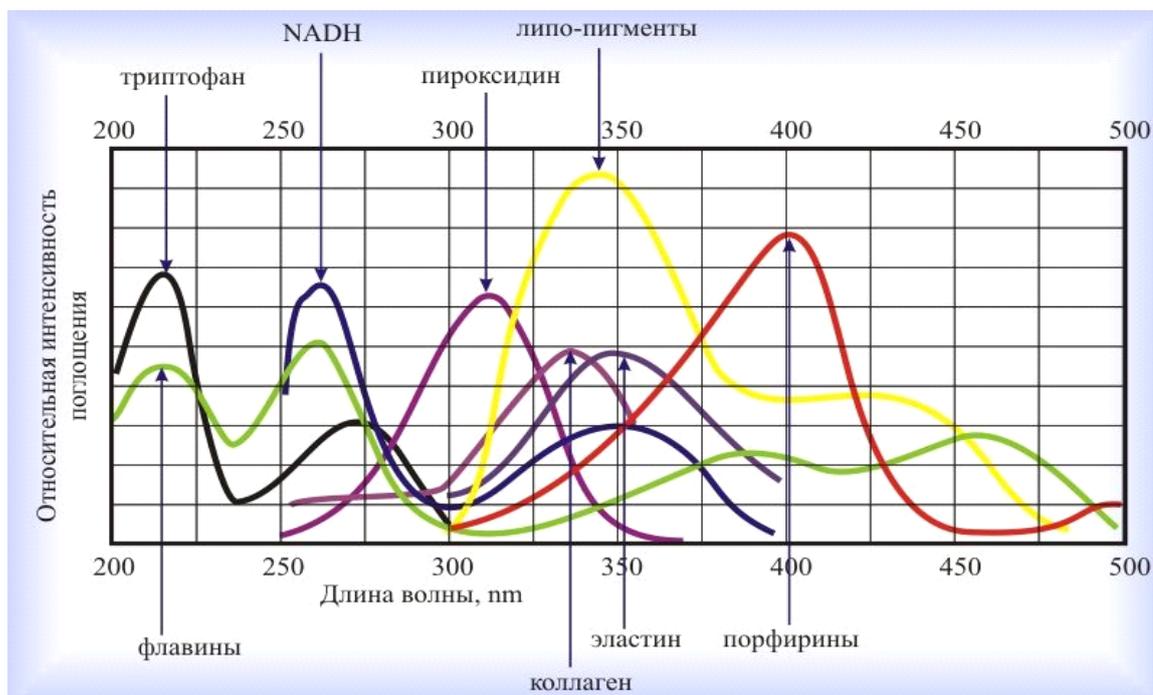


Рисунок 2- Спектры поглощения природных флуорофоров

По данным профессора Пашкова Е.П. порфирины также можно возбудить и синим светом. Важно отметить, что относительная интенсивность поглощения у

порфиринов максимальна при облучении их именно синим светом (длина волны 405 нм) (рисунок 2) [6, 25].

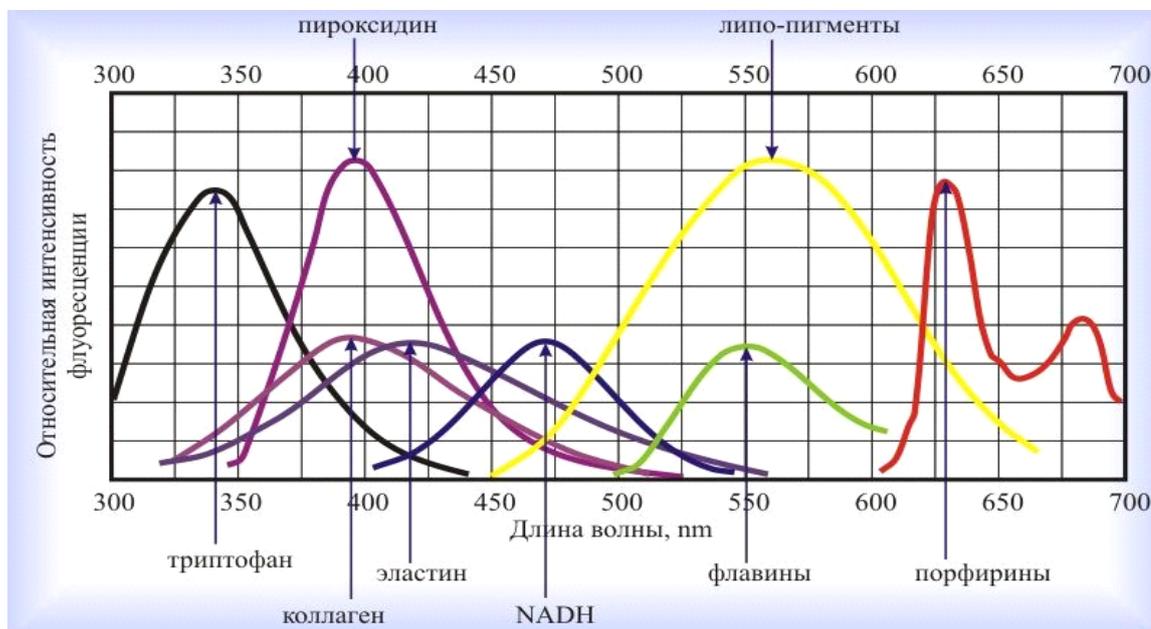


Рисунок 3-Спектры флуоресценции природных флуорофоров

Следует отметить, что порфирины представляют собой уникальный класс интенсивно окрашенных пигментов природного или синтетического происхождения и широко распространены в природе. Их химическое строение соответствует замещенному ароматическому макроциклическому кольцу, состоящему из четырех остатков пиррольного типа, соединенных четырьмя метиновыми группами. Ядро порфирина имеет всего 22-π электрона, из которых 18-π электронов делокализованы [6]. Порфирины обладают очень интенсивными полосами поглощения, охватывающими диапазон от ультрафиолетового (УФ) до инфракрасных излучений (ИК). Сильные полосы поглощения флуоресценции для порфириновых структур, так называемые полосы $S_{орэ}$, лежат в области ~420 нм., более слабые сателлитовые полосы поглощения Q между 600 и 800 нм. Порфирины, обнаруживаемые в тканях, иногда обязаны своим происхождением клеточному метаболизму, продуктам жизнедеятельности бактерий. Производные порфиринов присутствуют в различных гемопротеидах, например, в гемоглобине

и миоглобине; гемосодержащих ферментах, таких как пероксидазы, оксидазы, цитохромы, каталазы, а также в хлорофилле зеленых растений. Наибольшее распространение имеет протопорфирин (рисунок 4) [106, 117, 185].

Возбуждение молекулы порфирина видимым излучением приводит к переходу электрона в возбужденное состояние, за которым следует либо флуоресценция, либо фосфоресценция, либо интеркомбинационный переход в возбужденное триплетное состояние. Такие фотофизические свойства позволяют использовать порфирины как для диагностики, так и для лечения заболеваний.

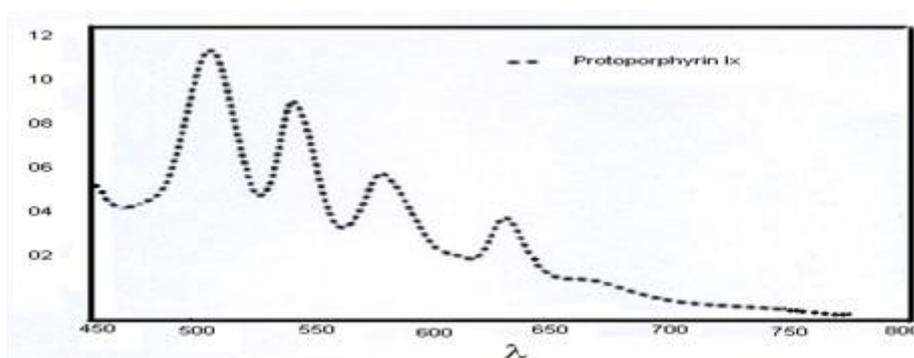


Рисунок 4- Спектр поглощения протопорфиринов

При спектральном и спектрофотометрическом анализах можно определить ряд довольно резких и характерных полос поглощения, свойственных порфиринам. В основе измерений собственной флуоресценции лежат «эмпирические» правила, полученные при изучении модельных соединений с хорошо известной структурой и конформацией [117, 185].

Собственная ультрафиолетовая флуоресценция различных клеток микроорганизмов, растений и животных, обусловлена, главным образом, свечением белков и может быть зарегистрирована в диапазоне 330-350 нм при облучении этих клеток ультрафиолетовым излучением длиной волны 250-280 нм (коротковолновое излучение). Описанный процесс имеет характерные отличия для разных органов и тканей.

Флуоресценция в желто-зеленой и синей областях видимого диапазона спектра связана с наличием в клетках восстановленной формы

пиридиннуклеотидов (NAD·H и NADP·H) и окисленной формы флавопротеидов (ФП).

По таким спектрам можно с высокой долей вероятности различить грамположительные и грамотрицательные виды бактерий (рисунок 5), анаэробные и аэробные виды бактерий (рисунок 6) [1, 5, 6, 8, 10].

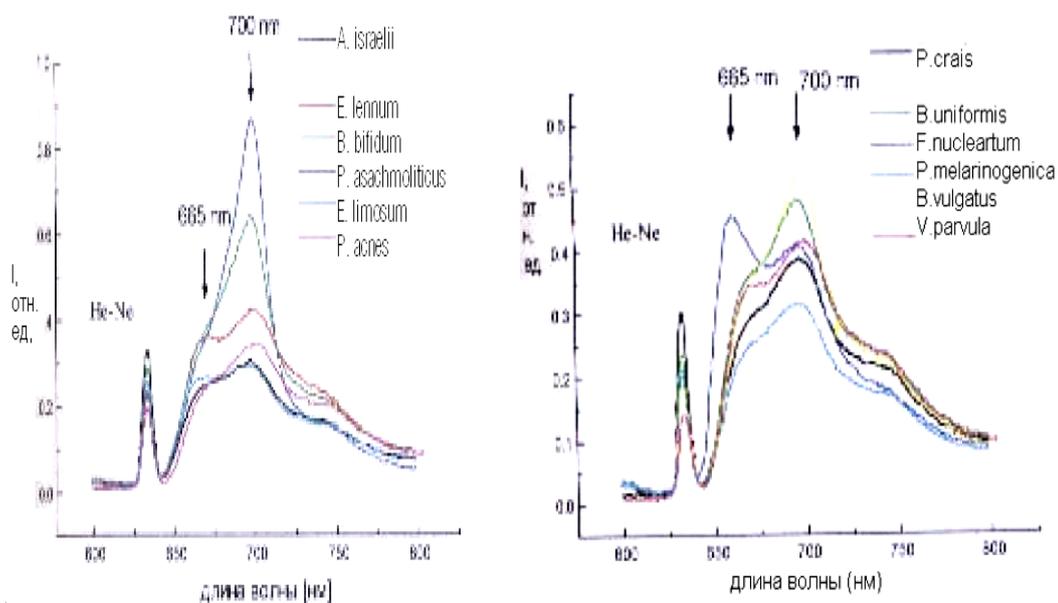


Рисунок 5- Спектры флюоресценции грамположительных (слева) и грамотрицательных (справа) бактерий

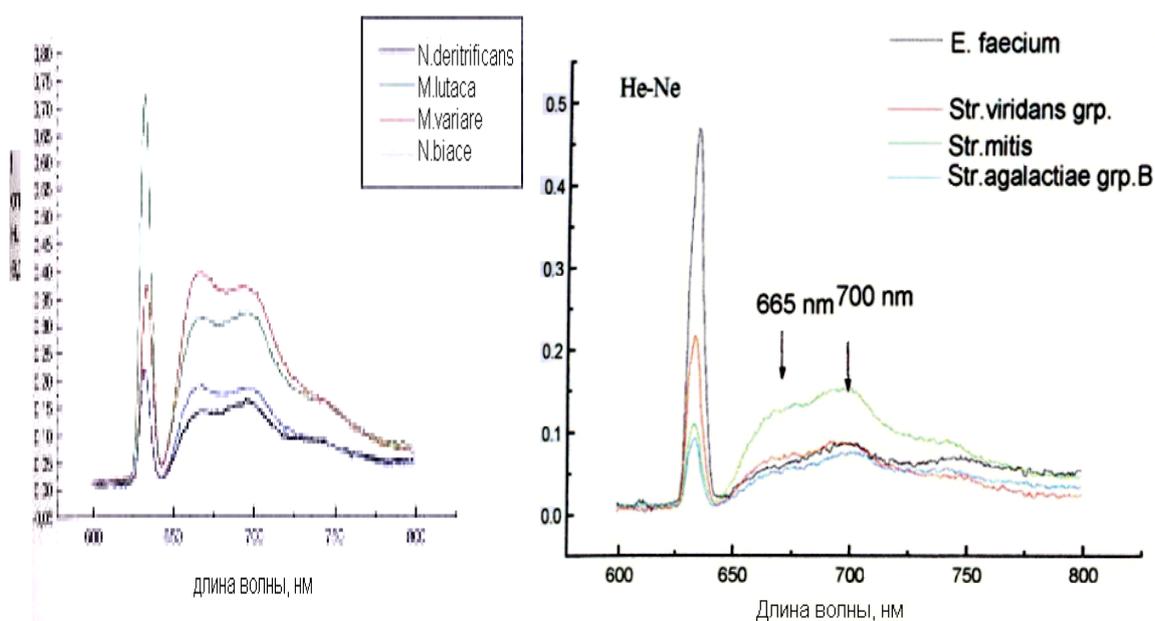


Рисунок 6- Спектры флюоресценции анаэробных (слева) и аэробных (справа) бактерий

1.6. Факторы, влияющие на флюоресценцию бактерий

Как известно, спектры флюоресценции еще в большей степени, чем спектры поглощения, зависят от окружения. И это в полной мере относится к флюоресценции бактерий [1, 5, 6, 8, 10].

В том случае, когда применяемые антибиотики или антисептики обладают флюоресценцией, а патогенные микроорганизмы имеют чувствительность к антибактериальному препарату или антисептику, то при добавлении последних к взвеси бактерий наблюдается изменение спектра.

Если бактерии чувствительны к антимикробному соединению, характер изменения флюоресценции пробы специфичен, и может быть дифференцирован от других факторов, изменяющих спектр флюоресценции пробы по причинам, не имеющим практического интереса. Связано это с тем, что антимикробные препараты обладают бактериостатическими и/или бактерицидными свойствами. В результате чего меняется характер химических связей, который всегда происходит с изменением специфических спектральных показателей на определенных участках спектра длин волн флюоресценции [1, 5, 6, 8, 10, 28, 58].

Другим важным фактором является рН величина среды. Для ряда соединений наблюдается смещение спектров флюоресценции и поглощения при изменении величины рН, в результате изменения ее электронного состояния при отдаче или присоединения молекулами протона [3].

На флюоресценцию бактерий также влияют: температура среды, размер частиц, их концентрация и другие факторы. Представленные выше данные более подробно представлены в монографии М.Т. Александрова “Лазерная клиническая биофотометрия” -М., “Техносфера”, 2008.

1.7. Роль гигиены съёмных протезов в поддержании здоровья человека

По данным Федеральной службы государственной статистики на июнь 2022 года доля пожилого населения растет, вместе с ней увеличивается количество лиц

с полным отсутствием зубов (Кузьмина Э.М., 2018). Стоматологическая помощь, оказываемая пациентам с полной вторичной адентией, предполагает, в том числе, коррекцию съемными ортопедическими конструкциями. Зубные протезы покрывают функциональные и эстетические потребности, представляют экономическую альтернативу другим методам лечения, однако их неудовлетворительная гигиена сопряжена с некоторыми рисками и может негативно влиять на местное и общее здоровье организма, а также сокращать продолжительность пользования съёмными конструкциями. Зубные протезы могут накапливать бактериальный налет и образовывать отложения зубного камня, так же, как и естественные зубы. Так, по мнению ряда авторов уже через несколько часов после установки протеза в полость рта, на его поверхности наблюдалось накопление бактериального налета в области искусственных зубов [52, 64, 72, 83, 168]. Полость рта в случае полной вторичной адентии, представляет собой уникальную среду для микробной колонизации. Биопленка, формирующаяся на внешней и внутренней поверхностях зубных протезов, представляет собой сложную систему, включающую более 600 видов прокариот и представлена лактобактериями, стафилококками, стрептококками, грибами рода кандиды [37, 161]. Наиболее распространены род *Actinomyces*, за ними следуют бактерии рода *Streptococcus*, *Veillonella*, *Carnocytophaga*, *Neisseria*. Другие виды и роды представлены менее значимо [175]. Чрезмерный рост микроорганизмов приводит к дебюту воспалительных процессов и к снижению рН слюны, что влечет за собой снижение защитных свойств слизистой оболочки. В свою очередь грибковая составляющая биопленки ответственна за возникновение микозов и протезных стоматитов. Все это большей долей вероятностью приводит к галитозу. Некоторые исследователи (Coulthwaite L., 2007; Verran J., 2007; C.C. Pace 2010; Moreillon P., 2011; A.A. El-Solh, 2011;) указывают на ассоциацию оральных микроорганизмов с различными системными заболеваниями, такими как аспирационная пневмония, эндокардит, диабет. Последствия неудовлетворительной гигиены ортопедических конструкций усугубляются вредными привычками, например, ношением съемных протезов ночью что, в свою

очередь, приводит к развитию кандидозного стоматита. Поэтому для того, для снижения риска вышеупомянутых заболеваний необходимо точно определить, как состояние гигиены полости рта и полных съемных протезов пациентов, а также выявлять их гигиенические привычки [157, 163].

Регулярная индивидуальная гигиена зубных протезов является важным компонентом в поддержании соматического здоровья. Однако, большинство пациентов демонстрируют низкий уровень гигиены ортопедических конструкций как из-за недостаточного знания оптимальных методов ухода, так и неправильной техники чистки. В тоже время практические навыки должны формироваться стоматологами на очном приеме, тогда как последние редко оценивают и регистрируют гигиеническое состояние съемных зубных конструкций. [130, 140, 162].

В настоящее время самые распространённые методы чистки включают механическую и химическую составляющие. Механическая техника предполагает удаление налета с помощью зубных щёток различной модификации, в том числе разработанных специально для гигиены зубных протезов, и ультразвуковую обработку. Химическая чистка удаляет микроорганизмы с поверхности ортопедической конструкции с помощью лекарственных препаратов. Согласно ряду различных исследований, за последние 10 лет и более ранних, оценивающих привычки пациентов в отношении гигиены зубных протезов, наиболее часто используемые среди пациентов механический метод (зубная щетка с мылом и водой или с зубной пастой) и химический (применение растворов на основе хлоргексидина или перекиси водорода) [130, 140, 162].

Milward P. (2013) [157] и Mylonas P. с соавторами (2016) [163] пришли к выводу о том, что уровень индивидуальной гигиены протезных конструкций значительно вырастет если предоставлять пациентам четкий алгоритм действий по уходу и мотивировать на регулярные профилактические визиты к стоматологу. Ожидаемые результаты могут иметь большое значение для снижения риска возникновения заболеваний инфекционной природы полости рта и челюстно-лицевой области.

1.8. Резюме по обзору литературы

Таким образом, одними из главных и актуальных проблем клинической стоматологии является идентификация микрофлоры полости рта, ее качественная и количественная характеристики, а также эффективная комплексная терапия при заболеваниях и процессах микробной природы. Несмотря на достижения современной диагностики, коррекции листа врачебных назначений на основании результатов антибиотикограмм, применения все более совершенных антибактериальных препаратов и антисептиков, лечение не всегда сопровождается положительным результатом. Уже сейчас понятно, что для успешной диагностики, достоверного прогнозирования течения инфекционных заболеваний, рациональной и эффективной терапевтической поддержки, требуются новые как диагностические приемы, так и подходы к лечению [31, 79, 80, 102, 109].

Однако, роль антибактериальной терапии остается по-прежнему высокой, несмотря на наличие большого количества способов физического воздействия.

Из анализа литературы следует, что все антимикробные средства можно разделить на 2 группы: первую составляют препараты однонаправленного действия, вторую- многостороннего (многокомпонентного). Механизм действия первой группы может быть, например, только антимикробным, или только дегидратирующим, или некролитическим и так далее. К первой группе относятся дезинфицирующие вещества и антисептики. К ней предъявляется ряд требований: средства должны обладать микробиологической эффективностью и устойчивостью к органической нагрузке, несмотря на присутствие в патологическом очаге гнойного отделяемого, некротизированных тканей, крови; быть безопасными; обладать низкой токсичностью и аллергенностью, минимальной всасываемостью из места их нанесения, а также иметь ряд других свойств.

Комбинированные препараты с многокомпонентным действием из второй группы, способствуют очищению раневой поверхности от гнойно-некротических тканей, участвуют в ликвидации перифокального отека, стимулируют санацию

очагов инфекции, ввиду того что обладают противовоспалительным, антимикробным, обезболивающим, денатурирующим и другими эффектами.

Лекарственные средства обеих групп широко применяются в клинической практике. Наиболее известны растворы хлоргексидина, диоксидина, мирамистина. Из комбинированных мазей популярны, например, такие как, «Диоксиколь», содержащая диоксидин, метилурацил, полиэтиленоксид, тримекаин; «Левомеколь», содержащая полиэтиленоксид, левомицетин, метилурацил.

Однако, наряду с преимуществами антимикробные препараты имеют ряд недостатков. Так, при местном применении диоксидина следует учитывать возможность резорбтивного эффекта, узкую широту терапевтического действия и недостаточное количество современных доказательных данных о безопасности препарата [66]. В свою очередь хлоргексидин может проявлять цитотоксическую активность в отношении клеток человека, вызывать окрашивание зубов и пломб, а его активность зависит от рН окружающей среды и наличия органических включений [143].

Многолетние наблюдения показывают, что даже наиболее эффективные средства вызывают побочные явления и осложнения, а также снижают свою эффективность со временем, что с одной стороны связано с развитием устойчивости микроорганизмов к антимикробным средствам, изменением вирулентности микрофлоры, с другой стороны с аллергизацией и снижением иммунобиологической резистентности пациентов [34, 67, 93, 94, 107].

Представленный анализ литературы свидетельствует о необходимости поиска более эффективных средств антисептической обработки и антимикробного воздействия на инфекционные очаги твердых и мягких тканей ротовой полости.

Одними из перспективных препаратов, к которым не выявлено привыкания микроорганизмов и которые эффективны при каждом их применении являются препараты, используемые для ФДТ. Однако их новые формы, активируемые вне организма и действующие на весь объем (площадь) микробосодержащего патологического очага в режиме самоактивации (то есть без лазерной активации) не имеют объективного экспериментального обоснования и клинического

применения [84, 85, 91, 97, 106, 110]. Это положение концептуально определило цель и задачи представленной научной работы.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая характеристика материалов и методов исследования

Из представленных данных литературы следует, что в основном, квантовые (лазерные) технологии используют в качестве лечебного фактора применительно к заболеваниям и процессам микробной природы [84, 85, 91, 97, 106, 110]. Однако, комплексного патогенетически обоснованного лечебно-диагностического подхода, во взаимосвязи всех элементов (в соответствии с представленной нами концепции) в представленных работах методологически и методически не проработано. По нашим представлениям разрабатываемая методика будет патогенетически обоснованной, так как она в экспресс-режиме способна выявить во взаимосвязи: преобладающий тип метаболизма тканей (2), микробный фактор (1), показатели микроциркуляции и клеточной пролиферации (1), отслеживать эффективность лечения и саногенетической реабилитации тканей полости рта в целом (1). Используемые в комплексном лечении принципиально новые медицинские технологии ФДТ, активируемой вне организма, не имеющая аналогов в России и за рубежом [1, 4, 5, 6, 7, 8].

Проблема оценки качества диагностики и лечения пациентов с заболеваниями и процессами микробной природы полости рта не потеряла своей актуальности и в наше время, поскольку до сих пор остаются открытыми вопросы эффективного метода (технологии), который позволил бы решить одновременно и во взаимосвязи несколько задач: являться цифровыми технологиями (объективность), работать на принципе обратной связи в реальном времени (экспрессность) по «месту» (то есть в момент обследования и лечения пациента), быть патогенетически обоснованными и адекватными, как с позиций диагностики так и применительно к лечебному фактору. Иметь высокую диагностическую и аналитическую чувствительность, быть простым в использовании и интерпретации результатов, то есть соответствовать современным требованиям. Более того антимикробные препараты должны быть эффективными и не должны вызывать

привыкания, а диагностические методы, при этом, должны контролировать эффективность лечения и исключать возникновение дисбиоза полости рта (то есть концептуально для реализации указанных выше положений, разрабатываемая медицинская стоматологическая технология должна быть лечебно-диагностической, работающей в реальном времени на принципе обратной связи), что с клинической точки зрения очень желательно [2]. Доступные и широко используемые в практической стоматологии методы лечения и диагностики заболеваний и процессов микробной природы полости рта, методологически обладают рядом существенных недостатков: бактериологические, гистологические, лабораторные информативны, но не являются экспрессными, длительны, дороги, а некоторые вызывают сложности использования на массовом стоматологическом приеме.

Именно поэтому, в последнее время большой интерес представляют цифровые технологии и методы, основанные на возможностях квантовой электроники, ввиду их применимости (медико-технической обоснованности), как для диагностики, так и для лечения, и при высокой информативности, удобстве и простоте применения [1, 4, 5, 6, 7, 8, 25].

Нами проведены экспериментальные исследования и выполнен анализ данных, полученных на основании клинических и микробиологических исследований на основе методик, описанных ниже.

Дизайн исследования (рисунок 7):



Рисунок 7-Дизайн исследования

2.2. Метод лазерно-флуоресцентной диагностики (Аппарат раман-флуоресцентной диагностики «ИнСпектр М»)

В последние годы в результате проведенных фундаментальных научных исследований разрабатываются и внедряются в медицинскую практику экспресс – технологии анализа клеток и тканей на аппаратуре раман-люминесцентной спектроскопии, например, такой, как «ИнСпектр М».

Принцип действия аппаратного комплекса (АП) раман-флуоресцентной диагностики (РФД) «EnSpectr М» («ИнСпектр М») основан на спектральном анализе рассеянного излучения, полученного от подвергнутого лазерному облучению исследуемого объекта [4, 10, 63]. Комплектуемыми элементами АП являются: блок сменных лазерных источников излучения, с гнездом для приема указанного блока, коллимирующую систему, системы сбора, фильтрации и анализа рассеянного излучения, а также спектрометр типа Czerny-Turner с дифракционной решеткой, не имеющей подвижных частей и жестко соединенной с ним посредством лазерной сборки (рисунок 8). Для регистрации спектральных и амплитудных характеристик рассеянного излучения аппарат оснащен многоканальным малошумящим детектором-анализатором, так называемой ПЗС-линейкой (рисунок 8.1). Управление комплексом и обработка получаемых данных «ИнСпектр» осуществляется посредством встроенного микроконтроллера с USB-интерфейсом, что весьма эргономично и удобно в использовании, в отличие от типичных установок для рамановской спектроскопии, которые, зачастую, представляют собой сложные и громоздкие комплексы. Для работы на «ИнСпектр М» не предъявляются специальных требований к помещению и квалификации специалиста, поэтому аппаратный комплекс может применяться для исследования органических и неорганических веществ на различных стадиях производства, в процессе транспортировки и в полевых условиях. Идентификация может производиться непосредственно в закрытых сосудах, например, контейнерах, а также бутылках, колбах и ампулах с полупрозрачными или прозрачными стенками. Спектральный диапазон АП «ИнСпектр М» покрывает значительную часть

электронных переходов с испусканием света в видимом диапазоне как органических, так и неорганических соединений, а также область молекулярных колебаний. Запись, так называемых «отпечатков пальцев» исследуемого объекта, а именно его спектр, спектральное положение и относительная интенсивность рамановских и люминесцентных линий, производится в течении нескольких секунд, затем ведется поиск и сравнение этих «отпечатков пальцев» со спектральной базой данных уже известных объектов, таким образом происходит идентификация вещества. Для экспрессного анализа исследуемых объектов не требуется их предварительной обработки или подготовки. Результаты обрабатываются с помощью компьютерного программного обеспечения (рисунок 8.2) [4, 10, 63].

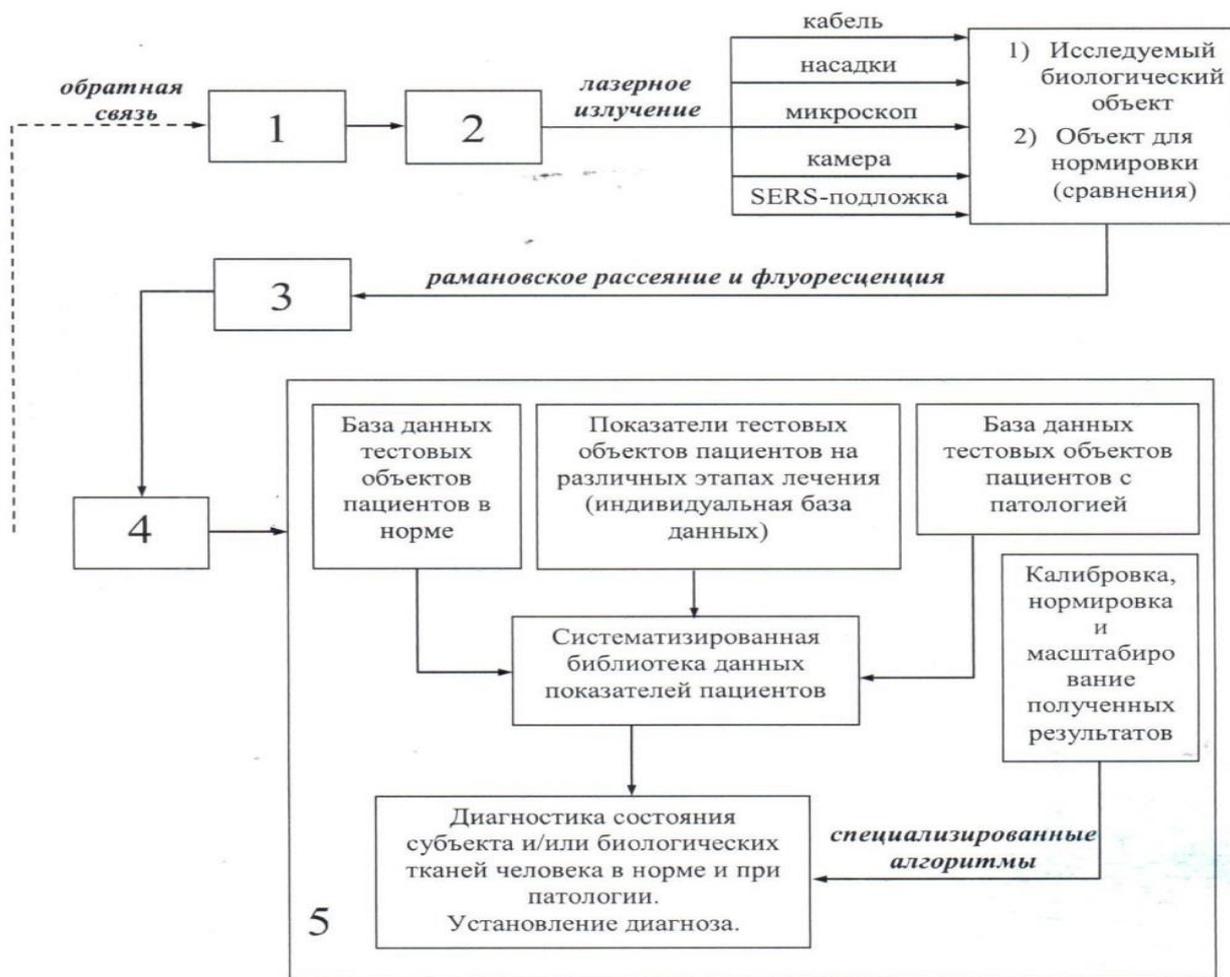


Рисунок 8-Структурная схема раман-флюоресцентного комплекса многофакторного мониторинга и коррекции состояния человека

В соответствии с целями и задачами нашей работы в экспериментальных исследованиях и при клинических наблюдениях использовали различные модели и модификации раман - люминесцентных комплексов в частности, «ИнСпектр М» (рисунок 8.1), с длинами волн зондирующего излучения 405 нм, 532 нм, 632,8 нм; «ИнСпектр R532» (рисунок 8.2) в сочетании с разными типами накручивающихся насадок, предназначенных для измерений жидкостей в закрытых пипетах и ампулах через стеклянную стенку, для измерений твердых образцов простой или сложной формы); «ИнСпектр L405»-уникальный люминесцентный анализатор, который объединил в компактном корпусе высокое разрешение и широкий спектральный диапазон [4, 10, 63].



Рисунок 8.1-Программно-аппаратный комплекс ИнСпектр М



Рисунок 8.2-Программно-аппаратный комплекс ИнСпектр R532

«ИнСпектр R532» представляет собой конструкцию с входной щелью 20-30 мкм, с голографической дифракционной решеткой 1200 штрих/мм., комбинацию высокоэффективных селективных и отрезающих фильтров и одномодовый лазер мощностью от 20 до 30 мВт, длиной волны 532 нм [4, 10, 63]. Совокупность представленных характеристик обеспечивает высокую точность измерения в широком спектральном диапазоне от 380 до 3000 см^{-1} (спектры рамановских и люминесцентных излучений). Кроме того, спектрометр «ИнСпектр R532» не имеет движущихся частей, что обеспечивает хорошую воспроизводимость результатов.

Простота и удобство использования, малые габариты и вес анализатора «ИнСпектр R532», позволяют определять химический состав вещества в режиме «онлайн». Результаты анализа выводятся на монитор компьютера в течении нескольких секунд, данные с АПК передаются с помощью USB-порта. Идентификация методом РФД отличается своей надежностью и происходит путем сравнения спектров комбинационного рассеивания света стандартных образцов, хранящихся в базе данных АПК со спектрами колебаний и вращений молекул исследуемых веществ, которые в рамановском спектре проявляются в виде линий. Индивидуальность спектральных характеристик определяется уникальным положением и интенсивностью флуоресценции линий, которые составляют так называемые «отпечатки пальцев» молекулы. Таким образом, «ИнСпектр R532» объединяет удобство портативной техники с функциями высокотехнологичного лабораторного оборудования [4, 10, 11, 63].

Также используется прибор «ИнСпектр L405» (рисунок 8.2). «ИнСпектр L405» использует современные технологии для научно-исследовательских и промышленных задач.

В качестве источника возбуждения люминесценции в «*ИнСпектр L405*» используется фиолетовый лазер с длиной волны 405 нм, что позволяет проводить измерения в видимом и ближнем ИК-диапазоне (450–770 нм) с разумным спектральным разрешением (0,45–0,6 нм). Анализатор «ИнСпектр L405» может быть использован для любых других приложений в химии, медицине, биологии, где требуется мгновенное измерение спектров люминесценции в широком спектральном диапазоне.

Конструкция «ИнСпектр L405» предполагает однократный решеточный спектрометр, не имеющий подвижных частей и жестко соединенный с ним лазерной сборки. В АПК «ИнСпектр L405» используется входная щель размером 30 мкм, дифракционная решетка 1200 штрихов/мм и сборка высокоэффективных селективных и отрезающих фильтров. Люминесценция возбуждается фиолетовым лазером с длиной волны 405 нм. Спектральный диапазон «ИнСпектр L405» составляет 455–760. «ИнСпектр L405» поставляется с малошумящей CCD-

линейкой, со специально разработанной системой подавления рэлеевского рассеяния и работающей при комнатной температуре [10]. Доступ к данным и аппаратным средствам люминесцентного анализатора осуществляется с помощью встроенного микроконтроллера. Прибор «ИнСпектр L405» имеет две модификации – с фибером (рисунок 8.3) и с вкручивающимися насадками (рисунок 8.4) [4, 10, 11, 63].



Рисунок 8.2-Люминесцентный спектрометр ИнСпектр L405 с фибером (вверху и внизу) и с вкручивающимися насадками (в центре)



Рисунок 8.3- Прибор «ИнСпектр L405» с фибером



Рисунок 8.4- Прибор «ИнСпектр L405» с вкручивающимися насадками

2.3. Методы экспериментальных исследований

Проведенные исследования предшествовали микробиологическим и клиническим наблюдениям, так как они являются основными при выборе и подготовке препарата как определяющего ФДТ фактора.

2.3.1. Подбор фотосенсибилизатора с наибольшим квантовым выходом флуоресценции при его облучении

Идеальный фотосенсибилизатор, пригодный для антимикробной ФДТ, должен обладать минимальной темновой токсичностью и наличием полос поглощения в так называемом оптическом окне (600–900 нм) для достаточного проникновения света в ткани. Более того, ФС должен иметь относительно высокие полосы поглощения ($>20\ 000\text{--}200\ 000\ \text{M} \cdot \text{cm}^{-1}$), что, в свою очередь, уменьшит дозу, необходимую для получения желаемого эффекта. ФС также должен иметь высокий выход возбужденного электронного триплетного состояния и синглетного кислорода [19, 65, 77, 106].

Для выбора ФС с наибольшим квантовым выходом флуоресценции, были изучены свойства 7 различных видов хлорофиллсодержащих препаратов, такие как: Хлорофиллин-ОЗ (1), Фотостим (2), Хлорофиллипт (3), Хлорофиллонг (4), Хлорофилл (5), Now жидкий хлорофилл (6), Радахлорин (7). Раствор каждого из предложенных препаратов помещали в не флуоресцирующую пробирку, после чего регистрировали сигнал флуоресценции.

Наибольший квантовый выход оказался у препаратов 2 (рисунок 9) и 7 (рисунок 10). Ввиду удобства в применении и ряда других качественных характеристик, в исследовании мы использовали препараты 2 и 7.



Рисунок 9 -Хлорофиллсодержащий препарат Фотостим (фото с сайта производителя)



Рисунок 10 -Хлорофиллсодержащий препарат Радахлорин (фото с сайта производителя)

Лекарственный хлорофиллсодержащий препарат для медицинского применения, согласно инструкции производителя, является фотосенсибилизатором (ФС) второго поколения и предназначен для флуоресцентной диагностики (ФД) и фотодинамической терапии (ФДТ). Представляет собой концентрат темно-зеленого цвета с желтоватым оттенком, со слабым характерным запахом для приготовления раствора для инфузионного введения, с действующим веществом в виде суммы натриевых солей хлорина еб, хлорина рб, пурпурина 5 по 0,35 г. каждого. Вспомогательными веществами выступают меглюмин и вода для инъекций. Относится к фармакологической группе фотосенсибилизирующих

средств. Выбранный нами хлорофиллсодержащий препарат способен избирательно накапливаться в клетках-мишенях и оказывать цитотоксический эффект, а также модифицирующие действие на плазматические мембраны при облучении длиной волны 402, 502, 532, 608, 662 нм. Эффект при проведении ФДТ включает три этапа: 1 этап-отек и гиперемия различной степени области воздействия, 2 этап-некроз клеток, развивающийся через 2-3 дня после сеанса ФДТ, 3 этап-очищение раны от некротических масс и эпителизация. В среднем третий этап занимает от двух до восьми недель в зависимости от первичного очага поражения. В дозах 0,5-2,4 мг/кг представленный препарат не обладает мутагенным действием и не повреждает структуру ДНК нормальных клеток, благодаря высокому индексу контрастности и быстрой быстрому выведению из крови.

Фармакокинетика. После однократного внутривенного введения препарата в дозах 0,5-2,4 мг/кг он в течении 0,5-5 часов распределяется между кровью и тканями. Концентрация в сыворотке крови достигает максимума через 15-30 минут и быстро снижается, составляя после введения в 0,5 мг/кг через 1 час -10 мкг/л, через 3 часа-5 мкг/л, через 24 часа-1 мкг/л. Наиболее высокая концентрация препарата отмечается через 3 часа после введения в паренхиматозных органах и патологически измененных клетках.

Около 70-80% хлорофиллсодержащего препарата метаболизируется в печени до биладиенов (линейных тетрапирролов, являющихся, также продуктами метаболизма гема). Препарат выводится в неизменённом виде с калом (15%) и мочой (3%). Кумулятивная экскреция с калом и мочой за первые 12 часов составляет в среднем 15-20% от введенной дозы препарата. Основная часть (98%) выводится или метаболизируется за первые 48 часов. Следовые количества препарата определяются в коже вплоть до шести суток.

Показания к применению: флуоресцентная диагностика рака кожи, фотодинамическая терапия поверхностных опухолей кожи (включая меланому), фотодинамическая терапия предопухолевого (дисплазия I-III степени, эрозия) и опухолевого (рак *in situ*) патологии шейки матки.

Противопоказания к использованию: повышенная чувствительность к любому из компонентов препарата, беременность и лактация, детский возраст (опыт применения у детей отсутствует). С осторожностью применять у лиц с артериальной гипертензией, сахарным диабетом.

Способ применения и дозы:

Приготовление раствора для внутривенной инфузии. Содержимое одного или нескольких флаконов разводят в 200 мл одного из ниже перечисленных инфузионных растворов:

- 0,9% раствор натрия хлорида;
- 5% или 10% раствор декстрозы;
- 10% раствор маннитола;
- Раствор Рингера;
- 4% или 8% раствор калия хлорида.

Для приготовления раствора не следует использовать инфузионные растворы с кислым показателем pH.

Меры предосторожности при применении:

- Во время воздействия лазером врач и пациент должны использовать защитные очки со светофильтром, поглощающим излучение 662±3 нм.
- Пациент после введения препарата должен соблюдать ограниченный световой режим (избегать яркого света) в течение недели.
- Препарат не следует вводить тем же шприцем или через ту же систему для внутривенных введений, через которые вводились другие лекарственные препараты.

Передозировка. Симптомы передозировки сходны с неблагоприятными побочными реакциями. Показана симптоматическая и дезинтоксикационная терапии (инфузионная терапия по показаниям, прием анальгетиков, антигистаминных препаратов, антиоксидантов).

К наиболее частым побочным эффектам можно отнести местные реакции, боли, в месте облучения, гиперемия и отек коллатеральных тканей продолжительностью от двух до семи суток. Лечение-симптоматическое. Хранение

препарата не требует особых условий и предполагает температуру хранения от 2⁰С до 8⁰С в защищенном от света, недоступном для детей месте. Срок хранения не более 2,5 лет. Разведенный препарат хранят не более суток до начала введения, в темных флаконах. Препарат отпускается по рецепту.

2.3.2. Подбор параметров для проведения ФДТ.

Подбор оптимальных параметров амплитудно-спектральных характеристик включает подбор таких значений мощности излучения и регистрации сигнала, которые не искажают сигнал за время записи результирующего измерения флуоресценции исследуемого объекта.

На третьем этапе производили выбор оптимальных параметров времени и мощности излучения для выбранной длины волны лазера (в нашем случае 405 нм), при которых эффект выгорания (уменьшение интенсивности свечения за время экспозиции) чистого препарата РХ составляет не более 5-7%. Это необходимо для получения объективных результатов измерения.

На четвертом этапе эксперимента было проверено суждение о том, что без присутствия лазерного облучения кислород не изменяет интенсивность флуоресцентного свечения хлорофиллсодержащего препарата в пробирке. Это необходимо для подтверждения известного факта, что не активированные фотосенсибилизаторы (данном случае изучаемый препарат) не участвуют в ФДТ реакции.

Моделирование объемной ФДТ в пробирке. Итоговые исследования для объективного обоснования и подтверждения ФДТ активности исследуемого хлорофиллсодержащего препарата. Подробно материалы и результаты этого раздела представлены в главе 3.

2.4. Микробиологические методы

В микробиологическом исследовании участвовали тест-культуры референтных штаммов *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*, полученные из музея ГИСК им. Л.А. Тарасевича, а также штаммы, выделенные из клинического материала. Видовую идентификацию микроорганизмов, выделенных из клинического материала, проводили с помощью анализатора Walk-Away 40 (рисунок 9) и общепринятыми методами (идентификация по совокупности морфологических, культуральных, биохимических, хемотаксономических признаков), используя номенклатуру Берджи (система классификации всех известных бактерий, основанная на различиях в строении клеточной стенки и отношении к окраске по Грамму) [39, 45, 57, 99].

2.4.1. Методика забора клинического материала (зубной налет (зубная бляшка), слюна, смывы с ортопедических конструкций (протезы))

Клинический материал (слюна, зубной налет) забирали и исследовали в соответствии с действующими нормативно-правовыми актами и протоколами по микробиологической диагностике объектов исследования под руководством микробиолога проф. Пашкова Е.П и проф. Александрова М.Т.

Забор материала осуществлялся следующим образом: ротовую жидкость собирали у пациентов утром (около 10.00) через 2 часа после приема пищи в стерильные пробирки, объемом 1,0 мл. Перед снятием зубного налета, до чистки протезов и полоскания полости рта, определяли зону зубного налета и пигментации. Налет, расположенный на щечных и язычных поверхностях искусственных зубов, забирали путем соскабливания стерильным экскаватором. Для снятия бляшки с дистальных и медиальных поверхностей использовали стерильную нитку. Смывы с протезов брали из областей видимых загрязнений стерильной петлей и помещали в стерильную пробирку для транспортировки. Сразу после забора материал помещали в транспортную питательную среду

(угольная среда фирмы SOPAN (Италия)). Биоматериал доставляли при охлаждении -2 - -8 С в течение 2 часов в лабораторию с целью проведения дальнейших исследований [57]. Например, для оценки ОМЧ общепринятыми методами.

Мазки для исследования на грибы рода *Candida* у испытуемых клинического эксперимента, брали из участков твердого неба (между второй и третьей небной складкой), слизистой красной каймы губ, щек. Образцы собирались утром, натощак, без использования пациентами клеев для адгезии и полоскания рта дезинфицирующими средствами. Материал собран с общими принципами сбора микробного материала.

2.4.2. Методы видовой идентификации клинических штаммов микроорганизмов

Автоматический анализатор Walk Away SI-40 (рисунок 11) позволяет проводить идентификацию микроорганизмов за 4 часа методом флюоресцентной детекции. Современная система биотипирования микроорганизмов по 30 реакциям одновременно, обеспечивает высокую специфичность и точность идентификации. Прибор содержит 90 панелей для тестирования и включает систему Prompt Dry приготовления инокулята (взвеси бактерий), исключая необходимость дополнительного посева культуры. Спектр определяемых микроорганизмов (около 400 видов) варьируется от грамм-положительных и грамм-отрицательных бактерий до грибов, включая гемофилы/нейссерии, моракселлы, дрожжи, а также возможность определения расширенного спектра бета-лактамаз бактерий и синергизма микроорганизмов. Анализатор прост в применении благодаря удобному интерфейсу и программному обеспечению на русском языке. Последнее позволяет стандартизировать весь процесс бактериологических исследований в лаборатории, включая ввод результатов и документирование данных по всем пациентам и образцам [45, 57].

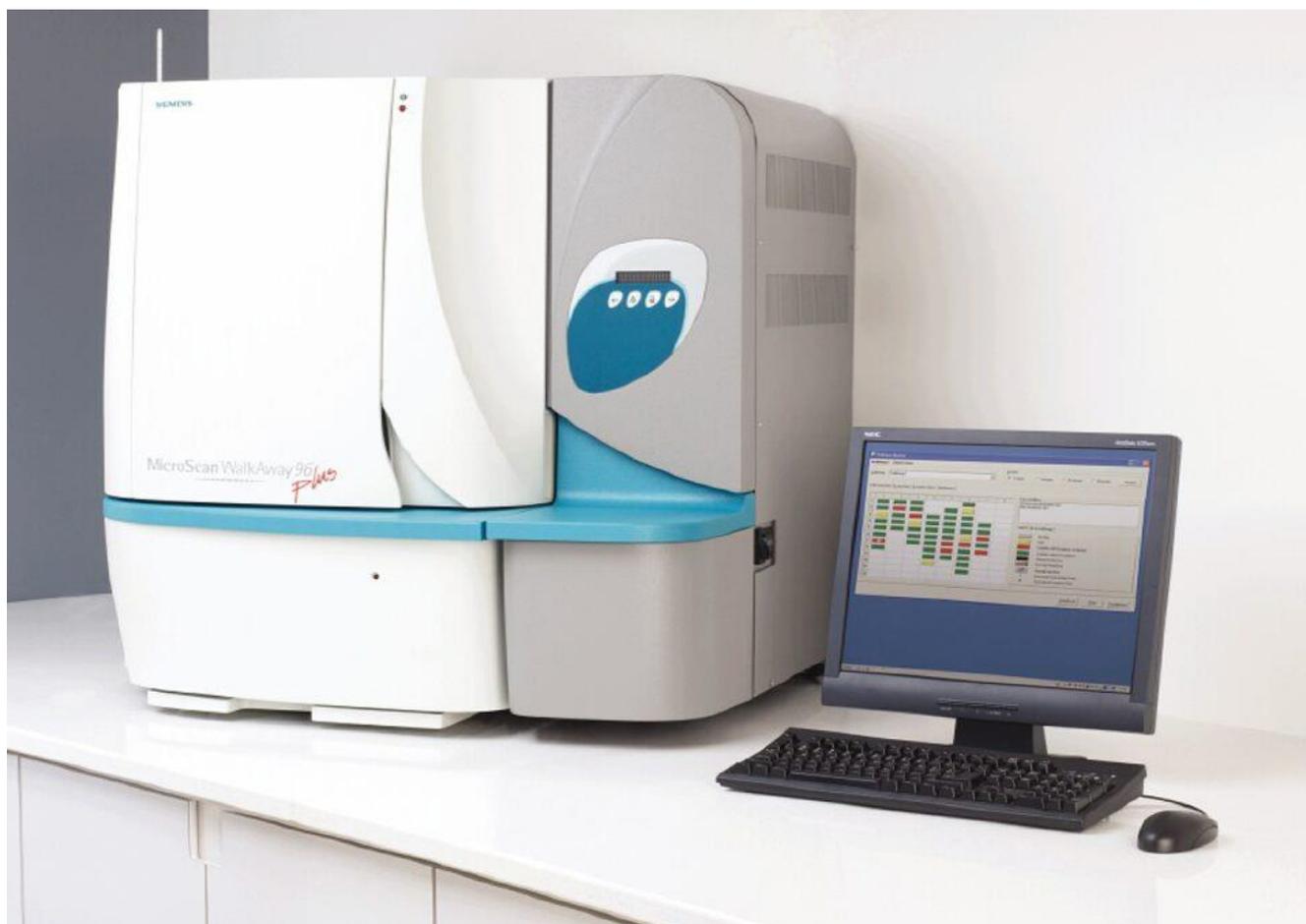


Рисунок 11-Автоматический анализатор Walk Away SI-40

Для определения видовой принадлежности бактерий использовались классические методы идентификации. Ввиду того, что точность определения количества и вида микроорганизмов в исследуемом объекте зависит от тщательности дисперсии материала, конгломераты зубной бляшки разбивали путем встряхивания со стеклянными бусами в гомогенизаторе. Из полученной взвеси готовили разведения (1:10) от 10^1 до 10^9 . С целью накопления и выделения чистой культуры микроорганизмов, из каждого разведения производились посевы материала, используя прямой метод посева на плотные питательные среды.

Микроорганизмы выращивали на не флуоресцирующих подложках, помещаемых на поверхность питательной среды, что исключало влияние элементов среды на исследуемые спектральные характеристики бактерий (предложено проф. Пашковым Е.П.). Питательной средой для стимулирования роста микробной массы служили готовые неселективные и селективные среды:

агар Mueller-Hinton (HiMedia) и агар Schaedler (HiMedia) с 5% бычьей кровью. По 1,0 мл клинического материала прямым методом засеивали на указанные выше питательные среды, растирали шпателем и инкубировали в термостате при температуре 37⁰С в течении 24 часов. Выросшие культуры бактерий дифференцировали по величине, форме, рельефу, цвету, структуре, консистенции и по биохимическим признакам, готовили мазки, окрашивали, а далее микроскопировали, используя метод световой микроскопии. После определения морфологических признаков каждый вид колоний рассеивали на плотную питательную среду для получения аксеничной культуры микроорганизмов. Для дальнейших исследований использовали чистую суточную бактериальную колонию, которую снимали с подложки стерильной петлей и разводили в объеме физиологического раствора. Под контролем турбидиметрии суспензии микроорганизмов доводили до концентрации $5 \cdot 10^9$ КОЕ/мл. Готовые взвеси в объеме 1 мл вносили в стандартные стерильные стеклянные пробирки, проводили измерения раман-флуоресценции исследуемых бактериальных объектов при заданной концентрации, что позволило создать калибровочную кривую интенсивности флуоресценции для оценки концентрации микроорганизмов в КОЕ/мл [45, 57].

2.4.3. Метод экспериментального исследования микроорганизмов

Для проведения эксперимента были взяты два микроорганизма *S. aureus* и *Ps. Aeruginosa*. При этом штаммы микробов имели разную чувствительность к лекарственному препарату Цефепиму: *S. aureus* 209P-чувствителен, *Ps. aeruginosa* 27/99-не чувствителен. Известно, что синегнойная палочка характеризуется непроницаемой внешней клеточной мембраной, которая содержит эндотоксины и блокирует антибиотики, красители и детергенты, защищая чувствительную внутреннюю мембрану и клеточную стенку. Эти различия использовали для объективной оценки эффективности и широты терапевтического антимикробного

воздействия разрабатываемого препарата (тем самым обосновывая его действие как на антибиотикочувствительные виды микроорганизмов, так и наоборот).

Эксперимент основывался на диско-диффузионном методе и предполагал ряд последовательных действий в условиях стерильности: 1) приготовление чашек Петри с неселективной питательной средой агар Мюллер-Хинтона (МХА) согласно рекомендациям изготовителя. 2) приготовление инокулята культуры *S. aureus* и *Ps. Aeruginosa* проводили следующим образом: суспензию микроорганизмов доводили до плотности 0,5 по стандарту мутности McFarland, разводили еще в 10 раз физиологическим раствором в конечной концентрации $1 \cdot 10^7$ КОЕ/мл. Приготовленный инокулят штриховыми движениями, в количестве 2 мл наносили на МХ агар, равномерно распределяя по поверхности покачиванием. Чашки подсушивали при комнатной температуре в течении 10-15 мин. 3) Последовательное внесение не позднее 15 минут на поверхность питательной среды дисков, пропитанных хлорофиллсодержащим препаратом в концентрации 0,7%, 0,07%, 0,007%, который предварительно активировали лазерным излучением длиной волны 405 нм в дозе 0,2-20 Дж/мл, дисков с не активированным препаратом, в тех же концентрациях, дисков, активированных раствором 3% перекиси водорода, стерильных дисков и дисков с антибактериальным препаратом «Цефепим» в качестве контроля. После чего чашки помещали в термостат и инкубировали сверху дном в течении 20 часов при температуре 37⁰ С. 4) Измерение зоны задержки роста микроорганизмов оценивали после окончания инкубационного периода [45, 57, 99].

2.5. Метод экспериментального исследования на животных

Исследование действия препарата на гнойную рану (крысы линии Вистар). При проведении экспериментальных исследований с участием лабораторных животных соблюдались требования нормативно-технических документов, регламентирующих проведение исследований с участием животных: Приказ МЗ СССР № 775 от 12 августа 1977 года «О мерах по дальнейшему

совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных», «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» и «Европейская конвенция по защите животных», изложенная в Директиве Европейского сообщества (86/609/ЕС)», также на основании решения ЛЭК РУДН протокол № 1 от 22 сентября 2022 года.

Животных (n=42) рандомно разделили на 3 группы основная (опытная) группа включала 18 крыс, группа-контроль-6 крыс, группа сравнения 18 крыс (таблица 2).

Таблица 2-Распределение животных по группам

Группа (n) и метод лечения	Метод моделирования	Количество животных
1.Основная-опытная группа. Активированный препарат в концентрации 0,7% (накожно)	(1:1)-клинический штамм из полости рта человека.	18 крыс
2-ая группа-контроль. Препарат принимали в виде питья в концентрации 0,007%	Интактные животные без дефекта.	6 крыс (3 крысы препарат в виде питья не принимали)
3-ая группа-сравнения Без лечения.	(1:1)-клинический штамм из полости рта человека.	18 крыс

В ходе эксперимента грызунов содержали в стандартных условиях окружающей среды (двенадцатичасовой цикл свет/темнота, влажность: 60+/-5%, температура: 22+/-3⁰C), на стандартной диете с неограниченным доступом к воде.

Длительность эксперимента составляла 31 день и включала следующие этапы:

1) Моделирование воспаления путем введения в поясничную область животных основной группы и группы сравнения суспензии аксеничной суточной культуры микроорганизмов, выделенных из ротовой полости человека, 10^7 - 10^8 КОЕ/мл по стандарту мутности McFarland (то есть после предварительного забора клинического материала из полости рта, видовой идентификации, посева на МХА и суточного термостатирования при температуре 37°C с целью накопления и получения необходимой концентрации бактерий), в объеме 0,5 мл.

2) На 4-5 сутки, с развитием язвенно-некротических дефектов, ежедневный осмотр раневой поверхности, с оценкой и фиксацией в журнале следующих параметров: размера, глубины, состояния краев раны; выраженности областей налета и некроза, характера экссудата, наличия грануляций и воспалительных признаков, скорости и интенсивности образования эпителиальной ткани.

3) Ежедневный туалет раны (до появления грануляций) у животных основной группы проводили путем аппликаций на стерильных салфетках толщиной 0,5-1 см хлорофиллсодержащего препарата, активированного вне организма, в концентрации 0,7%, в течении 5 минут. Салфетки фиксировали таким образом, чтобы они покрывали всю область раневой поверхности. Лечение у животных группы сравнения не проводили.

4) Фотопротокол и фиксация результатов сравнения процессов очищения и репарации между группами основной и сравнения.

Кроме этого, у животных контрольной группы, принимавших не активированный препарат в виде питья с водой (концентрация 0,007%), изучали методом ЛФД накопление препарата в различных органах и тканях: кожа, зубы, мышечная ткань, внутренние органы. Измерения проводили на 25 сутки после выведения животных из эксперимента путем передозировки эфира. У каждого, выделенного препарированием тест-объекта измеряли интенсивность флюоресценции (контактно, перпендикулярно, стабильно) и нормировали ее на

таковую для тест-объектов, не принимавших препарат. Результаты представлены в главе 3.

2.6. Клиническое стоматологическое обследование

Клинические исследования проводили на базе кафедры пропедевтики стоматологических заболеваний МИ «Российский университет дружбы народов» и в ООО «Эстет Дент» г. Долгопрудный. В исследованиях принимали участие 80 пациентов, из них 40 мужчин и 40 женщин (рисунок 12), в возрасте 50 до 70 лет (рисунок 13), имеющие диагноз по классификации МКБ 10 K08.1 «Потеря зубов, вследствие несчастного случая, удаления или локализованного пародонтита (полная вторичная адентия)», получившие полную информацию об исследовании и давших добровольное письменное согласие на свое участие, без выраженной фоновой и местной патологии, с полными съёмными ортопедическими конструкциями, для оценки их антимицробной обработки бактериологически (КОЕ\мл в слюне) и методом ЛФД. Пациенты для участия в исследовании, были взяты с учетом критериев включения, исключения и не включения.

Критерии включения: наличие съёмных ортопедических конструкций, полностью адаптированных в полости рта при неудовлетворительном гигиеническом состоянии полости рта пациентов. Срок пользования протезами не менее 2 лет.

Критерии не включения пациентов в группы исследования: хронические заболевания органов и систем организма на стадиях суб- и декомпенсации; острые и хронические инфекционные заболевания (вирусной, бактериальной и грибковой природы); нежелание участвовать в исследовании; состояния, затрудняющие продуктивный контакт, такие как психические расстройства, алкоголизм, слепота.

Критерии исключения: Аллергические реакции на ФД-терапию (выявлено не было).

Распределение пациентов по полу и возрасту однородное (рисунки 12, 13), что позволило провести статистические исследования.

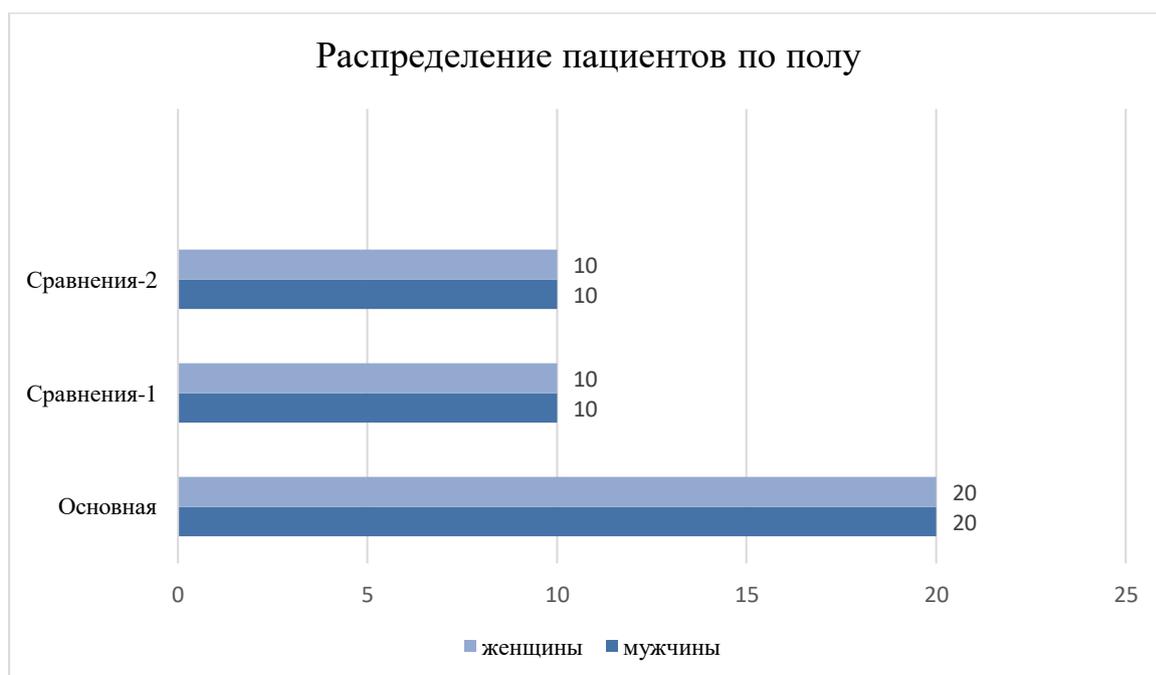


Рисунок 12-Распределение пациентов по полу

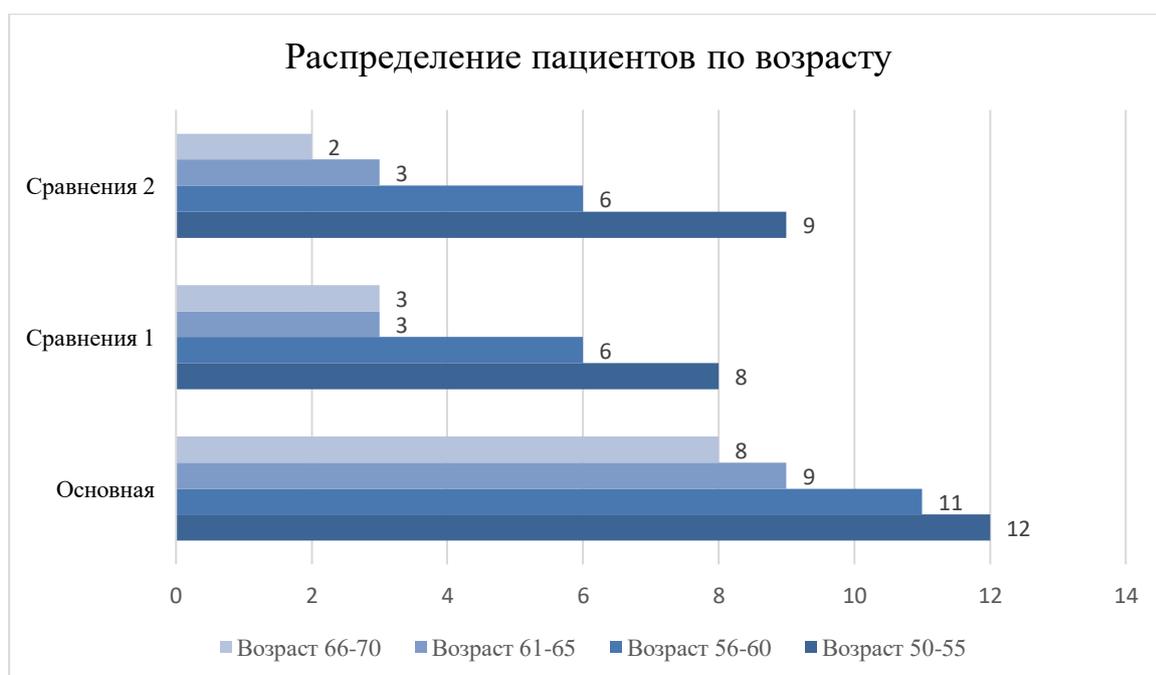


Рисунок 13-Распределение пациентов по возрасту

Пациенты были разделены на 3 группы: основная и две группы сравнения. В основной группе использовали активированный хлорофиллсодержащий препарат, в группе сравнения 1 применяли не активированный хлорофиллсодержащий препарат, в группе сравнения 2 хлорофиллсодержащий препарат не использовали.

Измерения выполнены на современном аппаратно-программном комплексе «ИнСпектр М».

Алгоритм лечебно-диагностической медицинской технологии на основе применения хлорофиллсодержащего препарата, активированного вне организма:

1. Опрос и отбор пациентов в соответствии с критериями включения и не включения в группы исследования, распределение по группам клинических наблюдений с использованием таблицы случайных чисел. Инструктаж пациентов по сути методики и обучение ее применению. Участникам эксперимента основной группы и группы сравнения 1 проводили вводный инструктаж по применению хлорофиллсодержащих растворов.

2. Оформление информационного согласия на клиническое исследование.

3. Диагностика гигиенического состояния протезной конструкции до/после гигиенической обработки методом ЛФД (отн. ед.) и по показателям ОМЧ (КОЕ/мл) в нулевой точке исследования, затем один раз в три месяца в условиях поликлиники.

4. Диагностическая оценка гигиенического состояния полости рта по показателям ротовой жидкости до/после гигиенической обработки методом ЛФД (отн. ед.) и по показателям ОМЧ (КОЕ/мл) в нулевой точке исследования, затем один раз в три месяца в условиях поликлиники.

5. Комплекс лечебно-профилактических мероприятий, основанный на гигиенической обработке ортопедических конструкций хлорофиллсодержащим препаратом (активированным и не активированным), включающий контролируемую чистку протезов и обучение гигиене полости, на протяжении 6 месяцев.

6. Контроль эффективности антимикробной обработки протезных конструкций и выведение интегральных значений гигиенического состояния полости рта. Представление результатов в виде графиков и таблиц.

Каждому пациенту из основной группы выдавали индивидуальные средства гигиены и активированный препарат по 100 мл, пациентам из группы сравнения 1 выдавали индивидуальные средства гигиены и не активированный препарат. Далее препарат выдавали по обращаемости.

Пациенты трех групп n=80 (100%) осуществляли гигиеническую обработку ортопедических конструкций с использованием зубной пасты и зубной щетки средней степени жесткости в течении 3 минут утром и вечером после еды. Дополнительно пациенты основной группы n=40 (100%) проводили полоскание полости рта хлорофиллсодержащим препаратом в концентрации 0,007% ежедневно, после каждой гигиенической обработки полости рта, в то время как испытуемые группы сравнения 1 n=20 (100%) применяли неактивированный хлорофиллсодержащий препарат. Пациенты основной группы n=40 (100%) после гигиенической обработки ортопедической конструкции дополнительно в 1 раз в 3 дня погружали ее на 5 минут в активированный хлорофиллсодержащий препарат в концентрации 0,7% затем споласкивали в течение минуты под проточной водой, фиксировали в полости рта и проводили полоскание активированным препаратом; пациенты группы сравнения 1 погружали протезы в 0,7% неактивированный препарат затем споласкивали в течение минуты под проточной водой, фиксировали в полости рта и проводили полоскание неактивированным препаратом. Пациенты группы сравнения 2 n=20 (100%) не обрабатывали полость рта препаратом и не погружали протезные конструкции в хлорофиллсодержащий препарат. Контролируемое обследование пациентов в условиях поликлиники проводили в соответствии с алгоритмом в нулевой точке исследования, через 3 и 6 месяцев. Результаты представлены (M ср.) в виде таблиц.

Дополнительно оценку эффективности клинической методики проводили на основе независимой экспертной оценки (врачи стоматологи-20 специалистов). Объект исследования (съёмные протезные конструкции) выбран в связи с тем, что препарат находится на стадии сертификации и его интракорпоральное применение требует соответствующего разрешения МЗ РФ.

2.6.1. Оценка гигиенического состояния полости рта по показателям ротовой жидкости

Для оценки гигиенического состояния полости рта по показателям ротовой жидкости использовали, в том числе, метод ЛФД. Данный методический подход обоснован в работах академика РАМН Воробьева А.А., академика РАМН Бажанова Н.Н., проф. Александрова М.Т., проф. Пашкова Е.П., к.м.н. Филатова М.Н. в 2000-2003 г.г., подтвержден в 2018 г. д.м.н. Маргарян Э.Г. и 2020 г. проф. Александровым М.Т., а также проф. Олесовой В.Н. В этих работах, получивших одобрение РАМН РФ убедительно показана адекватность бактериологического и ЛФД методов при оценке микробного фактора в биологических субстратах [4, 62].

За 2 часа до сбора слюны участники эксперимента воздерживались от приема пищи и жидкости, а также не вынимали протезы из полости рта. Пациенты путем сплевывания собирали ротовую жидкость (не стимулированную) в стандартную стерильную пробирку 1 мл. Затем образец слюны помещали в не флуоресцирующую пробирку и при помощи насадки №1 АПК «EnSpectr M» с длиной волны 405 нм проводили измерения (стабильно, контактно, перпендикулярно), результаты которых, в виде спектров, отображаются в программном окне. Аналогично проводили измерения показателей ротовой жидкости после гигиенической обработки полости рта по разработанному алгоритму. Известно, что концентрация микроорганизмов линейна их флуоресценции, которая, в свою очередь, измеряется в относительных единицах. Полученные данные фиксировали в анкетах [5].

2.6.2. Оценка гигиенического состояния зубных протезов модифицированным методом С.Б. Улитовского и А.А. Леонтьева

Уровень гигиены (гигиеническое состояние) съемных ортопедических конструкций, в том числе, оценивали по методу определения индекса чистоты протеза, разработанному С.Б. Улитовским и А.А. Леонтьевым [4, 92]. Он

высчитывается в баллах (от 1 до 10, где 10-максимальный уровень загрязнения) и учитывает ряд таких субъективных характеристик ортопедической конструкции, как налет, видимый невооруженным глазом (ключевой момент), пигментации, пятна.

Согласно рекомендациям разработчиков [92] для определения индекса чистоты съемного зубного протеза его внутреннюю и внешнюю поверхности разделяют на квадранты и оценивают в баллах от 1 до 10 каждый из них [92]. Критерии оценки представлены в таблице 3.

Таблица 3-Критерии оценки чистоты съемных ортопедических конструкций

Баллы	Критерии оценки
1 балл	отсутствие налета, пигментаций, пятен на ортопедической конструкции
2 балла	виден только окрашенный налет на отдельных участках съемного зубного протеза
3 балла	незначительный налет, видимый невооруженным глазам
4 балла	единичный налет и отдельные пятна на поверхности искусственных зубов съемной ортопедической конструкции
5 баллов	единичный налет и отдельные пятна на наружной поверхности съемного зубного протеза, покрывающий вестибулярно-наружную поверхность протеза
6 баллов	обильный налет на вестибулярно-наружной поверхности съемного протеза; и/или имеются отдельные пятна и единичный налет на внутренней поверхности протеза
7 баллов	сильное загрязнение вестибулярно-наружной и орально-наружной поверхности и обильное загрязнение вестибулярно-внутренней или орально-внутренней поверхности съемной ортопедической конструкции (загрязнениями покрыто от 1/4 до 1/2 площади внутренней поверхности съемного протеза)

8 баллов	сильное загрязнение вестибулярно-наружной и орально-наружной поверхности и обильное загрязнение вестибулярно-внутренней или орально-внутренней поверхности съемной ортопедической конструкции (загрязнениями покрыто от 1/4 до 1/2 площади внутренней поверхности съемного протеза) с единичными отложениями зубного камня
9 баллов	наличие обильного зубного камня
10 баллов	внешняя и внутренняя поверхности ортопедической конструкции покрыты налетом (от 3/4 до общей площади протеза) и пигментированы

Формула для расчета индекса чистоты протеза:

$$\frac{\sum a_1 + \dots + a_n}{n}$$

Где Σ -сумма количественных оценок критериев;

a_1 -количество баллов по первому критерию;

a_n -количество баллов по n-му критерию;

n-количество критериев, используемых в индексе.

Оценочные критерии:

5,0-5,5-очень плохой уровень чистоты съемных протезов;

4,0-4,9-плохой уровень чистоты съёмных протезов;

3,0-3,9-удовлетворительный уровень чистоты съемных протезов;

2,0-2,9-хороший уровень чистоты съемных протезов;

1,0-1,9-высокий уровень чистоты съемных протезов.

Для объективности (цифровизации) результатов исследования, параллельно с оценкой гигиенического состояния съемных ортопедических конструкций с помощью индекса чистоты протезов Улитовского-Леонтьева все точки загрязнения и пигментации одномоментно регистрировались флуоресцентным методом, а именно количественные показатели интенсивности, как способа выявления и активности микробного фактора. Каждый из выявляемых объектов загрязнения

протезной конструкции измеряли методом ЛФД до и после (динамическое наблюдение в течении 6 месяцев, с кратностью 2 раза в месяц) их гигиенической обработки следующим образом: к АПК «ИнСпектр М» присоединяли насадку со световодом №2. Затем прибор включали и подносили насадку к исследуемой ортопедической конструкции (в местах наибольшего видимого загрязнения). Сфокусировав на поверхности протеза и выбрав оптимальную мощность излучения лазера (до 20 Дж), начинали измерение спектра в контактно-стабильном положении протеза. Время общей экспозиции составляет 2-5 с, число усреднений-50-100. Следует отметить, что проводился подсчет как гигиенического состояния ортопедической съемной конструкции в целом, так и гигиеническое состояние каждого отдельного очага пигментации или области видимого зубного налета. Путем математических расчетов получали среднее арифметическое усредненной интенсивности флуоресценции по каждой исследуемой ортопедической конструкции до и после ее гигиенической обработки.

Критерии оценки:

- Различие составляет до 20%-хорошая гигиеническая обработка;
- Различие составляет 21-41%-удовлетворительная гигиеническая обработка;
- Различие составляет 42-60%-неудовлетворительная гигиеническая обработка;
- Различие составляет от 61% и более-очень плохая гигиеническая обработка.

Результаты сохраняли в базе данных АПК (происходит автоматически). Систематизацию и анализ результатов проводили в соответствии с требованиями вариационной статистики [5, 11].

2.6.3. Методика оценки состояния слизистой оболочки рта пациентов на основании анкетирования

С целью анализа данных о состоянии слизистой оболочки рта и выявления воспалительных заболеваний на базе ООО «Эстет Дент» г. Долгопрудный по истечении шести месяцев эксперимента было проведено анкетирование 80

пациентов. Респонденты отвечали на вопросы, связанные с субъективными ощущениями в области слизистой оболочки рта. Результаты анкетирования представлены в главе 4.

Анкета для оценки состояния слизистой оболочки рта

Отметьте галочкой нужный вариант ответа.

Спасибо за участие!

1. Возраст
2. Пол
3. Отмечали ли вы в последние 6 месяцев жжение и зуд слизистой оболочки рта?
 - Да
 - Нет
4. Отмечали ли вы в последние 6 месяцев нарушение вкусовых ощущений?
 - Да
 - Нет
5. Отмечали ли вы в последние 6 месяцев элементы поражения слизистой оболочки рта?
 - Да
 - Нет
6. Отмечали ли вы в последние 6 месяцев боль и дискомфорт?
 - Да
 - Нет
7. При наличии боли и дискомфорта оцените ощущения по шкале:
 - 0-боли нет;
 - 1-слабая боль;
 - 2-умеренная боль;
 - 3-сильная боль;
 - 4-нестерпимая боль.

2.6.4. Активация хлорофиллсодержащего раствора

Поскольку хлорофиллсодержащие препараты для лучшей активности при использовании инновационной ФДТ требуют накопления в объекте воздействия, все испытуемые ежедневно проводили полоскание полости рта препаратом (БАД, разрешенный для наружного и внутреннего применения, например,

хлорофиллсодержащий препарат Фотостим) в наименьшей концентрации-0,007%, после каждой гигиенической обработки полости рта (включая съемные протезные конструкции) зубной пастой с использованием зубной щетки средней степени жесткости в течении 3 минут. В основной группе 1 раз в 3 дня ортопедическая конструкция после гигиенической обработки погружалась на 5 минут в активированный препарат с концентрацией 0,7%.

Активацию растворов проводили на АПК «ИнСпектр М» следующим образом: колбу из не флуоресцирующего материала помещали в насадку АПК и проводили облучение длиной волны 405 нм, мощностью 5-10 мВт/с² и дозой облучения 0,02 Дж на 1 мл препарата [5, 6, 11]. Дополнительно проводили обогащение хлорофиллсодержащего препарата кислородом, посредством добавления в раствор 3% перекиси водорода.

2.7. Статистические методы анализа полученных данных

Статистическую обработку данных, полученных в результате исследования, проводили, учитывая принципы современной доказательной медицины.

В нашем случае достоверность результатов была проверена с помощью следующего алгоритма:

1. Проверка данных на соответствие нормальному закону. Пороговое значение или исходный статистический уровень значимости $p=0,05$.
2. Выбор методов оценки данных в зависимости от выполнения условия 1. Если данные соответствовали нормальному закону и дисперсии по критерию Левена не различаются, то применяли параметрические методы и описывали центральные значения в виде среднего арифметического плюс среднеквадратичное отклонение $M\pm s$, в противном случае, когда данные не соответствовали нормальному закону, использовали непараметрические методы с описанием центральных значений в виде медианы и квартильного отрезка $Me (25q; 75q)$, который содержит 50% значений выборки, слева и справа от медианы.

3. Сравнительная оценка данных каждой группы до и после чистки сразу, через 3 и 6 месяцев.
4. Сравнение групп между собой до чистки с поправкой на Бонферрони, так как групп 3, а число сравнений равно 3, то уровень статистической значимости равен $0,05/3=0,017$.
5. Сравнение групп между собой после чистки с поправкой на Бонферрони. t-критерия Стьюдента (рисунок 14) для сравнения связанных совокупностей-оценки гигиенического состояния полных съемных протезов до и после чистки [60, 82, 100]. Критерий Стьюдента рассчитывали по следующей формуле:

$$t = M_1 - M_2 / \sqrt{m_1^2 + m_2^2}$$

где M_1 -средняя арифметическая первой сравниваемой совокупности;

M_2 -средняя арифметическая второй сравниваемой совокупности;

m_1 -средняя ошибка первой средней арифметической;

m_2 -средняя ошибка второй средней арифметической.

Significance Level:

- .01
 .05
 .10

One-tailed or two-tailed hypothesis?:

- One-tailed
 Two-tailed

Difference Scores Calculations

Treatment 1

$$\begin{aligned}
 N_1 &: 3 \\
 df_1 &= N - 1 = 3 - 1 = 2 \\
 M_1 &: 5.37 \\
 SS_1 &: 0.23 \\
 s^2_1 &= SS_1 / (N - 1) = 0.23 / (3 - 1) = 0.12
 \end{aligned}$$

Treatment 2

$$\begin{aligned}
 N_2 &: 3 \\
 df_2 &= N - 1 = 3 - 1 = 2 \\
 M_2 &: 2.93 \\
 SS_2 &: 0.96 \\
 s^2_2 &= SS_2 / (N - 1) = 0.96 / (3 - 1) = 0.48
 \end{aligned}$$

T-value Calculation

$$\begin{aligned}
 s^2_p &= ((df_1 / (df_1 + df_2)) * s^2_1) + ((df_2 / (df_1 + df_2)) * s^2_2) \\
 &= ((2/4) * 0.12) + ((2/4) * 0.48) = 0.3
 \end{aligned}$$

$$s^2_{M_1} = s^2_p / N_1 = 0.3 / 3 = 0.1$$

$$s^2_{M_2} = s^2_p / N_2 = 0.3 / 3 = 0.1$$

$$t = (M_1 - M_2) / \sqrt{(s^2_{M_1} + s^2_{M_2})} = 2.44 / \sqrt{0.2} = 5.47$$

The *t*-value is 5.46619. The *p*-value is .002724. The result is significant at $p < .05$.

Рисунок 14-Критерий Стьюдента

Изучали и сравнивали количественные показатели индекса чистоты протезов, определяемых с помощью лазерно-флуоресцентной диагностики и бактериологическим методом до, через 3 и 6 месяцев.

Критерий χ^2 Пирсона использовался для сравнения методов очистки протезов и уровнем обнаружения микроорганизмов. Сравнения между группами проводилось с использованием U-критерия Манна-Уитни или критерия Краскела-Уоллиса [60, 82, 100].

Уровень значимости статистической обработки, значение *p*, принимали за стандартное, которое равнялось 0,05. Полученные в результате эксперимента значения должны были удовлетворять условию $p > 0,05$, тогда как $p < 0,05$ свидетельствовал о том, что значимой связи не существует [60, 82, 100].

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Результаты подбора оптимальных параметров ФДТ

В нашем исследовании мы ставили задачу разработать такой метод фотодинамической терапии, при котором бы представлялось возможным активация фотосенсибилизатора вне объекта, то есть органа или ткани, его активное накопление в патологически измененных клетках и способность запускать фотодинамический процесс во всем объеме. Модельным объектом служили культуры микроорганизмов.

Фотосенсибилизаторы - представляют собой нетоксичные красители, в нашем случае хлорофиллсодержащий препарат, который содержит магнийпорфирин, аналогичный по составу железопорфиру (гемоглобину).

Подбор фотосенсибилизатора проводился из препаратов Хлорофиллин-ОЗ (1), Фотостим (2), Хлорофиллипт (3), Хлорофиллонг (4), Хлорофилл (5), Now жидкий хлорофилл (6), Радахлорин (7). Учитывали наибольший квантовый выход флуоресценции при его облучении. Данные представлены в таблице 4 и на рисунках 15.1, 15.2.

Таблица 4-Сравнительный анализ разных форм хлорофиллсодержащих препаратов

Хлорофиллсодержащий препарат	Квантовый выход	Мощность
PX1	4500	1 мВт
PX2	21000	200 мкВт
PX3	13500	1 мВт
PX4	9000	1 мВт
PX5	3700	1 мВт
PX6	3000	1 мВт
PX7	18000	200 мкВт

Результаты показали, что препараты PX1, PX3, PX4, PX5, PX6 имеют слабый квантовый выход флуоресценции по сравнению с препаратами PX2 и PX7. Следовательно эти пять видов препаратов не подходят для диагностики и лечения. Квантовый выход флуоресценции у препарата PX2 выше, чем у препаратов PX6, PX5, PX1, PX4, PX3 в 7 раз, 5,6 раз, в 4,6 раза, в 2,3 раза, в 1,5 раза соответственно. В свою очередь квантовый выход флуоресценции при облучении препарата PX7 больше, в сравнении с препаратами PX6, PX5, PX1, PX4, PX3 в 6 раз, 4,8 раза, 4 раза, 2 раза, 1,3 раза, соответственно.

На основании этих данных для дальнейших исследований и клинического применения использовали препараты PX2 и PX7 с наивысшей интенсивностью для получения при тушении наибольшего квантового выхода.

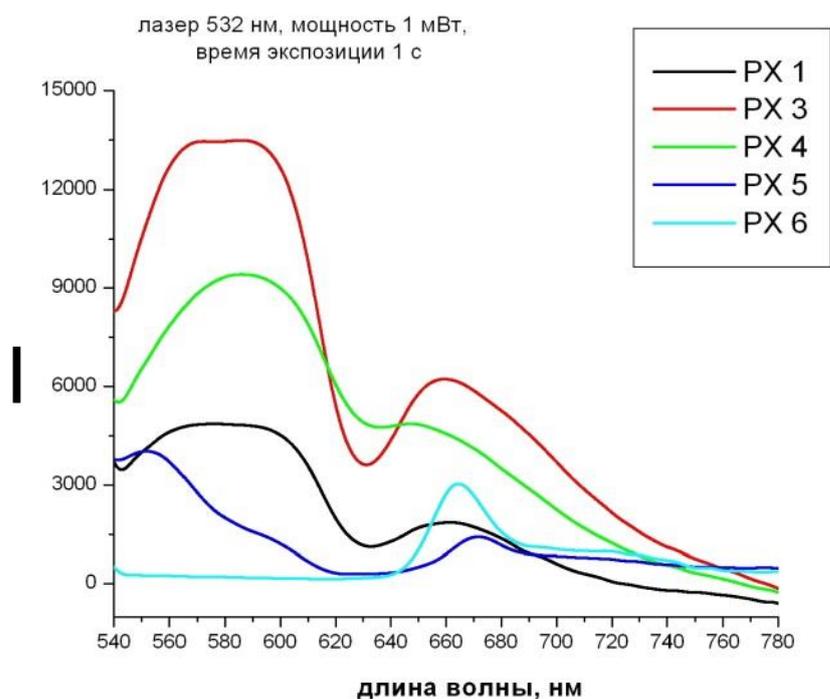


Рисунок 15.1-Спектры флуоресценции различных форм хлорофиллсодержащих препаратов

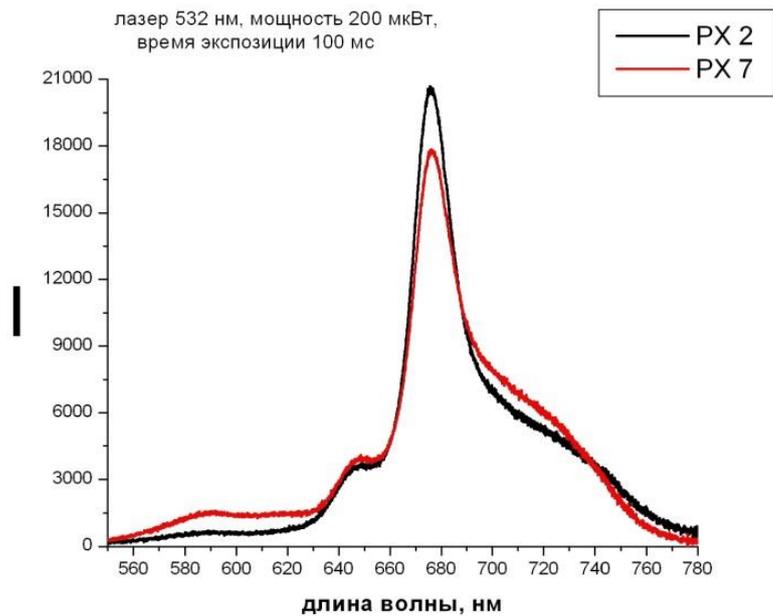


Рисунок 15.2- Спектры флуоресценции различных форм хлорофиллсодержащих препаратов

На этапе подбора оптимальных параметров дозы излучения были изучены электромагнитные волны синего и красного цветов. Нами установлено, что на аппарате «Инспект-М» наиболее эффективными длинами волн для возбуждения фотосенсибилизатора являются волны, длиной 405 нм и 637 нм, так как они не искажают сигнал за время его регистрации (рисунок 16).

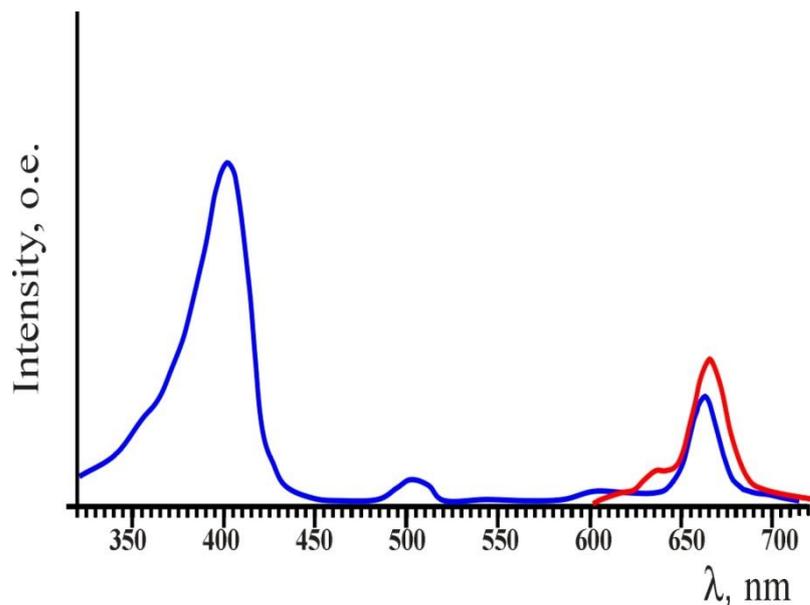


Рисунок 16-Пик флуоресценции (637 нм, красный цвет) и спектр поглощения раствора хлорофиллсодержащего препарата (синий цвет)

Для получения объективных результатов измерения, определили оптимальные параметры времени и мощности излучения, при которых эффект выгорания (уменьшение интенсивности свечения за время экспозиции) чистого препарата РХ составляет не более 5-7%. Нами установлено, что для длины волны длиной 405 нм оптимальными параметрами регистрации сигнала являются мощность 2,5 мВт и время экспозиции 50 мс, а для длины волны 637 нм оптимальными параметрами регистрации сигнала являются мощность 170 мВт и время экспозиции 100 мс. При этих параметрах в дальнейшем производилась регистрация при ФД-диагностике.

На рисунке 17 представлено, что при продувании кислородом хлорофиллсодержащего препарата на протяжении 1, 2, 5 и 10 минут, все четыре спектра накладываются друг на друга, то есть совпадают. Таким образом, нами установлено, что присутствие кислорода не влияет на эффективность тушения сигнала. На основании чего, можно сделать вывод о том, что продувание кислорода через хлорофиллсодержащий препарат без облучения лазерным светом не приводит к изменению интенсивности сигнала флуоресценции.

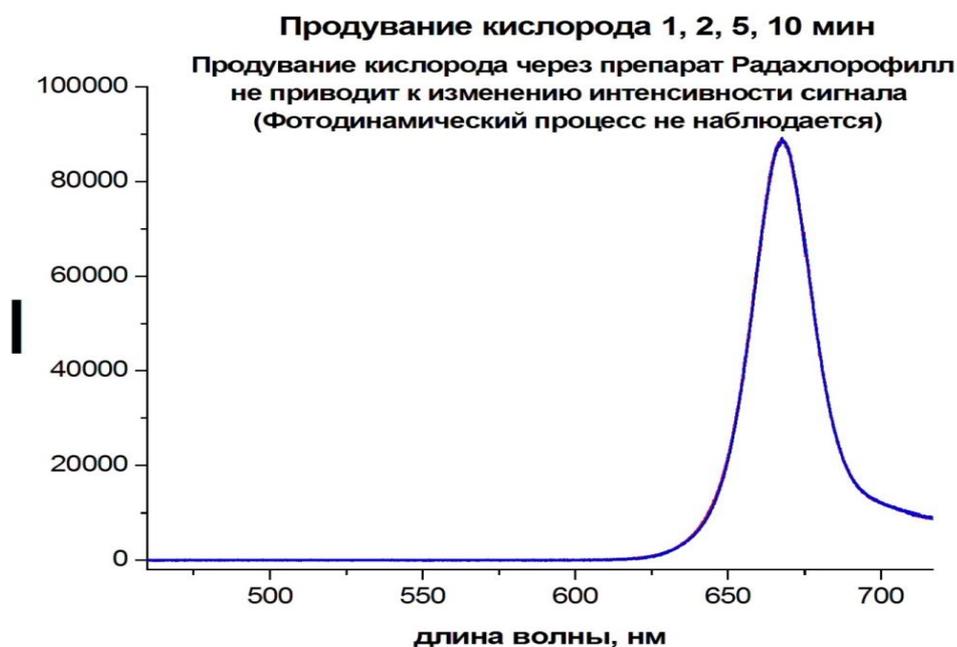


Рисунок 17-Спектр флуоресценции хлорофиллсодержащего препарата при продувании кислорода

Дальнейшие исследования физических и химических основ действия активированного РХ, облученного волновой энергией в присутствии доноров кислорода, проводили на культурах бактериальных клеток либо клеток организма.

Хлорофиллсодержащие препараты, как фотосенсибилизаторы, способны генерировать активные формы кислорода, при возбуждении молекул препарата видимым светом. Первичные формы АФК представляют собой синглетный кислород ($^1\text{O}_2$), который вступает в реакцию с молекулами клетки и приводит к гибели последних.

Механизм образования $^1\text{O}_2$ в этой системе заключается в передаче энергии от возбуждённого ФС к кислороду (O_2) в основном состоянии. Другие формы АФК, такие как супероксиды, гидроксильные радикалы, образуются в гораздо меньшей степени и тоже являются токсичными для клеток [41]. Хлорофиллсодержащий препарат способен разрушать биологические субстраты после возбуждения лазерным излучением с длиной волны 400-670 нм. Следует помнить, что в увеличением длины волны, возрастает способность света проникать в биологические объекты, поэтому наиболее предпочтительной полосой возбуждения является длинноволновая полоса- 637 нм [41, 91, 106]. Однако в нашем случае-активации препарата в пробирке (то есть вне организма), показано, что наилучшее возбуждение достигается при облучении длиной волны 405 и 667 нм.

Считается, что возбуждение молекул пигмента происходит за счет суммирования энергии двух фотонов, так как при использовании коротких мощных лазерных импульсов часть молекул пигмента находится под воздействием электромагнитных полей двух фотонов в течение времени, необходимого для молекулярного возбуждения. В этом случае суммируется энергия двух фотонов и происходит возбуждение молекул пигмента.

Синглетный кислород ($^1\text{O}_2$) образуется в результате триплет-триплетного переноса энергии от молекулы фотосенсибилизатора к молекуле кислорода посредством реакции фотосенсибилизации типа II. Синглетный кислород не является свободным радикалом и не несет высокоэнергетического электрона, однако он легко окисляет биологические молекулы и поэтому цитотоксичен [41].

Известно, что производные хлорофилла являются эффективными фотосенсибилизаторами для образования синглетного кислорода. Как синглетное, так и триплетное состояние молекул фотосенсибилизатора генерируются только в фазе растворов, кроме того, из-за крайне непродолжительной жизни возбужденных синглетных молекул хлорофилла (около 10-10 нс) высокий квантовый выход возможен только при высоком содержании кислорода. В растворах и биологических системах с при нормальных значениях кислорода, генерация синглетного кислорода будет невысока. Синглетный кислород отличается от других активных форм кислорода, тем, что для его генерации не требуется химической модификации кислородных молекул, необходимо только поглощение энергии. Перекиси, образующиеся под воздействием световой волны и кислорода, стабилизируются особенностями химического строения молекулы красителей, что все вместе позволяет накапливаться в очагах инфекционного или опухолевого происхождения [41]. Таким образом, теоретические данные обосновывают предложенную нами инновационную концепцию фотодинамической терапии.

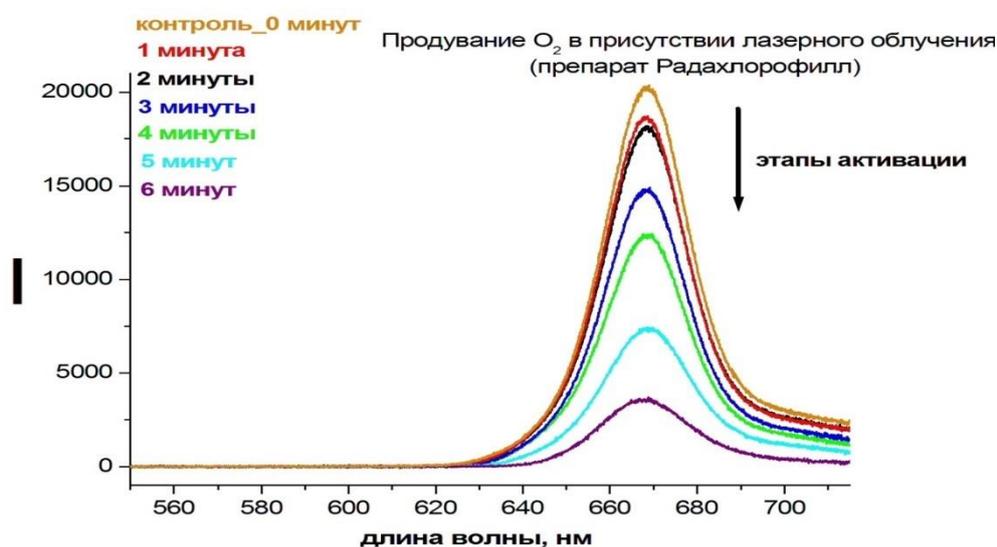


Рисунок 18-Этапы активации хлорофиллсодержащего препарата во времени

На рисунке 18 представлены последовательные этапы активации хлорофиллсодержащего препарата ИК-излучением (обладает большей проникающей способностью) в присутствии кислорода. Наглядно

продемонстрировано уменьшение в течении 6 минут пика флуоресценции хлорофиллсодержащего препарата, облученного мощностью 6 мВт, в то время как активация препарата наступает при передаче энергии 2 Дж.

3.2. Результаты исследования эффективности ФДТ на культурах микроорганизмов

Результаты итоговых исследований объективного обоснования и подтверждения ФДТ активности представлены в таблицах 5 и 6. В следствии чего можно полагать, что хлорофиллсодержащий препарат, введенный нами в эксперимент, обладает окислительным механизмом действия, а синглетный кислород ($^1\text{O}_2$), образующийся при активации фотосенсибилизатора извне зондирующим излучением с длиной волны 637 нм, дозами 0,2-20,0 Дж/мл и добавлении кислородсодержащего препарата, является мощным повреждающим агентом и разрушает пигменты, липиды, белки и другие клеточные составляющие. Генерация активных форм кислорода является результатом всплеска клеточного дыхания. В настоящее время имеются доказательства высокого бактерицидного эффекта АФК-механизма, приводящему, в конечном итоге, к образованию еще более эффективных гидроксильных радикалов. Таким образом, можно полагать, что механизм взаимодействия, активированного хлорофиллсодержащего препарата с бактериальной клеткой схож с кислород-зависимой подсистемой бактериоцидной системы фагоцитов, к которой привыкание отсутствует [9].

В результате эксперимента было показано, что наблюдаемый эффект действия активированного препарата на клетки микроорганизмов незначительно зависит от его концентрации. Показано, что данный эффект сравним по действию с действием антибиотиков. Так же было показано, что количественный эффект гибели клеток микроорганизмов незначительно зависит от дозы облучения светом препарата на этапе активации.

Таким образом, можно полагать, что способность фотосенсибилизатора накапливаться в клетках-мишенях, с реализацией эффекта летальной

фотосенсибилизации, может быть использована при лечении заболеваний бактериальной природы (включая антибиотикоустойчивые штаммы).

Таблица 5-Влияние хлорофиллсодержащего препарата на микрофлору

Препарат	Количество образцов	Зона задержки роста мм, m ср.		
		PX 0,7%	PX 0,07%	PX0,007%
Чистый препарат (не активированный)	N=10	для <i>Ps. aeruginosa</i>		
		Зона задержки роста не определяется	Зона задержки роста не определяется	Зона задержки роста не определяется
	N=10	для <i>S. aureus</i>		
		Зона задержки роста не определяется	Зона задержки роста не определяется	Зона задержки роста не определяется
Стерильный диск	N=10	для <i>Ps. aeruginosa</i>		
		Зона задержки роста не определяется	Зона задержки роста не определяется	Зона задержки роста не определяется
	N=10	для <i>S. aureus</i>		
		Зона задержки роста не определяется	Зона задержки роста не определяется	Зона задержки роста не определяется
H ₂ O ₂	N=10	для <i>Ps. aeruginosa</i>		
		12.5	11	11
	N=10	для <i>S. aureus</i>		
		13	12	11
H ₂ O ₂ и лазерное облучение -	N=10	для <i>Ps. aeruginosa</i>		
		24	20	21

активированный препарат	N=10	для <i>S. aureus</i>		
		21	17	17

В каждом из образцов и для *Ps. aeruginosa* (n=10), и для *S. aureus* (n=10), наибольшая задержка роста отмечается при использовании активированного препарата в концентрации 0,7%, в присутствии кислорода. Несмотря на то, что диски, пропитанные 3% перекисью водорода дают задержку роста микроорганизмов, результаты не являются статистически значимым, что подтверждает гипотезу о том, что продувание кислорода через РХ без лазерного облучения не приводит к изменению интенсивности сигнала флуоресценции.

Таблица 6- Действие хлорофиллсодержащего препарата на клинические штаммы *Ps. Aeruginosa* и *S. Aureus*

Контроль 20 тест объектов	Препарат активированный H ₂ O ₂ 3% и лазерным излучением-М ср.	Цефепим 30 мг/л М ср.	Не активированный препарат
<i>Ps. Aeruginosa</i> (не чувствительный к цефепиму клинический штамм)	25	Зона задержки роста не определяется	Зона задержки роста не определяется
<i>S. aureus</i>	21	29	Зона задержки роста не определяется

Результаты исследования показали, что через 24 часа после воздействия ФДТ с активированным хлорофиллсодержащим препаратом в присутствии кислорода, на культуры клинических штаммов *Ps. Aeruginosa* и *S. Aureus* на питательных средах наблюдалось статистически значимая задержка зоны роста микроорганизмов, в то время как антибиотик «Цефепим» не давал результата в

отношении *Ps. Aeruginosa*. Наибольшая зона задержки роста (от 20 до 30 мм) отмечалась при дозе лазерного облучения 20 Дж, концентрации препарата 0,7%, в присутствии 3% раствора перекиси водорода. Однако, хлорофиллсодержащий препарат, который не был активирован лазерным излучением в присутствии кислорода, не давал задержки зоны роста как у *Ps. aeruginosa*, так и у *S. aureus*. Таким образом, убедительно доказана высокая бактерицидная эффективность препарата, активированного вне бактериального субстрата.

На рисунках 19.1-19.4 представлены данные действия фотодинамической терапии на патогенные микроорганизмы. Полученный результат для золотистого стафилококка сравним с бактерицидным действием Цефепима, а в случае с антибиотикоустойчивым штаммом синегнойной палочки дает задержку роста до 25 мм в отличие от Цефепима.



Рисунок 19.1-*Ps. aeruginosa* и хлорофиллсодержащий препарат (активированный) 1-0.7%+3% H_2O_2 0.2Дж; 2-0.7%+3% H_2O_2 2Дж; 3-0.7%+3% H_2O_2 20Дж; 4-3% H_2O_2 ; 5-цефепим 30 мг; 6- стерильный диск.

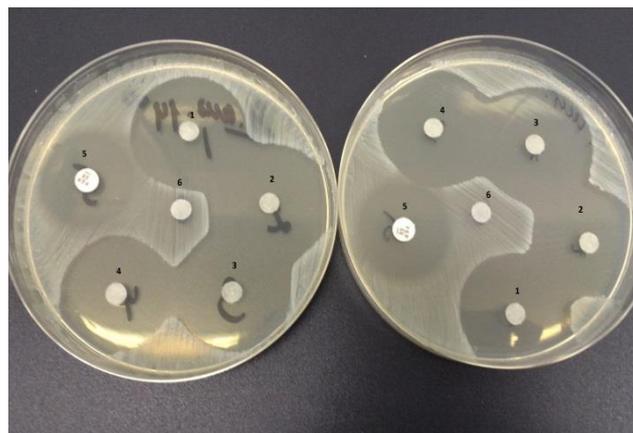


Рисунок 19.2-*S. aureus* и хлорофиллсодержащий препарат (активированный) 1-0.7%+3% H_2O_2 0.2Дж; 2-0.7%+3% H_2O_2 2Дж; 3-0.7%+3% H_2O_2 20Дж; 4-3% H_2O_2 ; 5-цефепим 30мг; 6- стерильный диск.

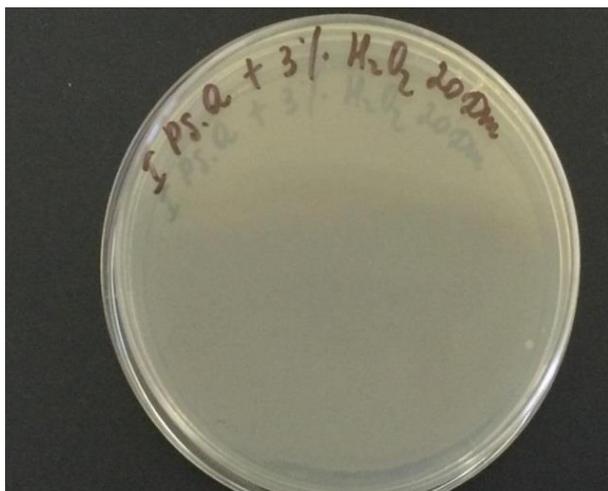


Рисунок 19.3-*Ps. aeruginosa* и хлорофиллсодержащий препарат с добавлением 3% H_2O_2 , активированный 20 Дж-роста не отмечается

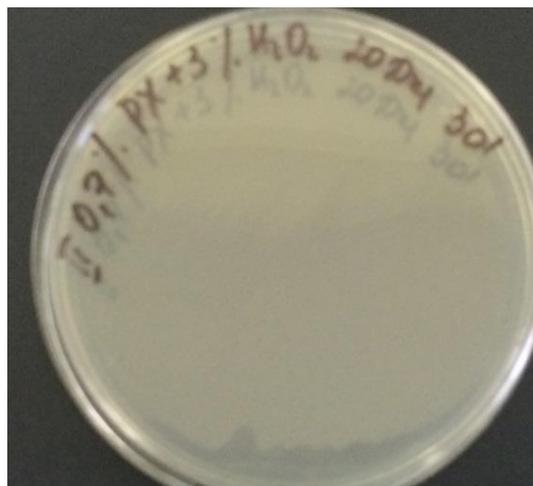


Рисунок 19.4- *Ps.aeruginosa* и хлорофиллсодержащий препарат с добавлением 3% H_2O_2 , активированный 20 Дж, через 30 минут-роста не отмечается

На основании проведения экспериментально-теоретического исследования установлено, что фотосенсибилизатор накапливается во всех образцах 100% ($n=80$), представленных в эксперименте. При этом наиболее выраженное фотодинамическое воздействие на бактериальную взвесь оказывает применение хлорофиллсодержащего препарата, активированного вне организма низкоинтенсивным лазерным излучением в дозе 20 Дж, концентрации препарата 0,7% в присутствии 3% раствора перекиси водорода. Таким образом, после активации фотосенсибилизатора светом синего или красного спектров, в присутствии доноров кислорода, образуются активные формы кислорода (АФК), особенно его синглетные радикалы. АФК воздействуют на все внутриклеточные компоненты, включая белки и ДНК, что приводит к некрозу или апоптозу. При этом, избирательно повреждаются только клетки, содержащие фотосенсибилизатор, а окружающие ткани остаются неповрежденными. Полученный результат подтвержден микробиологически. Наблюдаемый ингибирующий эффект действия активированного препарата на клетки микроорганизмов практически не зависит от его концентрации и по эффективности сравним с действием антибиотиков.

В результате проведенного исследования было подтверждено, что способность фотосенсибилизатора накапливаться в микробных клетках с реализацией эффекта летальной фотосенсибилизации бактерий может быть использована при лечении заболеваний и процессов микробной природы, в том числе при выявлении антибиотико-резистентных штаммов патогенных микроорганизмов.

3.3. Результаты исследования действия фотодинамической терапии с хлорофиллсодержащим препаратом на раневую поверхность

Результаты исследования показали, что на следующий после заражения животные 100% (n=36) в группах 1 (основная) и 3 (сравнения), которым инъекционно ввели суспензию микроорганизмов, предварительно выделенных из ротовой полости человека, по сравнению с интактными животными 100% (n=6) контрольной группы, стали проявлять симптомы общей интоксикации. У них изменился аппетит (некоторые грызуны полностью отказались от пищи), регистрировались вялые, апатичные движения, медлительность и слабая защитная реакция. Базальная температура в группе 1 (основной) и в группе 3 (сравнения) достигала фебрильных значений и составляла $39\pm 0,5^{\circ}\text{C}$, $38\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ соответственно.

Внешние признаки воспаления дебютировали с появления язвенных очагов различной локализации на пятые сутки эксперимента. Миграция инокулюма из первоначального места введения произошла у большей части животных в обеих группах 75% (n=27). Вероятными причинами можно назвать слабо выраженную подкожно-жировую клетчатку, отсутствие дермато-фасциальных перемычек и пути лимфатического оттока. Таким образом, у экспериментальных животных язвенные дефекты имели различную локализацию, преимущественно в области подкожно-жирового слоя наружной поверхности бедра. Во 2 группе-контрольная (заражению суспензией микроорганизмов не подверглись, принимали хлорофиллсодержащий препарат в виде питья) кожные покровы животных 100% (n=6) на протяжении всего эксперимента оставались интактными.

Лечение животных в группе 1 (основная) длительностью 21 день, начали проводить на 4-5 сутки с момента появления гнойно-некротических дефектов кожных покровов. В группе 3 (сравнения) у 100% грызунов (n=18) лечение не проводили и, в среднем через две недели, то есть на 17-19 сутки от заражения, очаги поражения большинства экспериментальных животных достигли максимального размера, раневые поверхности не прилегали друг к другу, расстояние между ними достигало 0,75 см. В это же время обозначились первые признаки фазы регенерации и пролиферации-раны стали очищаться от инфицированных, девитализированных тканей, появились слабовизуализируемые очаги грануляционной ткани.

Анализ результатов скорости образования рубцовой ткани показал, что в целом процессы репарации в основной группе 1 прорекали быстрее, чем в группе сравнения 3, кроме того-практически полное закрытие язвенных дефектов кожных покровов новообразованными тканями в основной группе произошло в среднем на 6 дней раньше, чем в группе сравнения 3. При этом на 15 день репаративный процесс был завершен у 10% (n=2) крыс основной группы, в группе сравнения 3 (n=18) выздоровевших животных не было; на 17 день в основной группе санированными были 30% (n=5) крыс, в группе сравнения 3 (n=18) выздоровевших животных не было; на 18-19 дни репаративный процесс был завершен у 90% (n=16) основной группы и 15% (n=3) крыс группы сравнения 3; на 20 день у 100% (n=18) животных основной группы язвенно-некротические дефекты закрылись рубцовой тканью, в группе 3 (сравнения) у 20% (n=4). На 22 день репаративный процесс в группе 3 (сравнения) завершился у 40% (n=7), на 24 день у 60% (n=11), на 25 день у 90% (n=16), на 26-35 дни у 100% (n=18). На заключительных фотографиях основной группы видно, что при изначально относительно небольшом язвенном дефекте рубец практически не заметен. При обширных гнойно-некротических очагах сформировавшийся рубец не деформирует кожные покровы и хорошо смещаем. Результаты представлены на рисунках 20.1-20.7.

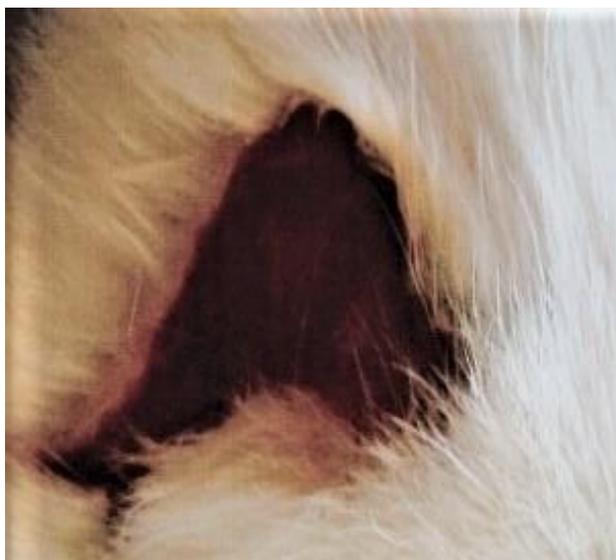


Рисунок 20.1- Группа 2. Контрольная. Без лечения-5день



Рисунок 20.2- Группа 1. Основная. С лечением-5день



Рисунок 20.3-Группа 1. Основная. С лечением-18 день

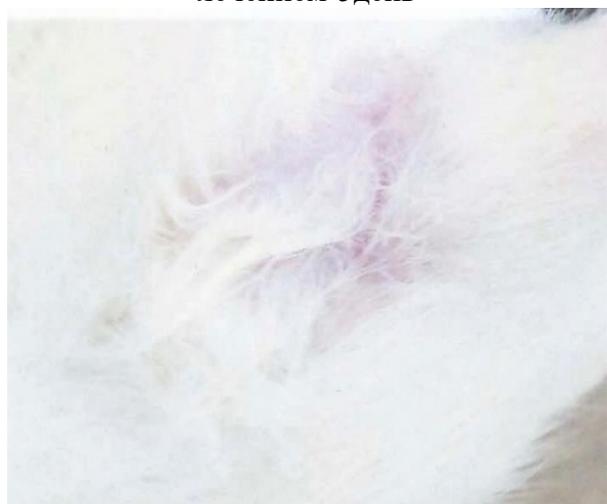


Рисунок 20.4-Группа 1. Основная. С лечением-20 день



Рисунок 20.5-Группа 2. Контрольная. Без лечения-25день



Рисунок 20.6-Группа 1. Основная. С лечением-25день



Рисунок 20.7-Группа 2. Контрольная. Без
лечения-32день

Наглядность результатов эффективного лечения гнойной раны препаратом ФДТ очевидна.

Результаты накопления препарата РХ в органах и тканях интактных крыс.

В эксперименте участвовали животные второй (контрольной) группы (n=6), которые перорально принимали водный раствор препарата РХ в концентрации 0,007%. Результаты эксперимента доказали, что на основании предложенной пробоподготовки реально возможна активация хлорофиллсодержащего фотосенсибилизатора вне биологического объекта. Данный результат позволил в последующем разработать методику объемной активированной ФДТ микрофлоры (впервые).

Анализ накопления препарата РХ, активированного вне организма, показал, что РХ максимально накапливается в костных структурах и паренхиматозных органах. Данные представлены на рисунке 21.



Рисунок 21-Усредненные показатели интегральной интенсивности флуоресценции тканей животных группы 2 (контрольной), нормированные на усредненные показатели интегральной флуоресценции животных группы 1 (основной) идентичных тканей.

Максимальное накопление препарата 2,25 единиц фиксировалось во внутреннем ухе у 100% животных ($n=6$), что 3,5 раза больше, чем в почках.

Результаты исследования показали, что накопление хлорофилл-содержащих препаратов в тканях и органах при приеме *per os* существенно зависит от концентрации использованного ФС, в то время как эффект его внутриклеточной (внутриканевой) активации практически не зависит от дозы препарата.

Резюмируя, можно отметить, что на основании проведенных экспериментально-теоретических исследований со смоделированной раной, установлено, что наиболее выраженное фотодинамическое воздействие на воспалительный очаг оказывает применение активированного вне организма

кислородом и низкоинтенсивным лазерным излучением (P выхода = 10 мВт, λ = 405 нм), хлорофиллсодержащего препарата. Количественный эффект гибели клеток микроорганизмов практически не зависит от дозы облучения светом препарата на этапе активации (свидетельствует о возможном триггерном механизме запуска ФДТ для данной технологии), но при этом накопление в тканях от дозы препарата зависит существенно. Последнее свидетельствует о том, что до активации, предлагаемой новационной ФДТ необходимо некоторое накопление не активированного препарата в объекте воздействия, что подтверждает эксперимент с крысами. При этом препарат эффективен применительно как к антибиотикочувствительным штаммам микроорганизмов, так и к антибиотикорезистентным.

Кроме этого показано, что для клинического применения рекомендуется проводить пробоподготовку препарата согласно представленному в главе протоколу и при его активации на длине волны лазерного излучения 405 нм (максимум поглощения энергии лазерного излучения).

Таким образом, впервые разработана и объективизирована высокая эффективность объемной, активированной вне организма фотодинамической терапии и обоснованы перспективы ее применения в комплексном лечении заболеваний и процессов микробной природы челюстно-лицевой области.

Глава 4. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

На основании представленных многофакторных экспериментальных исследований были получены данные, позволившие сформулировать клинический алгоритм апробации новационной методики ФДТ при активации хлорофиллсодержащего фотосенсибилизатора вне организма.

Клинические результаты были получены на основании обследования на базе кафедры пропедевтики стоматологических заболеваний МИ «Российский университет дружбы народов» и в ООО «Эстет Дент» г. Долгопрудный, 80 пациентов, из них 40 мужчин и 40 женщин. Пациенты были рандомно распределены на три группы: основная, группа сравнения 1, группа сравнения 2. В основной группе использовали активированный хлорофиллсодержащий препарат, в группе сравнения 1 применяли не активированный хлорофиллсодержащий препарат, в группе сравнения 2 хлорофиллсодержащий препарат не использовали.

Для оценки индекса чистоты протезов использовали индекс, разработанный С. Б. Улитовским и А. А. Леонтьевым в 2008 году, и модифицированный нами, с учётом специфики исследования [4, 92]. Выбранный индекс позволяет определить степень чистоты съёмных ортопедических конструкций в процессе эксплуатации и высчитывается в баллах. Однако его результаты интерпретируются на ряде субъективно выявляемых характеристик, таких как налет, видимый невооруженным глазом, и очаги пигментации. В целях объективизации и цифровизации результатов исследования, дополнительно использовали медицинскую технологию лазерной флюоресцентной диагностики (ЛФД). Для этого каждый из выявляемых объектов загрязнения протезной конструкции измеряли методом ЛФД до и после их гигиенической обработки, затем полученные результаты суммировали, усредняли и сравнивали по разнице показателей,

выраженной в процентах. То есть, чем больше этот процент, тем ниже уровень гигиенического состояния протезной конструкции и наоборот.

Для оценки гигиенического состояния полости рта по показателям ротовой жидкости использовали метод ЛФД и микробиологический метод определения ОМЧ.

Представленный комплексный методологический подход позволил, непосредственно в условиях контролируемого поликлинического приема и при домашнем гигиеническом уходе за протезными конструкциями объективно оценить эффективность новационной ФДТ на основе хлорофиллсодержащих препаратов активируемых вне организма. Интегральные результаты (суммы средних значений гигиенического состояния протезных конструкций и гигиенического состояния ротовой жидкости) гигиенического состояния полости рта представлены в таблицах 7 и 8.

Таблица 7-Интегральные результаты бактериологического исследования гигиенического состояния полости рта

группы	n	0 мес.		3 мес.		6 мес.	
		до чистки	после чистки	до чистки	после чистки	до чистки	после чистки
		ОМЧ КОЕ/мл	ОМЧ КОЕ/мл	ОМЧ КОЕ/мл	ОМЧ КОЕ/мл	ОМЧ КОЕ/мл	ОМЧ КОЕ/мл
ОСНОВНАЯ	40	4,0x10 ^{6*}	4,0x10 ^{5*}	5,0x10 ^{5*}	3,0x10 ^{4*}	2,0x10 ^{4*}	2,0x10 ^{3*}
СРАВНЕНИЯ 1	20	6,0x10 ⁶	5,0x10 ^{5**}	5,0x10 ^{6**}	5,0x10 ^{5**}	2,0x10 ^{6**}	7,0x10 ^{4**}
СРАВНЕНИЯ 2	20	6,0x10 ⁶	2,0x10 ⁵	9,0x10 ⁵	1,8x10 ⁵	9,0x10 ⁵	4,0x10 ⁴

Примечание *- Различия между основной группой и 1,2 группами сравнения статистически значимы при $p < 0,017$

** - Различия между 1 и 2 группами сравнения статистически значимы при $p < 0,017$, кроме 1 показателя до чистки зубов сразу

В условиях клинического наблюдения из $n=40$ (100%) пациентов основной группы у $n=38$ (95%) испытуемых гигиенические мероприятия

полости рта по разработанному алгоритму с использованием активированных хлорофиллсодержащих препаратов в течение 6 месяцев, способствовали уменьшению концентрации микробной обсемененности ротовой жидкости и зубных протезов в 200 раз. Значения ОМЧ сразу после чистки из n=40 (100%) пациентов основной группы у n=38 пациентов (95%) уменьшилось в 10 раз. Через 3 месяца из n=40 (100%) пациентов основной группы у n=37 пациентов (92%) ОМЧ до чистки уменьшилось в 8 раз, через 6 месяцев в основной группе n=38 (95%) ОМЧ снизились в 200 раз, что говорит об устойчивой положительной динамике и достоверности результатов. Различия внутри основной группы статистически значимы ($p > 0,05$).

В тоже время за три месяца в группе сравнения 1 из n=20 (100%) пациентов, использовавших не активированный хлорофиллсодержащий препарат, у n=18 (90%) испытуемых показатели ОМЧ после чистки не изменились. В группе сравнения 2 из n=20 (100%) у n=17 (85%) испытуемых ОМЧ после чистки уменьшилось в 1 раз. За 6 месяцев концентрация микрофлоры после чистки в группе сравнения 1 из n=20 (100%) в динамике снизилась в 7,1 раз у n=19 (95%) испытуемых, в группе сравнения 2 из n=20 (100%) пациентов у n=18 (90%) испытуемых в 5 раз, в то время как в основной группе n=40 (100%) этот показатель уменьшился в 200 раз. Различия между основной группой и группой сравнения 1 статистически значимы ($p < 0,017$). Различия между основной группой и группой сравнения 2 статистически значимы ($p < 0,017$). Различия между группами сравнения статистически значимы ($p < 0,017$), кроме 1 показателя в нулевой точке до чистки.

Таблица 8 - Интегральные результаты ЛФ-диагностики гигиенического состояния полости рта

группы	n	0 мес.		3 мес.		6 мес.	
		до чистки	после чистки	до чистки	после чистки	до чистки	После чистки
		ЛФД отн.ед	ЛФД отн.ед	ЛФД отн.ед	ЛФД отн.ед	ЛФД отн.ед	ЛФД отн.ед
ОСНОВНАЯ	40	24,5	18,1	15,9	15,1	9,1	6,8

СРАВНЕНИЯ 1	20	24,6	20,4	24,5	15,9	22,2	15,9
СРАВНЕНИЯ 2	20	24,6	14,2*	15,2*	14,1*	15,1*	13,9*

Примечание * - До чистки, на 0 этапе, между 1, 2, 3 группами различий нет, $p > 0,017$. Через 0 месяцев после чистки, 3 месяца и 6 месяцев до и после чистки зубов различия статистически значимы при попарном сравнении показателей, $p < 0,017$.

Сводные данные, иллюстрирующие динамику клинических показателей ЛФ-диагностики гигиенического состояния полости рта, представлены в таблице 8. Результаты ЛФД основной группы $n=40$ (100%) в начале эксперимента сразу после чистки позволили сделать вывод, что у $n=32$ (80%) пациентов значения снизились в 1,3 раза по сравнению с результатами до чистки, через 3 месяца у $n=38$ (95%) пациентов основной группы отмечалось снижение показателя в 1,5 раза, а через 6 месяцев в основной группе у $n=39$ пациентов (97,5%) уменьшилась в 2,6 раза. Результаты динамического наблюдения в течение 6 месяцев показали, что статистически значимой разницы ($p=0,814$) гигиенического состояния полости рта до чистки в группах основной и сравнения 1 (с использованием не активированного препарата) не наблюдалось.

В группе сравнения 1 из $n=20$ (100%) у всех пациентов значения ЛФД в начале эксперимента сразу после чистки уменьшились в 1,2 раза, через 3 месяца у $n=18$ (90%) уменьшилась в 1,3 раза, а через 6 месяцев результаты гигиенического состояния не изменились.

Анализ результатов ЛФД гигиенического состояния полости рта через 3 и 6 месяцев в группе сравнения 2, показал отсутствие положительной динамики.

Оценка гигиенического состояния полости рта между группами сравнения показала, что через 6 месяцев статистически значимых различий до чистки между группами сравнения 1 и 2 не установлено ($p=0,6849$), после чистки различия статистически значимы ($p < 0,017$).

Таблица 9 -Интегральные результаты обследования гигиенического состояния протезных конструкций и полости рта пациентов

Группы	n	0 мес.		3 мес.		6 мес.	
		до чистки гигиенический индекс %.	после чистки гигиенический индекс %.	до чистки гигиенический индекс %.	после чистки гигиенический индекс %.	до чистки гигиенический индекс %.	после чистки гигиенический индекс %.
ОСНОВНАЯ	40	55,0%	46,0%	47,0%	31,0%	30,0%	20,0%
СРАВНЕНИЯ 1	20	57,0%	47,8%	55,0%	47,0%	51,0%	45,9%
СРАВНЕНИЯ 2	20	56,0%	45,0%	50,0%	45,0%	51,0%	45,0%

В ходе эксперимента зарегистрировано улучшение навыков гигиены испытуемых. Так, через 3 месяца после начала исследования из n=40 (100%) пациентов основной группы у n=38 (95%) пациентов ОМЧ до чистки уменьшилось в 8 раз, через 6 месяцев в 200 раз, а по показателю ЛФД в 1,5 и 2,7 раза, соответственно (таблицы 7,8). Следует отметить, что положительная динамика выработки устойчивых навыков гигиены отмечалась и в группах сравнения 1 (с использованием не активированного препарата) и 2 (без использования хлорофиллсодержащего препарата). ОМЧ до чистки в группе сравнения 1 у n=19 (98%) пациентов за 6 месяцев клинического наблюдения снизилось в 3 раза, а результаты ЛФД показали снижение в 2,4 раза. В то время, как в группе сравнения 2 у n=18 (90%) пациентов показатели распределились следующим образом: ОМЧ за 6 месяцев уменьшилось в 6,6 раз, показатели ЛФД снизились в 1,6 раза, соответственно. В группе сравнения 2 показатели практически не изменялись в течение всего срока наблюдения.

Результаты показали, что за 6 месяцев наблюдения в основной группе гигиенический индекс до чистки у n=39 (97,5%) пациентов повысился в 1,8 раза, гигиенический индекс после чистки в основной группе у n=37 (92,5%) испытуемых улучшился в 2,3 раза. Статистически значимые различия установлены при сравнении исходных данных в начале эксперимента и 6 месяцев: до чистки ($p=0,0265$), после чистки ($p=0,0156$).

Уровень гигиенического состояния полости рта в группах сравнения 1 (с использованием не активированного новационного ФДТ препарата) и 2 (без использования хлорофиллсодержащего препарата) практически не изменились. Отмечались некоторые умеренно выраженные их улучшения после применения зубной пасты, которые нивелировались при динамическом наблюдении. Статистически значимых различий внутри групп сравнения нет ($p>0,05$). Данные представлены в таблице 9.

Установлены статистически значимые различия через 6 месяцев после чистки (рисунок 22) между основной и группой сравнения 1 ($p=0,0408$), между основной и группой сравнения 2 ($p=0,0474$).

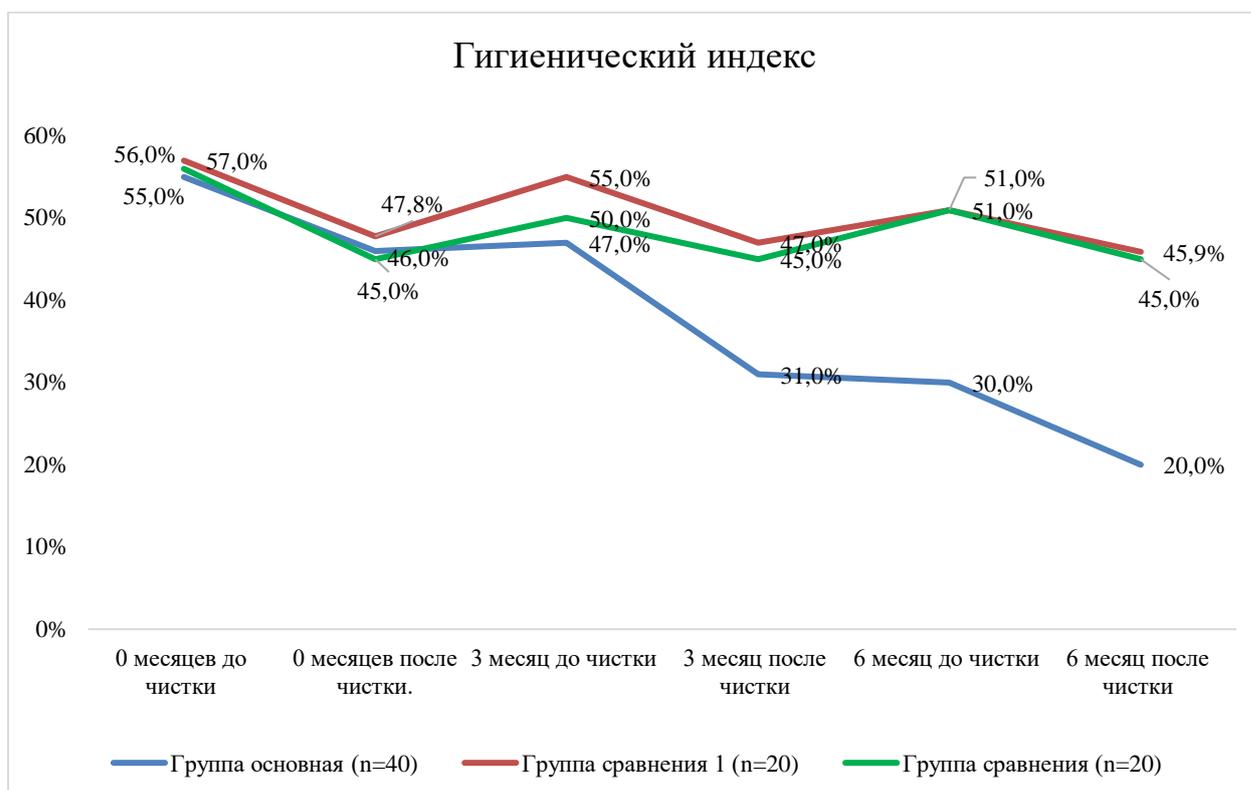


Рисунок 22- Статистические различия индекса гигиены у экспериментируемых групп

Визуальная разница состояния протезных конструкций пациентов основной группы представлена на фотографиях (рисунки 23.1, 23.2).



Рисунок 23.1-Состояние ортопедической конструкции до применения разработанного алгоритма



Рисунок 23.2-Состояние ортопедической конструкции через 6 месяцев после применения разработанного алгоритма

Таким образом, можно считать, что следование алгоритму клинического применения, активированного хлорофиллсодержащего препарата, способствует улучшению гигиенического состояния полости рта и протезных конструкций.

Оценка состояния слизистой оболочки рта у испытуемых основной группы $n=40$ (100%) на протяжении 6 месяцев эксперимента показала, что, слизистая оболочка рта представляла собой бледно-розовую, гладкую поверхность без очагов гиперемии, отеков, боли или дискомфорта. Из $n=20$ (100%) пациентов группы сравнения 1 у $n=4$ (20%) и $n=5$ (25%) группы сравнения 2 $n=20$ (100%), (таблица 10), в течение 6 месяцев регистрировали следующие субъективные симптомы: дисгевзия, жжение, зуд, боли и дискомфорт при приеме пищи, которые сочетались с такими клиническими

признаками воспаления слизистой рта, как эритема и отеки различной локализации и распространенности.

Таблица 10 - Наличие воспалительных заболеваний СОР (слизистой оболочки рта) (абс., %)

Группы	n	Обнаружены воспалительные заболевания слизистой оболочки:	
		Нет	Да
Основная	40	40 (100%)*	0 (0,0%)
Сравнения 1	20	16 (80%)	4 (20%)
Сравнения 2	20	15 (75%)	5 (25%)

Примечание * - различия между основной группой и группой сравнения 1 статистически значимы при $p=0,0052$; различия между основной и группой сравнения 2 статистически значимы при $p=0,0019$; между группами сравнения различий нет при $p=0,7411$

В таблицах 11.1-11.3 приведены данные, демонстрирующие различия субъективных ощущений (симптомов) пациентов основной группы и групп сравнения 1 и 2 на протяжении 6 месяцев эксперимента. Как видно из таблиц регистрировались статистически значимые различия между данными о состоянии СОР и жалобами пациентов основной группы, и группой сравнения 1 ($p=0,0052$), а также между основной группой и группой сравнения 2 ($p=0,0019$), в то время как статистически значимых различий между группами сравнения нет ($p=0,7411$).

Таблица 11.1 - Симптомы боли и дискомфорта (абс., %)

Группы	n	Симптомы боли и дискомфорта	
		Нет	Да
Основная	40	40 (100%)*	0 (0,0%)
Сравнения 1	20	16 (80%)	4 (20%)
Сравнения 2	20	15 (75%)	5 (25%)

Примечание * - различия между основной группой и группой сравнения 1 статистически значимы при $p=0,0052$; различия между основной и группой сравнения 2 статистически значимы при $p=0,0019$; между группами сравнения различий нет при $p=0,7411$

Таблица 11.2- Наличие симптома дисгевзии (абс., %)

Группы	n	Наличие симптома дисгевзии	
		Нет	Да
Основная	40	40 (100%)*	0 (0,0%)
Сравнения 1	20	16 (80%)	4 (20%)
Сравнения 2	20	15 (75%)	5 (25%)

Примечание * - различия между основной группой и группой сравнения 1 статистически значимы при $p=0,0052$; различия между основной и группой сравнения 2 статистически значимы при $p=0,0019$; между группами сравнения различий нет при $p=0,7411$

Таблица 11.3 - Наличие у пациентов жалоб на жжение и зуд слизистой оболочки (абс., %)

Группы	n	Наличие у пациентов жалоб на жжение и зуд слизистой оболочки	
		Нет	Да
Основная	40	40 (100%)*	0 (0,0%)
Сравнения 1	20	16 (80%)	4 (20%)
Сравнения 2	20	15 (75%)	5 (25%)

Примечание * - различия между основной группой и группой сравнения 1 статистически значимы при $p=0,0052$; различия между основной и группой сравнения 2 статистически значимы при $p=0,0019$; между группами сравнения различий нет при $p=0,7411$

Из $n=20$ (100%) пациентов у $n=3$ (15%) пациентов группы сравнения 2 на твердом небе и слизистой красной каймы губ визуализировались единичные гладкие элементы поражения, белого цвета с ровными краями, до 0,5 см в диаметре, болезненные при пальпации; признаки травмы слизистой оболочки рта при этом отсутствовали. Пациенты основной группы 100% ($n=40$) имели отрицательные пероральные мазки на грибы рода *Candida*, в то время как мазки, взятые с разных участков слизистой у испытуемых с жалобами и клиническими проявлениями воспаления слизистой рта групп сравнения 1 и 2 ($n=9$), имели положительный результат (таблица 11.4). Таким образом, наблюдались значимые статистические различия ($p=0,0152$) между пациентами, использующими активированный хлорофиллсодержащий препарат, и теми, кто проводил гигиеническую обработку протезных конструкций без такового.

На основании жалоб, анамнеза заболеваний, данных объективного обследования, клинического наблюдения и результатов лабораторных исследований из $n=20$ (100%) испытуемых в группе сравнения 1 и $n=4$ (20%) и $n=5$ (25%) пациентов группы сравнения 2 установлены диагнозы: К12.1 Другие формы стоматита и К12.3 Оральный мукозит.

Таблица 11.4- Наличие элементов поражения СОР (абс., %)

Группы	n	Наличие элементов поражения СОР	
		Нет	Да
Основная	40	40 (100%)*	0 (0,0%)
Сравнения 1	20	20 (100%)	0 (0,0%)
Сравнения 2	20	17 (85%)	3 (15%)

Примечание * - различий между основной группой и группой сравнения 1 нет (элементов поражения нет в 100% случаев, $p=1,0$); различия между основной и группой сравнения 2 статистически значимы при $p=0,0152$; между группами сравнения различий нет при $p=0,0813$

Установлено статическое значимое различие ($p=0,0052$) между результатами основной группы и группой сравнения 1 и между основной группы и группой сравнения 2 ($p=0,0019$. Статистически значимых различий ($p=0,7411$) между группами сравнения 1 и 2 не установлено.

Результаты анкетирования врачей-экспертов, наблюдавших за проведением эксперимента, представлены в таблице 12.

Таблица 12-Анкетированная оценка результатов сравнительной эффективности применения модифицированной триггерно запускаемой вне организма ФДТ и традиционных клинических методов в исследованиях независимыми экспертами ($n=20$)

Параметры оценки	Клинические методы исследования	Спектральные методы исследования

Выявление микробного фактора и оценка его концентрации.	-	+++
Оценка. Объективность- субъективность	+ (субъективная оценка)	+++ (цифровая технология, объективная оценка)
Удобство работы и наглядность представления результатов	- +	+++
Оценка гигиенического состояния протезной конструкции и полости рта	+ Ad oculum с ошибкой до 200% при оценке разными врачами	+++

При суммарной оценке всех показателей выявление микробного фактора и его концентрации по мнению n=20 (100%) экспертов целесообразнее проводить спектральными методами исследования. Значительно большую объективность спектральных методов по сравнению с клиническими отмечают n=19 (95%) врачей, включая удобство работы и наглядность представления результатов для врача-стоматолога и пациента.

Таким образом, на основе экспериментальных исследований, клинических наблюдений и независимых экспертных наблюдений показана высокая, достоверно реализуемая антимикробная эффективность хлорофиллсодержащего препарата, активируемого для ФДТ вне организма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Заболевания микробной природы по-прежнему занимают лидирующие позиции среди нозологий челюстно-лицевой области и являются одной из наиболее актуальных проблем стоматологии в России. Несмотря на то, что микроорганизмы, с присутствием которых связано развитие воспаления, хорошо изучены, выделены этиологические факторы и определено некоторое количество патогенетических механизмов, исследования в данном направлении постоянно продолжаются [17, 31, 34, 62, 80]. В последние годы благодаря применению новых научных подходов и методов удалось добиться существенных успехов в лечении и профилактике воспалительных заболеваний. В настоящее время получение результатов бактериологического исследования из патологического очага проводится при помощи стандартных и наиболее доступных методов, таких как, посев на обогатительные и элективные среды, выделение чистых культур, их фенотипическая, биохимическая идентификация и определение профиля их чувствительности к антимикробным препаратам. Этот процесс происходит значительно медленнее, чем адаптивная модификация микроорганизмов в очаге инфекции и скорость развития патологического процесса, что приводит к несопоставимости результатов исследования и текущего состояния патологического процесса. Наиболее распространенными средствами борьбы с инфекционными заболеваниями бактериальной природы являются антибиотики, а бактериологический метод-основным в выделении, идентификации микроорганизмов и оценке эффективности лечения. Но они обладают рядом недостатков, таких как формирование резистентности микроорганизмов, влияние на представителей нормальной микрофлоры, вызывают токсические реакции, дисбактериозы и многое другое [67, 93, 94]. Все вышесказанное в значительной мере обесценивает результаты бактериологического исследования, как метода клинической лабораторной диагностики и вынуждает клиницистов-стоматологов прибегать к

эмпирической специфической и неспецифической антимикробной терапии [20, 27, 54, 56]. Однако, принципы доказательной медицины указывают на то, что лечебные средства должны быть совместимы с макроорганизмом, иметь минимальное количество противопоказаний, быть эффективными, обладать высокой чувствительностью и не вызывать привыкания микроорганизмов к их воздействию. Поэтому ведется активный поиск таких методов и препаратов, которые могли бы отвечать современным требованиям. В этой связи противомикробная фотодинамическая терапия (противомикробная ФДТ) рассматривается как многообещающий альтернативный подход к резистентным инфекциям и имеет дополнительное преимущество, заключающееся в том, что она не приводит к селекции антибиотикорезистентных штаммов, обладает высокой эффективностью и минимальной инвазивностью.

В процессе своей жизнедеятельности аэробные бактерии выделяют порфирины (продукты метаболизма дыхания), а анаэробные, наоборот, используют их в процессе своей жизнедеятельности как фактор роста. В условиях анаэробного метаболизма увеличивается потребление и накопление порфиринов. На этой основе разработаны флюоресцентные методы экспресс диагностики аэробной и анаэробной инфекции, определение ее концентрации в очаге воспаления, методы выбора антимикробных препаратов и оценка их эффективности непосредственно в клинических условиях [1].

Целью настоящей работы явились обоснование применения метода фотодинамической терапии для повышения эффективности профилактики и лечения воспалительных заболеваний полости рта у пациентов с полной потерей зубов, использующих съемные ортопедические конструкции. В соответствии с данными целями были поставлены задачи, которые заключались в проведении подбора оптимальных параметров для проведения ФДТ, изучение эффективности метода на микроорганизмах, имеющих резистентность к современным антибиотикам, исследование воздействия ФДТ с хлорофиллсодержащим препаратом, активированным вне организма на

гнойную рану, и, наконец, клиническая апробация метода, где в качестве объекта исследования были выбраны микробосодержащие съёмные протезные конструкции.

Подбор оптимальных параметров ФДТ проводили в отделе спектроскопии ФГБУН Института физики твёрдого тела им. Ю.А. Осипяна РАН и начинали с выбора хлорофиллсодержащего препарата с наибольшей интенсивностью флюоресценции.

Подбор препаратов проводили из следующих образцов: Хлорофиллин-ОЗ (1), Фотостим (2), Хлорофиллипт (3), Хлорофиллонг (4), Хлорофилл (5), Now жидкий хлорофилл (6), Радахлорин (7). Установлено, что необходимыми свойствами обладали препараты РХ2 и РХ7. Нами установлено, что для возбуждения молекулы фотосенсибилизатора на аппарате «Инспектр-М» наиболее эффективными являются волны длиной 405 нм мощностью 2,5 мВт, временем экспозиции 50 мс и 637 нм мощностью 170 мВт, временем экспозиции 100 мс. В случае активации препарата в пробирке наилучшее возбуждение достигается при облучении длиной волны 405 нм.

Установлено, что продувание через хлорофиллсодержащий препарат только кислорода не изменяет интенсивности флюоресценции, то есть не запускает фотодинамический процесс. Для активации ФДП требуется одномоментное воздействие кислородом и лазерным излучением на указанную систему. В таком случае в динамике наблюдается ундулирующее изменение интенсивности флюоресценции системы, то есть ее активности как объекта ФДТ.

Оценку эффективности применения хлорофиллсодержащего препарата на антибиотикоустойчивые штаммы *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* проводили диско-диффузионным методом (ДДМ). Изучали влияние хлорофиллсодержащего препарата в концентрации 0,007%, 0,07%, 0,7%. В качестве контроля использовали антибиотик Цефепима.

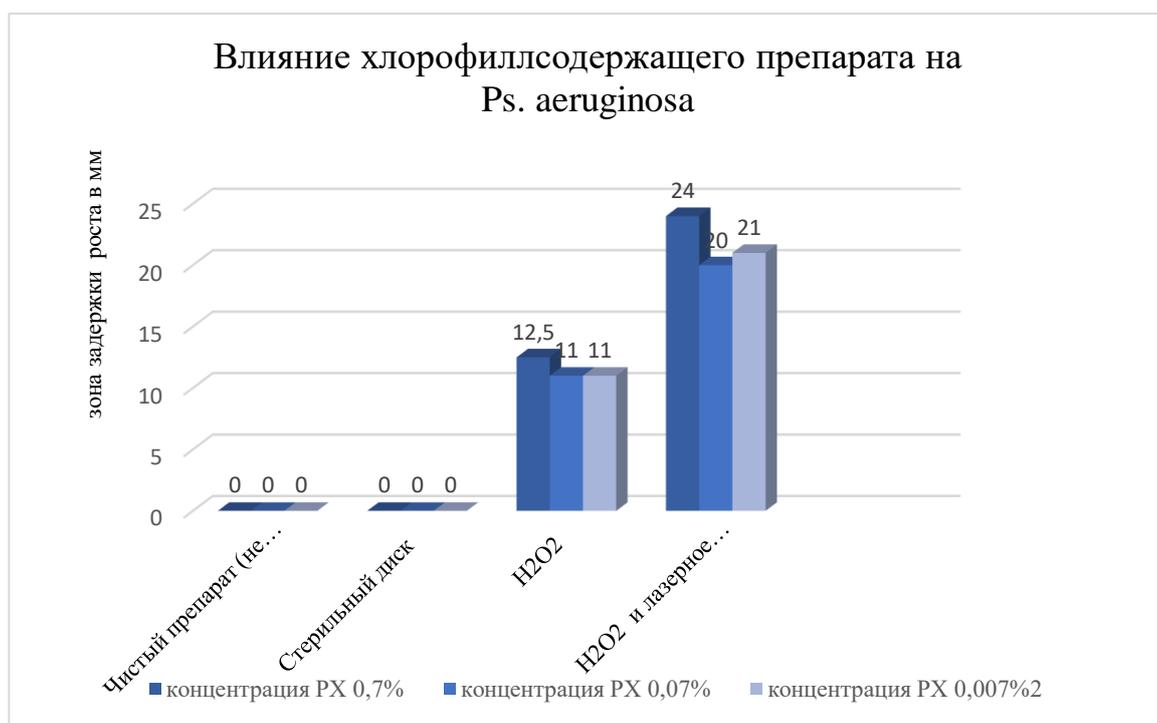


Рисунок 24-Влияние хлорофиллсодержащего препарата на Ps. Aeruginosa

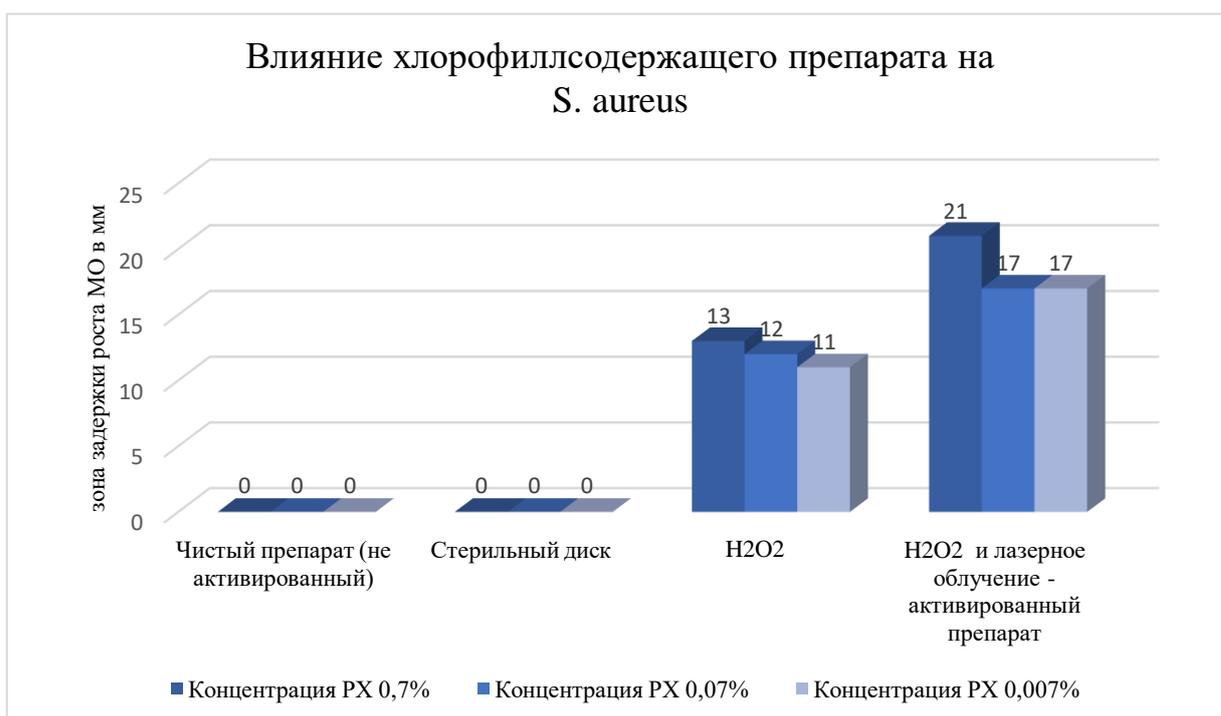


Рисунок 25-Влияние хлорофиллсодержащего препарата на S. Aureus

Полученные результаты дали основание сделать вывод о том, что наиболее эффективная концентрация хлорофиллсодержащего препарата составляет 0,7%. При такой концентрации РХ при добавлении кислородсодержащего препарата и активации лазерным излучением, даже для

Ps. Aeruginosa (нечувствителен к Цефепиму) задержка роста в среднем достигала 24 мм. Таким образом, в эксперименте показана высокая эффективность новационной ФДТ как антимикробного фактора, не уступающего современным антибиотикам.

Экспериментальное исследование действия препарата на гнойную рану проводили на базе вивария ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) на 42 половозрелых беспородных белых крысах линии Wistar (n=42), массой 250 \pm 25 граммов. Одобрение Комитета по Этике ФГАОУ ВО РУДН МИ (протокол № 1 от 22 сентября 2022 года). Животных распределили на три группы. В условиях стерильности крысам из групп 1 и 3 моделировали воспаление путем подкожной инъекции 0,5 мл суспензии культуры микроорганизмов, предварительно выделенных из ротовой полости человека (10^{7-8} КОЕ/мл по стандарту мутности McFarland). Животные 2-й группы принимали препарат в виде питья в концентрации 0,007%. Изучали динамику течения и заживления воспалительного процесса, проводя осмотр раневой поверхности в течении 25 суток. Лечение в первой (основной) группе, продолжительностью 21 сутки, начали проводить на 4-5 день.

На 15 сутки после начала эксперимента у животных в первой группе, где применялось лечение гнойных ран наружной поверхности бедра активированным хлорофиллсодержащим препаратом в концентрации 0,7% наружно, стали отмечать выраженные регенераторные процессы. Зоны раневого дефекта активно эпителизировались, формировавшийся рубец не деформировал кожные покровы. Изменение веса и температуры тела белых крыс в разные промежутки эксперимента по отношению к контрольной группе экспериментальных животных не было отмечено. Репаративные процессы у крыс в основной группе (1) были завершены на 20 день, что в среднем на 6 дней раньше, чем в группе сравнения (3), при этом рубцы были или практически незаметны, или хорошо смещаемы и не деформировали окружающие ткани (рисунок 26).

В результате эксперимента, при лечении разработанным методом гнойно-некротических ран у крыс, объективно и достоверно показана и обоснована методика применения хлорофиллсодержащих препаратов при их активации вне организма.

После выведения животных 2 группы из эксперимента и забора материала методом ЛФД измеряли интенсивность флюоресценции и нормировали ее на таковую для тест-объектов, не принимавших препарат. Результаты исследования показали, что максимальное накопление хлорофиллсодержащих препаратов, активированных вне организма, отмечается в костных структурах и паренхиматозных органах. Кроме того, при приеме *per os* накопление существенно зависит от концентрации использованного ФС, в то время как эффект его внутриклеточной (внутриканевой) активации практически не зависит от дозы препарата.



Рисунок 26-Сроки заживления раневой поверхности у крыс групп основной и сравнения

В клинических исследованиях гигиенического состояния полости рта принимали участие 80 пациентов в возрасте от 50 до 70 лет, предварительно

оформившие письменное информационное согласие на исследование. В эксперименте были использованы клинические (опрос, осмотр, анкетирование пациентов), микробиологические методы диагностики, а также медицинская технология ЛФД для объективизации результатов. Все пациенты, с учетом критериев включения и не включения, были разделены на 3 группы: основная, группа сравнения 1, группа сравнения 2. В основную группу вошли $n=40$ (100%) пациентов. Контрольную группу разделили на группу сравнения 1, куда вошли $n=20$ (100%) пациентов и группа сравнения 2, которую представляли также $n=20$ (100%) испытуемых.

Испытуемым проводился инструктаж о сути методики и способе ее применения. Каждому пациенту основной и группы сравнения 1 выдавали зубную пасту и зубную щетку. Испытуемые основной группы получали по 100 мл активированного препарата, группы сравнения 1 - не активированного.

Затем проводили предварительные экспериментальные исследования согласно предложенной методике гигиенического ухода за полными съемными протезными конструкциями с использованием хлорофиллсодержащего препарата.

Проведенный анализ гигиенического состояния полости рта показал, что в основной группе обсемененность протезных конструкций и ротовой жидкости после чистки за 6 месяцев клинических наблюдений уменьшилась в 200 раз, в то время как результаты полугодичного динамического наблюдения в группах сравнения 1 и 2 показали снижение в 7,1 и 5,0 раз соответственно. Статистически значимые различия выявлены между основной группой и группой сравнения 1 ($p < 0,017$), основной группой и группой сравнения 2 ($p < 0,017$), между группами сравнения 1 и 2 ($p < 0,017$). Таким образом, результаты показывают антимикробную эффективность разработанного алгоритма гигиенической обработки протезных конструкций и гигиены полости рта. Методика способствует формированию устойчивых навыков гигиены в основной группе испытуемых. За 6 месяцев динамического наблюдения уровень гигиены вырос в 1,8 раза, что подтверждено

статистически при сравнении данных в нулевой точке эксперимента и через 6 месяцев: до чистки ($p=0,0265$), после чистки ($p=0,0156$).

Все результаты объективно подтверждены бактериологически и ЛФД-методом (рисунки 27-28).

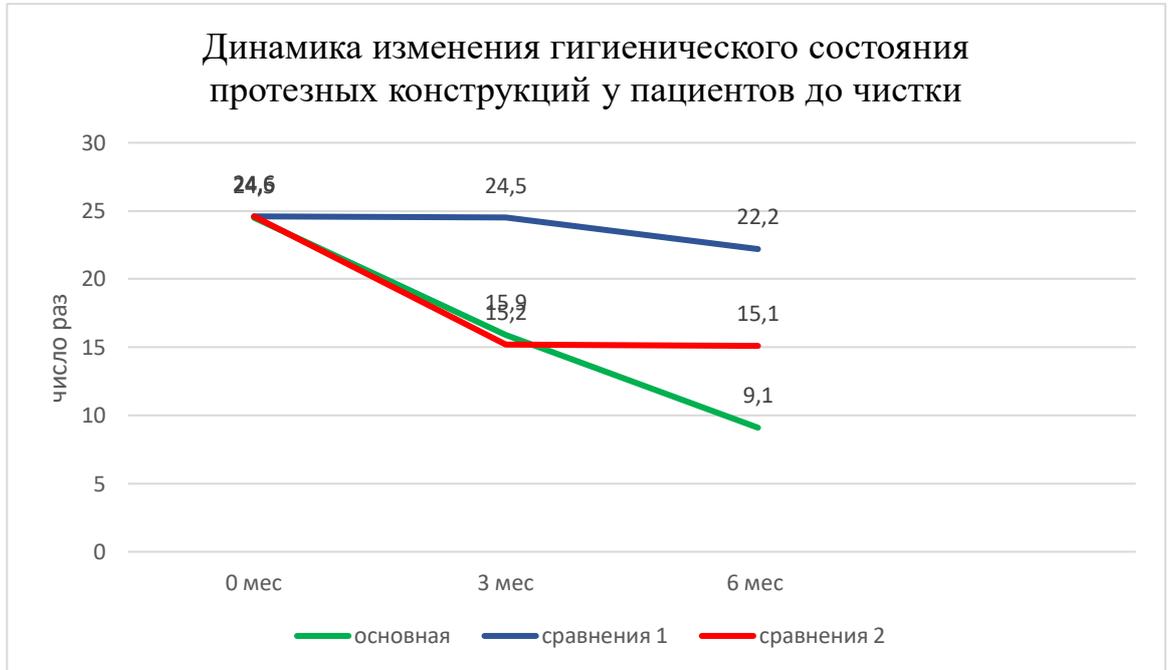


Рисунок 27-Динамика изменения гигиенического состояния протезных конструкций у пациентов до чистки

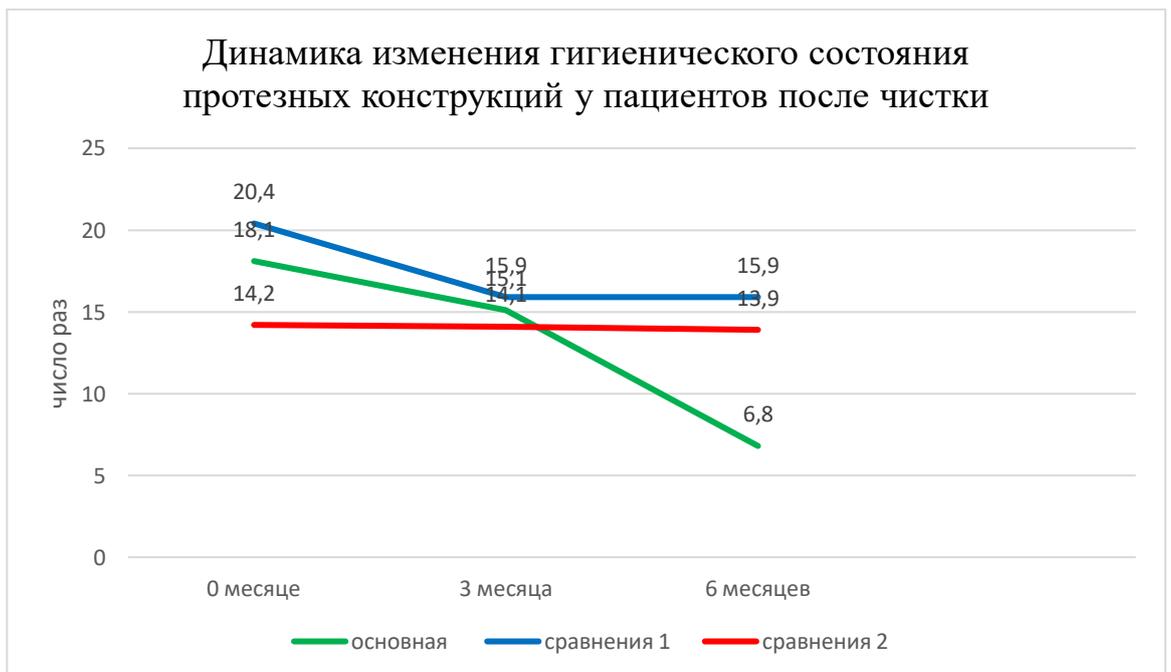


Рисунок 28-Динамика изменения гигиенического состояния протезных конструкций у пациентов после чистки

По результатам осмотра полости рта, анкетирования пациентов, данных динамического наблюдения, установлено, что предъявляли жалобы на дисгевзию, жжение, зуд, боли и дискомфорт при приеме пищи, которые сочетались с такими клиническими признаками воспаления слизистой рта, как эритема и отеки различной локализации и распространенности (рисунок 7), в группе сравнения 1 (20%) пациента, в группе сравнения 2 $n=5$ (25%). В тоже время у $n=3$ (15%) пациентов группы сравнения 2 отмечали единичные элементы поражения слизистой оболочки рта (K12.1 Другие формы стоматита и K12.3 Оральный мукозит). Слизистая оболочка рта (СОР) у 100% пациентов основной группы на всем протяжении эксперимента оставалась интактной. В результате статистической обработки данных было выявлено, что гигиеническое состояние полости рта влияет на частоту встречаемости воспалительных заболеваний СОР. Применение разработанного алгоритма в течение 6 месяцев предупреждает развитие воспалительных заболеваний слизистой оболочки рта, что подтверждено статистически. Различия между основной группой и группой сравнения 1 статистически значимы ($p=0,0052$), различия между основной и группой сравнения 2 статистически значимы ($p=0,0019$), между группами сравнения 1 и 2 различия не отмечались ($p=0,7411$).

В связи с этим можно полагать, что разработанная концепция одномоментного комплексного применения фотодинамической терапии, как метода лечения и лазерно-флуоресцентной спектроскопии, как средства диагностики, является эффективной, доступной и современной медицинской технологией. При этом в качестве поставщика молекул фотосенсибилизатора можно использовать хлорофиллсодержащие препараты, активированные лазерным излучением как экстра-, так и интракорпорально в присутствии кислорода.

Разработанная концепция и методика названа нами новационной ФДТ (патент № RU 2700407 C1 2019 г.). Лазерное излучение в диапазоне от 405 до 637 нм, фотосенсибилизатор (хлорофиллсодержащий препарат) и

кислородсодержащий препарат (кислород, озон, перекись водорода, оксид азота и др.) при применении в комплексе обеспечивают повышение эффективности объемной активируемой вне и внутри организма ФДТ заболеваний и процессов микробной природы в стоматологической клинике. Изучение методик ФТД является перспективным направлением в стоматологии и требует дальнейшего изучения.

ВЫВОДЫ

1. Результаты подбора фотосенсибилизатора из 7 предложенных образцов, показали, что наибольший сигнал флуоресценции и лучший эффект от возбуждения лазерным излучением дают хлорофиллсодержащие препараты Фотостим (РХ2) и Радахлорин (РХ7). На аппарате «Инспектр-М» наиболее эффективными являются волны длиной 405 нм мощностью 2,5 мВт, временем экспозиции 50 мс и 637 нм мощностью 170 мВт, временем экспозиции 100 мс. В случае активации препарата в пробирке наилучшее возбуждение достигается при облучении длиной волны 405 нм. Продувание кислородом хлорофиллсодержащего препарата без дополнительного облучения лазерным светом, не вызывает изменения сигнала флуоресценции.

2. Наибольшая зона задержки роста (20-30 мм) антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов *S. aureus* и *Ps. Aeruginosa* регистрируется при использовании хлорофиллсодержащего препарата в концентрации 0,7% в присутствии 3% H_2O_2 , эффект сравним с бактерицидным действием антибиотика Цефипема.

3. В ходе реализации эксперимента с крысами установлено, что сроки заживления гнойно-воспалительной раны, смоделированной путем инъекционного введения смешанной микрофлоры из полости рта человека и пролеченной на основе ежедневных аппликаций активированным вне организма хлорофиллсодержащим препаратом, сокращались на 6-7 дней.

Методом ЛФД объективно показано, что хлорофиллсодержащий препарат при его оральном применении проникает во все органы и ткани, активно накапливается в паренхиматозных органах и костной ткани. Концентрация препарата и выраженность его накопления находятся в прямой зависимости.

4. Разработан алгоритм клинического применения лечебно-диагностической медицинской технологии, для профилактики и лечения пациентов с воспалительными заболеваниями полости рта и подтверждена

высокая антимикробная эффективность разработанной лечебно-диагностической медицинской технологии в условиях поликлинического приема. Применение предложенного алгоритма однократно снижает обсемененность полости рта и протезных конструкций микроорганизмами в 10 раз у 95% пациентов. Его использование в течение 6 месяцев предупреждает развитие воспалительных заболеваний слизистой оболочки рта у 100% испытуемых ($p=0,0052$), ($p=0,0019$), снижает обсемененность микроорганизмами полости рта и протезных конструкций в 200 раз 95% ($p < 0,017$), повышает уровень гигиенического состояния в 1,8 раз у 97,5% ($p=0,0265$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для повышения эффективности профилактики и лечения заболеваний микробной природы полости рта рекомендовано применение хлорофиллсодержащего препарата, активированного вне организма кислородом и низкоинтенсивным лазерным излучением, под контролем лазерно-флуоресцентной диагностики.
2. Ежедневно, после индивидуальной гигиены необходимо полоскать ротовую полость хлорофиллсодержащим препаратом в концентрации 0,0007%. Рекомендовано обрабатывать съемные ортопедические конструкции путем погружения в 0,7% хлорофиллсодержащий препарат, активированный вне организма 1 раз в 3 дня на 5 минут.
3. Врачам-стоматологам с целью обучения и коррекции навыков гигиены, а также оценки эффективности гигиенической обработки съёмных ортопедических конструкций, рекомендовано 1 раз в 6 месяцев проводить ЛФ-диагностику зубных протезов и ротовой жидкости, сравнивая показатели в динамике до и после чистки.
4. В случае выявления высокого ОМЧ рекомендуется повторное обучение мануальным навыкам индивидуальной гигиены, проведение контролируемой чистки съемных ортопедических конструкций,

коррекция и контроль со стороны врача выполнения пациентом разработанного алгоритма.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АФК-активные формы кислорода
ГВЗ- гнойно-воспалительные заболевания
ИК-инфракрасный
КОЕ-колоний образующих единиц
ЛФД- лазерная флуоресцентная диагностика
ЛФС-лазерная флуоресцентная спектроскопия
МО-микроорганизм(ы)
МПК-минимальная подавляющая концентрация
НИЛИ-низкоинтенсивное лазерное излучение
ОДВЗ- одонтогенные воспалительные заболевания
ПЦР-полимеразная цепная реакция
СОР-слизистая оболочка рта
ФДТ-фотодинамическая терапия
ФС-фотосенсибилизатор
ЧЛО-челюстно-лицевая область
ЧЛХ-челюстно-лицевая хирургия
H₂O₂-перекись водорода

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александров, М. Т. Возможности и перспективы применения раман-флюоресцентной диагностики в стоматологии / М. Т. Александров, Е. П. Пашков, Г. Э. Баграмов, В. И. Кукушкин, Э. Г. Маргарян // Российский стоматологический журнал. – М., – 2018. – №1. – С. 12.
2. Александров, М. Т. Идентификация микроорганизмов на основе эффекта гигантского рамановского рассеяния / / М. Т. Александров, Э. Г. Маргарян // Российская стоматология. – 2017. - №4. – С. 12-19.
3. Александров, М. Т. Лазерная клиническая биофотометрия (теория, эксперимент, практика) / М. Т. Александров. – М.: Техносфера, 2008. - 584 С.
4. Александров М.Т., Лазерные раман-флюоресцентные медицинские технологии в стоматологии - от эксперимента к клинике: учебное пособие / М.Т. Александров, А.С. Утюж, В.Н. Олесова, А.В. Юмашев, Е. П. Пашков., М.В. Михайлова, А.Н. Ахмедов, Е.Ф. Дмитриева, О.А. Артемова, А.И. Дмитриев, Ф.К. Дзалаева, Д.А Николенко; под ред. М.Т. Александрова. – М.: КнигИздат, 2020. – С. 160.
5. Александров, М. Т. Лазерная флюоресцентная диагностика в медицине и биологии (теории и возможности применения) / М. Т. Александров, Р. А. Афанасьев и соавт. – «НПЦ» Спектролюкс, 2007. - С. 272.
6. Александров, М. Т. Метод флюоресцентной диагностики – метод индикации микрофлоры человека в норме и при патологии / М. Т. Александров, М. В. Нестерова, Е. П. Пашков, О. А. Морозова // Журнал микробиология – 2001. – 3: - С. 63-66.
7. Александров, М. Т. Обоснование применения эффекта гигантского рамановского рассеяния для идентификации основных возбудителей гнойно-воспалительных процессов челюстно-лицевой области / М. Т. Александров, В. И. Кукушкин, Э. Г. Маргарян [и др.] // Стоматология. – 2018. – Т. 97, №1. – С. 27-32.

8. Александров, М. Т. Применение лазерной флюоресцентной диагностики для отбора предпочтительных антимикробных препаратов при гнойно-воспалительных заболеваниях / М. Т. Александров, Н. Н. Бажанов, Г. Л. Геворков // ИМ.: Фотоника, 1/2008. – С. 28-29.
9. Александров, М. Т. Разработка метода объемной активированной фотодинамической терапии заболеваний и процессов микробной и неопластической природы на основе использования флюоресцентной технологии / М. Т. Александров, Е. П. Пашков, Е. М. Сатушева, Г. Э. Баграмова // Российский стоматологический журнал. – 2017. – №4.
10. Александров, М. Т. Раман-флюоресцентная диагностика состояния тканей человека в норме и при патологии и ее аппаратно-программное решение / М. Т. Александров, В. И. Кукушкин, Э. Г. Маргарян // Российский стоматологический журнал. – М., – 2017. – №5.
11. Александров, М.Т., Маргарян Э.Г. Применение лазерных технологий в клинике терапевтической стоматологии (обоснование, возможности, перспективы). Российская стоматология. 2017;10(3): С. 31-36.
12. Александров, М. Т., Олесова В.Н., Дмитриева Е.Ф., Намиот Е.Д., Артемова О.А., Ахмедов А.Н., Разумова С.Н. Проблемные вопросы оценки гигиенического состояния полости рта и их клиническое решение. Стоматология. 2020;99(4): - С. 21-26.
13. Амхадова, М. А. Комплексное лечение пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом с применением фотодинамической терапии / М. А. Амхадова, И. С. Копецкий, В. В. Прокопьев // Медицинский алфавит. – 2016 – Том 1 - №2. – С. 31-35.
14. Аполихина, И. А. Фотодинамическая терапия у женщин с папилломавирусной инфекцией / И. А. Аполихина, Е. Д. Денисова, Н. Н. Булгакова // Материалы всероссийского конгресса «Амбулаторно-поликлиническая практика – новые горизонты» - М. – 2010. – С. 19-20.
15. Баграмов, Р. И. Лазеры в стоматологии, челюстно-лицевой и реконструктивно-пластической хирургии / Р. И. Баграмов, М. Т. Александров,

- Ю. Н. Сергеев; под науч. ред. профессора, лауреата Государственной премии РФ М. Т. Александрова. – М.: Изд-во Техносфера, 2010. – С. 576.
16. Баймиев, А. Х. Молекулярно-генетическая оценка антибактериальных эффектов ультразвука в ходе комплексной терапии пародонтита / А. Х. Баймиев, Э. Р. Тамарова, А. Р. Мавзютов // *Стоматология для всех*. – 2015 – №4. – С. 20-22.
17. Байриков И. М. Челюстно-лицевая хирургия: учебник / И. М. Байриков [и др.]; ред. А. Ю. Дробышев, О. О. Янушевич. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. – 880 с.
18. Белобородов, В. Б. Нозокомиальная пневмония, связанная с искусственной вентиляцией легких: антибактериальная терапия короткими курсами / В. Б. Белобородов, В. А. Сеникин // *Consilium Medicum*. 2017. – Т. 19, №3. – С. 73-78.
19. Бельтюкова, Д. М. Люминесценция водного раствора фотосенсибилизатора Радахлорин при возбуждениях в полосах 405 и 605 nm // Д. М. Бельтюкова [и др.] // *Оптика и спектроскопия*. – 2018. Т. 124. – № 1. – С. 51-55.
20. Быков, А. С. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. Атлас-руководство // А. С. Быков [и др.]; ред. А. С. Быков, В. В. Зверев – М.: МИА, 2018. – 416 с.
21. Венгеровский, А. И. Фармакология: учебник / А. И. Венгеровский. - Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2022. - 848 с.: ил. - 848 с.
22. Гаин, Ю.М. Современные взгляды на причины возникновения и патогенез хронической раны / Ю.М. Гаин, М.А. Герасименко, С.В. Шахрай [и др.] // *Инновационные технологии в медицине*. - 2017. - № 4. - С. 208-222.
23. Гаража, С. Н. Влияние фотодинамической и лазерной терапии на цитохимические показатели активности нейтрофильных гранулоцитов при лечении хронического гингивита / С. Н. Гаража, Е. Н. Грешилова, К. Ю. Демина, Д. Д. Батчаева, А. О. Готлиб, А. Н. Бражникова // *Кубанский научный медицинский вестник*. – 2015; (1)- С. 34-37.

24. Гельфонд, М. Л. Предварительные клинические результаты имминосенсибилизированной фотомодификации при распространенных злокачественных новообразованиях различной локализации / М. Л. Гельфонд, А. С. Барчук // Российский биотерапевтический вестник. – 2005. – Т. 4, №1. – С. 33-34.
25. Генетический профиль *Staphylococcus aureus*, выделенных от бактерионосителей и больных с инфекционно-воспалительной патологией / В. А. Гриценко, А. Р. Мавзютов, Т. М. Пашкова [и др.]. — //Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2018. —№ 4. — С. 56–62.
26. Георгиади, Н. А. Эффективность сочетанного применения диодолазерной терапии и анигипоксантаоксиден при лечении хронического генерализованного пародонтита / Н. А. Георгиади // Автореф. дисс. канд. мед. наук. – Краснодар. – 2013. – 24 с.
27. Госманов, Р.Г. Микробиология: Учебное пособие / Р.Г. Госманов, А.К. Галиуллин и др. - СПб.: Лань, 2019. - 496 с.
28. Давидович, Н.В. Спектр и детерминанты резистентности клинических изолятов оральных стрептококков / Н.В. Давидович, А.С. Галиева, Н.Г. Давыдова, О.Г. Малыгина, Н.Н. Кукалевская [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. - 2020. - Т.65. - №10. - С.632-637.
29. Демина, К. Ю. Эффективность сочетанного применения фотодинамической терапии и лазерного излучения при лечении воспалительных заболеваниях пародонта // Автореф. дисс. канд. мед. наук. – Краснодар. – 2017. – 22 с.
30. Долгов В. В. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство / В. В. Долгов; под ред. В. В. Меньшикова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012.-790 с.
31. Дробышев, А. Ю. Челюстно-лицевая хирургия / А. Ю. Дробышев, О. О. Янушевич. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. – 880 с.

32. Ефремова, Н. В. Патогенетическое обоснование применения фотосенсибилизаторов при воспалительных заболеваниях пародонта (клинико-экспериментальное исследование) // Автореф. дисс. докт. мед. наук. – Москва. – 2016. – 47 с.
33. Зеленова, Е. Г. Микрофлора полости рта: норма и патология: учебное пособие / Е. Г. Зеленова, М. И. Заславская, Е. В. Салина, С. П. Рассанов. – Нижний Новгород: Издательство НГМА, 2004. – 158 с.
34. Иванов, С. Ю. Антибиотикотерапия и антибиотикопрофилактика гнойной инфекции в челюстно-лицевой хирургии: учебное пособие / С. Ю. Иванов, В. Д. Труфанов, А.А. Мураев; под ред. С. Ю. Иванова, П. Н. Митрошенкова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 111 с.
35. Иконников, Г. Г. Сравнительная характеристика воздействия светодиодного излучения разных длин на состояние микроциркуляции и оксигенации тканей пародонта / Г. Г. Иконников, А. Г. Волков, Е. А. Волков, С. Н. Ермольев // Российская стоматология. – 2016. – NO1. – С. 92-94.
36. Ипполитов, Е. В. Микробиологическое обоснование фотодинамической терапии в комплексном лечении заболеваний пародонта / Е. В. Ипполитов, Л. П. Кисельникова, Е. В. Ляпидовская, Л. А. Манучарян, Т. В. Царева, М. С. Подпорин // Российская стоматология. – 2015; 8 (1). – С. 81-82.
37. Ипполитов, Е. В. Биопленка полости рта – индуктор сигнальных систем иммунитета / Е. В. Ипполитов, Е. Н. Николаева, В. Н. Царев // Стоматология. – 2017. - №4 (96). – С. 58-62.
38. Каршиев, Х. К. Оценка степени тяжести течения осложненных форм острой одонтогенной инфекции / Х. К. Каршиев, Т. Г. Робустова, М. И. Музыкин, А. К. Иорданишвили // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2017. - №4 (60). – С. 61-71.
39. Керашева, С. И. Санитарная микробиология: Учебное пособие для студентов I-II курсов фармацевтического факультета / С. И. Керашева; под ред. Н. В. Куклиной. – Барнаул, 2000. – 82 с.

40. Кишкун, А. А. Лабораторные информационные системы и экономические аспекты деятельности лаборатории / А. А. Кишкун, А. Л. Гузовский. – М.: Лабора. – 2007.
41. Красновский, А. А. Фотодинамическое действие и синглетный кислород / А. А. Красновский // Биофизика. – 2004. – 49 №2. – С. 305-322.
42. Кудинова, Н. В. Фотодинамическая терапия опухолей: иммунологический аспект лечения / Н. В. Кудинова, Т. Т. Березов // Российский биотерапевтический журнал. – 2010. – Т. 9, №1. – С. 69-76.
43. Култанова, Э.Б. Нозокомиальные инфекции: проблема общественного здравоохранения (литературный обзор) / Э.Б. Култанова, А.А. Турмухамбетова, Д.К. Калиева, Г.Б. Мухамеджан // Вестник Казахского Национального медицинского университета. - 2018. - №1. - С. 46-49.
44. Кустов А.В., Гарасько Е.В., Белых Д.В., Худяева И.С., Старцева О.М., Макаров В.В., Стрельников А.И., Березин Д.Б. Фотосенсибилизаторы хлоринового ряда для антимикробной фотодинамической терапии // Успехи современного естествознания. – 2016. – № 12-2. – С. 263-268.
45. Лабинская, А.С. Частная медицинская микробиология с техникой микробиологических исследований: Учебное пособие/ А.С. Лабинская, Л.П. Блинкова, А.С. Ещина и др.- СПб.: Лань, 2017. - 624 с.
46. Леонтьев, В.К. Антибактериальные свойства водных коллоидных растворов наночастиц металлов и оксидов металлов по отношению к бактериям зубного налета // В.К. Леонтьев, И.П. Погорельский, Г.А. Фролов [и др.] // Российские нанотехнологии. - 2018. - Т. 13, №3-4. - С. 88-91.
47. Леонтьев, В. К. 20-летний опыт применения лазерной и магнитолазерной терапии стоматологических заболеваний / В. К. Леонтьев, И. М. Рабинович, Р. В. Мунаев [и др.] // Клиническая стоматология. – 2014. - №3 (71). – С. 62-63.
48. Лихоед, А. В. Разработка схемы комплексного лечения воспалительных заболеваний пародонта с использованием стоматологической мази и

- карандаша / А. В. Лихоед // Автореф. дисс. канд. мед. наук. – Уфа. – 2013. – 24 с.
49. Макеева, И. М. Эффективность использования медицинской технологии лазерной флюоресцентной диагностики / И. М. Макеева, М. Т. Александров, Э. Г. Маргарян, Е. П. Пашков, Г. Э. Баграмов, К. В. Лалаян // Медицина, наука и образование. – Ереван, 2018. – С. 18-21.
50. Максимовский, Ю. М. Медикаментозная и инструментальная обработка корневого канала / Ю. М. Максимовский, Т. Д. Чиркова // Новое в стоматологии. – 2001. - №6. – С. 18-24.
51. Малазония, Т. Т. Клинико-микробиологическое обоснование применения фотодинамической терапии и шинирования зубов в комплексном лечении заболеваний пародонта / Т. Т. Малазония // Автореф. дисс. канд. мед. наук. – Москва. – 2018. – 24 с.
52. Марданова, А. М. Биопленки: основные принципы организации и методы исследования: учеб. Пособие / А. М. Марданова, Д. А. Кабанов, Н. Л. Рудакова [и др.]. – Казань. – 2016. – 42 с.
53. Машковский М. Д. Лекарственные средства. — 16-е изд., перераб., испр. и доп, — М.: Новая волна: Издатель Умеренков, 2021.— 1216 с.
54. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: учебник: в 2 т. / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. – Т. 2. – 480 с.
55. Меньшиков, В. В. Исследования вне лаборатории. Средства, технологии, условия применения. / В. В. Меньшиков. М.: Агат-Мед, 2008.
56. Микробиология и вирусология: учебно-методическое пособие / сост. Н. В. Шеховцова; Яросл. гос. ун-т им. П. Г. Демидова. — Ярославль: ЯрГУ, 2017 — 64 с.
57. Микробиологические методы: учебное пособие / Г. К. Давлетшина, М. М. Туйгунов, Ю. З. Габидуллин, А. А. Ахтариева, А. К. Булгаков, Т. А. Савченко. – Уфа: Изд-во ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, 2018. – 119 с.

58. Михайлова, Д. О. Диагностическое значение различных иммунологических методов лабораторной диагностики легионеллеза / Д. О. Михайлова, З. Д. Бобылева, В. В. Базарный // Журн. микро-биол. – 2008. – 2: С. 51-53.
59. Набиев, И. Р. Гигантское комбинационное рассеяние и его применение к изучению биологических молекул / И. Р. Набиев, Р. Г. Ефремов, Г. Д. Чуманов // Успехи физических наук. 1988. – 154 (3): С. 459-495.
60. Омельченко, В. П. Информатика, медицинская информатика, статистика: учебник / В. П. Омельченко, А. А. Демидова. - Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2021. - 608 с.
61. Орехова, Л. Ю. Фотодинамическая терапия в комплексном лечении воспалительных заболеваний пародонта / Л. Ю. Орехова, Е. С. Лобода // Стоматология. – 2016. – 95(6-2). – С. 38-39.
62. Панин, А. М. Актиномикоз челюстно-лицевой области. Клиника. Диагностика. Лечение: Учебное пособие / А. М. Панин, В. Н. Царев, В. И. Чувилкин, Е. В. Ипполитов, Г. Д. Ахмедов [и др.] ; под ред. А. М. Панина, В. Н. Царева. – М.: МГМСУ. – 2019. – 44 с.
63. Патент № RU 2700407 С1, Российская Федерация, Способ лечения опухолевых и воспалительных заболеваний с применением фотодинамической терапии / М. Т. Александров, В. Н. Олесова, О. А. Артемова, [и др.]; // 2018127004, заявлено 23.07.2018, опубликовано 16.09.2019, Бюл. №26.
64. Петрухина, М. И. Эпидемиологическое значение биопленок / М. И. Петрухина, Г. В. Ющенко, Н. Г. Политова // Мед. альманах. – 2015. - №3 (17). – С. 9-15.
65. Подпорин, М. С. Клинико-лабораторное обоснование антимикробной эффективности фотодинамической терапии с разными фотосенсибилизаторами при лечении воспалительных заболеваний полости рта / М. С. Подпорин, Т. Т. Малазоня, К. В. Кузнецова // Материалы Всероссийской итоговой 76-ой научной конференции им. Малазоня, К. В.

Кузнецова // Материалы Всероссийской итоговой 76-ой научной конференции им. Н. И. Пирогова под ред. проф. Г. Э. Черногорюка. – Томск. – 2017. – С. 217-218.

66. Попов, Д. А. Диоксидин: антимикробная активность и перспективы клинического применения на современном этапе / Д. А. Попов, Н. М. Анучина, А. А. Терентьев, Г. В. Костюк, Л. А. Блатун, Е. В. Русанова, И. А. Александрова, Т. Я. Пхакадзе, Н. С. Богомоллова, Л. П. Терехова // Антибиотики и химиотерапия. – 2013. - №3-4.- 112 с.

67. Привольнев, В. В. Местное лечение раневой инфекции: антисептики или антибиотики? / В. В. Привольнев, Н. А. Зубарева, Е. В. Каракулина // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2017. – Т. 19, №2. – С. 131-138.

68. Прокопьев, В. В. Антимикробная фотодинамическая терапия в комплексном лечении хронического генерализированного пародонтита / В. В. Прокопьев // Автореф. дисс. канд. мед. наук. – Тверь. – 2018. – 25 с.

69. Разина, И. Н. Влияние фотодинамической терапии на эпителиально интегрированную микробиоту тканей пародонта при лечении хронического генерализированного пародонтита / И. Н. Разина, М. Г. Чеснокова, В. Б. Недосеко // Лазерная медицина. – 2014. – Т. 18 - №3. – С. 13-17.

70. Разина, И. Н. Клинико-микробиологическое обоснование применения лазерных технологий в комплексном лечении пациентов с хроническим генерализированным пародонтитом / И. Н. Разина // Автореф. дисс. канд. мед. наук. – Тверь. – 2018. – 25 с.

71. Разумова, С.Н., Козлова Ю.С., Браго А.С. Применение лазера ближнего инфракрасного диапазона с длиной волны 810 нм при гиперестезии зубов. Лазерная медицина. 2021;25(3S): 74. – С. 47-52.

72. Разумова, С.Н. Микробиоценоз полости рта у пациентов различных возрастных групп / С.Н. Разумова, А.Ф. Мороз, С.Н. Шатохина // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 2018. - № 3. - С. 74-80.

73. Разумова, С.Н., Табет М.А., Браго А.С., Филимонова О.В., Ребрий А.В., Аджиева Э.В. Проведение профессиональной гигиены у пациентов с использованием различных методик. Состояние вопроса (обзор литературы). Медицинский алфавит. 2022;(7): - С.15-19.
74. Ремизова, Е. Микрофлора при перфоративном одонтогенном верхнечелюстном синусите / Е. Ремизова, Е. Русанова, Э. Умпьерре Яньес [и др.] // Врач. - 2017. - №7. - С. 70-73.
75. Робустова, Т.Г. Профилактика инфекционно-воспалительных осложнений, возникающих после операции удаления зуба / Т.Г. Робустова, А.К. Иорданишвили, Н.В. Лысков // Пародонтология. - 2018. - Т. 23, №2-23(87). - С. 58-61.
76. Романенко, И.П. Острые одонтогенные воспалительные заболевания (клинико-функциональная характеристика) / И.П. Романенко, К.С. Гандылян, С.С. Конев, К.Г. Караков // Клиническая неврология. - 2016. - №4. - С. 18-22.
77. Романов, В. П. Фотоинаktivация микроорганизмов *in vitro* в присутствии фотосенсибилизаторов / В. П. Романов, Т. А. Терещенко, Н. И. Назарикова // Сибирский медицинский журнал. – 2001. - №1. – С. 33-35.
78. Самусенко, В. О. Антимикробное действие фотодинамической терапии на возбудителей неклостридиальной анаэробной инфекции в тканях пародонта / В. О. Самусенко, М. С. Подпорин, Т. Т. Малазония // Материалы посвященной 70-летию образования в МГМСУ им. А. И. Евдокимова кафедры общей гигиены. «Инновационные здоровьесберегающие технологии в медицине и в образовании». – 2016. – С. 188-190.
79. Сипкин, А.М., Давыдов И.А., Ахтямов Д.В., Благих О.Е. Организация медицинской помощи пациентам с гнойно-воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области в Подмосковье // Медицинские технологии. Оценка и выбор. - 2018. - № 1 (31). - С. 48-51.
80. Сипкин, А.М. Одонтогенные гнойно-воспалительные заболевания челюстно-лицевой области: современный взгляд на лечение и реабилитацию /

- Сипкин А.М., Давыдов И.А., Ахтямов Д.В., [и др.] // Клиническая стоматология. - 2018. - №2(86). - С. 66-69.
81. Скугарева, О. А. Фотодинамическая терапия с интерстициальным облучением опухолей кожи / О. А. Скугарева, В. В. Попучиев, Т. Е. Сухова [и др.] // Российский журн. кожных и венерических болезней. – 2012. - №2. – С. 4-6.
82. Статистические методы в медицине и здравоохранении: Учебное пособие: / сост.: Н.Х. Шарафутдинова, Э.Ф. Киреева, И.Е. Николаева, М.Ю. Павлова, Р.М. Халфин, М.А. Шарафутдинов, М.В. Борисова, А.Б. Латыпов, А.Ш. Галикеева. – Уфа: ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, 2018 – 131 с.
83. Степанова, Т. Ю. Микробиом ротовой полости человека / Т. Ю. Степанова, А. В. Тимофеева // Современные проблемы науки и образования. – 2016.- №5.- С. 83-87.
84. Странадко, Е. Ф. Механизмы действия фотодинамической терапии / Е. Ф. Странадко // Российский онкологический журнал. – 2000. - №4. – С. 52-56.
85. Странадко, Е. Ф. Фотодинамическое воздействие на патогенетические микроорганизмы (Современное состояние проблемы антимикробной фотодинамической терапии) / Е. Ф. Странадко, И. Ю. Кулешов, Г. И. Караханов // Лазерная медицина. – 2010. - №14 (2). – С. 52-56.
86. Странадко, Е. Ф. Фотодинамическая терапия рака и неопухолевых заболеваний (основные этапы развитие и современное состояние ФДТ в России) / Е. Ф. Странадко [и др.] // ООО «Махлиyo-shifo» &V. – 2018. – С. 4.
87. Тарасенко, С.В., Тихонова О.И., Ашурко И.П. Результаты клинко-рентгенологического исследования эффективности сочетанного применения препарата гиалуроновой кислоты и диодного лазера при хирургическом лечении пациентов с хроническим пародонтитом // Российский стоматологический журнал. - 2019. - Т. 23. - № 2. - С. 64-68.
88. Тимурзиева, А. Б. Возможности и перспективы использования раман-флюоресцентной спектроскопии в диагностике воспалительных и опухолевых заболеваниях глотки: данные обзора литературы и собственных исследований

// Folia Otorhinolaryngologiae et Rathologiae Respiratoriae. – 2018. – 24:4. – С. 49-61.

89. Тимурзиева, А. Б. Изучение возможности применения раман-флюоресцентных медицинских технологий в повышении эффективности диагностики и лечения воспалительных заболеваний глотки / А. Б. Тимурзиева // Автореф. дисс. канд. мед. наук. – Москва. – 2020. – 25 С.

90. Тимурзиева, А. Б. Оценка некоторых информативных параметров флюоресцентной диагностики воспалительных изменений в глотке при хроническом тонзиллите. / А. Б. Тимурзиева, А. Н. Герасимов, М. И. Шпитонков // Исследование операций (модели, системы, решения). – 2018. – Т.4 (13) – С. 58-66.

91. Узденский, А. Б. Клеточно-молекулярные механизмы фотодинамической терапии / А. Б. Узденский // М.: Наука. – 2010. – С. 35-38

92. Улитовский, С.Б. Гигиена при зубном протезировании /С.Б. Улитовский. – М.: МЕДпресс-информ, 2009.– 112 С.

93. Ушаков, Р.В., Царёв В.Н. Антимикробная терапия в стоматологии. Принципы и алгоритмы. М.: Практическая медицина. - 2019, 240 с.

94. Ушаков, Р.В., Царёв В.Н. Применение антисептиков в стоматологии. М.: Изд-во РМАНПО. - 2018, 170 с.

95. Федеральное руководство по использованию лекарственных средств (формулярная система). Выпуск 20. Стоматология / под ред. академика РАН А.Г. Чучалина. М.: Библиотека Российского национального конгресса «Человек и лекарство». - 2018, 242 с.

96. Фиалкина, С. В. Подавляющее действие лазерного облучения длиной волны 1270 нм на репликацию вирионов бактериофага / С. В. Фиалкина // Материалы научно-практической конференции с международным участием, посвященной 25-летию ФГУ «ГНЦ лазерной медицины ФМБА России», Москва, 2011. – Лазерная медицина. – 2011. – 15(2). – С. 113-118.

97. Филоненко, Е. В. Фотодинамическая терапия в клинической практике / Е. В. Филоненко, Л. Г. Серова // *Biomedicalphotonics*. – 2016. Т. 5. - №2. – С. 26-37.
98. Царев, В.Н. Микробиота и иммунные процессы при одонтогенной инфекции / В.Н. Царёв, Р.В. Ушаков, Е.Н. Николаева // в кн.: *Микробиология, вирусология, иммунология полости рта* // под ред. В.Н. Царёва. Изд. 2 — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. – 720 с.
99. Царёв, В.Н. Одонтогенные воспалительные заболевания / В.Н. Царев, Р.В. Ушаков / в кн.: *Руководство по медицинской микробиологии. Оппортунистические инфекции: клинико-эпидемиологические аспекты* // под ред. А.С. Лабинской, Е.Г. Волиной, Е.П. Ковалёвой. - М.: Бином, 2014. - Кн. 3. Т.2. - С. 233-243.
100. Царик, Г. Н. Информатика и медицинская статистика / под ред. Г. Н. Царик. - Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2017. - 304 с.
101. Чаплин, А.В., Ребриков Д.В., Болдырева М.Н. Микробиом человека // *Вестник РГМУ*. - 2017. - №2. - С. 103-108
102. Чергештов, Ю.И. Клинико-лабораторное исследование антибактериальной эффективности озонотерапии и светодиодного излучения при лечении альвеолита и остеомиелита челюсти / Ю.И. Чергештов, В.Н. Царев, А.Г. Волков [и др.] // *Клиническая стоматология*. - 2015. - №4 (76). - С. 36-41.
103. Ширинкин, С. В. Монография. Медицинские нанотехнологии. Перспективы использования фуллеренов в терапии болезней органов дыхания / С. В. Ширинкин, Т. О. Волкова, Н. Н. Немова; отв. ред. докт. мед. наук, проф. М. В. Покровский // Петрозаводск: Карельский научный центр РАН. – 2009. – С. 52-53, 113-114.
104. Шмидт, В. Оптическая спектроскопия для химиков и биологов / В. Шмидт. М.: Техносфера. – 2007.- 368 с.
105. Энциклопедия клинических лабораторных тестов / под ред. Н. Тица. – М.: Лабинформ, 1997.- 960 с.

106. Ягудаев, Д. М. Современный взгляд на механизм фотодинамической терапии. Фотосенсибилизаторы и их биодоступность / Д. М. Ягудаев, А. Е. Сорокатый, А. В. Гейниц [и др.] // Урология. – 2006. - №3. – С. 3-8.
107. Яковлев, С.В. Стратегия и тактика рационального применения антимикробных средств в амбулаторной практике. Евразийские клинические рекомендации, 2016 год / С.В. Яковлев, Е.В. Елисеева, М.П. Суворова [и др.] // Педиатрия. Приложение к журналу Consilium Medicum. - 2017. - №1. - С. 17-2.
108. Янушевич, О.О. Микроэкология полости рта и воспалительные осложнения в амбулаторной хирургической стоматологии (монография). /Янушевич О.О., Ахмедов Г.Д., Панин А.М., Арутюнов С.Д., Царёв В.Н. - М. Практическая медицина. - 2019. – 292 с.
109. Янушевич, О.О., Рунова Г.С., Ревазова З.Э., Грудянов А.И., Ерохин А.И., Немерюк Д.А. Хирургическое лечение заболеваний пародонта. / В кн.: Пародонтология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа. -2018. - С.497-578.
110. Янушевич, О. О. Фотоактивируемая дезинфекция как альтернатива традиционным методам антисептического воздействия в эндодонтии, пародонтологии и гастроэнтерологии / О. О. Янушевич, Р. А. Айвазова, Е. Ю. Соколова // Эндодонтия today. – 2014. - №3. – С. 3-8.
111. Яременко, А.И. Анатомио-рентгенологический анализ предпосылок развития хронического одонтогенного перфоративного синусита / А.И. Яременко, А.А. Зубарева, А.В. Лысенко [и др.] // Институт стоматологии. - 2017. - № 2(75). - С. 24-25.
112. Abduljabbar T. Effect of mechanical debridement with adjunct antimicrobial photodynamic therapy in the treatment of peri-implant diseases in type-2 diabetic smokers and non-smokers / T. Abduljabbar // Photodiagnosis and photodynamic therapy. – 2017.- P. 100-106.
113. Akram T. Effect of photodynamic therapy and laser alone as adjunct to scaling and root planning on gingival crevicular fluid inflammatory proteins in a periodontal

- disease: a systematic review / T. Akram, T. Abduljabbar, S. Sauro, U. Daood // Photodiagn. Photodyn. Ther. – 2016. - #16. – P. 142-153.
114. Akram Z. Bactericidal efficacy of photodynamic therapy against periodontal pathogens in periodontal disease: a systematic review / Z. Akram, S. A. Al-Shareef, U. Daood, F. Y. Asiri, A. H. Shah, M. A. Al-Qahtani, F. Vohra, F. Javed // Photomed. Laser Surg – 2016. - №34. – P. 137-149.
115. Akram Z. Efficacy of photodynamic therapy versus antibiotics as adjunct to scaling and root planning in the treatment of periodontitis: a systematic review and meta-analysis / Z. Akram, T. Hyder, N. Al-Hamoudi, M. S. Binshabaib, S. S. Alharthi, A. Hanif // Photodiagn. Photodyn. Ther. – 2017. - №19. – P. 86-92.
116. Alexander T. Characterization of a commercialized SERS-active substrate and its application to the identification of intact *Bacillus* endospores / T. Alexander, D. Le // Appl. Opt. 2007, 46(18): P. 3878-3890.
117. Ana P. Castano. Specific anti-tumor immune response with photodynamic therapy mediated by benzoporphyrin derivative and chlorin (e6). / Ana P. Castano, F. Gad, T. Zahra, Michael R. Hamblin. – SPIE 4961 (2003). – P. 1-9.
118. Azizi A. Effect of photodynamic therapy with two photosensitizers on *Candida albicans* / A. Azizi, Z. Amirzadeh, M. Rezai [et al.] // Journal of photochemistry and photobiology/ - B: BIOLOGY. – 2016.
119. Barhoumi A. Surface-enhanced Raman spectroscopy of DNA / A. Barhoumi, D. Zhang, F. Tam [et al.] // J. Am. Chem. Soc. – 2008, 130 (16): 5523-5529
120. Lynes B. The Cancer Cure That Worked, Fifty Years of Suppression. / B. Lynes, J. Crane. – 1986. - 167 P.
121. Benevides J. Raman spectroscopy of proteins / J. Benevides, S. Overmann, G. Thomas // Curr. Protoc. Protein. Sci. – 2004. – Chapter 17: Unit 17.8.
122. Carrera E. T. The application of antimicrobial photodynamic therapy (apdt) in dentistry: a critical review / H. B. Dias, N. S. a Rastelli, T. Burns, M. Wilson, G. J. Pearson [et al.] // LASER PHYSICS. – 2016.

123. Cataldo F. Medicinal chemistry and pharmacological potential of fullerenes and carbon nanotubes / F. Cataldo, T. DaRoset [et al.] // *Photodiagn. Photodyn. Ther.* – 2008. - №19. – P. 107-121.
124. Castano A. P. Mechanism in photodynamic therapy: part one- photosensitizers, photochemistry and cellular localization / A. P. Castano, T. N. Demidova, M. R. Hamblin // *Photodiagn. Photodyn. Ther.* – 2004 Dec; 1(4) – P. 279-293.
125. Choo-Smith L. P. Medical application of Raman stereoscopy: from proof of principle to clinical implementation / L. P. Choo-Smith, H. G. Edwards, H. P. Endtz [et al.] // *Biopolymers.* – 2002. – 67(1): P. 1-9.
126. Chowdry M. V. Discrimination of normal, benign, and malignant breast tissues by Raman stereoscopy / M. V. Chowdry, K. K. Kumar, J. Kurien [et al.] // *Biopolymers.* – 2006. – 83: P. 556-569.
127. Dougherty T. J. The circuitous route by a group of novices to a new FDA Approved cancer therapy / Dougherty T. J. // *Outskirts Press.* – 2015.
128. Esposito M. The adjunctive use of light-activated disinfection (LAD) with FotoSun is ineffective in the treatment of peri-implantitis: 1-year result from a multicenter pragmatic randomized controlled trial / M. Esposito, M. G. Grusovin, N. De Angelis A. Camurati, M. Campailla, P. Felice // *Oral Implantol* – 2015. - №2. – P. 109-119.
129. Fenollar F. Analysis of 525 samples to determine the usefulness of PCR amplification and sequencing of the 16S rRNA gene for diagnosis of bone and joint infections / F. Fenollar, V. Roux, A. Stein, *J. Clin Microbiol.* 2006, 3: 1018-1028
130. Feruzzi F. Effects of hygiene guidance associated or not to provision of hygiene devices on habits of denture wearers / F. Feruzzi, J. C. L. S. Martins, G. O. Correa, E. Kurihara, S. Sabio // *Acta Sci Heal Sci* 2015; 37: 77.
131. Gelfond M. L. Photodiazine mediated chemosensitized blood photomodification. Advanced tumors treatment preliminary results / M. L. Gelfond, D. L. Vassiliev // *Proc. SPIE.* – 5973 (2005), OX-1-7.

132. Gessner R. Raman spectroscopy investigation of biological materials by use of etched and silver coated glass fiber tips / R. Gessner, P. Rosch, W. Kiefer [et al.] // *Biopolymers*. 2002, 67 (4-5): 327-330.
133. Grow A. New bioship technology for label-free detection of pathogens and their toxins / A. Grow, L. Wood, J. Claycomb [et al.] // *J. Microbiol. Methods*. – 2003. – 53 (2): 221-233.
134. Gulliya K. S. Preactivation – a novel antitumor and antiviral approach / K. S. Gulliya, T. Chanh, J. Newman, S. Pervaiz, J. L. Matthews // *Eur. J. Cancer*/ - 1990, 26 (5). – P. 551-553.
135. Haka A. S. Diagnosing breast cancer by using Raman Spectroscopy / A. S. Haka, K. E. Shafer-Peltier, M. Fitzmaurice [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005. – 102: 12371-12376.
136. Harrison G. R. Practical spectroscopy / G. R. Harrison, R. C. Lord. – New York, 1948.
137. Howell S. Laser Raman spectroscopy as a potential chair-side microbiological diagnosis device / S. Howell, A. Haffajee, T. Pagonis [et al.] // *J. Endod.* – 2011. – 37 (7): 968-972.
138. Ivleva N. P. In situ surface-enhanced Raman scattering analysis of biofilm / N. P. Ivleva, M. Wagner, H. Horn [et al.] // *Anal. Chem.* – 2008/ - 80(22): 8538-8544.
139. Jaanalves G. T. Luminescence and absorption of hybrid xerogels doped with PbS Nanoparticles prepared by gas diffusion method / G. T. Jaanalves // *Materials Science Forum*. – 2006: 1221-1224.
140. Jagger D. Denture cleansing – the best approach / D. Jagger, A. Harrison // *BDJ* 1995; 178 413-417.
141. Javed F. Treatment of oral fungal infections using antimicrobial photodynamic therapy: a systematic review of currently available evidence / F. Javed, L. P. Samaranayake, G. E. Romanos // *Photochem. Photobiol. Sci.* – 2014. - №13. – P. 726-734.

142. Johnathan S. Characterization of Photofrin photobleaching for singlet oxygen dose estimation during photodynamic therapy of MLL cells in vitro / S. Johnathan, Dysart and Michael S. Patterson // *J. Photochem. Photobiol. Phys. Biol.* 50 (2005) p. 2597-2616.
143. Karpinski T. M. Chlorhexidine- pharmaco-biological activity and application / T. M. Karpinski, A. K. Szkaradkiewicz // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* - 2015 Apr; 19(7): 1321-6.
144. Karu T. I. Multiple roles of cytochromes c oxidase in mammalian cells under action of red and IR-A radiation / T. I. Karu // *IUBMB Life.* – 2010; 62:607-610
145. Kasermann F. Buckminster fullerene and photodynamic inactivation of viruses / G. Kasermann, C. Kempf // *Rev. in Med. Virology.* - 1998. - Vol. 8. – P. 143-151.
146. Kashiwabuchi R. T. Antimicrobial susceptibility of photodynamic therapy (UVA/riboflavin) against *Staphylococcus aureus* / R. T. Kashiwabuchi, Y. Khan, F. R. Carvalho et al. // *Arq. Bras. Oftalmol.* – 2012. - №75(6). – P. 423-426.
147. Kellesarian S. V. Is antimicrobial photodynamic therapy a useful therapeutic protocol for oral decontamination? A systematic review and meta-analysis / S. V. Kellesarian, F. Qayyum, P. C. De Freitas, Z. Akram, F. Javed // *Photodiagn. Photodyn. Ther.* – 2017. - №20. – P. 55-61.
148. Kem W. Circular dichroism and laser Raman spectroscopic analysis of the secondary structure of *Cerebratulus lacteus* toxin B-IV. / W. Kem, C. Tu, R. Williams [et al.] // *J. Protein. Chem.* – 1990, 9 (4): P. 433-443
149. Kim N. Aptamer-mediated surface-enhanced Raman spectroscopic intensity amplification / N. Kim, S. Lee, M. Moskovits // *Nano Lett.* – 2010, 10 (10): P. 4181-4185.
150. Kinalwa M. Determination of protein fold class from Raman or Raman optical activity spectra using random forests // M. Kinalwa, E. W. Blanch, A. J. Doig // *Protein Sci.* – 2011, 20 (10): 1668-1674.
151. Lerario F. Non-surgical periodontal treatment of peri-implant diseases with the adjunctive use of the diode laser: preliminary clinical study / F. Lerario, M.

- Roncati, A. Gariffo, E. Attorresi, A. Lucchese, A. Galanakis, G. Palaia, U. Romeo // *Laser Med. Sci.* – 2016. – P.1-6.
152. Li. L. Metal oxide nanoparticle mediated enhanced Raman scattering and its use in direct monitoring of interfacial chemical reactions / L. Li, T. Hutter, A. S. Finnmore [et al.] // *Nano Lett.* – 2012. – 12 (8): P.4242-4246.
153. Loschenov V. B. Photodynamic therapy and Fluorescence Diagnostics / V. B. Loschenov, V. I. Konov, A. M. Prokhorov // *Laser Physics*, 10. – 2000. - №6. – P. 1188-1207.
154. Maquelin K. Raman spectroscopic methods for identification of clinically relevant microorganism growing on solid culture medium / K. Maquelin, L. Choo-Smith, T. van Yreeswijk [et al.] // *Anal. Chem.* 2000. – 72 (1): P.12-19.
155. Matousek P. Prospects for diagnosis of breast cancer by noninvasive probing of calcifications using transmission Raman spectroscopy / P. Matousek, N. Stone // *J. Biomed. Opt.* – 2007, 12: 024008.
156. Mengqiu Li. Single cell Raman spectroscopy for cell sorting and imaging / Li. Mengqiu, Jian Xu, Maria Romeo-Gonzalez [et al.] // *Curr. Opin. in Biotechnol.* - 2012, 23: P.56-63.
157. Milward P. Knowledge of removable partial denture wearers on denture hygiene / P. Milward, D. Katechia, M. Z. Morgan // *BDJ.* – 2013 Nov; 215 (10): E20-156.
158. Mongardini C. Adjunctive efficacy of probiotics in the treatment of experimental peri-implant mucositis with mechanical and photodynamic therapy: a randomized cross-over clinical trial / C. Mongardini, A. Pilloni, R. Farina, G. Di Tanna, B. Zeza // *Clin. Periodontol.* – 2007. – №44. - P.410-417.
159. Moan J. On the diffusion length of singlet oxygen in cells and tissues / J. Moan // *B: Biol.* – 6(1990). – P.343-344.
160. Moore B. Rapid and ultra-sensitive determination of enzyme activities using surface-enhanced resonance Raman scattering / B. Moore, L. Stevenson, A. Watt [et al.] // *Nat. Biotechnol.* – 2004, 22 (9): P.1133-1138.

161. Murakami M. Dry mouth and palatal obturator prosthesis wearers / M. Murakami, Y. Nishi, K. Seto, Y. Kamashita, E. Nagaoka // *Gerontology*. – 2015, 32, 188-194.
162. Mylonas P. A clinical audit of denture cleanliness in general dental practice undertaken in the West Midlands / P. Mylonas, Afzal Z, D. C. Attrill, // *BDJ*. – 2014; 217: 231-234.
163. Mylonas P. Evaluating denture cleanliness of patients in a regional dental hospital / P. Mylonas, D. C. Attrill, A. D. Walmsley // *BDJ*. – 2016 Aug 12, 221 (3): 127-30.
164. Nikula T. A human ImmunoChip cDNA microarray provides a comprehensive tool to study immune responses / T. Nikula // *J Immunol. Meth.* – 2005, 1-2: 122-134.
165. Nolan J. Single cell analysis using surface enhanced Raman scattering (SERS) tags / J. Nolan, E. Duggan, E. Liu [et al.] // *Methods*. – 2012, 57 (3): 272-279
166. Ochsenkuhn M. Redox potential dependents of peptide structure studied using surface enhanced Raman spectroscopy / M. Ochsenkuhn / *Nano Lett.* – 2011, 11 (7): 2684-2688.
167. O'Donnell L. E. Dentures are reservoir for respiratory pathogens / L. E. O'Donnell, K. Smith, C. Williams, C. J. Nile, D. F. Lappin, D. Bradshaw, M. Lambert, D. P. Robertson, J. Bagg, V. Hannah, G. Ramage // *J. Prosthodont.* – 2016, Feb; 25 (2): P. 99-104.
168. Paranthos H. O. S. Effect of mechanical and chemical methods on denture biofilm accumulation / H. O. S. Paranthos, C. H. Silva-Lovato, R. F. Souza, P. C. Crus, K. M. Freitas, A. Peracini // *J. Oral. Rehabil.* – 2007, 34, P. 606-612.
169. Pervaiz S. Reactive oxygen-dependent production of novel photochemotherapeutic agents / S. Pervaiz // *The FASEB J.* – 2001. – 15, P. 612-617.
170. Qian J. Fluorescence-surface enhanced Raman scattering co-functionalized gold nanorods as near-infrared probes for purely optical in vivo imaging / J. Qian, L. Jiang, F. Cai [et al.] // *Biomaterials*/ - 2011, 32: P. 1601-1610.

171. Qiang Tu. Diagnostic applications of Raman spectroscopy. / T. Qiang, Chang Chang // *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. – 2012, 8: P. 545-558.
172. Ramos U. D. Antimicrobial photodynamic therapy as alternative to systematic antibiotics: results from a double-blind, randomized, placebo-controlled, clinical study on type 2 diabetics / U. D. Ramos, L. G. Ayub, D. M. Reino, M. F. Grisi, M. Taba, S. L. Souza, D. B. Palioto, A. B. Novaes // *Clin. Periodontol.* – 2016. - №46. – P. 147-155.
173. Sebastian W. Chemical analysis in vivo and in vitro by Raman spectroscopy from single cells to humans / W. Sebastian, W. Tyler, H. Thomas // *Curr. Opin. Biotechnol.*, – 2009, 20: P. 63-73.
174. Shcherbo, D., Shemiakina, I., Ryabova, A. et al. Near-infrared fluorescent proteins. *Nat Methods* 7,-2010. P. 827–829.
175. Shi B. The denture-associated oral microbiome in health and Stomatitis / B. Shi, T. Wu, J. McLean, A. Edlund, Y. Young, X. He, H. Lv, X. Zhou, W. Shi, H. Li, R. Lux // *Sphere*. – 2016, Dec 28; 1(6).
176. Smith W. Practical understanding and use of surface enhanced Raman scattering/ surface enhanced resonance Raman in chemical and biological analysis / W. Smith // *Chem. Soc. Rev.* – 2008, 37 (5): P. 955-964.
177. Stockel S. Identification of *Bacillus anthracis* via Raman Spectrography and chemometric approaches / S. Stockel, S Meisel, M. Elschner, [et al.] // *Anal. Chem.* – 2012, 84 (22): P. 9873-9880.
178. Takamatsu T. Raman spectra of some snake venom components / T. Takamatsu, L. Harada, K. Hayashi // *Biophys. Acta*. – 1980, 622 (2): P. 189-200.
179. Tao N. Experimental studies on treatment of HSV infections with photodynamic therapy using 5-aminolevulinic acid / J. N. Tao, S. M. Duan, J. Li // – 2007. - №21 (1). P. 79-82.
180. Thomas G. New structural insights from Raman spectroscopy of proteins and their assemblies / G. Thomas // *Biopolymers*. – 2002, 67 (4-5): P. 214-225.

181. Thomas G. Raman spectroscopy of proteins and nuclear acid assemblies / G. Thomas // *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* – 1999, 28: P. 1-27.
182. Tripathi A. Waterborne pathogen detection using Raman spectroscopy / A. Tripathi, R. Jabbour, P. Treado, [et al.] // *Appl. Spectrosc.* – 2008, 62 (1): P. 1-9.
183. Wainwright M. Photodynamic antimicrobial chemotherapy / M. Wainwright // *Journal of Antimicrobial chemotherapy.* – 42 (1998) P. 13-28.
184. Webb-Robertson B. Spectral signatures for the classification of microbial species using by Raman spectra / B. Webb-Robertson, V. Bailey, S. Fansler [et al.] // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2012, 404 (2): P. 563-572.
185. Weishaupt K. R. Purified hematoporphyrine derivative for diagnosis and treatment of tumors, and methods /K. R. Weishaupt, T. O. Dougherty, W. R. Potter // *PCT, WO 84/01382*, 1984, P. 1-25.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение № 1


ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
(РОСЗДРАВНАДЗОР)

**РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
НА МЕДИЦИНСКОЕ ИЗДЕЛИЕ**
от 18 мая 2015 года № РЗН 2015/2419

На медицинское изделие
Спектрометр лазерный раман-люминесцентный медицинский «ИнСпектр М»
с принадлежностями по ТУ 9443-001- 61543068-2013

Настоящее регистрационное удостоверение выдано
Общество с ограниченной ответственностью
"Научно-клинический центр реабилитации женского здоровья
(ООО "НКЦ реабилитации женского здоровья"), Россия,
101000, Москва, переулок Кривоколенный, д. 12, стр. 2

Производитель
Общество с ограниченной ответственностью "ИнСпектр" (ООО "ИнСпектр"),
Россия, 142432, Московская обл., г. Черноголовка, ул. Академика Осипьяна, д. 2

Место производства медицинского изделия
142432, Московская обл., г. Черноголовка, ул. Академика Осипьяна, д. 2

Номер регистрационного досье № РД-3005/43799 от 31.01.2014

Вид медицинского изделия -

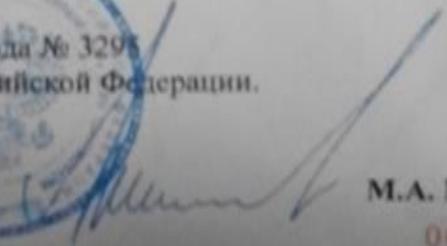
Класс потенциального риска применения медицинского изделия 2а

Код Общероссийского классификатора продукции для медицинского изделия 94 4330

Настоящее регистрационное удостоверение имеет приложение на 1 листе

приказом Росздравнадзора от 18 мая 2015 года № 3295
допущено к обращению на территории Российской Федерации.

Врио руководителя Федеральной службы
по надзору в сфере здравоохранения


М.А. Мурашкин
0011688



Регистрационное удостоверение на медицинское изделие



ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО
ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

СВИДЕТЕЛЬСТВО

об утверждении типа средств измерений

RU.C.37.003.A № 44570

Срок действия до **06 декабря 2016 г.**

НАИМЕНОВАНИЕ ТИПА СРЕДСТВ ИЗМЕРЕНИЙ
Спектрометры раман-люминесцентные портативные "ИнСпектр"

ИЗГОТОВИТЕЛЬ
Общество с ограниченной ответственностью "ИнСпектр", Московская обл., г.Черноголовка

РЕГИСТРАЦИОННЫЙ № **48318-11**

ДОКУМЕНТ НА ПОВЕРКУ
МП 05.Д4-11

ИНТЕРВАЛ МЕЖДУ ПОВЕРКАМИ **1 год**

Тип средств измерений утвержден приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от **06 декабря 2011 г. № 6361**

Описание типа средств измерений является обязательным приложением к настоящему свидетельству.

Заместитель Руководителя
Федерального агентства



Е.Р.Петросян
..... 2011 г.

Серия СИ

№ 002638

Свидетельство об утверждении типа средств измерений