

# Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ER:YAG LASER ΣΤΟΝ S. MUTANS ΣΕ ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΜΕΝΕΣ ΟΔΟΝΤΙΚΕΣ ΚΟΙΛΟΤΗΤΕΣ

## ΒΙΕΡΟΥ ΟΥΡΣΕΛΙΑ

Σκοπός της εργαστηριακής ερευνητικής αυτής εργασίας ήταν η συγκριτική μελέτη της τροποποίησης του μικροβιακού φορτίου οδοντικών κοιλοτήτων, πριν πληρωθούν με εμφακτικά υλικά, όταν δεχθούν απολύμανση με Er:YAG laser και με χλωρεξιδίνη.

Για τις ανάγκες της μελέτης χρησιμοποιήθηκαν 40 ανθρώπινα δόντια (3<sup>οι</sup> γομφίοι), ελεύθερα τερηδόνας ή άλλου τύπου βλάβης καθώς και αποκαταστάσεων. Με τη χρήση δίσκου κοπής αφαιρέθηκε, από τη μύλη του κάθε δοντιού, οριζοντίως η αδαμαντίνη και μέρος της οδοντίνης. Στη συνέχεια, με τη βοήθεια ενός διαμαντιού κοπής κυλινδρικού σχήματος παρασκευάστηκαν, στην επίπεδη επιφάνεια που προέκυπτε σε κάθε δόντι, δύο κυλινδρικές κοιλότητες με διαστάσεις 2 χιλ. διάμετρος και 2 χιλ. βάθος. Μετά την προετοιμασία των οδοντικών κοιλοτήτων ακολούθησε η αποστείρωση των δοκιμίων στους 121°C για 20 λεπτά (Tuttnauer autoclave, Ind Area Givat Shaul B. Jerusalem 93875, Israel). Οι αποστειρωμένες κοιλότητες επιμολύνθηκαν με 10 μl εναιώρημα του στελέχους S. mutans ATCC 25175 ( $1.5 \times 10^8$  CFU/ml) και στη συνέχεια έγινε η επώασή τους για 48h. Μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας της επιμόλυνσης, ακολούθησε η εφαρμογή της επιλεγμένης για την κάθε ομάδα δοντιών διαδικασία απολύμανσης (**ομάδα 1**: laser/Er:YAG laser, Smart 2940 Plus, Deka, Calenzano, Firenze, Italy/ενέργεια παλμού - 100mJ, συχνότητα - 20Hz, διάρκεια παλμού 700 μs, διάμετρος tip 1mm, ακτινοβολήση υπό καταιονισμό νερού, για συνολικό χρόνο ακτινοβολήσης 30 δευτερόλεπτα, **ομάδα 2**: χλωρεξιδίνη-CHX/EudentED-clean 1,8- 2,2%, Intermed S.A. Pharmacaucal Laboratories, Attica, Greece, για 30 δευτερόλεπτα), στη μια από τις δύο κοιλότητες του κάθε δοντιού, ενώ η άλλη χρησίμευε ως μάρτυρας. Μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας απολύμανσης ακολούθησε το στάδιο της λήψης της καλλιέργειας με τη βοήθεια αποστειρωμένων κώνων χάρτου για την καταμέτρηση του αριθμού των μικροβίων σε κάθε κοιλότητα ανά δόντι. Για το σκοπό αυτό ακολούθησε η διαδικασία των υποδεκαπλάσιων αραιώσεων και της καλλιέργεια.

Για την καλλιέργεια των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε το TCY άγαρ (tryptone, yeastextract, cysteine, 20% sucrose, 0,2U/ml bacitracine) ως θρεπτικό υλικό και η επώαση έγινε στους 37°C, για 48 ώρες, σε περιβάλλον CO<sub>2</sub>. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με το πρόγραμμα στατιστικής ανάλυσης SPSS με επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας  $\alpha=0,05$  ακολουθώντας ανάλυση KruskalWallis καθώς και την ανάλυση Post-hoc για να προσδιοριστεί αν η διαφορά μεταξύ των τριών ομάδων ήταν στατιστικά σημαντική.

Ο μέσος όρος του μικροβιακού φορτίου σε κάθε ομάδα, εκφραζόμενος σε CFU/ml ήταν  $8,5 \times 10^5$  για την ομάδα μαρτύρων,  $6 \times 10^3$  για την ομάδα απολύμανσης με laser και 0 την ομάδα της χλωρεξιδίνης. Η παρατηρούμενη μείωση στον αριθμό των μικροβίων (CFU/ml) στις κοιλότητες που εφαρμόστηκαν το laser και η χλωρεξιδίνη είναι στατιστικά σημαντική σε σχέση με τον CFU/ml της ομάδας ελέγχου ( $p < 0,05$ ) αλλά και μεταξύ τους. Σε απόλυτους αριθμούς, παρατηρείται μια μείωση της τάξης των  $2 \log_{10}$  CFU/ml στην ομάδα του laser και  $5 \log_{10}$  CFU/ml στην ομάδα της χλωρεξιδίνης σε σχέση με την ομάδα μαρτύρων.

Τα δύο απολυμαντικά πρωτόκολλα που εφαρμόστηκαν στην εν λόγω εργαστηριακή μελέτη ήταν αποτελεσματικά στη μείωση του αριθμού των *S. mutans*, σε στατιστικά σημαντικό βαθμό, συγκριτικά με την ομάδα των μαρτύρων και με τη χλωρεξιδίνη να παρουσιάζει μεγαλύτερη αντιμικροβιακή δράση σε σχέση με το Er:YAG laser.

## **THE IMPACT OF ER:YAG LASER IRRADIATION ON THE S. MUTANS OF PREPARED DENTAL CAVITIES.**

### **VIEROU OURSELIA**

The aim of this study was to compare the antibacterial activity of Er:YAG laser against a chlorhexidine gluconate-based cavity disinfectant when used as cavity disinfectant agents before the application of the restorative materials. A cavity tooth model test was used for this purpose.

40 caries-free human extracted third molars were used for the purpose of this in vitro study. Enamel and dentin was removed from the occlusal part of the teeth, with a horizontal section, to obtain flat dentinal surfaces by using a low-speed diamond saw. Two cavities (diameter 2 mm, depth 2 mm) were prepared in the flat prepared occlusal surface of each tooth using a cylindrical shaped diamond (S6830L, 012/4mm, Gebr Brasseler GmbH & Co KG, Lemgo, Germany). After the preparation of the cavities the teeth were sterilized in an autoclave for 20 min at 121°C (Tuttenauer autoclave, Ind Area Givat Shaul B. Jerusalem 93875, Israel). After sterilization, the teeth were incubated in broth culture of  $1.5 \times 10^8$  CFU/ml of *S. mutans* (ATCC 25175) at 37 °C for 48 h to allow bacterial invasion into the cavities.

Following, Er:YAG laser of 2940 nm wavelength (Smart 2940 Plus, Deka, Calenzano, Firenze, Italy using the following parameters (energy 100mJ, frequency 20Hz, pulse duration 700  $\mu$ s, tip diameter 1mm, total irradiation time under water spray conditions 30 sec.) and a chlorhexidine gluconate-based cavity disinfectant (CHX/EudentED-clean 1,8- 2,2%, IntermedS.A. Pharmaceutical Laboratories, Attica, Greece/ application time 30 sec) were applied separately on one of the two infected cavities, whereas the second cavity of each tooth was used as control. Three sterile paper points were used to collect the remaining bacteria from the cavities after the application of the disinfection method chosen. Continuously, a suspension with the three collected paper points was prepared using 0,9ml of sterile saline solution. The number of *S. mutans* recovered was determined by the classical bacterial counting method using TCY agar (tryptone, yeast extract, cysteine, 20% sucrose, 0,2U/ml bacitracine) incubated at 37°C, for 48h, at CO<sub>2</sub> atmosphere.

Statistical analysis was carried out using Kruskal Wallis analysis of variance and Post hoc test ( $p = 0,05$ ).

A statistically significant differences were observed among the data obtained from the three evaluated groups (Control group, Er:YAG laser group and CHX group) ( $p > 0,05$ ). The results of the control group showed in average colony counts of about  $8,5 \times 10^5$  CFU/ml whereas for the experimental groups the average were  $6 \times 10^3$  CFU/ml for the laser group and 0 for the CHX. Rating the results in colony counts log-steps reduction, the laser application in the infected cavities was able to reduce the bacterial number by  $2 \log_{10}$  CFU/ml whereas in the group of chlorhexidine application the average reduction was  $5 \log_{10}$  CFU/ml.

In conclusion, the two cavity disinfection protocols applied for the purposes of this in-vitro study were able to reduce the total viable number of bacteria of the infected cavities in a statistically significant amount in comparison to the control group.