

В.Н. Царев¹,

д.м.н., профессор, директор НИМСИ, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии

Е.В. Ипполитов¹,

д.м.н., профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии

Л.Я. Плахтий²,

д.м.н., профессор, зав. кафедрой микробиологии с вирусологией и иммунологией

М.С. Подпорин¹,

м.н.с. лаборатории молекулярно-биологических исследований отдела фундаментальных исследований НИМСИ

С.Т. Ильясова³,

врач-стоматолог, ординатор

Г.Д. Ахмедов¹,

д.м.н., доцент кафедры хирургической стоматологии

¹ МГМСУ им. А.И. Евдокимова

² Северо-Осетинский государственный медицинский университет, Владикавказ

³ ЦНИИСиЧЛХ

Сравнительная оценка фотодинамического воздействия на рост популяций дрожжевых грибов *Candida*

Резюме. Низкую эффективность химиотерапии орального кандидоза и кандидоз-ассоциированного пародонтита связывают со свойствами микробной биопленки и развитием резистентности к фунгицидным препаратам. Однако альтернативные методы эрадикации биопленок, в частности образуемых при участии дрожжевых грибов, находятся в начальной фазе исследования. Обсуждается возможность фотодинамической терапии (ФДТ) для лечения кандидоза слизистой оболочки. Исследование кривых роста бактериальных и дрожжевых популяций выявило статистически значимое снижение количества жизнеспособных клеток использованных штаммов в разные фазы кривых роста. При анализе динамики роста выявлены различия в наступлении максимума размножения (стимуляции роста) и его ингибирования у представителей разных видов бактерий и дрожжевых грибов *Candida*. Установлены различия антимикробной активности различных фотосенсибилизаторов, а также эффективности применения ФДТ при разной экспозиции в экспериментах *in vitro*. ФДТ в зависимости от экспозиции оказывает различное воздействие на процесс размножения микробных клеток штаммов грибов рода *Candida*. Более чувствительны к фотодинамическому воздействию виды *C. albicans* и *C. glabrata*, а *C. tropicalis* и *C. krusei* — напротив, устойчивы.

Ключевые слова: оральный кандидоз, биопленка, дрожжевые грибы, фотодинамическая терапия, фотосенсибилизаторы

Summary. Low efficiency of chemotherapy of oral candidiasis and candida-associated periodontitis is associated with the properties of microbial biofilm and the development of resistance to fungicidal drugs. However, alternative methods of eradication of biofilms, in particular, formed with the participation of yeast fungi, are in the initial phase of the study. The possibility of photodynamic therapy for the treatment of mucosal candidiasis is discussed. Investigation of the growth curves of bacterial and yeast populations revealed a statistically significant decrease in the number of viable cells of the strains used in different phases of the growth curves. When analyzing the dynamics of growth, differences were revealed between reproduction maximum occurrence (growth stimulation) and its inhibition in representatives of different bacteria species and *Candida* yeast fungi. The differences were established in the antimicrobial activity of various PSs, as well as the effectiveness of PDT application in different exposures in "in vitro" experiments. Photodynamic therapy, depending on the exposure, has a different effect on the multiplication process of microbial cells strains — *Candida* fungi. *C. albicans*, *C. glabrata* are more sensitive to photodynamic effect, while *C. tropicalis* and *C. krusei* are to the opposite — stable.

Key words: oral candidosis, biofilm, yeast fungi, photodynamic therapy, photosensitizers

Дрожжевые грибы рода *Candida*, являясь оппортунистическими условно-патогенными микроорганизмами, встречаются на слизистой полости рта более чем у половины всего населения. Они представляют собой одноклеточные эукариотические микроорганизмы относительно большой величины и округлой формы (бластоспоры), способные образовывать псевдомицелий — нити из удлинённых клеток. Для представителей вида

Candida также характерно образование хламидоспор округлой формы с плотной двойной оболочкой [2, 3, 11].

Факторы, предрасполагающие к развитию кандидоза в полости рта, разнообразны: кандидоз возникает чаще всего у новорожденных, в старческом возрасте, при беременности, вследствие нарушений функций эндокринной, пищеварительной, иммунной и кроветворной систем, системы кровообращения, обмена веществ,

при онкологических заболеваниях, ВИЧ-инфекции и др. [1, 6, 9].

При снижении иммунной реактивности организма при воспалительных заболеваниях пародонта происходит нарушение колонизационной резистентности, усиление размножения патогенов и развитие воспалительно-деструктивных процессов в пародонте. Микроэкологический дисбаланс слизистой оболочки десен и нарушение иммунных реакций в свою очередь приводят к длительному рецидивирующему течению пародонтита, торпидному и рефрактерному к проводимой традиционной терапии антибактериальными препаратами [4, 11].

И хотя ведущая роль при развитии воспалительного процесса в пародонте связана с облигатной анаэробной и микроаэрофильной микрофлорой, все чаще наряду с бактериальной флорой присутствует и грибковая [7]. В стоматологической практике часто встречаются ситуации, когда при длительном применении больших доз антибиотиков грибковая микробиота в полости рта начинает активироваться и проявлять патогенные свойства [5]. Интерес к изучению видового состава грибов *Candida* связан также и с тем, что разные виды дрожжевых грибов имеют неодинаковую чувствительность к применяемым антимикотическим и антисептическим препаратам, что может обусловить в дальнейшем безуспешность проводимой терапии. В частности, *C. glabrata* и *C. krusei* отличаются высокой устойчивостью к флюконазолу [6].

Лечение хронических воспалительных заболеваний пародонта, в том числе ассоциированных с различным представительством грибов *Candida* в биотопе, является актуальной проблемой стоматологии. Лазерные технологии открывают новые перспективы в лечении данной патологии, особенно на фоне растущей резистентности микробиоты к антибактериальным и противогрибковым препаратам. За последнее десятилетие накоплен достаточно большой клинический материал по применению фотодинамической терапии при лечении различных заболеваний полости рта, включая патологию слизистой оболочки, десен, пародонта, а также в амбулаторной хирургии челюстно-лицевой области [5, 10, 12].

В частности, установлено, что грибы рода *Candida* нередко присутствуют в составе смешанных микробных биопленок полости рта либо при развитии кандидоза сами формируют мощную биопленку [2, 3]. Подбор методов фотодинамического воздействия, фотосенсибилизатора, способного влиять на данный инфекционный фактор, впоследствии может дать оптимальный результат при лечении кандидоза слизистой оболочки полости рта.

Однако вопрос о влиянии фотохимической реакции, опосредованной различными фотосенсибилизаторами и при использовании

разных типов аппаратов для проведения фотодинамической терапии, остается открытым, так как исследований в эксперименте *in vitro* с использованием современных технологий мониторинга роста дрожжевых грибов, по нашим данным, не проводилось. Последнее и явилось основанием для настоящего исследования.

Цель работы: оценка фунгистатической эффективности фотодинамического воздействия с применением разных типов аппаратов и фотосенсибилизаторов в отношении различных видов дрожжевых грибов рода *Candida* с применением автоматизированной системы культивирования в реальном времени.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для данного экспериментального исследования использовали клинические изоляты грибов рода *Candida*, выделенные при воспалительных заболеваниях полости рта: *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata* и *Candida krusei*.

Для сохранности жизнеспособности микроорганизмов, выделенных у пациентов в ЛПУ, в процессе транспортировки материала в лабораторию использовали транспортную среду M306 Stuart Transport Medium (HiMedia, Индия). Выделение, культивирование и идентификацию выделенных штаммов проводили в соответствии со стандартным протоколом [3, 4].

Первичный посев для выделения грибов рода *Candida* осуществляли на хромогенную питательную среду M1297A (HiMedia, Индия). Посевы помещали в термостат при 37°C на 48 часов. После получения и идентификации чистых культур (идентификация проводилась с помощью интерпретирующих таблиц к хромогенной питательной среде) готовили взвеси двухсуточных культур стандартной по оптической плотности концентрации, которые использовали для экспериментального исследования с использованием биореактора «Реверс-Спиннер RTS-1» (BioSan, Латвия; рис. 1). Данная система предназначена для культивирования микроорганизмов и сравнительной оценки их роста при разных воздействиях в режиме реального времени. Для культивирования микроорганизмов в биореакторе использовали жидкую питательную среду Fluid Sabouraud Medium M013 (HiMedia, Индия) в пробирках объемом 50 мл с мембранным фильтром.



Рис. 1. Система для одновременного культивирования микроорганизмов «Реверс-Спиннер RTS-1» (BioSan, Латвия)

Таблица 1. Технические характеристики маломощных диодных устройств для фотодинамической обработки, использованных в экспериментальном исследовании

Параметр	FotoSan 360	Lazurit
Длина волны, нм	630	635
Выходная мощность, мВт	50–100	50–100
Время излучения, с	10–30	10–150
Режим работы	Импульсный	Непрерывный
Фотосенсибилизатор	Толуидиновый синий (хлорид толония)	

Интерпретацию результатов проводили по изменению мутности клеточной суспензии (взвеси) на основании оценки оптической плотности (OD) при длине волны 850 нм.

В исследовании использовали два разных типа диодных аппаратов для генерации излучения 630–635 нм: с импульсным — FotoSan 360, и непрерывным — Lazurit, режимами работы. Описание и технические характеристики приборов фотодинамического воздействия, применяемые в эксперименте, представлены в табл. 1.

Для определения чувствительности выделенных штаммов к фотодинамическому воздействию применяли собственную модификацию метода серийных разведений, разработанную на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии МГМСУ им. А.И. Евдокимова [8]. Для каждого эксперимента отдельно в стерильных пробирках объемом 15 мл готовили бактериальную взвесь в общем количестве 5 мл. Оптическую плотность полученной взвеси измеряли с помощью денситометра DEN-1B (BioSan, Латвия), которая в конечном итоге для каждого эксперимента составила $2,82 \pm 0,3$ McF.

В каждой серии эксперимента для каждого вида грибов проводили культивирование в трех разных пробирках: № 1 — контроль, а № 2 и № 3 — после фотодинамической терапевтической обработки (ФДО, англ. — FDT) в присутствии препаратов толуидинового синего (в зарубежной прессе — толония хлорид) для приборов Fotosan и Lazurit соответственно.

При культивировании в каждую пробирку объемом 50 мл добавляли 19,5 мл питательной среды и вносили 0,5 мл заранее подготовленной взвеси культуры *Candida*, а в пробирки № 2 и № 3 еще и по 0,5 мл соответствующего фотосенсибилизатора. Через 60 секунд обрабатывали инфракрасным пучком света через наконечник, который вводили в пробирку. Экспозиция составляла 30 секунд в соответствии с инструкцией. Продолжительность эксперимента культивирования в биореакторе составила 96 часов.

Статистическую обработку данных проводили непараметрическим методом с использованием критерия χ^2 . За достоверную разницу принимали значения $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследование динамики роста грибов рода *Candida* проводили в трех параллелях, что отражалось на графиках

кривых роста популяций каждого вида. В качестве контроля оценивали рост соответствующего вида грибов, который характеризовался наступлением экспоненциальной фазы роста через 4–12 часов и достигал максимума с переходом в стационарную фазу роста через 16–20 часов от начала культивирования в зависимости от вида микроорганизма. Во всех случаях показатель начала стационарной фазы роста был достоверно выше (от 5,0 до 6,3 OD), чем при фотодинамическом воздействии. При оценке кривых роста бактериальных популяций исследуемых видов микроорганизмов получены следующие данные.

У клинического изолята *Candida albicans* (рис. 2) лаг-фаза отмечалась до 12 часов культивирования и оказалась самой продолжительной по сравнению с остальными образцами. На кривых роста штамма логарифмическая фаза роста началась одновременно для всех проб, и ее окончание различалось только в показаниях оптической плотности. Для контрольного образца и образца с аппаратом Lazurit окончание логарифмической фазы и начало стационарной — 20 часов, с показателем 5,25 и 5,19 McF соответственно. Образец с аппаратом FotoSan 360 показал окончание логарифмической фазы на 28-й час, с последующим сохранением прироста бактериальных популяций до начала стационарной фазы до 5,01 McF. Максимальная концентрация была достигнута на 72-й час и составила 6,46 McF, что на 1,46 единиц меньше по сравнению со средним показателем оптической плотности в первых двух образцах. Следовательно, торможение роста популяции дрожжевых грибов при ФДО аппаратом FotoSan 360 было максимальным, а аппаратом Lazurit — статистически достоверно меньше.

Кривая роста штамма клинического изолята *Candida tropicalis* (рис. 3) характеризовалась средней продолжительностью лаг-фазы с переходом в фазу логарифмического роста (экспоненциального) на 8-й час культивирования с достаточно резким подъемом кривой роста популяции. Окончание экспоненциальной фазы происходило одновременно во всех пробах на 16-й час культивирования, но переход в стационарную фазу отличался скоростью прироста бактериальных популяций в пробирках № 2 и № 3, где заканчивался на 20-й час, а в контрольной пробирке скорость прироста практически отсутствовала, и начало стационарной фазы совпадало с окончанием экспоненциальной фазы. Дальнейший бактериальный прирост в стационарной фазе характеризовался достижением максимальной концентрации. В контрольном образце кривая роста достигала максимума на 84-й час (7,11 McF), что было на 0,58 единиц McF больше, чем после обработки аппаратом Lazurit, и на 1,41 единицу McF больше, чем после обработки аппаратом FotoSan 360. Следовательно, торможение роста популяции дрожжевых грибов при ФДО аппаратом FotoSan 360 было более выраженным, а аппаратом Lazurit — было статистически недостоверным.

Кривая роста штамма клинического изолята *Candida glabrata* (рис. 4) отличалась более длинной лаг-фазой,

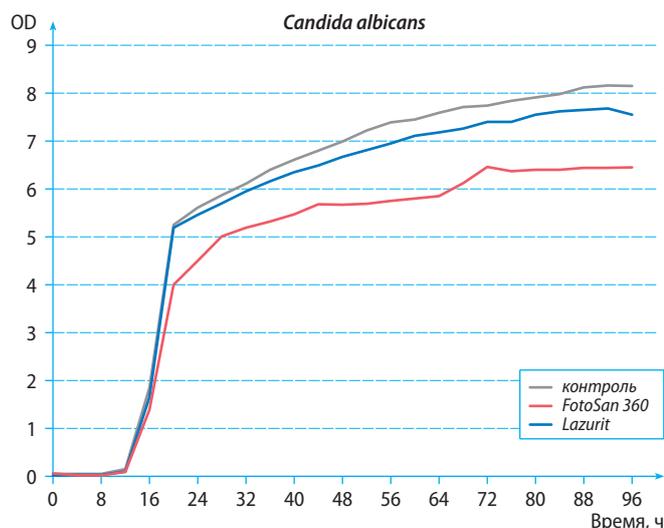


Рис. 2. Кривая роста штамма клинического изолята *Candida albicans* при использовании разных вариантов ФДО

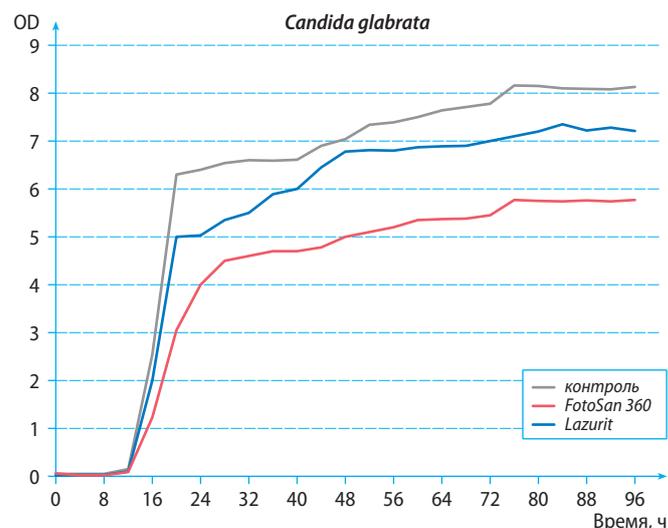


Рис. 4. Кривая роста штамма клинического изолята *Candida glabrata* при использовании разных вариантов ФДО

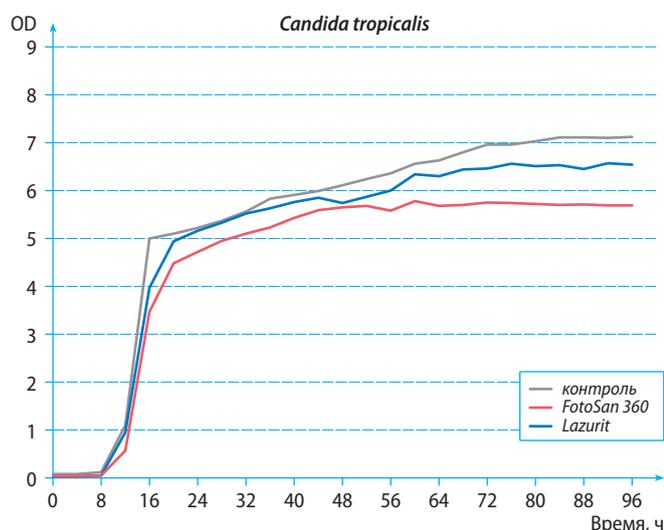


Рис. 3. Кривая роста штамма клинического изолята *Candida tropicalis* при использовании разных вариантов ФДО

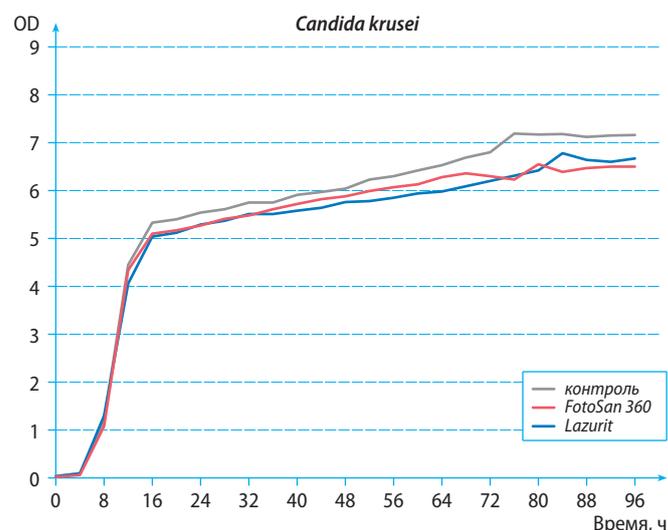


Рис. 5. Кривая роста штамма клинического изолята *Candida krusei* при использовании разных вариантов ФДО

чем в предыдущем образце, и достаточно резким переходом в фазу логарифмического роста после 12 часов культивирования. Окончание экспоненциальной фазы в контрольной пробирке отмечалось на 20-й час с четким переходом в стационарную фазу. Максимальная концентрация была достигнута на 76-й час культивирования — 8,16 МсФ. Фаза логарифмического роста в исследуемых пробирках № 2 и № 3 отмечалась постепенным переходом в стационарную фазу, с равномерным распределением скорости прироста бактериальных клеток относительно времени культивирования. При обработке аппаратом Lazurit экспоненциальная фаза заканчивалась на 20-й час с показанием оптической плотности 5,00 МсФ, максимальная концентрация в стационарной фазе — 84–96-й час (7,35 МсФ), а при обработке аппаратом FotoSan 360 — на 28-й час с показанием оптической плотности 4,5 МсФ, максимальная концентрация в стационарной фазе — 76–92-й час (5,77 МсФ). Следовательно, торможение роста популяции дрожжевых

грибов при ФДО аппаратом FotoSan 360 было максимальным, а аппаратом Lazurit — статистически достоверно меньше.

Очень короткая лаг-фаза отмечалась на кривых роста штамма клинического изолята *Candida krusei* (рис. 5). Логарифмическая фаза роста началась на 4-й час культивирования, а ее переход в стационарную фазу был одинаковым для всех проб — 16-й час культивирования. Скорость прироста бактериальных популяций (в фазе замедления логарифмического роста) отмечалась во всех пробирках в промежутке с 12-го по 16-й час. В контрольном образце максимальная концентрация была достигнута на 76-й час культивирования с показателем 7,19 МсФ. В исследуемых пробирках кривые стационарной фазы в разных образцах ФДО отличались перекрестным расположением по отношению друг к другу: для аппарата FotoSan 360 пик был достигнут на 80-й час культивирования — 6,55 МсФ, а для аппарата Lazurit — на 84-й час с показателем 6,78 МсФ. Средняя

разница пиковых показателей между контролем и исследуемыми образцам — 0,23 McF. Таким образом, для *Candida krusei* не выявлено существенных различий торможения роста популяции по данным сравнения кривых роста между разными устройствами для ФДО, а также и по сравнению с контролем.

ОБСУЖДЕНИЕ

Широкое применение химиотерапевтических препаратов приводит к развитию полирезистентных штаммов, на которые традиционно применяемые средства перестают действовать, поэтому сейчас все чаще наряду с терапевтическими и хирургическими направлениями в лечении заболеваний пародонта увеличивается число безмедикаментозных способов лечения, оказывающее местное воздействие на воспаление [5, 10].

Применение неадекватно подобранного антимикробного препарата может наоборот спровоцировать к размножению возбудителей, тем самым клинический эффект не будет достигнут. В итоге возникает хронизация процесса с наступающей затем устойчивостью к препарату либо к основному заболеванию присоединяется суперинфекция, или может развиться совсем новое, второе «индуцированное» заболевание. Кроме того, известно, что недостаточная концентрация препаратов в десневой жидкости и микробной биопленке зачастую оказывается ниже минимальной ингибирующей концентрации микроорганизма-мишени. Ситуация осложняется тем, что матрица микробной биопленки формирует экологическое убежище, защищающее бактериальные клетки от действия антибиотиков, что приводит к необходимости увеличения концентрации препарата [12].

При воспалительных заболеваниях пародонта практически во всех случаях имеется колонизация пародонтальных карманов с участием нескольких пародонтопатогенов в ассоциации с грибковой флорой. Состав колонизирующих микроорганизмов, а точнее их комбинации могут варьировать как для разных зон поражения, так и для разных больных. В связи с этим проведение антисептической терапии должно основываться на результатах микробиологических исследований [8, 9].

Вышеизложенные факты побуждают специалистов к развитию и разработке новых способов воздействия на микроорганизмы ротовой полости, и одним из них является фотодинамическая терапия. Однако, как показали наши исследования, чувствительность разных штаммов грибов существенно различается, что может зависеть как от используемого фотосенсибилизатора (толуидиновый синий, толония хлорид и т.п.), так и от характеристик фотодиодного источника излучения.

Таблица 2. Сравнительная характеристика количественных параметров (по оптической плотности) роста популяций дрожжевых грибов *Candida* после фотодинамической обработки аппаратами FotoSan 360 и Lazurit, с учетом узловых точек кривой роста

Штамм	Проба	Лag-фаза	Пик подъема экспоненциальной фазы	Пик подъема стационарной фазы	Среднее по стационарной фазе
<i>Candida albicans</i>	К	0,15±0,04	5,25±0,11	8,16±0,15	7,14±0,24
	FotoSan	0,09±0,03	5,01±0,10*	6,46±0,16*	5,91±0,23*
	Lazurit	0,10±0,03	5,09±0,11*	7,68±0,24*	5,97±0,24*
<i>Candida krusei</i>	К	0,10±0,03	5,33±0,14	7,19±0,26	6,34±0,26
	FotoSan	0,06±0,02	5,10±0,15	6,55±0,25	5,96±0,25
	Lazurit	0,09±0,03	5,04±0,16	6,78±0,26	5,90±0,25
<i>Candida glabrata</i>	К	0,15±0,04	6,30±0,14	8,16±0,26	7,35±0,25
	FotoSan	0,09±0,03	4,50±0,15*	5,77±0,16*	5,25±0,25*
	Lazurit	0,10±0,03	5,00±0,15*	7,35±0,25*	6,53±0,26*
<i>Candida tropicalis</i>	К	0,12±0,03	5,00±0,15	7,11±0,25	6,28±0,26
	FotoSan	0,15±0,04	4,48±0,14	5,78±0,26	5,47±0,26
	Lazurit	0,15±0,03	4,94±0,15	6,56±0,25	6,02±0,25

* Достоверное снижение показателя при исследуемом фотодинамическом воздействии по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, оптимизм клиницистов в отношении применения фотодинамической терапии [5, 12] при лечении воспалительных процессов полости рта, ассоциированных с дрожжевыми грибами рода *Candida*, не всегда оправдан. Полученные в нашем исследовании результаты о влиянии фотохимической реакции на штаммы разных видов дрожжевых грибов рода *Candida* в лучшем случае свидетельствуют о фунгистатическом воздействии фотохимической реакции на возбудителя, которое было продемонстрировано при использовании аппарата Fotosan 360 на штаммах *C. albicans* и *C. glabrata*, в то время как другой аппарат, использованный в нашем исследовании Lazurit, оказался менее эффективным. Аналогичная картина наблюдалась в эксперименте со штаммом *C. tropicalis*, причем его чувствительность при фотодинамической обработке аппаратом Fotosan 360 была минимальной, а аппаратом Lazurit — отсутствовала.

Неоднозначные результаты получены также и в зависимости от видовой принадлежности грибов. Так, если *C. albicans* и *C. glabrata* были чувствительны к фотодинамическому воздействию и наблюдалось существенное снижение амплитуды кривой роста популяции в результате этого воздействия, то штамм клинического изолята *C. krusei*, напротив, оказался устойчивым к фотодинамическому воздействию (достоверных различий по сравнению с контролем не получено для обоих фотодиодных аппаратов, использованных в исследовании).

Л И Т Е Р А Т У Р А :

1. Вавилова Т.П., Митронин А.В., Перевощикова О.А. Исследование короткоцепочечных органических кислот в смешанной слюне пациентов с пародонтитом на фоне патологии желудочно-кишечного тракта. — *Пародонтология*. — 2012; 4 (65): 3—7.

2. Давыдова М.М., Плахтий Л.Я., Царев В.Н. Методы микробиологического исследования, применяемые в стоматологии. — В кн.: Царев В.Н. (ред.). Микробиология, вирусология, иммунология полости рта. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. — С. 223—268.

3. Мороз А.Ф., Снегирева А.Е. Дрожжевые грибы рода *Candida* — возбудители кандидозов. — В кн.: Лабинская А.С., Костюкова Н.Н. (ред.). Руководство по медицинской микробиологии. Кн. III. Том 1. Оппортунистические инфекции: возбудители и этиологическая диагностика. — М.: Бино, 2013. — С. 504—557.

4. Пожарская В.О., Ушаков Р.В., Царев В.Н., Плахтий Л.Я. Микробная флора и иммунные процессы при заболеваниях слизистой оболочки полости рта. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. — Ч. 2., гл. 32.

5. Разина И.Н., Чепуркова О.А., Чеснокова М.Г., Недосеко В.Б. Лазерные технологии при лечении хронического генерализованного пародонтита, ассоциированного с *Candida spp.* Опыт клинического применения. — *Пародонтология*. — 2013; 1 (18): 24—30.

6. Сахарук Н.А. Кандидоз полости рта. — *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. — 2007; 1: 88—94.

7. Ушаков Р.В., Ушакова Т.В., Пакшин Н.И., Царев В.Н., Ипполитов Е.В., Шамикова Э.Э., Чухаджян Л.А. Перспективы разработки адгезивной двуслойной пленки «Диплен-дента» с комбинированным антибактериальным и фунгицидным эффектом. — *Медицинский алфавит*. — 2015; 1: 15—8.

8. Царев В.Н., Атрушкевич В.Г., Ипполитов Е.В., Подпорин М.С. Сравнительный анализ антимикробной активности пародонтальных антисептиков с использованием автоматизированной системы контроля роста микроорганизмов в режиме реального времени. — *Пародонтология*. — 2017; 1 (82): 4—10.

9. Царев В.Н., Суркова С.А., Давыдова М.М. Особенности диагностики инвазивной кандидозной инфекции слизистой оболочки полости рта и тканей пародонта. — *Медицинский алфавит*. — 2012; 19: 10—4.

10. Янушевич О.О., Айвазова Р.А., Соколова Е.Ю. Фотоактивируемая дезинфекция как альтернатива традиционным методам антисептического воздействия в эндодонтии, пародонтологии и гастроэнтерологии. — *Эндодонтия Today*. — 2014; 3: 3—8.

11. Cannon R.D., Firth N.A. Грибы и грибковые инфекции полости рта. — В кн.: Ламонт Р.Дж., Лантц М.С., Берне Р.А., Лебланк Д.Дж. (ред.). Микробиология и иммунология для стоматологов. — М.: Практическая медицина, 2010. — С. 378—396.

12. Soukos N.S., Ximenez-Fyvie L.A., Hamblin M.R., Soocransky S.S., Hasan T. Targeted antimicrobial photodynamic therapy. — *Antimicrob Agents Chemother.* — 1998; 42 (10): 2595—601.