

[DOI]10.12016/j.issn.2096-1456.2023.01.003

· 基础研究 ·

# 吡啶菁绿介导的光动力疗法对具核梭杆菌生物膜体外抗菌作用

李雯<sup>1</sup>, 郝婷<sup>2</sup>, 凌宇风<sup>2</sup>, 赵甜<sup>2</sup>, 杨洁<sup>2</sup>, 孙卫斌<sup>2</sup>

1. 南京大学医学院附属口腔医院牙体牙髓病科, 江苏 南京(210008); 2. 南京大学医学院附属口腔医院牙周病科, 江苏 南京(210008)

**【摘要】** 目的 探讨新型光敏剂吡啶菁绿(indocyanine green, ICG)介导的光动力疗法在体外对具核梭杆菌(*Fusobacterium nucleatum*, *F.nucleatum*)生物膜的抗菌作用。方法 CCK-8检测光敏剂ICG的毒性,将*F.nucleatum*以 $10^8$  CFU/mL与浓度分别为0、10、20、30、40  $\mu$ g/mL的光敏剂ICG在厌氧(80% N<sub>2</sub>、10% H<sub>2</sub>和10% CO<sub>2</sub>)条件下混合均匀,用强度为0.1 W/cm<sup>2</sup>的808 nm近红外光照射3 min,以进行抗菌光动力治疗,共培养2 d,形成成熟的生物膜。通过菌落形成单位计数(CFU)比较不同浓度ICG对*F.nucleatum*生物膜的抑菌效果;采用结晶紫定量法和MTT细菌增殖实验检测ICG对*F.nucleatum*生物膜形成量及生物膜代谢活性的影响;采用硫酸-苯酚法测定ICG对*F.nucleatum*生物膜胞外多糖形成的作用;利用激光共聚焦显微镜观察生物膜形成情况及细菌活死数量的变化。结果 随着ICG浓度的增加,菌落数及生物膜的生物量逐渐减少,生物膜代谢活性降低,胞外多糖的产量减小,与对照组相比具有显著性差异( $P < 0.01$ )。同时,激光共聚焦显微镜显示活细菌数量逐渐减少。结论 用光敏剂ICG进行抗菌光动力治疗可以有效抑制*F.nucleatum*生物膜的形成。

**【关键词】** 抗菌光动力疗法; 光敏剂; 吡啶菁绿; 具核梭杆菌; 生物膜; 菌落形成单位计数; 胞外多糖

**【中图分类号】** R78 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2023)01-0010-07

**【引用著录格式】** 李雯, 郝婷, 凌宇风, 等. 吡啶菁绿介导的光动力疗法对具核梭杆菌生物膜体外抗菌作用[J]. 口腔疾病防治, 2023, 31(1): 10-16. doi:10.12016/j.issn.2096-1456.2023.01.003.

***In vitro* study of the antibacterial effects of indocyanine green-mediated photodynamic therapy on *Fusobacterium nucleatum* biofilms** LI Wen<sup>1</sup>, HAO Ting<sup>2</sup>, LING Yufeng<sup>2</sup>, ZHAO Tian<sup>2</sup>, YANG Jie<sup>2</sup>, SUN Weibin<sup>2</sup>. 1. Department of Endodontics, Nanjing Stomatological Hospital, Medical School of Nanjing University, Nanjing 210008, China; 2. Department of Periodontology, Nanjing Stomatological Hospital, Medical School of Nanjing University, Nanjing 210008, China

Corresponding author: SUN Weibin, Email: wbsun@nju.edu.cn, Tel: 86-25-83620173

**【Abstract】 Objective** To investigate the antibacterial effect of a new photosensitizer, indocyanine green (ICG)-mediated photodynamic therapy, on a biofilm of *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) *in vitro*. **Methods** The biocompatibility of the photosensitizer ICG was detected by CCK8. *F. nucleatum* ( $10^8$  CFU/mL) was cultured in anaerobic conditions (80% N<sub>2</sub>, 10% H<sub>2</sub> and 10% CO<sub>2</sub>) mixed with the photosensitizer ICG at concentrations of 0, 10, 20, 30, and 40  $\mu$ g/mL and then treated with antibacterial photodynamic therapy (808 nm near infrared light with an intensity of 0.1 W/cm<sup>2</sup> for 3 min), and a mature biofilm was formed after 2 days. The bacteriostatic effects of different concentrations of ICG on *F. nucleatum* biofilms were compared by colony formation unit count (CFU). The effect of ICG on the formation of *F. nucleatum* biofilms and biofilm metabolic activity was determined by crystal violet quantification and MTT assays. The effect of ICG on the formation of extracellular polysaccharides in *F. nucleatum* biofilms was determined by the phe-

**【收稿日期】** 2022-06-21; **【修回日期】** 2022-07-18

**【基金项目】** 国家自然科学基金面上项目(51772144)

**【作者简介】** 李雯, 硕士, Email: 18844501367@163.com

**【通信作者】** 孙卫斌, 主任医师, 教授, 博士, Email: wbsun@nju.edu.cn, Tel: 86-25-83620173



微信公众号

nol-sulfuric acid method. The change in the number of bacteria was observed by confocal microscopy. **Results** CFU and biomass of the biofilm gradually decreased with increasing ICG concentration, and there were significant differences compared with the control group. Meanwhile, the metabolic activity of the biofilm and the production of extracellular polysaccharides also showed a significant difference between the ICG groups and the control group ( $P < 0.01$ ). At the same time, laser confocal microscopy showed that the number of living bacteria decreased gradually. **Conclusion** Antibacterial photodynamic therapy with photosensitizer ICG can effectively inhibit the formation of *F. nucleatum* biofilms.

**【Key words】** antibacterial photodynamic therapy; photosensitizer; indocyanine green; *Fusobacterium nucleatum*; biofilm; colony formation unit count; exopolysaccharides

**J Prev Treat Stomatol Dis, 2023, 31(1): 10-16.**

**【Competing interests】** The authors declare no competing interests.

This study was supported by the grants from National Natural Science Foundation of China (No. 51772144).

牙周炎是由革兰氏阴性厌氧菌引起的口腔疾病,而菌斑是牙周炎的始动因子。目前常用的治疗方法包括机械清创和抗生素治疗,但是传统的手工器械难以到达感染最深处,不能有效控制炎症的发生和清除菌斑生物膜<sup>[1-2]</sup>。另外,大剂量抗生素的长期使用使得越来越多的细菌菌株产生耐药性,而且高剂量抗生素不容易穿透生物膜<sup>[3-4]</sup>。

近年来,光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)作为一种新型的无创光化学控制感染的方法,逐渐成为去除菌斑生物膜的新手段。光敏剂吲哚菁绿(indocyanine green, ICG)是美国FDA批准的唯一可以在人体使用的三碳菁染料,其最大吸收波长约为800 nm,被广泛应用于荧光血管造影<sup>[5]</sup>、肝功能评估<sup>[6]</sup>、外科引导导航成像<sup>[7]</sup>及抗肿瘤、抗菌的PDT中<sup>[8-10]</sup>。具核梭杆菌(*Fusobacterium nucleatum*, *F. nucleatum*)是牙菌斑生物膜早期及晚期定植菌重要的桥梁菌,在生物膜的形成过程中发挥着重要作用<sup>[11]</sup>。因此,本实验旨在探讨光敏剂ICG介导的PDT在体外对*F.nucleatum*生物膜的抗菌作用,以期为慢性牙周炎的治疗提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要试剂与仪器

吲哚菁绿(上海源叶生物,中国);DMEM细胞培养基;胎牛血清(FBS);胰酶消化液(Gibco,美国);PBS缓冲溶液(Hyclone,美国);小鼠成纤维细胞L929(ATCC,美国);*F.nucleatum*(ATCC 25586, ATCC,美国);酵母提取物,L-半胱氨酸盐酸盐;高铁血红素,维生素K,胰蛋白酶大豆肉汤(Sigma-Aldrich,美国);MTT试剂盒,结晶紫染色液(上海碧云天生物技术有限公司,中国);CCK-8试剂盒(Dojindo,日本);活/死细菌试剂盒(Thermo,美

国);共聚焦显微镜(STORM, Nikon, 日本);细菌厌氧培养箱(SPX-70, Thermo, 美国);酶标仪(Spectra-Max M3, Molecular Devices, 美国);红外热成像仪(FLIR C7200 C3, 美国);超净工作台(Sterile-GARD, Baker, 美国)。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 细胞增殖实验** 将L929细胞以5 000个/孔的密度接种于96孔板中,培养24 h。将细胞分为3组:①空白组,无L929细胞的无ICG培养基;②对照组,有L929细胞的无ICG培养基;③实验组,有L929细胞的有ICG培养基。将培养板放在培养箱中培养24 h(37 ℃, 5% CO<sub>2</sub>)。第2天,弃去培养基,在避光条件下,加入100 μL/孔含不同浓度ICG的培养基(0、10、20、30、40、50、60 μg/mL),孵育24 h。向每孔内加入10 μL CCK-8及100 μL培养基,37 ℃孵育箱孵育1 h,用酶标仪测定每孔在450 nm处的OD值,通过公式计算细胞的相对存活率,实验重复3次。计算公式如下:

细胞存活率(%)=[实验组OD值-空白组OD值]/[对照组OD值-空白组OD值]×100%

**1.2.2 细菌培养及生物膜形成** 将*F.nucleatum*划线接种于脑心浸液培养基(BHI)(含5 g/L酵母提取物、5 mg/L高铁血红素、1 mg/L维生素K)琼脂平板,37 ℃恒温厌氧箱(80% N<sub>2</sub>、10% H<sub>2</sub>和10% CO<sub>2</sub>)培养72 h, BHI液体培养基培养至对数生长期。将*F.nucleatum*以10<sup>8</sup> CFU/mL密度接种至24孔板中,并与浓度分别为0、10、20、30、40 μg/mL(根据CCK-8检测结果确定的浓度范围)的光敏剂ICG共培养,然后用强度为0.1 W/cm<sup>2</sup>的808 nm近红外光照射3 min。ICG每24 h更换1次,以与第1天相同的方式用光照射处理孔板。共培养2 d,形成成熟的生物膜。

1.2.3 ICG 介导 PDT 的光热效应观察 为了测量 ICG 的体外光热效应,将不同浓度 ICG (10、20、30、40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 放置在石英皿中,然后 808 nm 的激光器照射 3 min。功率强度为 0.1  $\text{W}/\text{cm}^2$ 。使用红外热成像仪采集照射期间的热图像,以检测其温度变化。实验独立重复 3 次。每隔 20 s 监测 1 次 ICG 的实时温度。

1.2.4 菌落形成单位计数 用机械刮除法收集皿底生物膜,将细菌沉积物用装有 1 mL 培养基的 EP 管悬浮,旋涡混合器震荡。将生物膜悬浮液进行 10 倍系列稀释后,涂布于血琼脂平板上,在 37  $^{\circ}\text{C}$  恒温培养箱中培养 48 h,进行 CFU 计数。所得计数乘以相应稀释倍数。

1.2.5 生物膜生物量测定 吸掉 24 孔板上清液,用新鲜 PBS 冲洗 3 次,空气干燥 20 min,每孔加入 1 mL 多聚甲醛固定液固定 15 min,并用 0.1% 结晶紫染色 15 min,用 PBS 洗除过量的未结合染料,结合的结晶紫用 95% 乙醇脱色。将提取的溶液转移到 96 孔板中。使用酶标仪评估生物膜生物量,测定 600 nm 处的 OD 值。

1.2.6 生物膜代谢活性检测 吸掉 24 孔板上清,用新鲜 PBS 冲洗 3 次,每孔加入 1 mL MTT 染料,厌氧箱中孵育 1 h,然后用等量的 DMSO 处理样品,以溶解蓝紫色结晶紫。黑暗环境下摇动 20 min,将溶液移至 96 孔板中,用酶标仪测定每孔在 540 nm 处的 OD 值。吸光度越高表明样品上的生物膜的代谢活性越高。

1.2.7 胞外多糖检测 使用硫酸-苯酚法测定生物膜的细胞外聚合物 (extracellular polymeric substance, EPS) 中的水不溶性多糖。吸掉 24 孔板上清, PBS 冲洗 3 次,并用机械刮除法收集孔底生物膜,重悬于 1 mL 去离子水中。加入 1 mL 6% 苯酚溶液,接着加入 5 mL 95% 硫酸。室温育 30 min,然后将 100  $\mu\text{L}$  溶液转移到 96 孔板中。通过测量 490 nm 处的 OD 值来比较生物膜中多糖的量。

1.2.8 细菌生物膜活/死染色 采用细菌活/死染色试剂盒对样品进行染色,按照细菌活/死染色试剂盒说明书的方法操作,将每孔加入 300  $\mu\text{L}$  生理盐水, 0.3  $\mu\text{L}$  SYTO9 和 0.3  $\mu\text{L}$  PI 混合,避光条件下将每个样品染色 15 min。共聚焦生物显微镜拍摄显示的生物膜。所有实验重复 3 次,每组标本中随机选取 5 张图像。

### 1.3 统计学分析

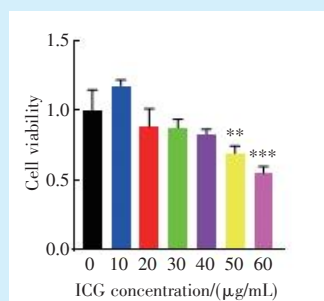
采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析。通过单

因素方差分析评估细菌 CFU 计数、生物膜生物量、MTT 细菌代谢活性及 EPS 测定中的差异,  $P < 0.05$  认为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 ICG 浓度对细胞增殖的影响

CCK-8 检测不同浓度 ICG (0、10、20、30、40、50、60  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 对小鼠成纤维细胞 L929 细胞毒性的影响。结果显示, ICG 浓度为 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  可以促进小鼠成纤维细胞的增殖,随着 ICG 浓度的增加, L929 的活力下降,当 ICG 浓度在 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  和 60  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,细胞的存活率分别在 69.0% 和 54.8%,与对照组结果相比差异具有统计学意义 ( $P < 0.01$ ) (图 1)。



The proliferation ability of L929 cells was decreased when the concentration of ICG increased. The cell viability decreased significantly when the concentration of ICG was 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  and 60  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . \*\*: compared with the control group (ICG=0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ),  $P < 0.01$ , \*\*\*: compared with the control group (ICG=0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ),  $P < 0.001$

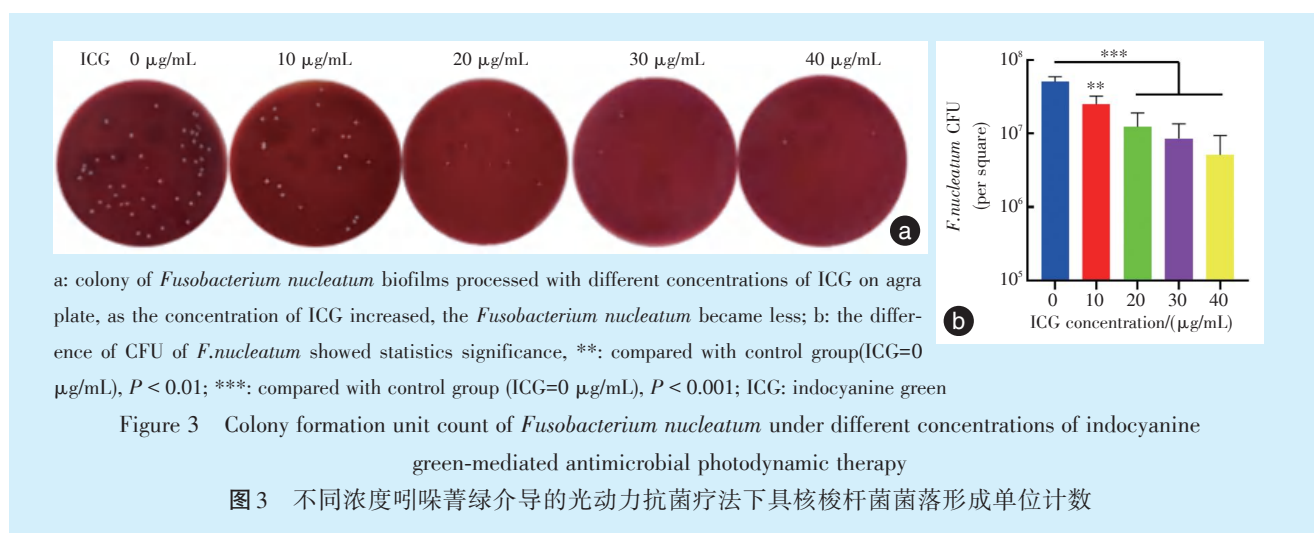
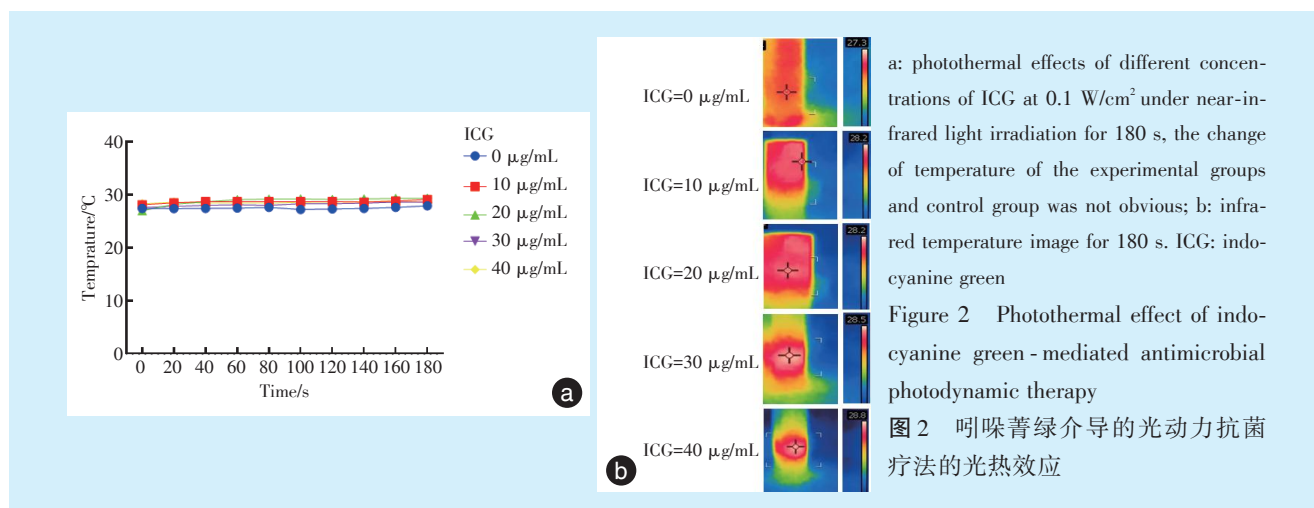
Figure 1 CCK-8 detected the effects of different concentrations of indocyanine green on L929 cell proliferation  
图 1 CCK-8 检测不同浓度吲哚菁绿对 L929 细胞增殖的影响

### 2.2 ICG 介导 PDT 的光热效应观察

ICG 引起的光热效应如图 2 所示。随着 ICG 浓度的增加,石英皿中的温度变化较小。在 0.1  $\text{W}/\text{cm}^2$  的相同照射剂量下,不同 ICG 浓度下细菌悬浮液的温度从 25.7  $^{\circ}\text{C}$  增加至 29.1  $^{\circ}\text{C}$ 。

### 2.3 菌落形成单位计数

如图 3 所示,采用 CFU 检测不同浓度 ICG 对 *Fn* 生物膜菌落数影响。经过近红外激光照射后的混悬液形成的生物膜,稀释相同倍数后血平板上的菌落数随着 ICG 浓度增加而逐渐减少,从 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  增至 40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,光动力效应显著增强,与对照组相比差异具有统计学意义 ( $P < 0.001$ )。



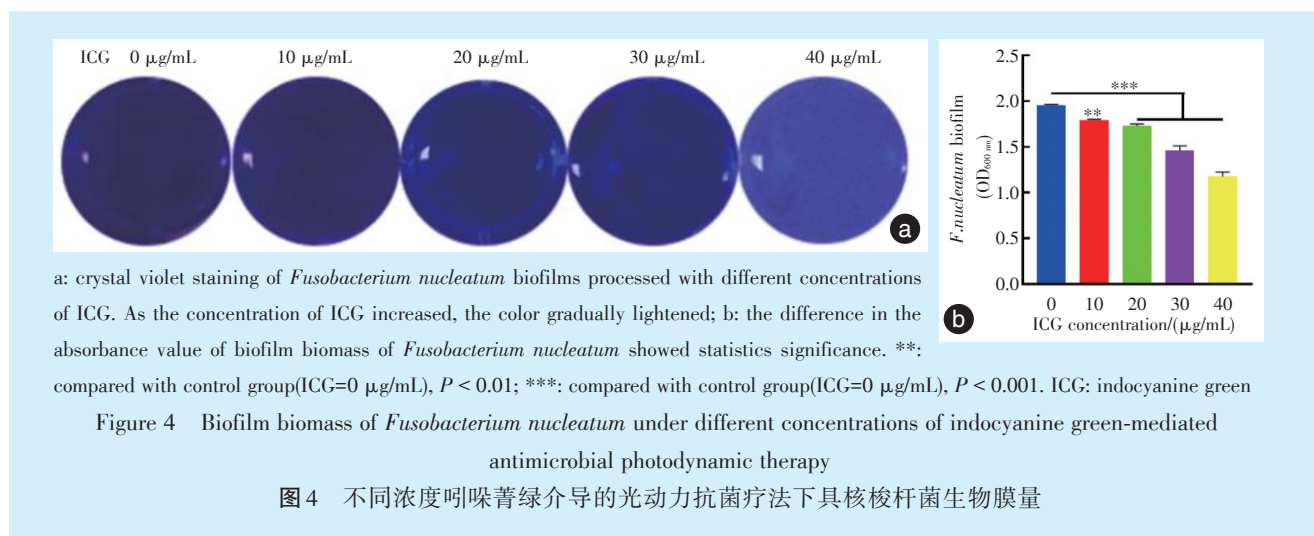
#### 2.4 生物膜生物量的测定

含有不同浓度 ICG 的细菌混悬液经过近红外激光照射 3 min 后,如图 4 所示,随着 ICG 浓度的增加, *F.nucleatum* 生物膜生物量逐渐降低,与对照组

相比,差异具有统计学意义( $P < 0.01$ ),表明随着 ICG 浓度的增加,抑菌作用逐渐增强。

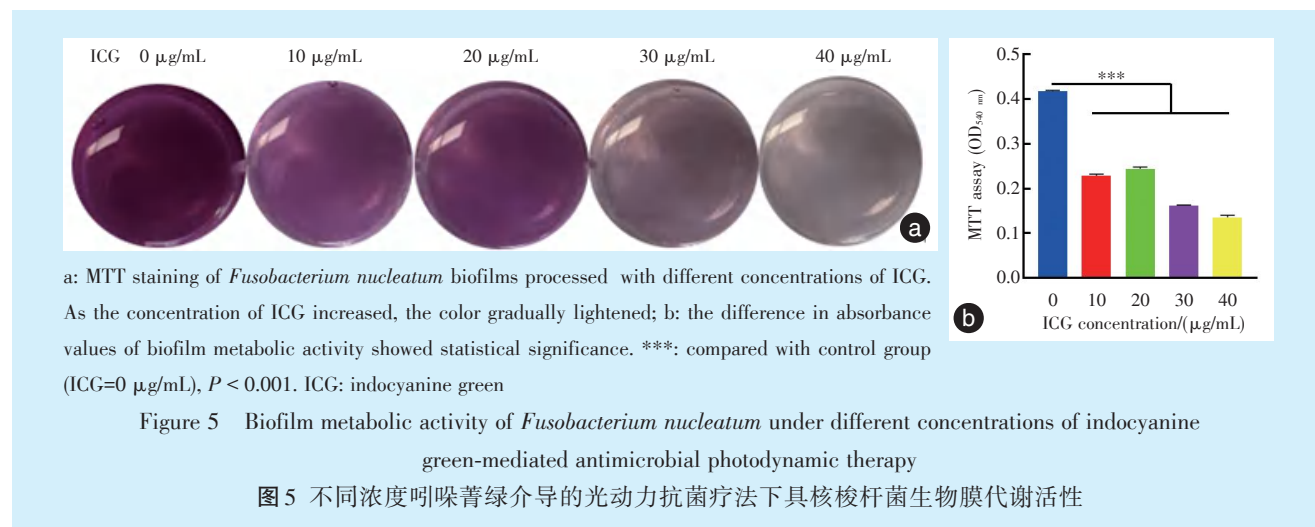
#### 2.5 生物膜代谢活性测定

如图 5 所示,采用 MTT 法检测不同浓度的 ICG



对 *F.nucleatum* 生物膜代谢活性的影响。结果显示,混悬液经过近红外激光照射 3 min 后,随着 ICG 浓度的增加,生物膜代谢活性逐渐降低,OD 值呈

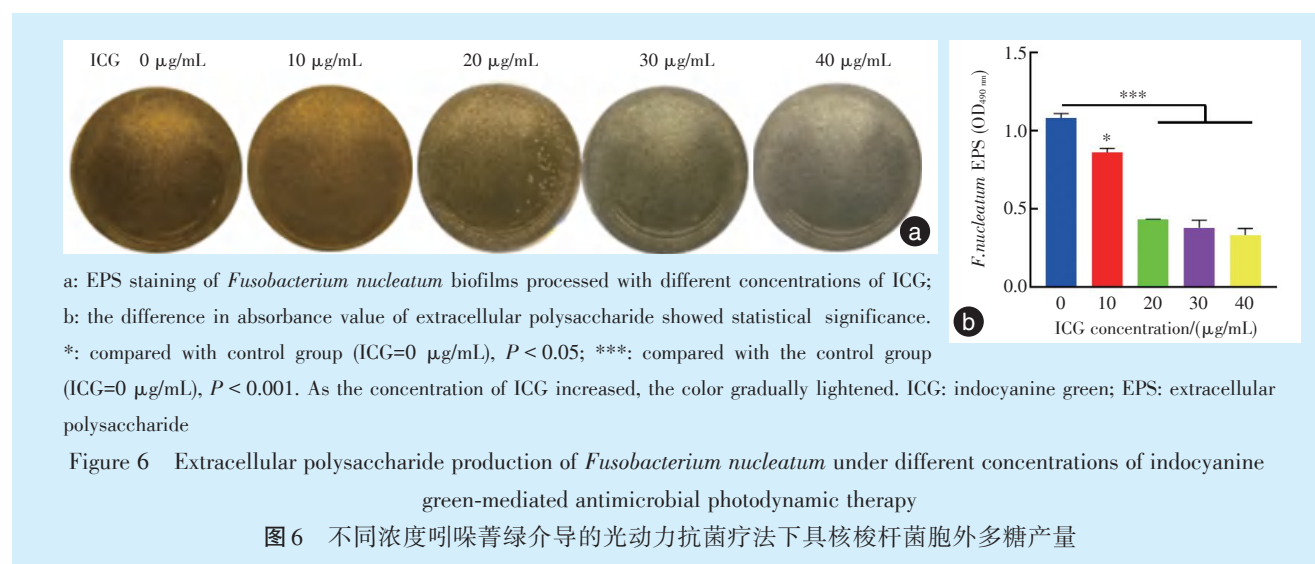
下降趋势,与对照组相比,差异具有统计学意义 ( $P < 0.001$ ),表明随着 ICG 浓度的增加,抑菌作用逐渐增强,可以有效抑制生物膜的代谢活性。



## 2.6 胞外多糖产量测定

图6所示,含有不同浓度 ICG 的细菌混悬液经过近红外激光照射 3 min 后,胞外多糖检测结果示,剩余生物膜胞外多糖的 OD 值随着 ICG 浓度的

升高而下降,与对照组相比,ICG 浓度为 10 µg/mL 时,胞外多糖产量的差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); ICG 浓度为 20、30 和 40 µg/mL 时,组间差异具有统计学意义 ( $P < 0.001$ )。



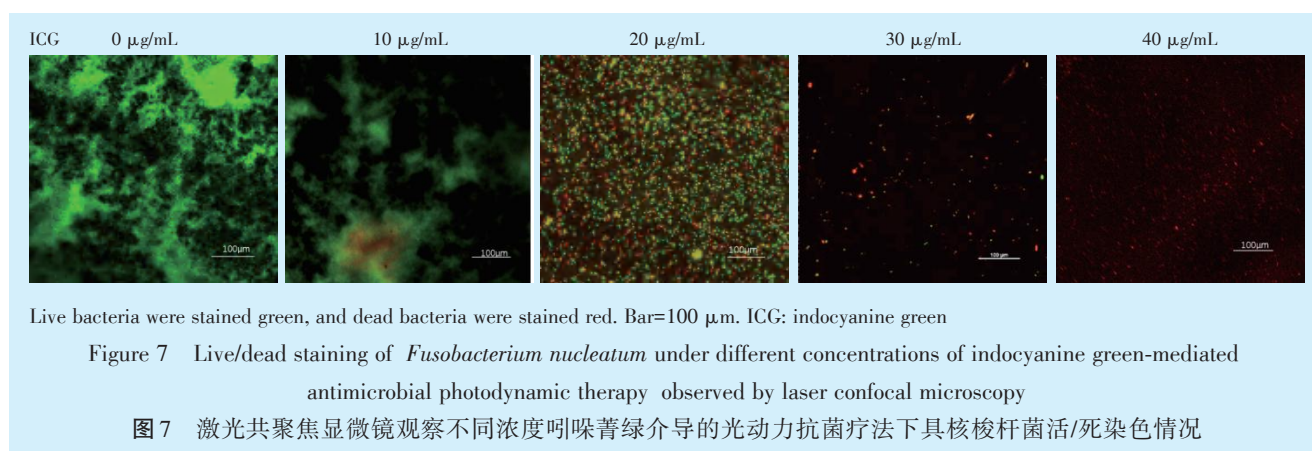
## 2.7 细菌生物膜活/死染色

生物膜活/死染色实验结果显示,随着 ICG 浓度的上升,*F. nucleatum* 活菌数量显著下降(图7)。

## 3 讨论

近年来,光动力治疗作为慢性牙周炎的辅助治疗手段受到了越来越多的关注。该治疗的主要原理是利用光敏剂吸收一定波长范围的光能量与环境氧发生能量交换,产生以单线态氧为代表的

一系列毒性活性产物破坏生物膜结构,使细胞或微生物死亡,从而达到治疗效果<sup>[12]</sup>。相比传统的机械刮除法或使用抗生素去除牙菌斑,PDT 治疗牙周炎有以下几方面的优势:①通过光敏剂和适当波长的光产生活性氧清除目标微生物,能够克服细菌因使用抗生素所产生的耐药性等问题<sup>[13]</sup>;②操作简便,抗菌谱广,杀菌效率高<sup>[14]</sup>。紫外线和可见光在 PDT 治疗中有一定的效果,但其吸收波长有限,不容易穿透牙周袋深层组织,而近红外光



穿透力度大,可用于治疗深部区域。因此,根据 ICG 近红外吸收特性和光动力学性质<sup>[15]</sup>,本实验以 ICG 作为光敏剂,808 nm 半导体激光作为光源,评估了 PDT 疗法对 *F.nucleatum* 生物膜的抗菌作用。

有研究表明 ICG 抗菌的原理主要是通过光热效应主导了微生物的杀灭<sup>[16-17]</sup>。然而,本实验中使用 0.1 W/cm<sup>2</sup> 功率照射 3 min,不同浓度 ICG 的终温度略有上升,但在小范围内浮动,当 ICG 浓度为 40 μg/mL 时,终温度为 29.1 °C,因此本实验中 ICG 的抗菌作用并不是通过光热效应发挥了作用。有文献报道,ICG 光敏剂在光动力治疗中表现出其独特的优越性,其吸收峰值为 808 nm 波长,产氧率高,有较低的细胞毒性<sup>[18-19]</sup>。为了选取细胞毒性较低的 ICG 浓度进行抑菌实验,本实验首先利用 CCK-8 法检测了 ICG 浓度对小鼠 L929 成纤维细胞增殖的影响,结果显示其浓度在 0、10、20、30、40 μg/mL 时,细胞存活率在 80% 以上,而 50 μg/mL 和 60 μg/mL 时,存活率只有 69% 和 54.8%。因此,本实验选取了 0、10、20、30、40 μg/mL 的 ICG 浓度进行 *F.nucleatum* 生物膜的抗菌实验。

采用 CFU 检测不同浓度 ICG 对单菌种生物膜菌落数影响,可以直观地观察到血平板上相同稀释倍数的菌落数随着本实验中,ICG 浓度增加而逐渐减少,提示 ICG 浓度从 0 μg/mL 增至 40 μg/mL,抑菌效果显著增强。结晶紫染色结果显示 ICG 浓度越高,细菌生物膜生物量越少,而 MTT 结果显示,虽然 ICG 浓度为 20 μg/mL 的代谢活性与 10 μg/mL 时差异无统计学意义,但整体趋势与生物膜生物量的结果基本一致。这说明生物膜的生物量越高,生物膜的代谢活性越强。虽然生物膜中的活性物质占生物膜总量很小,但这些活性物质却与生物膜中的生物化学反应密切相关<sup>[20]</sup>。

EPS 是生物膜中围绕在细菌周围的高度含水量的多聚大分子,主要由多糖和蛋白质构成,在生物膜的形成过程中发挥着重要作用<sup>[21-22]</sup>。本实验中,随着 ICG 浓度增加,OD 值降低,与对照组相比结果具有显著差异。生物膜中的脂多糖对 PDT 治疗产生的单线态氧高度敏感,更容易破坏生物膜,扰乱细菌的定植<sup>[23]</sup>。本实验中激光共聚焦显微镜观察活/死细菌染色情况可以清晰地看出 ICG 的抑菌效果,当光强度 0.1 W/cm<sup>2</sup> 的近红外光照射菌悬液,ICG 浓度为 20 μg/mL 的 *F.nucleatum* 菌悬液形成的生物膜被染成橙色,虽然可以看到一定数量的死菌,但细菌数量并无显著减少,说明低浓度 ICG 抑菌效果较弱,并不能完全杀灭生物膜中的细菌。当 ICG 浓度增加至 30 μg/mL 时,生物膜变稀疏,细菌数量减少。与此同时,含有 40 μg/mL ICG 的 *F.nucleatum* 混悬液经近红外光照射后,生物膜被染成红色,说明大部分细菌被杀死,因此可以说本实验的 ICG 浓度范围内,随着浓度增高,杀菌效果逐渐增强。

综上,利用光敏剂 ICG 进行光动力抗菌治疗,可以有效抑制 *F.nucleatum* 生物膜形成。但本实验为体外实验,并不能完全代表口腔环境,而且,游离光敏剂容易产生荧光淬灭、靶向性不高等问题,因此,未来的研究必须考虑光敏剂对多菌种生物膜的抑菌效果及如何有效清除生物膜。

**[Author contributions]** Li W wrote the article and performed the experiments. Hao T, Ling YF, Zhao T and Yang J performed the experiments. Sun WB designed the study and reviewed the article. All authors read and approved the final manuscript as submitted.

#### 参考文献

- [1] Wojtyła S, Macyk W, Baran T. Photosensitization of CuI - the role of visible light induced CuI → CuII transition in photocatalytic

- degradation of organic pollutants and inactivation of microorganisms[J]. *Photochem Photobiol Sci*, 2017, 16(7): 1079-1087. doi: 10.1039/c6pp00465b.
- [2] Graziani F, Karapetsa D, Mardas N, et al. Surgical treatment of the residual periodontal pocket[J]. *Periodontol 2000*, 2018, 76(1): 150-163. doi: 10.1111/prd.12156.
- [3] Gao L, Koo H. Do catalytic nanoparticles offer an improved therapeutic strategy to combat dental biofilms?[J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2017, 12(4): 275-279. doi: 10.2217/nmm-2016-0400.
- [4] Choi JH, Jung EHa, Lee ES, et al. Anti - biofilm activity of chlorhexidine-releasing elastomers against dental microcosm biofilms[J]. *J Dent*, 2022, 122(4): 104153. doi:10.1016/j.jdent.2022.104153.
- [5] Tsang YP, Leung LA, Lau CW, et al. Indocyanine green fluorescence angiography to evaluate anastomotic perfusion in colorectal surgery[J]. *Int J Colorectal Dis*, 2020, 35(6): 1133 - 1139. doi: 10.1007/s00384-020-03592-0.
- [6] Sakka SG. Assessment of liver perfusion and function by indocyanine green in the perioperative setting and in critically ill patients [J]. *J Clin Monit Comput*, 2018, 32(5): 787 - 796. doi: 10.1007/s10877-017-0073-4.
- [7] Qian Y, Cai S. A safe and effective surgical navigation technique in laparoscopic radical gastrectomy: indocyanine green-mediated near - infrared fluorescent imaging[J]. *Cancer Commun(Lond)*, 2020, 40(6): 270-272. doi: 10.1002/cac2.12033.
- [8] Lee YH, Ma YT. Synthesis, characterization, and biological verification of anti-HER2 indocyanine green-doxorubicin-loaded polyethyleneimine-coated perfluorocarbon double nanoemulsions for targeted photochemotherapy of breast cancer cells[J]. *J Nanobiotechnology*, 2017, 15(1): 41. doi: 10.1186/s12951-017-0274-5.
- [9] Bashir NZ, Singh HA, Virdee SS. Indocyanine green-mediated antimicrobial photodynamic therapy as an adjunct to periodontal therapy: a systematic review and meta-analysis[J]. *Clin Oral Investig*, 2021, 25(10): 5699-5710. doi: 10.1007/s00784-021-03871-2.
- [10] Li X, Huang W, Zheng X, et al. Synergistic *in vitro* effects of indocyanine green and ethylenediamine tetraacetatemediated antimicrobial photodynamic therapy combined with antibiotics for resistant bacterial biofilms in diabetic foot infection[J]. *Photodiagn Photodyn Ther*, 2019, 25(5): 300-308. doi: 10.1016/j.pdpdt.2019.01.010.
- [11] Brennan CA, Garrett WS. *Fusobacterium nucleatum*-symbiont, opportunist and oncobacterium[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2019, 17(3): 156-166. doi: 10.1038/s41579-018-0129-6.
- [12] Baptista MS, Cadet Jean, Di Mascio P, et al. Type I and Type II photosensitized oxidation reactions: guidelines and mechanistic pathways[J]. *Photochem Photobiol*, 2017, 93: 912 - 919. doi: 10.1111/php.12716.
- [13] 周子伊, 任彪, 周学东. 姜黄素介导光动力治疗口腔感染性疾病的研究进展[J]. *口腔疾病防治*, 2022, 30(8): 588-593. doi: 10.12016/j.issn.2096-1456.2022.08.009.
- Zhou ZY, Ren B, Zhou XD. Research progress on curcumin-mediated photodynamic therapy for oral infectious diseases[J]. *J Prev Treat Stomatol Dis*, 2022, 30(8): 588 - 593. doi: 10.12016/j.issn.2096-1456.2022.08.009.
- [14] Mylona V, Anagnostaki E, Parker S, et al. Laser-assisted aPDT protocols in randomized controlled clinical trials in dentistry: a systematic review[J]. *Dent J (basel)*, 2020, 8(3): 107. doi: 10.3390/dj8030107.
- [15] Gamal-Eldeen AM, Alrehaili AA, Alharthi A, et al. Effect of combined perfortan and indocyanine green-photodynamic therapy on hypoxamirs and oncomirs in lung cancer cells[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 844104. doi: 10.3389/fphar.2022.844104.
- [16] Joshi K, Baiju CS, Khashu H, et al. Clinical effectiveness of indocyanine green-mediated antimicrobial photodynamic therapy as an adjunct to scaling root planing in treatment of chronic periodontitis -a randomized controlled clinical trial[J]. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2020, 29(9): 101591. doi: 10.1016/j.pdpdt.2019.101591.
- [17] Wu BY, Fu JT, Zhou YX, et al. Metal-organic framework-based chemo-photothermal combinational system for precise, rapid, and efficient antibacterial therapeutics[J]. *Pharmaceutics*, 2019, 11(9): 463. doi: 10.3390/pharmaceutics11090463.
- [18] Gao W, Zhang J, Wang W, et al. Drug self-delivery nanorods enhance photodynamic therapy of triple-negative breast cancer by inhibiting oxidative phosphorylation[J]. *Int J Pharm*, 2022, 10(621): 121775. doi: 10.1016/j.ijpharm.2022.121775.
- [19] Monzavi A, Chinipardaz Z, Mousavi M, et al. Antimicrobial photodynamic therapy using diode laser activated indocyanine green as an adjunct in the treatment of chronic periodontitis: a randomized clinical trial[J]. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2016, 14(6): 93 - 97. doi: 10.1016/j.pdpdt.2016.02.007.
- [20] Yeor-Davidi E, Zverzhinetsky M, Krivitsky V, et al. Real-time monitoring of bacterial biofilms metabolic activity by a redox-reactive nanosensors array[J]. *J Nanobiotechnol*, 2020, 18(1): 1 - 11. doi: 10.1186/s12951-020-00637-y.
- [21] Kaplan JB, Mlynek KD, Hettiarachchi H, et al. Extracellular polymeric substance (EPS)-degrading enzymes reduce staphylococcal surface attachment and biocide resistance on pig skin *in vivo*[J]. *PloS One*, 2018, 13(10): e0205526. doi: 10.1371/journal.pone.0205526.
- [22] Busi S, Karuganti S, Rajkumari J, et al. Sludge settling and algal flocculating activity of extracellular polymeric substance (EPS) derived from *Bacillus cereus* SK[J]. *Water Environ J*, 2017, 31(1): 97-104. doi: 10.1111/wej.12215.
- [23] Kashaf N, Huang YY, Hamblin MR. Advances in antimicrobial photodynamic inactivation at the nanoscale[J]. *Nanophotonics*, 2017, 6(5): 853-879. doi: 10.1515/nanoph-2016-0189.

(编辑 周春华, 邵龙泉)



官网