

УДК 616.311.2/.314.17-002-085.282:615.36
DOI 10.11603/2311-9624.2023.1.13795

©Т. Ю. Чарківський, О. В. Авдєєв

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України
e-mail: Taras.chark@gmail.com

Дослідження антибактерійних властивостей кріоліофілізованої ксеноочеревини, насиченої розчином хлоргексидину біглюконату

ІНФОРМАЦІЯ

Надійшла до редакції/Received:
03.02.23 р.

Ключові слова: пародонтит; пародонтальні вкладки; антисептик; хлоргексидин; ксеноотканини; кріоліофілізація; ксеноочеревина; антибактерійні властивості; бактеріостатичний ефект; бактерицидний ефект.

АНОТАЦІЯ

Резюме. Антисептики широко застосовують у різних напрямках медицини, зокрема у пародонтології. На даний момент хлоргексидин вважається «золотим стандартом» антисептиків у цьому напрямку стоматології.

Мета дослідження – визначити наявність у кріоліофілізованій ксеноочеревині, насиченій розчином хлоргексидину, достатніх антисептичних властивостей для використання її в ролі пародонтальних вкладок при лікуванні пацієнтів із захворюваннями тканин пародонта, а також визначення оптимальної концентрації хлоргексидину у вищезгаданих вкладках.

Матеріали і методи. Експерименти проводили за допомогою методів серійних розведень у рідкому поживному середовищі та локальної дифузії в агар. Вкладки, виготовлені з кріоліофілізованої ксеноочеревини, насичені 2,5 %, 5 %, 10 % та 20 % розчинами хлоргексидину біглюконату, використали в дослідженнях. Тотожні експерименти проводили з вкладками, що не проходили процес насичення.

Результати досліджень та їх обговорення. У підсумку результати були наступними: кріоліофілізовані ксеноочеревинні вкладки, насичені 20 % розчином хлоргексидину біглюконату, 10 % розчином хлоргексидину біглюконату, 5 % розчином хлоргексидину біглюконату, 2,5 % розчином хлоргексидину біглюконату, володіють достатніми антибактерійними та протигрибковими властивостями, власні антисептичні властивості ксеноочеревини виявились надто низькими, щоби виступати в ролі єдиного антисептичного агента при застосуванні сучасних протоколів пародонтального лікування.

Висновки. Вкладки, насичені 10 % та 20 % розчинами хлоргексидину біглюконату, були відібрані для подальших досліджень.

Вступ. Антисептики широко застосовують у різних напрямках медицини, зокрема у пародонтології. На даний момент хлоргексидин вважається «золотим стандартом» антисептиків у цьому напрямку стоматології [1–3].

Способи та переваги застосування хлоргексидинових вкладок стоматологом під час пародонтологічного лікувального протоколу включають [4]:

1. Під час кюретажу пародонтальних кишень та скелінгу.
2. Підтримувальна пародонтальна терапія обмеженої кількості зубів, де застосування такого засобу є оптимальним.

3. Для випадків, де хірургічне лікування є протипоказаним, або де пацієнт відмовляється від хірургічного лікування.

4. Застосування вкладок із поступовим вивільненням агента є менш інвазивним та довготривалим методом, ніж хірургічне лікування.

Разом з тим, локальне застосування хлоргексидину з подовженим часом дії вимагає спеціального субстрату, який негативно впливає на мікрофлору пародонтальної кишені протягом тривалого часу. Через це було проведено дане дослідження як частину наукової роботи з вивчення застосування кріоліофілі-

Терапевтична стоматологія

зованих вкладок із ксеноочеревини (насичених хлоргексидином) в якості пародонтальних вкладок, що виконуватимуть функцію як депо антисептика у пародонтальній кишені.

Метою дослідження було вивчити антибактеріальні властивості пародонтальних вкладок, виготовлених із ксеноочеревини, насиченої розчинами хлоргексидину біглюконату різних концентрацій, щоби визначити оптимальну концентрацію, яку будуть використовувати для лікування пацієнтів із захворюваннями тканин пародонта.

Матеріали і методи. Пародонтальні вкладки виготовляли зі свинячої очеревини, що пройшла процеси кріоконсервації та ліофілізації [5], згідно із встановленими нормами та технології Інституту біомедичних технологій (рис. 1).

Очеревину промивають теплою кип'яченою водою, висушують марлевими серветками та переміщують у резервуар з 0,1 % розчином «Бла-нідаз Оксидез». Через годину ксенотканини повторно промивають, розміщують на спеціальних поверхнях та дезінфікують бетадином. Далі очеревину поміщають у поліетиленові пакети, які потім наповнюють еквілібраційним розчином (11,5 г лактози, 5 мл гліцерину, 100 мл дистильованої води, антибіотики).

Тканини вирівнюють у вищезгаданому пакуванні, повітря випускають і пакети закривають на поліетиленовий замок. Їх поміщають у холодильник (+4–6 °С) на 3 год, де відбувається процес еквілібрації.

Після рефридjeraції пакети з ксенотканинами поміщають у посудини Дюара, наповнені рідким азотом для довготривалої консервації.



Рис. 1. Сертифікат відповідності ксенотканин.

Наступним етапом пакети вилучають із посудин Дюара та переміщують у спеціальне приміщення для деконсервації. Щоб досягти цього ефекту, пакети опускають у кип'ячену воду. Тривалість процедури при температурі +20–25 °С становить близько 8 год. Потім ксенотканини промивають в ізотонічному розчині.

Підноси з решітками замочують у 0,1 % розчині «Бланідаз Оксидез» протягом 8 год. Потім їх протирають та переміщують на столи для підготовки до ліофілізації.

На столах клапті деконсервованої очеревини поміщають на продезінфіковані решітки. Їх закріплюють на підносах та переносять до ліофілізаційного блоку, де підноси з ксеноочеревиною загрузають у сублімаційну камеру для проведення процедури вакуумного висушування.

Ліофілізація кріоконсервованих ксенотканин відбувається у сублімаційній камері LZ-45.2, згідно з усіма технічними інструкціями та рекомендаціями. Весь процес проходить під наглядом та всі індикатори реєструють у протоколі висушування тканин.

Періодонтальні вкладки виготовляють таким чином: клапті кріоліофілізованої ксеноочеревини нарізали на шматки півмісяцевої форми (площею приблизно 0,25 см²), потім ділили на групи та замочували у розчинах хлоргексидину різних концентрацій (2,5 %, 5 %, 10 %, 20 %) протягом 10 хв. Шматочки розміщували у чашках Петрі, де проходили процедуру ліофілізації вищезгаданими методами. Фінальні вироби вакуумно запаковували.

Визначення оптимальної концентрації розчину хлоргексидину, що використовували при насиченні пародонтальних вкладок, для створення найбільш дієвого антибактерійного та протигрибкового ефектів проводили методом серійних розведень у рідкому поживному середовищі та методом локальної дифузії в агар. Дослідження проводили на базі лабораторії мікробіологічних та паразитологічних досліджень Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, згідно із загальноприйнятими стандартними методами [6]. В експериментах застосовували наступні дослідні мікроорганізми: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 та *Candida albicans* ATCC 885–653, які культивувались на м'ясо-пептонному агарі (бактерійні зразки) та агарі Сабуро (*C. albicans*).

У методі серійних розведень використовували стандартизовану суспензію одностійких культур дослідних мікроорганізмів, концентрацією 0,5 за МакФарландом. Пародонтальні вкладки, насичені розчинами хлоргексидину біглюконату різних концентрацій (2,5 %, 5 %, 10 % та 20 %), занурювали у пробірки з 2 мл стерильного м'ясо-пептонного бульйону. Потім 0,2 мл суспензії дослідних культур мікроорганізмів додавали при концентрації 10⁷ КУО/мл, яку визначали за стандартом оптичної щільності за МакФарландом. Культури інкубували 24 год при температурі 37 °С, після чого візуально оцінювали наявність чи відсутність росту мікроорганізмів у пробірці (рис. 2). Вміст пробірок без ознак мікробного росту висівали на м'ясо-пептонний агар у чашках Петрі для визначення мінімальної інгібувальної концентрації (МІК) та мінімальної бактерицидної концентрації (МБК). МІК – це найнижча концентрація розчину хлоргексидину, при якій ріст мікроорганізмів інгібується.

Стандартизація методу локальної дифузії відбувалась на агарі Мюллера – Хінтона, товщиною 10 мм із лунками діаметром 6 мм та пародонтальними вкладками з ксеноочеревини. Суть методу полягала у додаванні суспензії дослідних культур (концентрація 0,5, визначена за стандартом оптичної щільності за МакФарландом) у розплавлений та охолоджений агар. Потім пародонтальні вкладки з ксеноочеревини поміщали на поверхню затвер-



Рис. 2. Бактерійні культури з пародонтальними вкладками, насиченими хлоргексидином.

ділого поживного середовища та фіксували кількома краплями розплавленого агару. Також створювали окрему лунку, яка заповнювалась 20 % розчином хлоргексидину біглюконату, що виступало в ролі контролю (рис. 3–5). Далі чашки Петрі переносили в інкубаційну камеру при температурі 37 °С. Через 24 год результати оцінювали за допомогою вимірювання діаметрів зон інгібування бактерійного

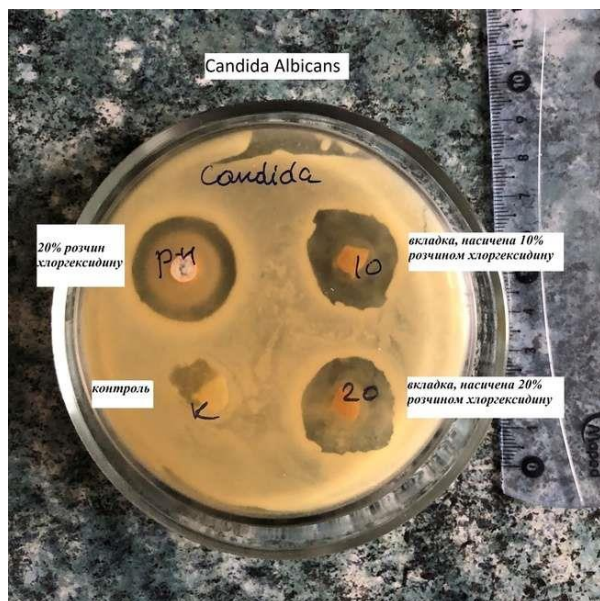


Рис. 3. Чашка Петрі з культурою *Candida Albicans* та пародонтальними вкладками, насиченими розчинами хлоргексидину різних концентрацій.

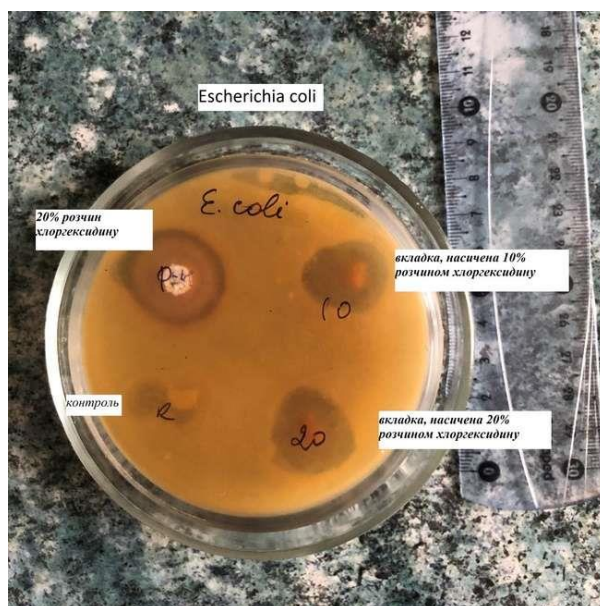


Рис. 4. Чашка Петрі з культурою *Escherichia Coli* та пародонтальними вкладками, насиченими розчинами хлоргексидину різних концентрацій.

росту в міліметрах. Оцінку впливу антисептика на мікроорганізми проводили наступним чином:

– відсутність зони інгібування, а також зона інгібування діаметром до 10 мм трактувалась як відсутність чутливості мікроорганізмів до антисептика;

– зона інгібування від 11 до 15 мм – мала чутливість тест-культури до антисептика;

– зона інгібування від 16 до 25 мм – достатня чутливість тест-культури до антисептика;

– зона інгібування більш ніж 25 мм – висока чутливість тест-культури до антисептика.

Стерильні пародонтальні вкладки з ксеноочеревини (без насичення розчином хлоргексидину) використовували як контроль.

Антимікробний ефект пародонтальних вкладок перевіряли 10 разів. Статистичний аналіз отриманих результатів проводили за методом варіаційної статистики.

Результати досліджень та їх обговорення. Було експериментально доведено, що кріоліофілізована ксеноочеревина не володіє достатніми антибактерійними властивостями сама по собі. Метод серійних розведень довів наступне (табл. 1): інгібування росту дослідних культур мікроорганізмів при використанні зразків ксеноочеревини, просочених 2,5 % розчином хлоргексидину, не спостерігалось; зразки, просочені 5 % розчином хлоргексидину, також виявились не ефективними. Однак мінімальна інгібуваль-

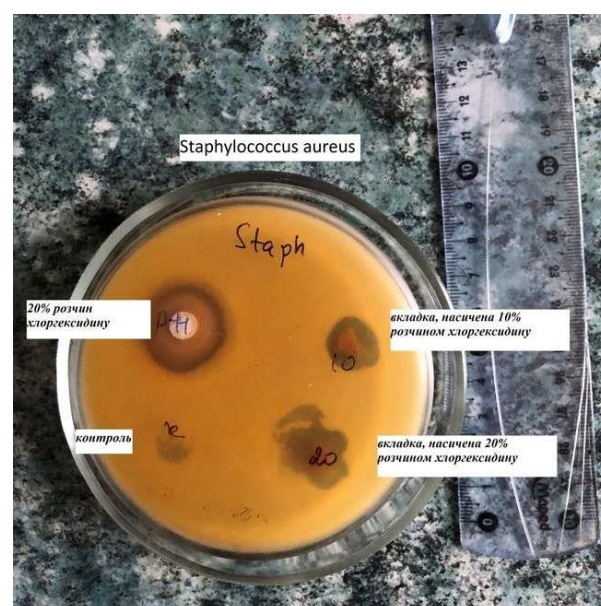


Рис. 5. Чашка Петрі з культурою *Staphylococcus Aureus* та пародонтальними вкладками, насиченими розчинами хлоргексидину різних концентрацій.

Таблиця 1. Антимікробна ефективність пародонтальних вкладок із ксеноочеревици, визначена методом серійних розведень

Мікроорганізм		Концентрація розчину хлоргексидину біглюконату, в якому замочувались вкладки перед повторною ліофілізацією				
		2,5 %	5 %	10 %	20 %	0 % (контроль)
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	МІК	–	+	+	+	–
	МБК	–	+	+	+	–
<i>E. coli</i> ATCC 25922	МІК	–	+	+	+	–
	МБК	–	–	–	+	–
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	МІК	–	–	+	+	–
	МБК	–	–	–	–	–
<i>C. albicans</i> ATCC 885-653	МІК	–	–	+	+	–
	МБК	–	–	–	–	–

Примітки: 1) МІК – мінімальна інгібувальна концентрація;
2) МБК – мінімальна бактерицидна концентрація.

на концентрація простежувалась у зразках з 10 % та 20 % розчинами хлоргексидину. Через це метод локальної дифузії проводили, використовуючи лише ксеноочеревици, насичену 10 % та 20 % розчинами хлоргексидину, щоб виявити, яка з цих концентрацій є більш оптимальною.

Як показало проведене дослідження (табл. 2), вкладки з кріоліофілізованої ксеноочеревици, насичені розчином хлоргексидину біглюконату, мають антибактерійний ефект щодо грамположитивних, грамнегативних бактерій, а також дріжджових грибків. Насиченість вкладок 20 % розчином хлоргексидину виявилась найбільш ефективною щодо дослідних культур мікроорганізмів. Зони інгібування росту в середньому становили (19,6±3,5)

мм, що свідчило про достатній антибактерійний вплив на *S. aureus*, *E. coli*, неферментуючі бактерії та грибки.

Вкладки, насичені 10 % розчином хлоргексидину, показали менший антибактерійний ефект, оскільки чутливість *S. aureus* була низькою.

Ці дані свідчать, що оптимальним насиченням кріоліофілізованої ксеноочеревици є 20 % розчин хлоргексидину біглюконату.

Пародонтит – одне з найпоширеніших захворювань навколорізних тканин. Воно впливає на опорні структури зуба, що в подальшому призводить до втрати кістки та періодонтальної зв'язки. Запальний процес, що розвивається, може спричинити гостре зниження стану гігієни ротової порожнини, втра-

Таблиця 2. Антимікробна ефективність пародонтальних вкладок із ксеноочеревици, визначена методом локальної дифузії (%), $M \pm m$

Мікроорганізм	Пародонтальні вкладки, насичені 10 % розчином хлоргексидину		Пародонтальні вкладки, насичені 20 % розчином хлоргексидину		Вкладки зі стерильної ксеноочеревици		20 % розчин хлоргексидину біглюконату	
	зона інгібування росту, мм	ступінь чутливості	зона інгібування росту, мм	ступінь чутливості	зона інгібування росту, мм	ступінь чутливості	зона інгібування росту, мм	ступінь чутливості
<i>S. aureus</i>	14,1±0,6	низький	17,3±0,9	достатній	0	відсутній	27,3±2,2	високий
<i>E. coli</i>	18,3±0,5	достатній	22,8±2,2	достатній	0	відсутній	24,3±0,5	високий
<i>P. aeruginosa</i>	17,0±0,8	достатній	16,0±0,8	достатній	0	відсутній	23,8±2,6	достатній
<i>C. albicans</i>	23,0±2,6	достатній	22,5±2,1±	достатній	0	відсутній	26,0±1,4	високий

ту зубів та погіршення загального стану здоров'я пацієнта [7, 8].

Більшість сучасних протоколів лікування пародонтиту включає відкритий або закритий кюретаж поверхонь коренів зубів [9] із супутньою антисептичною терапією [10], оскільки бактерійна мікроплівка є однією з основних причин розвитку даного захворювання [11].

Хлоргексидин вважається «золотим стандартом» антисептиків ротової порожнини завдяки своїм бактерицидним та бактеріостатичним властивостям [12–14]. Його застосовують напряму під час хірургічного лікування тканин пародонта або у вигляді вкладок, що поміщаються у пародонтальну кишеню після процедур, для виконання ролі депо антисептика пролонгованої дії. Доведено, що хлоргексидин сприяє зменшенню формування бактерійної мікроплівки та запальних процесів у яснах після пародонтальних чи імплантологічних операцій [15, 16].

Метою даного дослідження стало визначення, чи мають вкладки з криоліофілізованої ксеноочеревини, насичені та ненасичені розчинами хлоргексидину біглюконату різних концентрацій, достатні антисептичні властивості, щоб використовувати їх в якості пародонтальних вкладок при лікуванні пацієнтів із захворюваннями тканин пародонта. Результати нашого дослідження довели, що наявні власні антисептичні властивості ксеноочеревини є недостатніми, щоби мати необхідний ефект при пародонтологічному лікуванні. Однак тканини, насичені розчином

хлоргексидину перед повторною ліофілізацією, володіли значними антибактерійними властивостями. Схожий інгібіторний ефект спостерігли при використанні синоназальних стентів із хлоргексидиновим покриттям для зменшення росту мікроорганізмів та формування біоплівки [17].

Зважаючи на те, що пародонтальні вкладки широко використовують в якості підтримувальної терапії при лікуванні пацієнтів із захворюваннями тканин пародонта [18], однак такі вкладки не є поширеними та доступними на українському ринку, пародонтальні вкладки виготовлені з криоліофілізованої ксеноочеревини мають потенціал для використання. Без сумніву, дане дослідження має певні обмеження, оскільки всі дані були отримані з експериментів *in vitro*. Згідно з A. Piloni та ін. [12], вивчення *in vivo* на дослідних тваринах, де наявні збільшені відкладення колагену, диференціація міофібробластів, клітинний апоптоз та знижена клітинна проліферація, можуть сприяти хлоргексидиніндукованій фібротичній трансформації, що приводить до репарації рубцевих тканин. Отже, дане дослідження буде прововжуватись у формі експериментів *in vivo*.

Висновки. Отримані експериментальні дані допоможуть у впровадженні клінічного застосування пародонтальних вкладок, виготовлених з криоліофілізованої ксеноочеревини, насиченої 20 % розчином хлоргексидину біглюконату.

©T. Yu. Charkivskiy, O. V. Avdeev

I. Horbachevsky Ternopil State Medical University

Research of antibacterial properties of cryolyophilized xenoperitoneum saturated with chlorhexidine solution

Summary. Antiseptics are widely used in various areas of medicine, particularly in periodontology. At the moment, chlorhexidine is considered the "gold standard" of antiseptics in this area of dentistry.

The aim of the study – to determine whether cryolyophilized xenoperitoneum saturated with chlorhexidine has antiseptic properties strong enough to be used as periodontal insertions during periodontal treatment of dental patients, and to determine optimal chlorhexidine concentration in said insertions.

Materials and Methods. Experiments were conducted via methods of wells-diffusion into agar and serial dilutions in liquid nutrient medium. Insertions, manufactured from cryolyophilized xenoperitoneum, saturated with 2.5 %, 5 %, 10 % and 20 % chlorhexidine bigluconate solutions were tested. Same experiments were performed with insertions that didn't undergo saturation process.

Results and Discussion. In conclusion results were as follows: Cryolyophilized xenoperitoneal insertions saturated with 20 % solution of chlorhexidine bigluconate, 10% solution of chlorhexidine bigluconate, 5 %

of chlorhexidine bigluconate and 2.5 % of chlorhexidine bigluconate possess adequate antimicrobial and antifungal effectiveness. Simultaneously, xenoperitoneums innate antiseptic properties are too weak to be used as a sole antiseptic agent in periodontal treating protocols.

Conclusions. Insertions, saturated with 10 % and 20 % chlorhexidine bigluconate solutions, were chosen for further studies.

Key words: periodontics; periodontal insertions; antiseptic; chlorhexidine; xenotissues; cryolyophilization; xenoperitoneum; antibacterial properties; bacteriostatic effect; bactericidal effect.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Белоклицкая Г. Ф. Хлоргексидин, содержащий ополаскиватель «Корсодил» в практике терапевтической стоматологии / Г. Ф. Белоклицкая // Современная стоматология. – 2004. – № 3. – С. 14–16.
2. Pasich E. Efficacy of taurine haloamines and chlorhexidine against selected oral microbiome species / E. Pasich, A. Bialecka, J. Marcinkiewicz // Medycyna Doswiadczalna i Mikrobiologia. – 2013. – No. 65 (3). – P. 187–196.
3. Тактика місцевого лікування хворих на хронічний генералізований пародонтит I-II ступенів тяжкості // Т. О. Петрушанко, П. М. Скрипников, І. Ю. Литовченко, С. В. Коломієць // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – № 4 (4). – С. 351–354.
4. Mandlik V. B. Periochip / V. B. Mandlik, A. K. Jha // Medical Journal Armed Forces India. – 2007. – No. 63 (4). – P. 368–369.
5. Бігуняк В. В. Використання ліофілізованих ксенодермотрансплантантів у комбустіології / В. В. Бігуняк. – 2003.
6. Державна фармакопея України / Держ. служба України з лікар. засобів ; Укр. наук. фарм. центр якості лікар. засобів. – 1-ше вид. – Харків, 2011 – Допов. 4: введ. в дію з 1 трав. 2011 р. Наказом МОЗ України від 23 берез. 2011 р. № 162. – 538 с.
7. Hegde R. Effects of periodontal disease on systemic health / R. Hegde, K. H. Awan // Disease-a-Month. – 2019. – No. 65 (6). – P. 185–192.
8. Periodontal disease, systemic inflammation and the risk of cardiovascular disease / E. F. Carrizales-Sepúlveda, A. Ordaz-Fariás, R. Vera-Pineda, R. Flores-Ramírez // Heart, Lung and Circulation. – 2018. – No. 27 (11). – P. 1327–1334.
9. Treatment of stage I–III periodontitis – The EFP S3 level clinical practice guideline / M. Sanz, D. Herrera, M. Kerschull [et al.] // Journal of clinical periodontology. – 2020. – No. 47. – P. 4–60.
10. Selective antimicrobial therapies for periodontitis: win the “Battle and the War” / M. Elashiry, A. C. Morandini, C. J. Cornelius Timothius [et al.] // International journal of molecular sciences. – 2021. – No. 22 (12). – P. 6459.
11. Curtis M. A. The role of the microbiota in periodontal disease / M. A. Curtis, P. I. Diaz, T. E. Van Dyke // Periodontology 2000. – 2020. – No. 83 (1). – P. 14–25.
12. Effect of Chlorhexidine Digluconate in Early Wound Healing of Human Gingival Tissues A Histological, Immunohistochemical and Biomolecular Analysis / A. Piloni, S. Ceccaarelli, D. Bosco [et al.] // Antibiotics 2021. – 2021. – No. 10. – P. 1192.
13. First insights into chlorhexidine retention in the oral cavity after application of different regimens / B. Reda, K. Hollemeyer, S. Trautmann [et al.] // Clinical Oral Investigations. – 2021. – Vol. 25 (11). – P. 6109–6118.
14. Home oral care of periodontal patients using antimicrobial gel with postbiotics, lactoferrin, and aloe barbadensis leaf juice powder vs. conventional chlorhexidine gel: A split-mouth randomized clinical trial / A. Butera, S. Gallo, M. Pascadopoli [et al.] // Antibiotics. – 2022. – No. 11 (1). – P. 118.
15. Efficacy of chlorhexidine rinses after periodontal or implant surgery: a systematic review / A. Solderer, M. Kaufmann, D. Hofer [et al.] // Clinical Oral Investigations. – 2019. – No. 23. – P. 21–32.
16. Use of chlorhexidine in implant dentistry / H. M. Abraham, J. M. Philip, J. Kruppa [et al.] // Biomedical and Pharmacology Journal. – 2015. – No. 8 (October Spl. Edition). – P. 341–345.
17. Sinonasal stent coated with slow-release varnish of chlorhexidine has sustained protection against bacterial biofilm growth in the sinonasal cavity: an in vitro study / A. Cataldo Russomando, R. Vogt Sionov, M. Friedman [et al.] // Pharmaceutics. – 2020. – No. 13 (11). – P. 1783.
18. Effect of controlled-release Periochip™ on clinical and microbiological parameters in patients of chronic periodontitis / K. Puri, V. Dodwad, K. Bhat, N. Puri // Journal of Indian Society of Periodontology. – 2013. – No. 17 (5). – P. 605.

REFERENCES

1. Biloklytska, G. (2004). Khlorgeksidin soderzhashchiy opolaskivatel «Korsodil» v praktike te rapevticheskoy stomatologii [Chlorhexidine-containing mouthwash "Korsodil" in therapeutic dental practices]. *Sovremennaiia stomatologiya – Modern Dentistry*, 3, 14-16 [in Russian].
2. Pasich, E., Bialecka, A., & Marcinkiewicz, J. (2013). Efficacy of taurine haloamines and chlorhexidine against selected oral microbiome species. *Med. Dosw. Mikrobiol.*, 65(3), 187-196.
3. Petrushanko, T.A., Skripnikov, P.N., Litovchenko, I.Y., & Kolomiets, S.V. (2014). Taktyka mistsevoho likuvannia khvorykh na khronichniy heneralizovanyi parodontyt I-II stupeniv tiazhkosti [Local treatment tactics of patients with chronic generalized periodontitis of I-II degrees]. *Visnyk problem biologii i medytsyny - Bulletin of Problems in Biology and Medicine*, 4(4), 352-254 [in Ukrainian].
4. Mandlik, V.B., & Jha, A.K. (2007). Periochip. *Medical journal, Armed Forces India.*, 63(4), 368.
5. Bihuniak, V.V. (2003). Vykorystannia liofilizovanykh ksenodermotransplantantiv u kombustiolohii [Usage of lyophilized xenodermotransplantants in combustiology]. *Ukrainian center of scientific medical information, patenting and licensing. Methodical recommendations* [in Ukrainian].
6. Derzhavna sluzhba Ukrainy z likarskykh Zasobiv. Ukrayinskyi naukovyy farm. tsentr yakosti likarskykh zasobiv [State Service of Ukraine on Medicines and Drugs Control, Ukrainian Scientific Pharm. Centre for Quality of Medicinal Products"]. (2011). *Derzhavna farmakopeya Ukrainy –The State Pharmacopoeia of Ukraine*. Kharkiv [in Ukrainian].
7. Hegde, R., & Awan, K.H. (2019). Effects of periodontal disease on systemic health. *Disease-A-Month.*, 65(6), 185-192.
8. Carrizales-Sepúlveda, E.F., Ordaz-Farías, A., Vera-Pineda, R., & Flores-Ramírez, R. (2018). Periodontal Disease, Systemic Inflammation and the Risk of Cardiovascular Disease. *Heart, Lung & Circulation.*, 27(11), 1327-1334.
9. Sanz, M., Herrera, D., Kebschull, M., Chapple, I., Jepsen, S., Beglundh, T., Sculean, A., & Tonetti M.S. (2020). EFP Workshop Participants and Methodological Consultants. Treatment of stage I-III periodontitis-The EFP S3 level clinical practice guideline. *Journal of Clinical Periodontology*, 47, 4-60.
10. Elashiry, M., Morandini, A.C., Cornelius Timothius, C.J., Ghaly, M., & Cutler, C.W. (2021). Selective Antimicrobial Therapies for Periodontitis: Win the "Battle and the War". *International Journal of Molecular Sciences*, 22(12), 6459.
11. Curtis, M.A., Diaz, P.I., & Van Dyke, T.E. (2020). The role of the microbiota in periodontal disease. *Periodontology 2000*, 83(1), 14-25.
12. Piloni, A., Ceccarelli, S., Bosco, D., Gerini, G., Marchese, C., Marini, L., & Rojas, M.A. (2021). Effect of Chlorhexidine Digluconate in Early Wound Healing of Human Gingival Tissues. A Histological, Immunohistochemical and Biomolecular Analysis. *Antibiotics (Basel)*, 10(10), 1192.
13. Reda, B., Hollemeyer, K., Trautmann, S., Volmer, D.A., & Hannig, M. (2021). First insights into chlorhexidine retention in the oral cavity after application of different regimens. *Clinical Oral Investigations*, 25(11), 6109-6118.
14. Butera, A., Gallo, S., Pascadopoli, M., Taccardi, D., & Scribante, A. (2022). Home Oral Care of Periodontal Patients Using Antimicrobial Gel with Postbiotics, Lactoferrin, and Aloe Barbadosensis Leaf Juice Powder vs. Conventional Chlorhexidine Gel: A Split-Mouth Randomized Clinical Trial. *Antibiotics (Basel)*, 11(1), 118.
15. Solderer, A., Kaufmann, M., Hofer, D., Wiedemeier, D., Attin, T., & Schmidlin, P.R. (2019). Efficacy of chlorhexidine rinses after periodontal or implant surgery: A systematic review. *Clinical Oral Investigations*, 23, 21-32.
16. Abraham, H.M., Philip, J.M., Kruppa, J., Jain, A.R., & Krishnan, C.J.V. (2015). Use of Chlorhexidine in Implant Dentistry. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 8, 341-345.
17. Cataldo Russomando, A., Vogt Sionov, R., Friedman, M., Gati, I., Eliashar, R., Steinberg, D., & Gross, M. (2021). Sinonasal Stent Coated with Slow-Release Varnish of Chlorhexidine Has Sustained Protection against Bacterial Biofilm Growth in the Sinonasal Cavity: An In Vitro Study. *Pharmaceutics*, 13(11), 1783.
18. Puri, K., Dodwad, V., Bhat, K., & Puri, N. (2013). Effect of controlled-release Periochip™ on clinical and microbiological parameters in patients of chronic periodontitis. *Journal of Indian Society of Periodontology.*, 17(5), 60.