

УДК: 579.862:579.861.2:579.842.22:579.262]:577.344

ФОТОДИНАМІЧНИЙ ВПЛИВ НА ПЛАНКТОННІ ФОРМИ Й БІОПЛІВКИ ІЗОЛЯТІВ *S. PYOGENES*, *S.AUREUS* ТА *PROTEUS* SPP.

Циганенко А.Я., Мішина М.М., Дубовик О.С.,
Мішин Ю.М.

Харківський національний медичний університет
Кафедра мікробіології, вірусології та імунології

Актуальність. В даний час у клінічній практиці і біомедичних дослідженнях широко використовується оптичне випромінювання різного спектрального складу для лікування гнійно-запальних захворювань бактеріальної природи, а також при фізіотерапевтичних процедурах [1, 2].

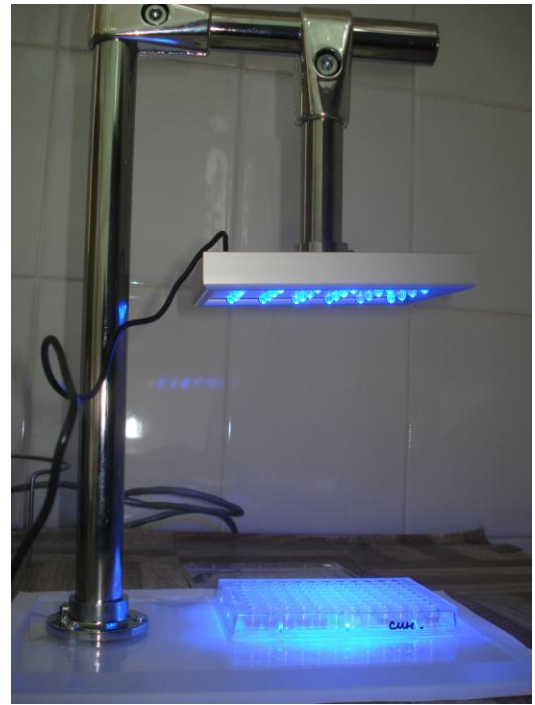
Антибактеріальна фотодинамічна терапія є альтернативою антибіотикотерапії і полягає у виборчій окисній деструкції патогенних мікроорганізмів при комбінованому впливі біологічних факторів (протимікробних засобів, аутоіндукторів мікроорганізмів, ефірних олій тощо) і світла з певною довжиною хвилі [3, 4]. Контрольований ефект дії світлового випромінювання може бути використаний і для корекції чисельності певного виду бактерій в складі мікрофлори, вилученої з вогнищ запалення при гнійних ускладненнях після хірургічного втручання та з катетерів, дренажних конструкцій, венфлонів, оскільки застосування тільки антимікробних препаратів є неефективним, у зв'язку з утворенням ізолятами щільних біоплівки [5, 6].

Проте, дані про реакції збудників гнійно-запальних процесів на дію різних типів випромінювань, що використовуються при фотодинамічній терапії, практично відсутні, а їх одержання становить значний науковий інтерес і може мати прикладне значення.

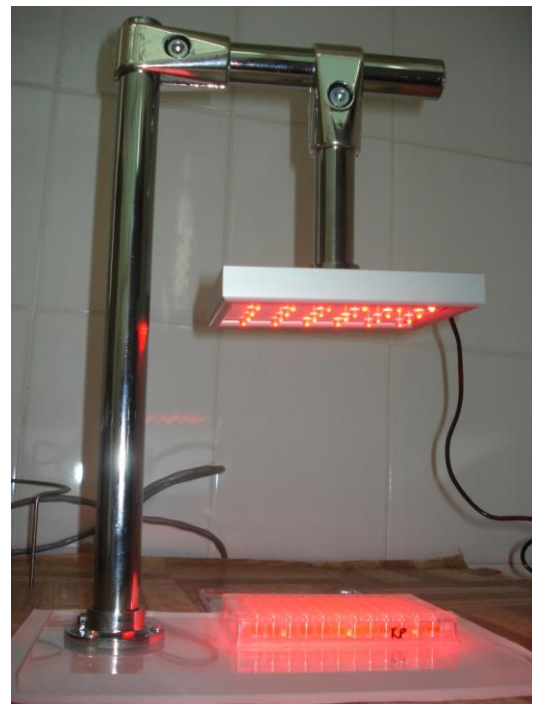
Тому метою даної роботи було вивчення дії світлодіодного синього й червоного випромінювання на планктонні форми й біоплівки бактерій, збудників гнійно-запальних процесів залежно від хроноінфраструктури.

Матеріали і методи дослідження. Опромінення проводилось світлодіодними джерелами синього (470нм) й червоного (627 нм) випромінювання фотонної матриці апарата Коробова «Барва-Флекс» [7], яка складається з двох елементів: світлодіодної матриці з суперлюмінесцентними світлодіодами (24 шт.) й блоку живлення (Рис.1. А, В). Опромінення проводили протягом 15 хвилин о 12⁰⁰ годині ізолятів *P.mirabilis*, *P.vulgaris*, *S.pyogenes*, *S.aureus*, вилучених у хворих з гнійно-запальними процесами. Після опромінення проводили добову інкубацію й визначали здатність опромінених планктонних клітин формувати біоплівки та здатність сформованих біоплівок продукувати планктонні клітини за оптичною щільністю, яка була зареєстрована на фотометрі «Multiskan EX 355» (довжина хвилі 540 нм) [8].

Одержані результати досліджень оброблялись з використанням статистичних програм за допомогою персонального комп'ютера [9, 10].



А



Б

Рис. 1. Фотонна матриця Коробова «Барва – Флекс» з синіми світло діодами (А) та червоними світло діодами (Б).

Результати досліджень та їх обговорення. У результаті проведених досліджень було встановлено, що усі мікроорганізми, що вивчалися, варіабельно відносилися до опромінення синіми (ССД) та червоними (ЧСД) світлодіодами. Так, після інкубації (24 г) й опромінення (15 хв) ССД та ЧСД, було встановлено, що здатність до формування біоплівок у протеїв різнилась: у ізолятів *P.vulgaris* (Рис. 2), що опромінені ЧСД (1,09±0,06 од.опт.щ.) здатність до формування біоплівки була ви-

ще, ніж при опроміненні ССД у 1,2 рази та порівняно з позитивним контролем ($1,03 \pm 0,04$ й $0,93 \pm 0,08$ од.опт.щ. відповідно).

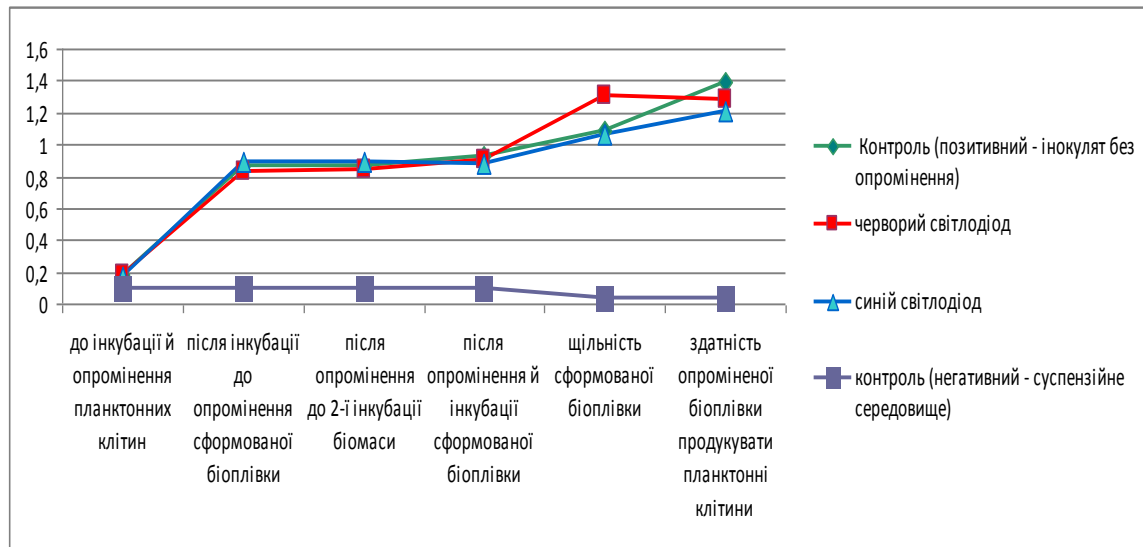


Рис. 2. Динаміка формування біоплівок штамми *P.vulgaris* під впливом синього й червоного світла

Однак, стосовно здатності сформованої біоплівки продукувати планктонні клітини, було встановлено, що після опромінення ЧСД та ССД здатність до продукції планктонних клітин біоплівками *P.vulgaris* майже не різнилася між собою й позитивним контролем ($0,99 \pm 0,041$; $0,96 \pm 0,039$ й $0,99 \pm 0,38$ од.опт.щ. відповідно).

Зареєстровані результати свідчать про те, що через добу здатність до формування продукованими планктонними клітинами до утворення вторинних біоплівок суттєво різнилась.

Так, планктонні клітини *P.vulgaris*, що не опроміненні (позитивний контроль), утворювали біоплівку щільністю $2,16 \pm 0,09$ од.опт.щ., а у планктонних клітин *P.vulgaris*, що були продуковані біоплівкою після опромінення ЧСД, здатність до формування щільної біоплівки знижувалась, порівняно із таким після опромінення ССД ($1,17 \pm 0,05$ й $1,33 \pm 0,08$ од.опт.щ. відповідно) й порівняно з позитивним контролем відповідно у 1,9 й 1,6 рази, що говорить про втрату здатності до формування щільної біоплівки планктонними клітинами ізолятів *P.vulgaris*, що були продуковані сформованими біоплівками після опромінення початкової суспензійної культури *P.vulgaris*.

Пригнічення здатності до формування біоплівок планктонними клітинами, що були продуковані сформованими біоплівками після опромінення інокуляту *P.vulgaris* ЧСД або ССД, мабуть, пов'язане зі зниженням здатності до адгезії *P.vulgaris* до субстрату, що потребує ретельного вивчення.

Що стосується здатності до біоплівкоутворення *P.mirabilis* після опромінення як ЧСД, так й ССД, різниці між щільностями утворених біоплівок не було виявлено ($1,14 \pm 0,6$ й $1,13 \pm 0,5$ од.опт.щ. відповідно), й щільність сформованих біоплівок не відрізнялась від контролю ($1,11 \pm 0,6$ од.опт.щ.). Але здатність сформованих біоплівок виділяти планктонні клітини достовірно різ-

нилась. Так, кількість планктонних клітин, що продуковані біоплівкою, сформованою після опромінення штамів *P.mirabilis* ЧСД, була у 1,5 рази вище, ніж після опромінення ССД, кількість яких дорівнювала контрольних значень (Рис. 3).

Інша картина спостерігалася при дослідях із *S.pyogenes*. Так, при опроміненні ЧСД щільність біоплівки була такою, як й у контролі ($1,171 \pm 0,3$ й $1,175 \pm 0,6$ од.опт.щ.), а при опроміненні ССД, щільність біоплівки знижується, але ця різниця не достовірна. Цей факт заслуговує особливої уваги, тому що на перший погляд різниці до здатності у формуванні біоплівок майже немає, але здатність продукувати планктонні клітини достовірно відрізняється. При опроміненні ЧСД здатність виділяти планктонні клітини пригнічується у 1,6 рази, а при опроміненні ССД у 2,2 рази порівняно з контролем (Рис. 4), що є дуже важливим при призначенні адекватної терапії й розрахунку дози протимікробних засобів.

Цікавий факт було виявлено при дослідях на штаммах *S.aureus*. Так, при опроміненні ЧСД здатність до плівкоутворення достовірно знижується порівняно з контролем ($0,59 \pm 0,08$ й $0,84 \pm 0,03$ од.опт.щ. відповідно), а при опроміненні ССД різниці між контролем не встановлено ($0,83 \pm 0,06$ й $0,84 \pm 0,03$ од.опт.щ. відповідно). Але надалі спостерігається цікавий факт: в обох випадках, сформовані після опромінення суспензійної культури біоплівки активно продукують планктонні клітини (Рис. 5).

Причому, після опромінення ЧСД активність вилучення планктонних клітин підвищувалась у 2,7 рази порівняно з контролем ($1,937 \pm 0,5$ й $0,715 \pm 0,6$ од.опт.щ. відповідно), а після опромінення ССД вилучення планктонних клітин підвищувалась у 1,7 рази ($1,22 \pm 0,7$ од.опт.щ.), що сприяло утворенню більш щільної вторинної біоплівки. Це може бути пов'язано з факторами, що захищають *S.aureus*, таких як: пігменти, плазмідні, індуктивні ферменти і це потребує окремого вивчення.

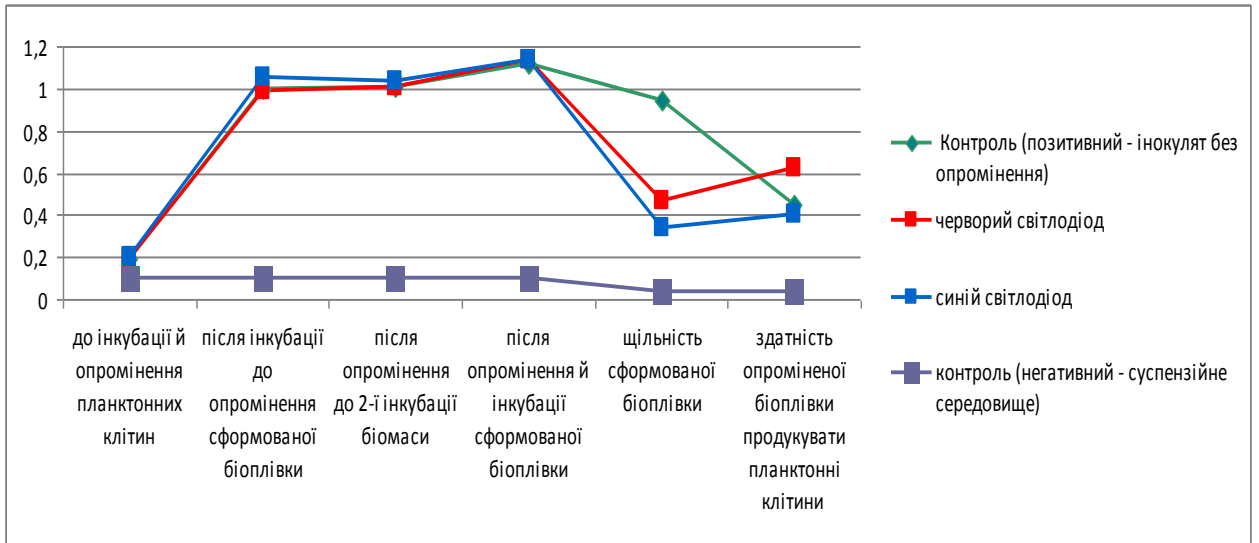


Рис. 3. Динаміка формування біоплівок ізолятів *P.mirabilis* під впливом синього й червоного світла

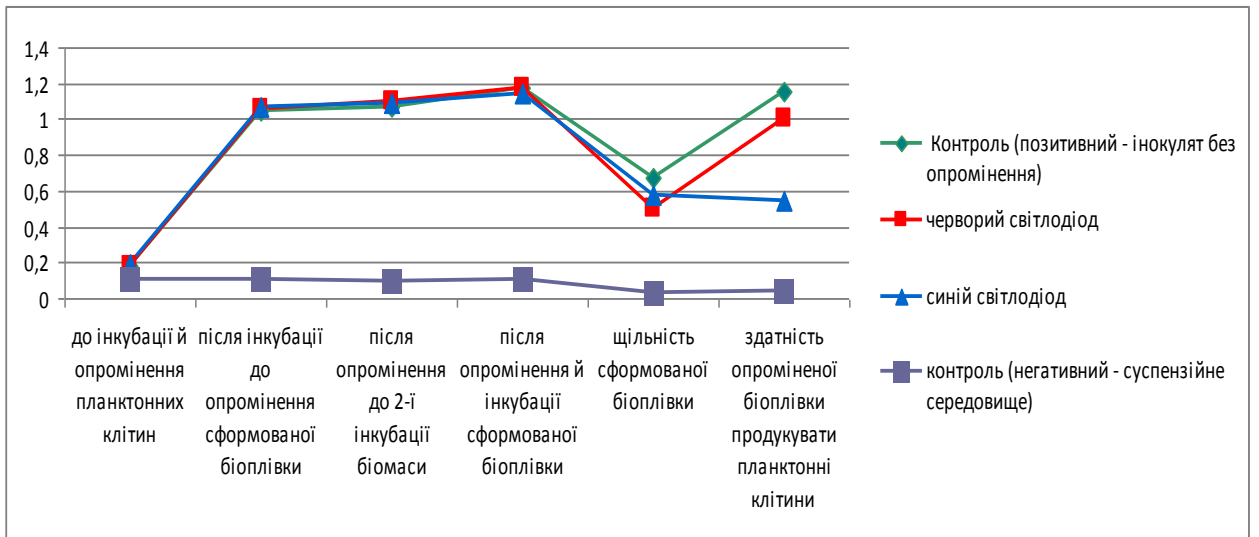


Рис. 4. Динаміка формування біоплівок ізолятами *S.pyogenes* під впливом синього й червоного світла

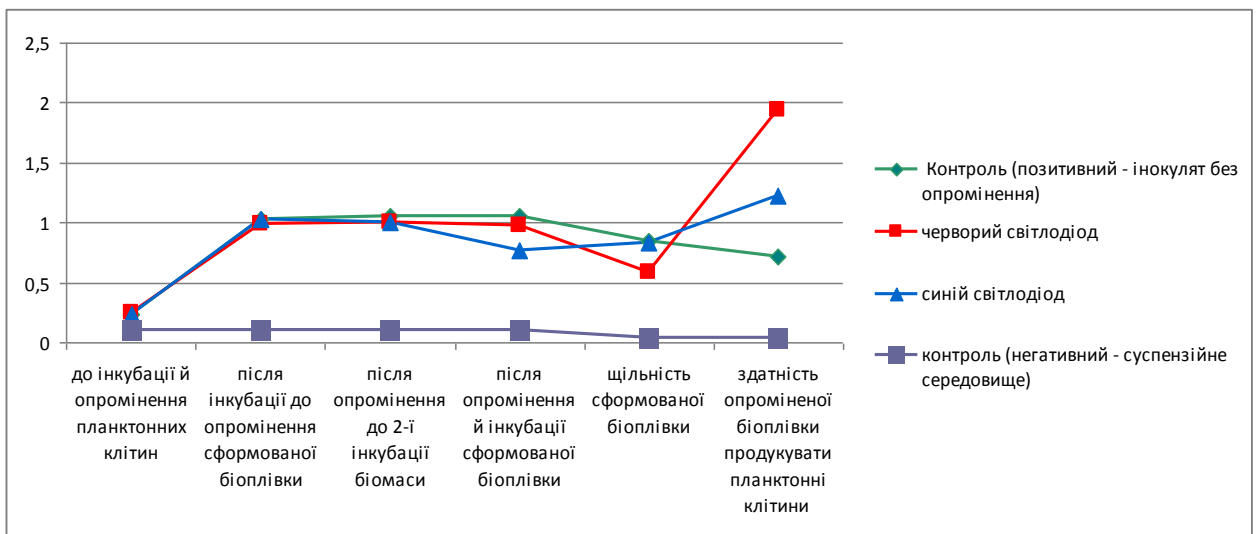


Рис. 5. Динаміка формування біоплівок штамми *S.aureus* під впливом синього й червоного світла

Висновки

Ефекти опромінення біоплівки монохроматичним червоним та синім світлом істотно залежать від довжини хвилі та виду мікроорганізмів у біоплівці. Синє випромінювання, як правило, пригнічує здатність планктонних клітин формувати біоплівки та здатність сформованих біоплівок продукувати планктонні клітини. Червоне світло, в більшості випадків, не впливає на утворення первинної біоплівки та в меншій мірі пригнічує виділення планктонних клітин сформованою біоплівкою. Дані дослідження відкривають можливість подальшого ретельного вивчення комбінованого впливу світлодіодного випромінювання й протимікробних засобів, що необхідно для підвищення ефективності антибактеріальної терапії при гнійно-запальних процесах.

Список використаних джерел

1. Дейнеко А.С. Применение аппарата «Фотонная матрица Коробова «Барва-Флекс» в условиях отделения интенсивной терапии [Текст]/ Дейнеко А.С., Вовк В.А., Олейник В.А. //Материалы XX Международной научно-практической конференции «Применение лазеров в медицине и биологии», Ялта, 8-11 октября 2003 г. – Харьков: НПМБК «Лазер и здоровье», 2003. – С.20.
2. Владимиров Ю.А. Фотобиологические основы терапевтического применения лазерного облучения [Текст]/ Владимиров Ю.А., Осипов Ю.А., Клебанов Г.И. //Биохимия. – 2004. – Т.69, Вып.1. – С.103 - 110.
3. Коробов А.М. Персональные аппараты для светолечения – новое направление в медицинской технике [Текст]/ Коробов А.М. // Сб.науч.тр.: Проблемы физической биомедицины. – Саратов: изд. Саратов. мед. ун-та, 2003. – С.53-65.
4. Коробов А.М. Новая техника для новейших технологий светотерапии [Текст]/Коробов А.М. //Материалы XX Международной научно-практической конференции «Применение лазеров в медицине и биологии», Ялта, 8-11 октября 2003 г. – Харьков: НПМБК «Лазер и здоровье», 2003. – С.114-117.
5. Грузина В.Д. Коммуникативные сигналы бактерий [Текст]/ Грузина В.Д. //Антибиотики и химиотерапия. – 2003. - №48 (10). – С.32-39.
6. Вознесенский Н.А. Биопленки – терапевтическая мишень при хронических инфекциях [Текст]/ Вознесенский Н.А. //Пульмонология и аллергология. – 2008. - №3. – С.56 – 64.
7. Коробов А.М. Фототерапевтические аппараты Коробова серии «Барва» [Текст]/ Коробов А.М., Коробов В.А., Лесная Т.А. – Харьков.: ИПП «Контраст», 2008. – 176 с.
8. Циганенко А.Я., Мішина М.М. Спосіб відтворення біоплівок мікроорганізмів in vitro. Патент на корисну модель № 47944, МПК G09B23/00, ХНМУ, Заявл.12.10.2009, № u200910353; Опубл. 25.02.2010, Бюл. № 4, 2010.
9. Лапач С.Н. Статистические методы в медико – биологических исследованиях с использованием Excel

[Текст]/ Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. - К.: МО-РИОН, 2000. - 320 с.

10. Методика статистической обработки медицинской информации в научных исследованиях [Текст]/В.П. Осипов, Е.М. Лукьянова, Ю.Г. Антипкин [и др.] – К.: планета людей, 2002. – 200с.

**УДК: 579.862:579.861.2:579.842.22:579.262]:577.344
ФОТОДИНАМІЧНИЙ ВПЛИВ НА ПЛАНКТОННІ
ФОРМИ Й БІОПЛІВКИ ІЗОЛЯТІВ S. PYOGENES,
S.AUREUS ТА PROTEUS SPP.**

**Циганенко А.Я., Мішина М.М., Дубовик О.С.,
Мішин Ю.М.**

Вивчено дію світлодіодного синього й червоного випромінювань на планктонні форми й біоплівки бактерії, збудників гнійно-запальних процесів залежно від хроноінфраструктури. Встановлено, що ізоляти варіабельно відносилися до опромінення світлодіодами: синє світло переважно пригнічує здатність планктонних клітин формувати біоплівки та здатність сформованих біоплівок продукувати планктонні клітини, а червоне світло, в більшості випадків не впливає на утворення первинної біоплівки та в меншій мірі пригнічує виділення планктонних клітин сформованою біоплівкою.

Ключові слова: світлодіодне випромінювання, ізоляти, біоплівки.

**УДК: 579.862:579.861.2:579.842.22:579.262]:577.344
ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ВЛИЯНИЕ НА ПЛАНКТОННЫЕ
ФОРМЫ И БИОПЛЕНКИ ИЗОЛЯТОВ S.
PYOGENES, S. AUREUS И PROTEUS SPP.**

**Цыганенко А.Я., Мишина М.М., Дубовик А.С.,
Мишин Ю.М.**

Изучено воздействие светодиодного синего и красного излучений на планктонные формы и биопленки бактерий, возбудителей гнойно-воспалительных процессов в зависимости от хроноинфраструктуры. Установлено, что изоляты варіабельно относились к облучению светодиодами: синий свет преимущественно подавляет способность планктонных клеток формировать биопленки и способность сформированных биопленок продуцировать планктонные клетки, а красный свет, в большинстве случаев не влияет на образование первичной биопленки и в меньшей степени подавляет выделение планктонных клеток сформированной биопленкой.

Ключевые слова: светодиодное излучение, изоляты, биопленки.

**UDC: 579.862:579.861.2:579.842.22:579.262]:577.344
PHOTODYNAMIC INFLUENCE ON PLANKTON
FORMS AND BIOFILMS OF S. PYOGENES, S. AU-
REUS AND PROTEUS SPP. ISOLATES**

**Tsyganenko A.J., Mishina M.M., Dubovik E.S.,
Mishin Y.M.**

The effect of blue and red light diode radiation was studied on the plankton forms and biofilms of bacteria, causative agents of purulent inflammatory processes, depending on chronoinfrastructure. It was revealed that isolates reacted differently on the light diode radiation: the blue light mainly inhibited the ability of biofilm production by plankton cells and the ability of preformed biofilms to produce plank-

ton cells, while the red light in most cases did not influence the formation of primary biofilm and inhibited the release of plankton cells by the preformed biofilm to a less extent.

Key words: light diode radiation, isolates, biofilms