

УДК 579.861.24+579.24:615.831.6.7:616-002.3
DOI: 10.15587/2519-8025.2017.109244

ВПЛИВ СВІТЛОДІОДНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ РІЗНИХ ДОВЖИН ХВИЛЬ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ РОСТУ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

© В. В. Пантьо, Г. М. Коваль, В. І. Пантьо, С. О. Гуляр

*Наведені результати досліджень впливу світлодіодного випромінювання червоно-інфрачервоного та синьо-інфрачервоного діапазонів на ріст клінічних ізолятів *Staphylococcus aureus* та колекційного тест-штаму *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Встановлено, що ефект впливу випромінювання залежить від його довжини хвилі, експозиції та частоти. Розроблено методичні рекомендації використання світлодіодного випромінювання у комплексній терапії гнійно-запальних процесів стафілококової етіології*

Ключові слова: світлодіодне випромінювання, *Staphylococcus aureus*, вплив, ріст, фотомодифікація, гнійно-запальні захворювання, фототерапія

1. Вступ

Антибіотикорезистентність мікроорганізмів, враховуючи глобальне поширення цього явища, соціально та медичну значущість проблеми, віднесена до питань національної безпеки більшості високорозвинутих країн світу [1].

За даними закордонних та вітчизняних вчених [2, 3] *Staphylococcus aureus* залишається основним етіологічним чинником гнійно-запальних захворювань. При цьому спостерігається тенденція до зростання циркуляції полірезистентних як Meticillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), так і Methicillin Susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) штамів [4].

Антибактеріальні препарати є основним засобом боротьби з мікроорганізмами. На сьогоднішній день відомо близько 6 тис. антибіотиків. Щороку в світі їх виробляється понад 100 тисяч тон на загальну суму понад 20 млрд доларів США [5, 6]. Разом з тим, висока швидкість виникнення стійких до антибіотиків мікроорганізмів стає на заваді широкому впровадженню нових антибактеріальних препаратів. Так, за даними аналітиків, вчені щороку відкривають близько 200 нових антибіотиків, серед яких в продаж надходить не більше 1–2 % [7].

Внаслідок вищесказаного, переважна більшість науковців дійшла висновку, що традиційна антибіотикотерапія вже не здатна вирішити проблеми поширення інфекційних захворювань. Одночасно розширення застосування антимікробних препаратів призвело до ускладнень систем детоксикації та виведення продуктів фармаметаболізму, а також системної алергізації пацієнтів. Тому дедалі частіше з'являються повідомлення про альтернативні засоби боротьби з бактеріальними інфекціями. До них можна віднести протимікробні засоби природного походження – бактеріофаги, пробіотики, бактерицидні засоби мікробного та рослинного походження тощо [8, 9]. До іншої групи альтернативних антибактеріальних засобів належать новосинтезовані хімічні речовини, а також хімічно модифіковані антибіотики з фотоактивними компонентами [10, 11].

У представлених дослідженнях вивчається ще один шлях боротьби з інфекційними агентами – використання світлодіодного випромінювання, яке окрім потенційної протимікробної активності має доведений біонормалізуювальний вплив на організм людини.

2. Літературний огляд

Використання геліотерапії, як найдавнішої форми фототерапії, описане ще в античні часи. Сонячні промені з лікувальною метою з успіхом використовували древні римляни, єгиптяни та араби. Після занепаду у епоху Середньовіччя науки загальною, та даного напрямку зокрема, в кінці XIX та на початку XX століття широке застосування знайшов метод лікування інфекційних та неінфекційних хвороб за допомогою штучних сонячних променів [12, 13].

Вагомим якісним стрибком для фототерапії стало винайдення в 1966 році джерела монохроматичного, когерентного поляризованого випромінювання – лазера. Відразу ж увагу науковців привернуло питання його взаємодії з біологічними об'єктами та можливість застосування у різних галузях медицини [14]. Наступним кроком було винайдення (1980) апарата Біоптрон, який здатен створювати також поляризоване, але поліхроматичне світло [15]. Останніми роками після винаходу і впровадження світлодіодів з'явилася медична техніка для лікувального впливу за допомогою різних діапазонів монохроматичного світла з різними частотами імпульсації [16].

Проте, незважаючи на значну кількість робіт в цьому напрямі, питання, які саме параметри поляризованого випромінювання зумовлюють ту чи іншу дію на живі організми різних рівнів організації, до кінця не з'ясовані [17]. Особливо це стосується впливу випромінювання на прокаріотичні клітини [18, 19].

Тому вивчення впливу некогерентних джерел випромінювання, зокрема світлодіодного, на біологічні властивості мікроорганізмів дасть можливість не лише зрозуміти роль таких параметрів, як когерентність, монохроматичність та поляризованість на бактеріальну клітину, але і розробити рекомендації для їхнього практичного використання у лікуванні бактеріальних інфекцій.

3. Мета та задачі дослідження

Мета дослідження – визначити ефект впливу світлодіодного випромінювання на інтенсивність росту різних штамів *Staphylococcus aureus* на твердих поживних середовищах.

Для досягнення мети поставлено наступні завдання:

1. Дослідити залежність впливу світлодіодного випромінювання на *S. aureus* від його параметрів;
2. Встановити оптимальні параметри випромінювання з найбільш вираженою бактерицидною дією;
3. На основі отриманих даних розробити рекомендації для практичного використання апаратів Medolight для комплексного лікування поверхневих гнійно-запальних процесів, зумовлених *S. aureus*.

4. Матеріали та методи дослідження

Досліджено вплив світлодіодного випромінювання червоно-інфрачервоного та синьо-інфрачервоного діапазонів при різних частотах та експозиціях на інтенсивність росту на твердих поживних середовищах клінічних ізолятів *Staphylococcus aureus* (n=5), висіяних із гнійних ран хворих хірургічного відділення Ужгородської ЦРЛ та колекційного тест штаму *S. aureus* ATCC (American type culture collection) 25923.



Рис. 1. Опромінення мікроорганізмів у чашках Петрі світлодіодним випромінюванням

Окремими серіями проводили опромінення з різними довжинами хвиль, тривалістю (5, 10, 15, 20 та 25 хв.) та частотою (0, 10, 600, 3000 та 8000 Гц). Контролем слугували неопромінені культури. Результати визначали шляхом підрахунку кількості бактеріальних колоній на чашках після 24-годинної інкубації у термостаті при 37 °С.

Отримані результати статистично обробляли, визначаючи середнє арифметичне та середнє квадратичне відхилення вибірки, а також достовірність різниці між експериментальними та контрольними групами з використанням комп'ютерних програм Microsoft Office Excel 2010 та Statistica 8.0.

5. Результати досліджень та їх обговорення

Встановлено, що опромінення світлодіодним випромінюванням досліджуваної мікрофлори закономірно впливало на інтенсивність її росту. При використанні нетривалих експозицій (5 та 10 хв.) спостерігали певну стимуляцію росту бактерій, тоді як опромінення тривалістю 20 та 25 хв. суттєво знижувало їх кількість, порівняно з контролем. Вказане в однаковій мірі стосувалося як клінічних ізолятів *S. aureus*, так і колекційного штаму *S. aureus* ATCC 25923.

Джерелами світлодіодного випромінювання були апарати Medolight-Red ($\lambda=630$ та 870 нм) та Medolight-BluDoc ($\lambda=470$ та 870 нм) виробництва Bioptron light therapy system by Zepter Group. Щільність потужності світла апарата Medolight Red не перевищувала 5,35 мВт/см², а для апарата Medolight BluDoc складала 8,2–10,15 мВт/см² з відстані 0–1 см. Дані апарати генерують випромінювання при частотах 0, 10, 600, 3000 та 8000 Гц.

Для досліджень брали чисті добові агарові культури мікроорганізмів, стандартизовані у рідких поживних середовищах до мутності 0,5 за шкалою Мак-Фарланда. Отриманий бактеріальний інокулюм розводили в пропорції $1,6 \times 10^5$ разів та у об'ємі 0,1 мл пересівали на чашки Петрі з м'ясо-пептонним агаром (МПА) та рівномірно розподіляли шпателем Дригальського. Після цього проводили опромінення мікроорганізмів у чашках Петрі світлодіодним випромінюванням (рис. 1).

Рис. 2 демонструє значно меншу інтенсивність росту бактеріальних колоній *S. aureus* ATCC 25923 після опромінення світлодіодним випромінюванням червоно-інфрачервоного діапазону, тривалістю 20 хв. з частотою 8000 Гц (права чашка), порівняно з контролем (ліва чашка). Окрім тривалості експозиції, ефект впливу в значній мірі залежав також від частоти випромінювання. Найбільш виражене зменшення кількості колоній, а отже – бактерицидний вплив, спостерігали при частоті 8000 Гц.

При використанні світлодіодного випромінювання червоно-інфрачервоного діапазону з експозицією 20 хв. та частотою 8000 Гц кількість колоній *S. aureus* ATCC 25923 на чашці Петрі з поживним середовищем зменшувалася в середньому на 31 % порівняно з контролем. Аналогічне опромінення з частотами 0, 10, 600 та 3000 Гц призводило до зменшення кількості колоній на 6–26 % (рис. 3).

Опромінення світлодіодним випромінюванням синьо-інфрачервоного діапазону тривалістю 20 хв. з частотою 8000 Гц зумовлювало зменшення кількості колоній *S. aureus* ATCC 25923 на чашці Петрі з МПА на 34,5 % порівняно з контролем. Аналогічне опромінення з частотами 0, 10, 600 та 3000 Гц призводило до зменшення кількості колоній на 18–27 % (рис. 4).

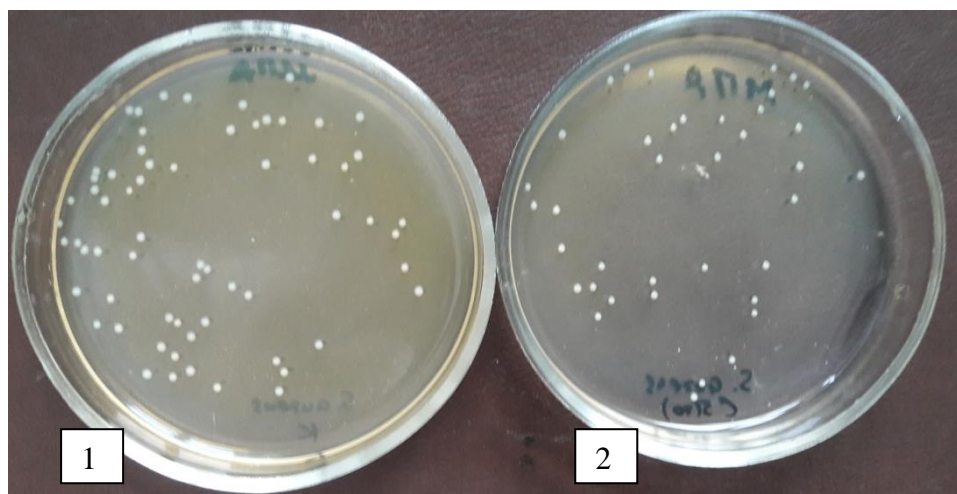


Рис. 2. Вплив світлодіодного випромінювання на ріст *S. aureus* ATCC 25923: 1 – контроль; 2 – після опромінення світлодіодним випромінюванням червоно-інфрачервоного діапазону з експозицією 20 хв. та частотою 8000 Гц

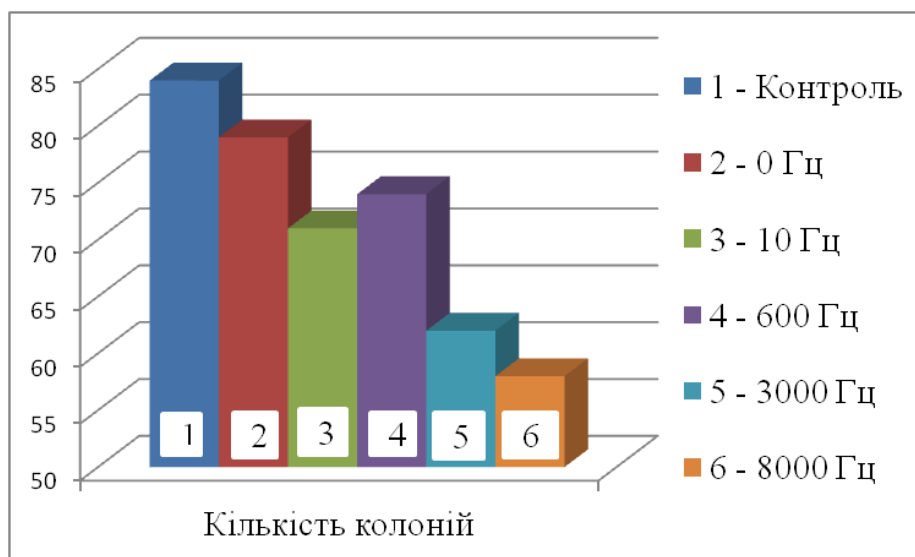


Рис. 3. Залежність кількості колоній *S. aureus* ATCC 25923 від частоти світлодіодного випромінювання червоно-інфрачервоного спектру (експозиція 20 хв.)

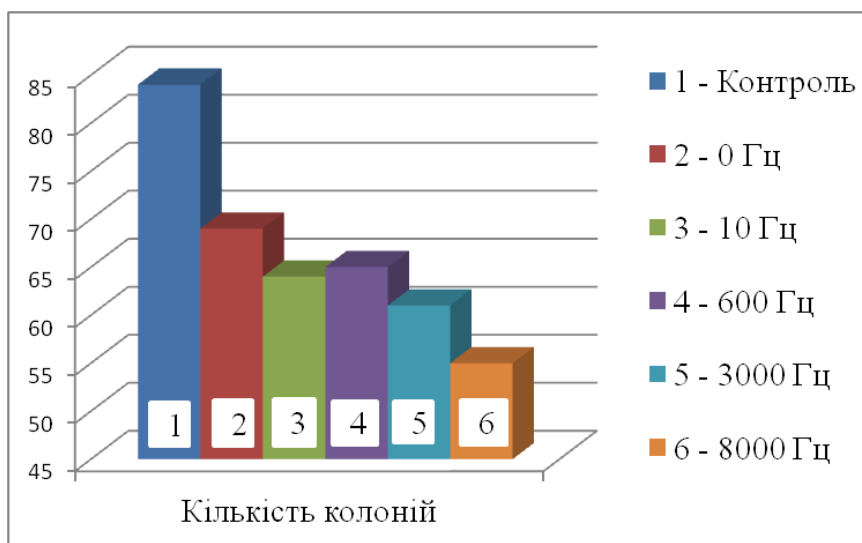


Рис. 4. Залежність кількості колоній *S. aureus* ATCC 25923 від частоти світлодіодного випромінювання синьо-інфрачервоного спектру (експозиція 20 хв.)

25-хвилинне опромінення мікрофлори світлодіодним випромінюванням давало майже аналогічні результати з 20-хвилинним.

В табл. 1 наведені статистично оброблені результати визначення впливу 20-хвилинної експозиції

світлодіодного випромінювання на інтенсивність росту *S. aureus* ATCC 25923 на чашках з МПА. Достовірність відмінності середніх показників у експериментальних та контрольних серіях підтверджується рівнем значимості $p < 0,05$.

Таблиця 1

Вплив світлодіодного випромінювання на ріст *S. aureus* ATCC 25923

Бактеріальна культура	Кількість колоній на чашці Петрі										
	Контроль (n=5)	Після опромінення світлодіодним випромінюванням тривалістю 20 хв.									
		Червоно-інфрачервоного спектру					Синьо-інфрачервоного спектру				
		0 Гц (n=5)	10 Гц (n=5)	600 Гц (n=5)	3000 Гц (n=5)	8000 Гц (n=5)	0 Гц (n=5)	10 Гц (n=5)	600 Гц (n=5)	3000 Гц (n=5)	8000 Гц (n=5)
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	84±17	79±15	71±14	74±19	62±12	58±14	69±15	64±13	65±13	61±14	55±15

Таким чином, результати досліджень вказують на прямо пропорційну залежність ступеню бактерицидного впливу світлодіодного випромінювання на клінічні ізоляти *S. aureus* та тест-штам *S. aureus* ATCC 25923 від тривалості експозиції. Спостерігається також прямий зв'язок між інтенсивністю росту опромінених бактерій та частотою випромінювання – зі збільшенням частоти кількість колоній мікроорганізмів зменшувалася. Можна відзначити тенденцію щодо більшої бактерицидної ефективності синього діапазону світла порівняльно з червоним. Отримані дані узгоджуються з результатами досліджень на мікрофлорі, отриманої з інших джерел патології (пародонтальні кишені) [20].

Враховуючи локальний біостимулювальний вплив світлодіодного випромінювання на тканини організму, а також виражений бактерицидний ефект при безпосередній дії на досліджувані штами *S. aureus* (при 20 та 25-хвилинних експозиціях), його можна рекомендувати для комплексної терапії поверхневих гнійно-запальних процесів, зумовлених золотистим стафілококком. Найбільш оптимальним режимом при цьому буде частота 8000 Гц з експозицією 20–25 хв. Вказане у однаковій мірі стосується світлодіодного випромінювання як червоно-інфрачервоного, так і синьо-інфрачервоного діапазонів.

Перспективним є дослідження механізму дії світлодіодного випромінювання на ріст мікроорганізмів – збудників гнійно-запальних захворювань, а також вивчення впливу світла на біологічні властивості даних бактерій.

6. Висновки

1. Світлодіодне випромінювання червоно-інфрачервоного та синьо-інфрачервоного діапазонів, яке генерують апарати Medolight, безпосередньо впливає на інтенсивність росту на щільних поживних середовищах досліджених штамів *Staphylococcus aureus*.

2. Ефект впливу випромінювання залежить від його параметрів та проявляється у стимулюванні росту мікроорганізмів при нетривалих експозиціях (5–10 хв.) та бактерицидною дією при експозиціях 20 та 25 хв.

3. Оптимальними параметрами світлодіодного випромінювання з найбільш вираженою бактерицидною дією є 20–25-хвилинна експозиція з частотою 8000 Гц, при яких інтенсивність росту всіх досліджених штамів *Staphylococcus aureus* знижувалася на 26–34,5 %.

4. Враховуючи позитивний вплив на організм людини, світлодіодне випромінювання вказаних параметрів може використовуватися для комплексної терапії поверхневих гнійно-запальних процесів, зумовлених *Staphylococcus aureus*.

Література

1. Салманов, А. Г. Антимікробна резистентність та інфекції, асоційовані з медичною допомогою в Україні. Епідеміологічний звіт мультицентрового дослідження (2010–2014 рр.) [Текст]: монографія / А. Г. Салманов. – К.: Аграр Медіа Груп, 2015. – 452 с.
2. Олійник, О. В. Аналіз антибіотикорезистентності у хворих, які лікувались у Тернопільській університетській лікарні [Текст] / О. В. Олійник, Н. І. Красій // Клінічна хірургія. – 2013. – № 10. – С. 52–55.
3. Tong, S. Y. C. *Staphylococcus aureus* Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management [Text] / S. Y. C. Tong, J. S. Davis, E. Eichenberger, T. L. Holland, V. G. Fowler // *Clinical Microbiology Reviews*. – 2015. – Vol. 28, Issue 3. – P. 603–661. doi: 10.1128/cmr.00134-14
4. Воронкіна, І. А. Експериментальне визначення здатності до біоплівкоутворення метицилінорезистентних та метициліночутливих штамів стафілококу [Текст] / І. А. Воронкіна, С. А. Деркач, І. А. Крилова, Л. С. Габишева // *Annals of Mechanikov Institute*. – 2015. – № 4. – С. 59–65.
5. Пирог, Т. П. Регуляція антимікробної активності поверхнево-активних речовин, синтезованих *Nocardia vaccinni* IBM-7405 [Текст] / Т. П. Пирог, Л. В. Никитюк, В. О. Макієнко, Т. А. Шевчук, Г. О. Іутинська // *Мікробіологічний журнал*. – 2017. – № 3. – С. 27–35.
6. Wang, H. H. Antibiotic Resistance: How Much Do We Know and Where Do We Go from Here? [Text] / H. H. Wang, D. W. Schaffner // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2011. – Vol. 77, Issue 20. – P. 7093–7095. doi: 10.1128/aem.06565-11

7. Tor, Y. Antibiotics and Bacterial Resistance in the 21st Century [Text] / Y. Tor, R. Fair // Perspectives in Medicinal Chemistry. – 2014. – Vol. 6. – P. 25–64. doi: 10.4137/pmc.s14459
8. Demain, A. L. Importance of microbial natural products and the need to revitalize their discovery [Text] / A. L. Demain // Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology. – 2014. – Vol. 41, Issue 2. – P. 185–201. doi: 10.1007/s10295-013-1325-z
9. Cortes-Sanchez, A. de J. Biological activity of glycolipids produced by microorganisms: New trends and possible therapeutic alternatives [Text] / A. de J. Cortes-Sanchez, H. Hernandez-Sanchez, M. E. Jaramillo-Flores // Microbiological Research. – 2013. – Vol. 168, Issue 1. – P. 22–32. doi: 10.1016/j.micres.2012.07.002
10. Slivka, M. Regio- and stereoselective synthesis of [1,3]thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazol-7-ium salts via electrophilic heterocyclization of 3-S-propargylthio-4H-1,2,4-triazoles and their antimicrobial activity [Text] / M. Slivka, N. Korol, V. Pantyo, V. Baumer, V. Lendel // Heterocyclic Communications. – 2017. – Vol. 23, Issue 2. – P. 109–113. doi: 10.1515/hc-2016-0233
11. Babii, O. Controlling Biological Activity with Light: Diarylethene-Containing Cyclic Peptidomimetics [Text] / O. Babii, S. Afonin, M. Berditsch, S. Reiber, P. K. Mykhailiuk, V. S. Kubyshekin et. al. // Angewandte Chemie International Edition. – 2014. – Vol. 53, Issue 13. – P. 3392–3395. doi: 10.1002/anie.201310019
12. Faraone, V. Phototreatment of radiation-induced dermal injuries [Text] / V. Faraone, L. Denaro, E. Ruello, A. Scarmato, G. Vermiglio, P. Ruggeri // Acta Medica Mediterranea. – 2008. – Vol. 24, Issue 2. – P. 99–104.
13. Гуляр, С. А. Применение БИОПТРОН-ПАЙЛЕР-света в медицине [Текст] / С. А. Гуляр, А. Л. Косаковский. – К.: ИФБ НАН Украины НМАПО МЗ Украины, 2011. – 256 с.
14. Попов, В. Д. Современные аспекты лазерной терапии [Текст] / В. Д. Попов. – Черкассы: Вертикаль, 2011. – 608 с.
15. Антология светотерапии. Медицинские БИОПТРОН-технологии (теория, клиника, перспективы) [Текст]: сб. научн. тр. / ред. С. А. Гуляр. – К.: Изд-во Ин-та физиол. им. А.А. Богомольца НАН Украины, 2009. – 1024 с.
16. Гуляр, С. О. Медолайт: основы лікувальної дії світлодіодної техніки [Текст] / С. О. Гуляр. – К.: ІМЩ, 2015. – 64 с.
17. Бриль, Г. Е. Некоторые методологические аспекты изучения биологических эффектов низкоинтенсивного лазерного излучения [Текст] / Г. Е. Бриль // Фотобіологія та фотомедицина. – 2007. – Т. 5, № 1/2. – С. 5–13.
18. Пантьо, В. В. Вплив низькоінтенсивного лазерного випромінювання на антибіотикочутливість *Pseudomonas aeruginosa* [Текст] / В. В. Пантьо, Г. М. Коваль, В. І. Пантьо // ScienceRise: Biological Science. – 2016. – № 2 (2). – С. 18–24. doi: 10.15587/2519-8025.2016.77688
19. Пантьо, В. В. Вплив низькоінтенсивного лазерного випромінювання на біологічні об'єкти (огляд літератури) [Текст] / В. В. Пантьо, В. І. Ніколайчук, В. І. Пантьо // Науковий вісник Ужгородського університету: Серія Біологія. – 2009. – № 26. – С. 99–106.
20. Гуляр, С. А. Влияние поли- и монохроматического света на рост микроорганизмов на твердых питательных средах и его клиническое значение при пародонтите [Текст]: сб. научн. тр. / С. А. Гуляр, Е. А. Украинская, Г. И. Лесик, О. Ф. Толочина, Ю. В. Чаленко // Антология светотерапии. Медицинские БИОПТРОН-технологии. – К.: Изд-во Ин-та физиол. им. А. А. Богомольца НАН Украины, 2009. – С. 802–824.

*Рекомендовано до публікації д-р біол. наук, професор Ніколайчук В. І.
Дата надходження рукопису 29.05.2017*

Пантьо Валерій Валерійович, кандидат біологічних наук, доцент, кафедра мікробіології, вірусології та імунології з курсом інфекційних хвороб ДВНЗ «Ужгородський національний університет», пл. Народна, 3, м. Ужгород, Україна, 88000
E-mail: pantyo@meta.ua

Коваль Галина Миколаївна, доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри, кафедра мікробіології, вірусології та імунології з курсом інфекційних хвороб, ДВНЗ «Ужгородський національний університет», пл. Народна, 3, м. Ужгород, Україна, 88000

Пантьо Валерій Іванович, кандидат медичних наук, доцент, кафедра загальної хірургії, ДВНЗ «Ужгородський національний університет», пл. Народна, 3, м. Ужгород, Україна, 88000
E-mail: pantio@meta.ua

Гуляр Сергій Олександрович, доктор медичних наук, провідний науковий співробітник, Відділ загальної фізіології нервової системи, Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, вул. Богомольця, 4, м. Київ, Україна, 01601
E-mail: gulyar@zepter.ua