

DOI: 10.26693/jmbs03.02.232

УДК 579.841.21:535.21-2-026.613.8:616-002.3-092.9-085.28

Дубовик О. С.<sup>1</sup>, Мішина М. М.<sup>1</sup>, Коробов А. М.<sup>2</sup>

## ОЦІНКА ВПЛИВУ СВІТЛОДІОДНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА ЧУТЛИВІСТЬ ЗБУДНИКІВ ГНІЙНО-ЗАПАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ ДО ПРОТИМІКРОБНИХ ПРЕПАРАТІВ

<sup>1</sup>Харківський національний медичний університет, Кафедра мікробіології, вірусології та імунології ім. проф. Д. П. Гриньова, Україна

<sup>2</sup>Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Науково-дослідна лабораторія квантової біології та квантової медицини, Україна

mishina1969mmm@gmail.com

Проведена мікробіологічна оцінка впливу світлодіодного випромінювання синього й червоного спектрів на чутливість мікроорганізмів, збудників гнійно-запальних процесів до протимікробних препаратів. Показано, що світлодіодне випромінювання синього та червоного спектрів сприяє підвищенню чутливості мікроорганізмів до протимікробних препаратів.

**Ключові слова:** протимікробні препарати, світлодіодне випромінювання синього та червоного спектрів, мікроорганізми, збудники гнійно-запальних процесів.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Представлену роботу виконано у відповідності з плановою тематикою науково-дослідної роботи кафедри мікробіології, вірусології та імунології ім. проф. Д. П. Гриньова ХНМУ «Експериментальне мікробіологічне обґрунтування протимікробної терапії гнійно-запальних захворювань», № держ. реєстрації 0114U003390.

**Вступ.** Серед багатьох проблем сучасної медицини вагомим місцем посідає стійкість мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів, що на жаль, на сьогодні є світовою проблемою [1]. Підвищення рівня полірезистентності бактерій в останні роки ускладнює клініцистам вибір адекватної, ефективної і безпечної протимікробної терапії та обумовлює виникнення гнійно-запальних ускладнень. Боротьба з антибіотикостійкими мікроорганізмами в даний час розпалюється з новою силою, тому що кількість резистентних штамів мікробів з року в рік збільшується [2].

Зараз неухильно ведеться пошук найбільш оптимальних та раціональних методів лікування. В даний час дослідниками вивчено дію оптичного випромінювання з різною довжиною хвилі на фізіологічні та патологічні процеси макроорганізму [3, 4]. Світлодіодне випромінювання в останній час

стало ефективною альтернативою лазерним системам з таких причин, як низька вартість, наявність у різних діапазонах довжин хвиль від ультрафіолетової до ближньої інфрачервоної області спектру, вузька смуга випромінювання та швидкість світлової флуоресценції, крім того, можуть бути створені різні за розмірами світлодіодні пристрої для розміщення на великих площах, й вони не створюють високу температуру, що не може призвести до додаткового пошкодження тканини. Зараз світлодіодне випромінювання використовується в клініці при лікуванні різних захворювань та представляється перспективним альтернативним підходом до боротьби з патогенними бактеріями. Так закордонними фахівцями було досліджено ефекти *in vitro* світлового випромінювання блакитного спектру світлодіодного випромінювання на двох звичайних аеробних та анаеробних бактеріях й було повідомлено про різні бактерицидні дії залежно від довжини хвилі [5, 6]. Проведені дослідження, в яких показано, що поліхроматичне світлодіодне випромінювання з високою інтенсивністю широкого спектру з довжиною хвилі пригнічує життєдіяльність бактерій в інфікованих діабетичних виразках [7]. Однак, вплив світлодіодного випромінювання різних спектрів на антибіотикочутливість бактерій та встановлення бактерицидного ефекту у комплексній протимікробній терапії досі не виявлені. Тому визначення впливу світлодіодного випромінювання на чутливість мікроорганізмів до протимікробних препаратів є досить актуальним.

Отже, **метою** даного дослідження було визначення впливу світлодіодного випромінювання червоного та синього спектрів на чутливість мікроорганізмів, що є збудниками гнійно-запальних процесів, до протимікробних препаратів, які широко використовуються у практичній медицині.

**Об'єкт і методи дослідження.** Матеріал від хворих з гнійною патологією забирали і доставляли

в лабораторію згідно з вимогами взяття і доставки матеріалу для мікробіологічних лабораторій, запропонованих медичною академією післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика, м. Київ [8]. Матеріалом для дослідження служили: ранова тканина, гній, перев'язувальний та шовний матеріал. Мікробіологічне дослідження проводили загальноприйнятими методами [9]. Чутливість ізолятів до антимікробних засобів з різним механізмом дії на мікробну клітину вивчали за допомогою мікротестсистеми «ТНКтестГр». Тест-система являє собою полістиролові планшети одноразового використання, у комірках яких містяться аналогічні набори ліофілізованих протимікробних препаратів у поживному середовищі термінальних концентрацій, що дозволяє диференціювати мікроорганізми за ступенем чутливості одночасно до антимікробних препаратів: ампіциліну, цефепіму (новапіму), цефоперазону, цефазоліну, цефатоксиму, цефтазидиму, цефтріаксону, гентаміцину, амікацину, ципрофлоксацину, доксицикліну – для грамнегативних бактерій та еритроміцину, ванкоміцину, цефепіму, рифампіцину, ципрофлоксацину, гентаміцину, лінкоміцину – для грампозитивних бактерій. Велика концентрація відповідає мінімальному значенню для стійких штамів. Мала концентрація відповідає максимальному значенню мінімальної концентрації, що пригнічує розмноження мікроорганізмів (для чутливих штамів). Для визначення чутливості за допомогою мікротестсистеми «ТНК-тест» використовували бактеріальну суспензію, яку вимірювали на фотометрі «Densi-La-Meter» й концентрацію доводили відповідно до ступенів за McFarland за допомогою суспензійного середовища, а потім вносили у комірки. Планшети закривали та інкубували при температурі 37 °С протягом 18 год. [10].

Опромінення *in vitro* проводилось світлодіодними джерелами синього (440–480 нм) й червоного

(620–740 нм) випромінювання фотонної матриці апарата Коробова «Барва-Флекс» [11, 12], що містить світлодіодну матрицю з суперлюмінісцентними світлодіодами і блок живлення. Урахування й аналіз здобутих результатів проводили за допомогою автоматичного аналізатора «Multisran EX» (тип 355).

Для статистичної обробки результатів використовували програми Excel і Biostat [13, 14].

**Результати дослідження та їх обговорення.**

При визначенні комплексного впливу світлодіодного випромінювання та протимікробних препаратів на бактеріальну культуру *P.mirabilis* було встановлено, що за впливу світлодіодного випромінювання синього спектру чутливість ізолятів до протимікробних препаратів посилюється: до ампіциліну у 4,2 рази (порівняно з дією тільки ампіциліну), до цефепіму (новапіму) – у 5,2 рази, цефоперазону – у 3,6 рази, до цефазоліну – у 3,4 рази, до цефатоксиму – у 3 рази, до цефтазидиму – у 3,7 рази, до цефтріаксону – у 3,4 рази, до гентаміцину – у 3,8 рази, до амікацину – у 4,6 рази, до ципрофлоксацину – у 9,3 рази, до доксицикліну – у 3,7 рази (рис. 1).

За комплексної дії червоного спектру світлодіодного випромінювання чутливість мікроорганізмів до протимікробних препаратів також посилюється, але значно менше: до ампіциліну у 1,3 рази, до цефепіму (новапіму) та до цефатоксиму – у 2,6 рази, цефоперазону – у 2,2 рази, до цефазоліну та до амікацину – у 2 рази, до цефтазидиму – у 1,8 рази, до цефтріаксону та до гентаміцину – у 1,9 рази, до ципрофлоксацину – у 3,5 рази, до доксицикліну – у 1,6 рази порівняно з дією тільки протимікробних препаратів.

Аналогічна картина спостерігається при комплексному застосуванні протимікробних препаратів та світлодіодного випромінювання на бактеріальну культуру *E.coli* (рис. 2).

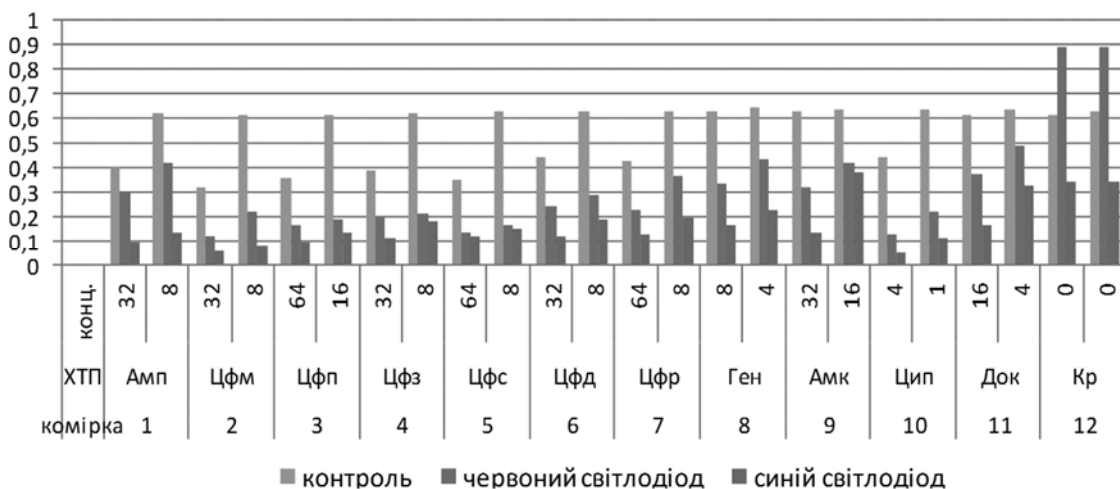


Рис. 1. Вплив світлодіодного випромінювання синього й червоного спектрів та протимікробних препаратів на ізоляти *P.mirabilis*

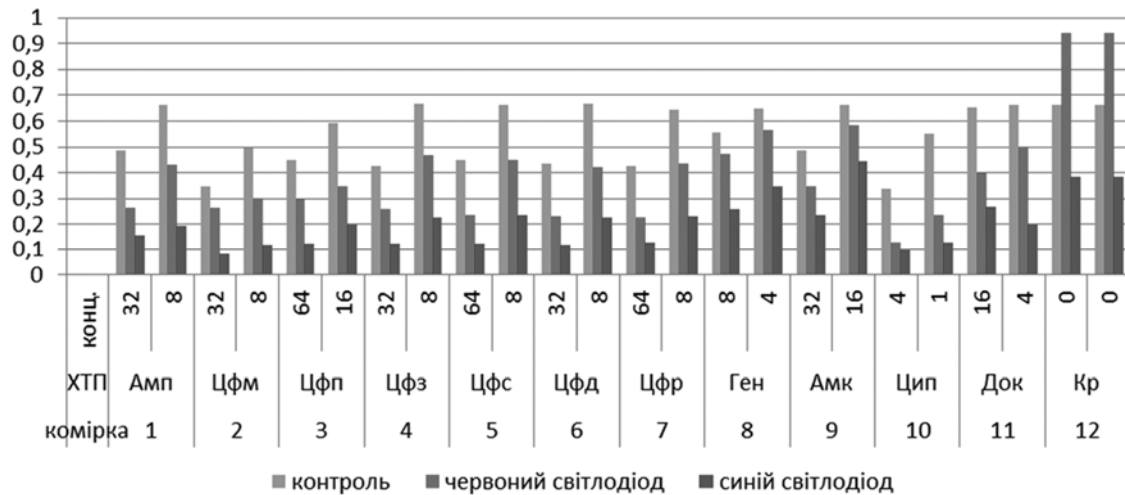


Рис. 2. Вплив світлодіодного випромінювання синього й червоного спектрів та протимікробних препаратів на ізоляти *E.coli*

За результатами дослідження встановлено, що ізоляти *E.coli* були чутливі до цефепіму (новапіму) та ципрофлоксацину та за впливу червоного спектру світлодіодного випромінювання чутливість *E.coli* до цефепіму посилювалась у 1,3 рази, а за впливу синього спектру світлодіодного випромінювання – у 4,2 рази порівняно з дією тільки антибактеріального препарату та у 8,1 рази порівняно з контрольними значеннями; чутливість *E.coli* до ципрофлоксацину посилювалась у 2,6 рази за впливу червоного спектру світлодіодного випромінювання, а за впливу синього спектру світлодіодного випромінювання – у 3,5 рази порівняно з дією тільки антибактеріального препарату та у 7 разів порівняно з контрольними значеннями.

При застосуванні даного методу для визначення антибіотикочутливості ізолятів *S.aureus* за впливу червоного світла та протимікробних препаратів було виявлено, що виділені штами проявляли стійкість до гентаміцину, еритроміцину, рифампіцину,

лінкоміцину, цефепіму – у комірках мікропланшетів як з більшою, так й з меншою концентрацією антибактеріальних препаратів був наявний ріст культури (рис. 3).

Встановлено, що штами *S.aureus* були чутливі до ципрофлоксацину й ванкоміцину тільки у комірках з максимальною концентрацією препаратів. За впливу синього та червоного спектрів оптичного випромінювання чутливість бактеріальної культури *S.aureus* до протимікробних препаратів посилюється. Так, наприклад, за впливу червоного спектру світлодіодного випромінювання чутливість до ципрофлоксацину посилюється у 3,2 рази, а за впливу синього спектру – у 3,8 рази; до цефепіму у тій же концентрації – за впливу червоного спектру світлодіодного випромінювання чутливість посилюється у 1,7 рази, а за впливу синього спектру – у 5,1 рази, що дає підставу рекомендувати комплексне застосування світлодіодного випромінювання синього спектру разом з протимікробними препаратами.

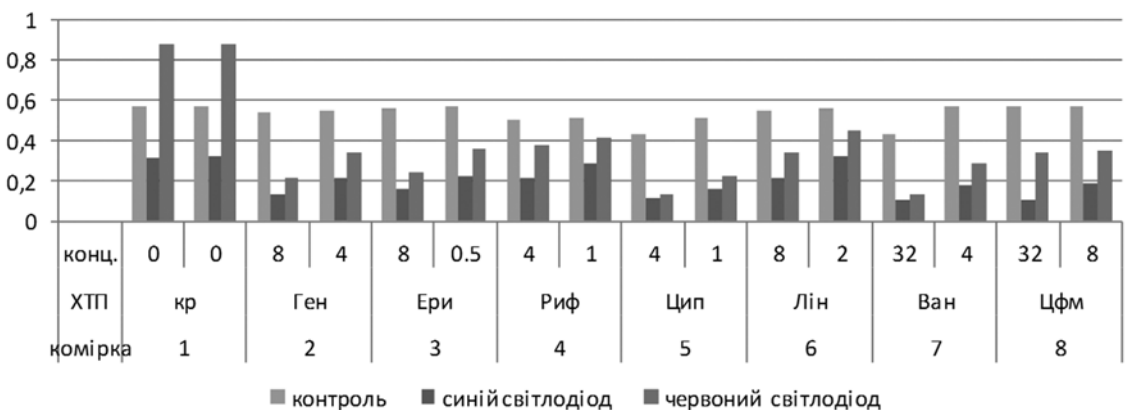


Рис. 3. Вплив світлодіодного випромінювання синього й червоного спектрів та протимікробних препаратів на ізоляти *S.aureus*

**Висновки.** Таким чином, в результаті даного дослідження обґрунтовано можливість застосування у комплексній терапії локалізованих гнійно-запальних процесів світлодіодного випромінювання синього та червоного спектрів, що сприяє підвищенню чутливості мікроорганізмів до протимікробних препаратів.

**Перспективи подальших досліджень** в даному напрямку є вивчення впливу протимікробних препаратів та світлодіодного випромінювання синього та червоного спектрів на динаміку загоєння вогнища запалення на експериментальних моделях.

## References

1. Lyeontyeva AV, Voronkova OS, Vinnikov AI. Chutlyvist do antybiotykyv hramnehatyvnykh bakteriy – zbudnykiv uskladnen ranovykh poverkhon. *Visnyk problem biolohiyi i medytsyny*. 2016; 1 (2): 163-7. [Ukrainian]
2. Ginyuk VA, Rychagov GP, Popkov OV, i dr. Primenenie svetodiodnoy fotoregulyatornoy i fotodinamicheskoy terapii pri lechenii ostrogo paraproktita. *Voennaya meditsina: nauchno-prakticheskiy retsenziruemyy zhurnal*. 2015; 3: 106-7. [Russian]
3. Deyneko AS, Vovk VA, Oleynik VA. Primenenie apparata «Fotonnaya matritsa Korobova «Barva-Fleks» v usloviyakh otdeleniya intensivnoy terapii. *Materialy yubileynoy KhKh Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii «Primenenie lazerov v meditsine i biologii»*, Kharkov: NPMBK «Lazer i zdorove». Kharkov, 2003. s 20. [Russian]
4. Kenzhekulov KK. Novye podkhody k lecheniyu gnoynykh ran. *Sovremennaya meditsina: aktualnye voprosy: sb st po mater LIV-LV mezhdunar nauch-prakt konf*. Novosibirsk: SibAK. 2016; 4-5 (49): 114-21. [Russian]
5. Guffey JS, Wilborn J. In vitro bactericidal effects of 405-nm and 470-nm Blue Light. *Photomed Laser Surg*. 2006; 24: 684–8. PMID: 17199466. DOI: 10.1089/pho.2006.24.684
6. Guffey JS, Wilborn J. Effects of combined 405-nm and 880-nm light on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* in vitro. *Photomed Laser Surg*. 2006; 24: 680–3. PMID: 17199465. DOI: 10.1089/pho.2006.24.680
7. Hamblin MR, Viveiros J, Yang C, Ahmadi A, Ganz RA, Tolkoff MJ. Helicobacter pylori accumulates photoactive porphyrins and is killed by visible light. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005; 49: 2822–7. PMID: 15980355. PMCID: PMC1168670. DOI: 10.1128/AAC.49.7.2822-2827.2005
8. Bilko IP. Vymohy do vzyattya ta dostavky materialu dlya mikrobiolohichnykh doslidzhen. *Suchasni infektsiyi*. 2001; 3: 106–9. [Ukrainian]
9. *Metodicheskie ukazaniya po primeneniyu unifitsirovannykh mikrobiolohicheskikh (bakteriolohicheskikh) metodov issledovaniya v kliniko-diahnosticheskikh laboratoriyakh*. Prilozhenie I k Prikazu Ministerstva zdravookhraneniya SSSR № 535 ot 22 Apr 1985. 123 s. [Russian]
10. Korneva EH. Prymenenye polystyrolovykh plastyn pry opredeleniyi chuvstvytelnosti bakteriy k antybyotykam. *Laboratornoe delo*. 1987; 9: 709 -10. [Ukrainian]
11. Korobov AM, Korobov VA, Lesnaya TA. *Fototerapevticheskie apparaty Korobova serii «Barva»*. Kharkov: IPP «Kontrast», 2008. 176 s. [Ukrainian]
12. *Patent 80355 Ukraine, MPK C12N 13/00, A61N 5/06*. Prystryi dlya vplyvu optychnoho vyprominyuvannya in vitro na patohenni bakteriyi / Korobov AM, Tsyhanenko AY, Mishyna MM, Dubovyk OS; zayavnyk ta patentovlasnyk KhNU im VN Karazina. № u201213663; zayavl.29.11.2012; opubl. 27.05.2013, Byul. № 10.
13. Lapach SN, Chubenko AV, Babich PN. *Statisticheskie metody v mediko-biolohicheskikh issledovaniyakh s ispolzovaniem Excel*. K: MORION, 2000. 320 s. [Russian]
14. Osipov VP, Lukyanova EM, Antipkin YuH, i dr. *Metodika statisticheskoy obrabotki meditsynskoy informatsii v nauchnykh issledovaniyakh*. K: Planeta lyudey, 2002. 200 s. [Russian]

УДК 579.841.21:535.21-2-026.613.8:616-002.3-092.9-085.28

### ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ СВЕТОДИОДНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ К ПРОТИВОМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ

*Дубовик Е. С., Мишина М. М., Коробов А. М.*

**Резюме.** Проведена микробиологическая оценка влияния светодиодного излучения синего и красного спектров на чувствительность микроорганизмов, возбудителей гнойно-воспалительных процессов, к противомикробным препаратам. Показано, что оптическое излучение синего и красного спектров способствует повышению чувствительности микроорганизмов к противомикробным препаратам.

**Ключевые слова:** противомикробные препараты, светодиодное излучение синего и красного спектров, микроорганизмы, возбудители гнойно-воспалительных процессов.

UDC 579.841.21:535.21-2-026.613.8:616-002.3-092.9-085.28

### Evaluation of the LED Radiation Influence on the Pathogens of Purulent and Inflammatory Processes Sensitivity to Antimicrobial Drugs

*Dubovyk O. S., Mishyna M. M., Korobov A. M.*

**Abstract.** Resistance of microorganisms to antibacterial drugs is one of the most acute problems of modern medicine which, unfortunately, has global character today. As the number of resistant microbial strains is rapidly

increasing, the fight against antibiotic-containing microorganisms is going on to find the most optimal and rational methods of treatment. Therefore, the definition of the influence of LED radiation on the sensitivity of microorganisms to antimicrobial drugs is very relevant.

Thus, *the purpose of this study* was to determine the effect of LED radiation of red and blue spectra on the sensitivity of microorganisms, which are pathogens of purulent and inflammatory processes, to antimicrobial drugs that are widely used in practical medicine.

*Materials and methods.* Materials of purulent pathology patients were taken and delivered to the laboratory in accordance with the requirements for taking and delivering the materials for microbiological laboratories proposed by Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv. Materials for research were the following: wound cloth, manure, dressing and suture material. The microbiological study was carried out using generally accepted methods. The sensitivity of isolates to antimicrobial agents with different mechanism of action on the microbial cell was studied using the microtestsystem TNKtestGr. In vitro radiation was carried out by LED sources of blue (440-480 nm) and red (620-740 nm) radiation of the photon matrix of the Korobov apparatus "Barva-Flex", which contains a LED matrix with super-fluorescent light-emitting diodes and a power supply. Consideration and analysis of the results were carried out with the help of the automatic analyzer "Multisran EX". Exel and Biostat programs were used for statistical processing of the results.

*Results and discussion.* In determining the complex effect of LED radiation and antimicrobial drugs on the bacterial culture of *P.mirabilis*, it was found out that, due to the influence of the light emitting diode of the blue spectrum, the sensitivity of the isolates to the antimicrobial agents increases: to ampicillin 4.2 times (compared with the action of only ampicillin), to cefepime (novapima) – 5.2 times, cefoperazone – 3.6 times, cefazolin – 3.4 times, cefatoxime – 3 times, ceftazidime – 3.7 times, ceftriaxone – 3.4 times, to gentamicin – 3.8 times, to amikacin – 4.6 times and to ciprofloxacin – 9.3 times to doxycycline – 3,7 times. In the complex action of the red spectrum of LED radiation, the sensitivity of microorganisms to antimicrobial drugs also increased, but not so much: to ampicillin – 1.3 times, to cefepime (napipime) and ceftaxime – 2.6 times, cefoperazone – 2.2 times, to cefazolin and to amikacin – 2 times, to ceftazidime – 1.8 times, to ceftriaxone and to gentamicin – 1.9 times, to ciprofloxacin – 3.5 times, to doxycycline – 1.6 times as compared to using only antimicrobial drugs.

A similar pattern was observed in the complex application of antimicrobial drugs and LED radiation to the bacterial culture of *E.coli*. According to the results of the study, it was found out that *E.coli* isolates were active in sensitive to cefepime (naufa) and ciprofloxacin, and due to the influence of the red spectrum of the LED radiation, the sensitivity of *E.coli* to cefepime was increased by 1.3 times, and by the effect of the blue LED spectrum at 4,2 times compared with the action of antibacterial preparation alone and 8.1 times compared with control values. The sensitivity of *E.coli* to ciprofloxacin was increased by 2.6 times for the influence of the red spectrum of LED radiation, and by the influence of the blue spectrum of the LED radiation – by 3.5 times compared with the action of the antibacterial drug alone and 7 times compared with the control values.

When using this method for the determination of antibiotic susceptibility of *S.aureus* isolates under the influence of red light and antimicrobial agents, it was revealed that the strains isolates showed resistance to gentamicin, erythromycin, rifampicin, lincomycin, cefepime – in cells of microplatelets with both greater and less concentration of antibacterial of drugs was the growth of culture.

Due to the influence of the blue and red spectra of the LED radiation, the sensitivity of *S.aureus* bacterial culture to antimicrobial drugs was intensified. For example, for the influence of the red spectrum of the LED radiation, the sensitivity to ciprofloxacin is increased by 3.2 times, and by the influence of the blue spectrum – by 3.8 times; due to the influence of the red spectrum of light-emitting diode radiation, the sensitivity to cefepime was increased by 1.7 times, and by the influence of the blue spectrum – by 5.1 times. These results let us recommend the complex application of the LED of the blue spectrum together with the antimicrobial drugs.

*Conclusions.* Thus, as a result of this study, we substantiated the possibility of using LED of blue and red spectra in the complex therapy of localized purulent-inflammatory processes, which contributes to increasing the sensitivity of microorganisms to antimicrobial drugs.

*Further research* in this area is the study of the influence of antimicrobial drugs and LED radiation of blue and red spectra on the dynamics of healing of the inflammation center on experimental models.

**Keywords:** antimicrobial drugs, LED radiation of blue and red spectra, microorganisms, pathogens of purulent and inflammatory processes.

Стаття надійшла 11.01.2018 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування