

ОЦЕНКА ПРОТИВОМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА РАЗЛИЧНЫЕ ВИДЫ БАКТЕРИЙ В КОМБИНАЦИИ С ДМСО

Гречуха Т.А.

Белорусский государственный медицинский университет

Антибактериальная фотодинамическая терапия является альтернативной антибиотикотерапии и заключается в избирательной окислительной деструкции микроорганизмов при комбинированном воздействии красителя-фотосенсибилизатора и видимого света с длиной волны 680 нм. Антибактериальная фотодинамическая терапия имеет ряд преимуществ по сравнению с традиционным использованием антибиотиков и антисептиков, так как ее применение сопровождается бактерицидным действием в отношении бактерий, простейших, грибов и вирусов, и не зависит от спектра чувствительности микроорганизмов к антибиотикам и антисептикам. Повреждающее действие фотохимического процесса обусловлено свободнорадикальными реакциями. Эффективность фотодинамического повреждения не изменяется во временном аспекте. При фотодинамическом воздействии (ФДВ) антимикробный эффект ограничен зоной облучения фотосенсибилизированных тканей, что позволяет избежать генерализации побочных эффектов. Фотосенсибилизаторы не обладают токсическим и мутагенным действием. В отличие от антибиотиков, применение последних не способствует появлению резистентных штаммов. [1,3]

Помимо ФС, в последнее время, практикуется использование дополнительных химических веществ и других агентов, изменяющих проницаемость наружной мембраны бактерий, что может повышать эффективность противомикробных средств.

Одним из таких веществ является димексид. Димексид — синтетический препарат, действующее вещество — диметилсульфоксид (ДМСО). Смешивается во всех соотношениях с водой и спиртом. Димексид обладает противовоспалительным и выраженным местнообезболивающим действием, усиливает проникновение через кожу ряда лекарств, изменяет чувствительность микрофлоры, резистентной к антибиотикам.

Цель исследования. Возможность повышения противомикробной активности ФДВ при его комбинации с ДМСО в отношении различных видов микроорганизмов *in vitro*.

Материалы и методы. В качестве возбудителя фотодинамической реакции использовался катионный фотосенсибилизатор «метиленовый синий» с концентрацией 10 мг/мл и при времени экспозиции 10 минут. В процессе исследований использовалось излучение малогабаритного полупроводникового лазерного терапевтического аппарата «Люзар-МП», производство РБ. Мощность лазерного излучения на выходе излучателя составляла 15 мВт с экспозицией 5 минут. Нами установлено, что наиболее эффективным в отношении штаммов бактерий гнойно-воспалительных заболеваний является излучение красной области спектра с длиной волны 670 ± 2 нм, за счет проникновения в биологические ткани на глубину до 25 мм. Облучение красной областью спектра локальных кожных зон оказывает дополнительное положительное действие, изменяя местную температуру в облученных тканях, что вызывает расширение сосудов и увеличение скорости кровотока [2]. В качестве объекта воздействия использовались микроорганизмы: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и грибы *Candida albicans*.

В процессе опыта исследуемые тест-культуры, суспендированные в физиологическом растворе до 10^4 – 10^5 КОЕ/мл (критический уровень обсемененности, необходимый для развития инфекции в ране), смешивали с раствором фотосенсибилизатора (1 мл суспензии + 1 мл 0,2% раствора метиленового синего), засекали газомом на плотную питательную среду (МПА) в количестве 1 мл, распределяли суспензию по поверхности питательной среды покачиванием. Излишки удаляли стерильной пипеткой. В другой серии опытов ФС «метиленовый синий» комбинировали с 25%-м димексидом. Те и другие опытные чашки обрабатывали светом в течении 5 минут. Расстояние от световодной насадки до поверхности питательной среды составляло 2 см, что давало возможность распределить световой поток равномерно по всей поверхности посева. Контрольные чашки засекали тест-культурами не внося в последние ФС и ДМСО и не подвергали облучению. Затем контрольные и опытные чашки помещали в термостат при температуре 37 °С. Через 24 часа подсчитывали число колоний и определяли процент выживших бактерий в опыте и контроле, вычисляли фактор редукции.

Результаты и их обсуждение. Как видно из таблицы 1, ДМСО в чистом виде практически не оказывает противомикробного действия на все изученные виды микроорганизмов. Процент выживших бактерий в популяциях превышал 91%. При ФДВ процент выживших бактерий составил 45–84%. А ФДВ в присутствии ДМСО сопровождалось более выраженным противомикробным эффектом — процент выживших микроорганизмов равен 16–21–22% для *C.albicans*, *E.coli* и *S.aureus* соответственно; в отношении *Ps.aeruginosa* эффект был ниже – выживание составило 48%.

Таблица 1

Противомикробное воздействие на различные виды микроорганизмов
ФС метиленового синего в отдельности и в комбинации с ДМСО

Виды микроорганизмов	контроль		АФДТ	ДМСО	АФДТ+ДМСО
	КОЕ				
<i>S. aureus</i>	КОЕ	$2,2 \times 10^3$	$9,8 \times 10^2$	$2,1 \times 10^3$	$4,7 \times 10^2$
	%	100%	45%	97%	22%
<i>Ps. aeruginosa</i>	КОЕ	$2,0 \times 10^3$	$1,7 \times 10^3$	$2,0 \times 10^3$	$9,4 \times 10^2$
	%	100%	84%	99%	48%

<i>E. coli</i>	KOE	$2,0 \times 10^3$	$8,7 \times 10^2$	$2,0 \times 10^3$	$4,2 \times 10^2$
	%	100%	43%	99%	21%
<i>C. albicans</i>	KOE	$5,6 \times 10^2$	$2,9 \times 10^2$	$5,1 \times 10^2$	$9,0 \times 10^1$
	%	100%	52%	91%	16%

Выводы.

ФДВ с применением «метиленового синего» сопровождается противомикробным эффектом, который существенно повышается при комбинации ФС с ДМСО.

Степень противомикробной активности ФДВ и ДМСО зависит от вида микроорганизмов. В большей мере противомикробный эффект проявлялся в отношении *S.aureus*, *E.coli* и *C.albicans*; меньше в отношении *Ps.aeruginosa*.

ASSESSMENT OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF PHOTODYNAMIC EFFECTS ON VARIOUS TYPES OF BACTERIA IN COMBINATION WITH DIMETHYLSULFOXIDE

T.A.Grechukha

The aim of this research is to study the impact of antibacterial photodynamic therapy with DMSO and their combined impact on bacterial component pyo-inflammatory processes. The above research enables to come to the conclusion that the method of PDT therapy possesses significant antibacterial efficiency. As a result of its application 43–84% of bacteria survive. The DMSO almost does not have antibacterial efficiency, as a result of its application 91% of bacteria survive. The maximum antibacterial effect is obtained at combined application of DMSO and PDT — no more than 16–21–22% of bacteria survive for *C.albicans*, *E.coli* and *S.aureus* respectively, and 48% for *Ps.aeruginosa*. The degree of the antimicrobial activity of the PDT and DMSO depends on the type of microorganisms.

Литература.

1. Корабоев У.М., Толстых М.П., Дуванский В.А., Усманов Д.Н. Изучение активности фотодинамической терапии в эксперименте. Лазерная медицина. 2001. №5(2). С.27-29.
2. Кирьянова В.В. Антология света. Kosmetik International. Физиотерапевт. 2005. №9. С.16-19.
3. Demidova T.N., Hamblin M.R. Photodynamic therapy targeted to pathogens. Int J Immunopathol Pharmacol. 2004. №17(3). С.245-254.