

☆ Оригинальные научные публикации

Новые технологии в медицине

А. В. Буравский¹, Е. В. Баранов¹, Г. А. Скороход², И. Н. Слабко², А. Ю. Русецкий¹

СВЕТОДИОДНОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ: РЕЗУЛЬТАТЫ АНТИМИКРОБНОГО ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ IN VITRO

УО «Белорусский государственный медицинский университет»¹,
Лаборатория внутрибольничных инфекций НИИЧ,
Минск, Беларусь²

Актуальными проблемами современной медицины продолжают оставаться полирезистентность микроорганизмов и поиск эффективных методов лечения пациентов с инфицированными раневыми дефектами кожи и мягких тканей. Одним из перспективных направлений решения этих задач является локальная антимикробная фотодинамическая терапия (АФДТ). Целью работы являлось изучение действия неполяризованного светодиодного излучения (НСИ) с различными физическими параметрами на патогенные микроорганизмы в присутствии некоторых фотосенсибилизаторов (ФС) в эксперименте *in vitro*. В результате проведенных исследований было установлено, что локальное антимикробное фотодинамическое воздействие с использованием НСИ и выбранных ФС оказывает выраженное бактериостатическое и бактерицидное действие как на Грам-положительные, так и на Грам-отрицательные бактерии, а также фунгицидное действие на грибы *Candida albicans*, что позволяет сделать выводы об универсальности и эффективности предлагаемого метода.

Ключевые слова: антимикробная фотодинамическая терапия, неполяризованное светодиодное излучение, фотосенсибилизатор, эксперимент *in vitro*.

A. V. Buravsky, E. V. Baranov, G. A. Skorohod,
I. N. Slabko, A. Yu. Rusecky

LED LIGHT: THE RESULTS OF ANTIMICROBIAL PHOTODYNAMIC IMPACT IN EXPERIMENTS IN VITRO

Microbial multiresistant and development of new effective treatment methods of infected wound defects of skin and soft tissues are still remaining an actual problem of medicine up-to-date. Antimicrobial photodynamic therapy (APhT) is one of the perspective methods to solve these problems. The aim of our investigation was to reveal the influence of different characteristic non-polarized diode emission (NpDE) to the pathogenic microorganisms in presents of some photosensitizers (PhS) in the experiments in vitro. As a result of our investigation we found that local antimicrobial photodynamic impact with NpDE and proper PhS use produces marked bacteriostatic and bactericidal effect on gram-positive as well as on gram-negative bacteria and fungi, what shows universality and efficiency of proposed method.

Key words: LED light, antimicrobial photodynamic therapy, photosensitizer, experiment in vitro.

Проблема лечения пациентов с инфицированными раневыми дефектами кожи и мягких тканей различного генеза не теряет своей актуальности. Во многом это связано с ростом числа полирезистентных штаммов микроорганизмов и, как следствие, недостаточной эффективностью системной антибактериальной терапии, а также местного применения антисептиков [1, 6]. Вместе с тем одной из основных задач лечебного воздействия в фазу воспаления является направленная минимизация влияния патогенной раневой микрофлоры на течение раневого процесса. Традиционные попытки увеличить дозировки и использовать новые antimicrobные препараты далеко не всегда позволяют достичь должного эффекта. Поэтому необходимым и перспективным направлением исследований представляется поиск альтернативных способов местного лечения инфицированных ран, основанных на использовании физических факторов воздействия. Одним из таких методов может быть локальная antimicrobная фотодинамическая терапия (АФДТ), основанная на применении веществ-фотосенсибилизаторов (ФС) и различных видов излучения [8]. Механизмы реализации эффектов АФДТ принципиально отличаются от действия антибиотиков и антисептиков [7]. Обязательными условиями для инициации фотореакций и развития летальной фотосенсибилизации являются накопление микробной клеткой ФС и воздействие излучением с длиной волны, соответствующей максимуму поглощения фотосенсибилизатора [3]. Плотность мощности излучения также играет определенную роль, поэтому наиболее часто при проведении фотодинамической терапии (ФДТ) в качестве активатора ФС применяется низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ) [5, 9]. Однако с появлением светодиодов высокой мощности (сверхъярких светодиодов), обеспечивающих излучение достаточной интенсивности, представляется возможным применение такого вида излучения для проведения эффективной локальной АФДТ [2, 4].

Целью исследования являлось изучение действия светодиодного излучения с различными физическими параметрами на патогенные микроорганизмы в присутствии выбранных фотосенсибилизаторов (Фотолон, метиленовый синий).

Материалы и методы

При проведении экспериментальных исследований в качестве источников неполяризованного светодиодного излучения (НСИ) были использованы аппараты на основе сверхъярких светодиодов, разработанные в ГНУ «Институт физики им. Б. И. Степанова» Национальной академии наук Республики Беларусь: комплекс многоцветный фототерапевтический «Ромашка», позволяющий получить НСИ с длинами волн $\lambda_1 = (0,410 \pm 0,015)$ мкм, $\lambda_2 = (0,630 \pm 0,015)$ мкм и $\lambda_3 = (0,870 \pm 0,015)$ мкм, а также Комплекс фототерапевтический «Календула», светодиодная матрица, которого обеспечивает НСИ на длинах волн $\lambda_1 = (0,405 \pm 0,02)$ мкм и $\lambda_2 = (0,630 \pm 0,03)$ мкм. В роли тестовых культур, на которых оценивалось действие светодиодного излучения и эффективность локального antimicrobного фотодинамического воздействия (АФВ), были использованы эталонные штаммы микроорганизмов *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*, которые являются типичными представителями Грам-положительной и Грам-отрицательной флоры раневых дефектов соответственно, а также грибов *Candida albicans*. В качестве ФС были использованы препараты «Фотолон» (комплекс хлорина е6 и поливинилпирролидона в массовом соотношении 1:1) с максимумами поглощения в спектральных участках 0,410 мкм и 0,660 мкм [10] и метиленовый синий (относится к группе фенотиозинов – катионных азиниев; максимум абсорбции – в диапазоне 0,620–0,660 мкм) в форме 0,1%-ных водных растворов. Исследования проводились в Лаборатории внутрибольничных инфекций НИЧ БГМУ.

Суточные бактериальные культуры суспендировали в стерильном физиологическом растворе до $1,0 \times 10^5$ КОЕ/мл (по стандарту мутности), а затем засеивали газонем в чашки Петри по 1 мл, равномерно распределяя суспензию на поверхности плотной питательной среды (МПА, среда Сабуро). Излишки удаляли стерильной пипеткой. При использовании ФС смешивали 1 мл стандартизированной суспензии микроорганизмов с 1 мл раствора фотосенсибилизатора, и через 30 минут полученную взвесь засеивали на чашку Петри описанным выше способом. Контрольные чашки помещали в термостат при температуре 37 °C на 24 часа.

Опытные образцы подвергали воздействию НСИ, после чего также инкубировали в термостате 24 часа. Затем подсчитывали число колониеобразующих единиц на поверхности опытных и контрольных чашек и вычисляли коэффициент редукции R_f (R_f – это разность между десятичными логарифмами (\lg) числа живых микроорганизмов (КОЕ/мл) в контроле и опыте).

Эксперимент был разделен на 4 группы исследований.

Первая группа (контрольная) – чашки Петри засеивались культурой микроорганизмов и помещались в термостат на 24 часа. ФС не использовались. Воздействие НСИ не производилось.

Во второй группе исследований стандартизированная суспензия микроорганизмов смешивалась с раствором ФС; затем полученная взвесь засеивалась на чашку Петри, которая помещалась в термостат на 24 часа. Воздействие НСИ не производилось.

В третьей группе исследований стандартизированная суспензия микроорганизмов без добавления ФС засеивалась на чашку Петри; сразу после этого проводилось облучение чашек НСИ с определенными физическими параметрами. Затем чашки Петри помещались в термостат на 24 часа.

В четвертой группе исследований стандартизированная суспензия микроорганизмов смешивалась с раствором ФС. После экспозиции 30 минут полученная взвесь засеивалась на чашку Петри, и производилось

воздействие НСИ. После облучения чашки помещались в термостат на 24 часа.

Всего было выполнено 35 серий исследований по 11 образцов в каждой серии.

Статистическая обработка результатов исследований была выполнена с использованием Microsoft Office Excel® 2007, а также программного пакета STATISTICA Version 10.0.

Результаты и обсуждение

Во всех сериях исследований были получены результаты, соответствующие или приближенные к нормальному распределению данных (величина критерия Шапиро–Уилка стремилась к 1). Выборки были равны по количеству ($n = 11$) и имели одномерные данные. Поэтому при проведении статистической обработки были применены параметрические методы (t-критерий Стьюдента для независимых выборок).

Результаты, полученные в первой группе исследований, были приняты за контрольные и указаны в соответствующих графах таблиц («Контроль»).

Во второй группе исследований проводили оценку прямой антимикробной активности растворов ФС (Фотолон и метиленовый синий) по отношению к микроорганизмам различных видов (*St. aureus*, *Ps. aeruginosa* и *S. albicans*). Воздействие НСИ не производилось. Полученные результаты сравнивали с данными первой (контрольной) группы (табл. 1–3).

Таблица 1. Оценка прямой антимикробной активности растворов фотосенсибилизаторов в отношении эталонных штаммов *St. aureus*

Серия	n	Диапазон полученных результатов, КОЕ/мл	Среднее значение, КОЕ/мл	Десятичный логарифм среднего значения (\lg средн.)	Коэффициент редукции (R_f)	Результаты статистической обработки данных
Контроль	11	$(0,6-1,6) \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	5,0	–	–
Фотолон	11	$(0,6-1,6) \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	5,0	0	$p > 0,05$ Значение t – в зоне незначимости
Метиленовый синий	11	$(0,7-1,0) \times 10^5$	$8,5 \times 10^4$	4,9	0,1	$p > 0,05$ Значение t – в зоне незначимости

Таблица 2. Оценка прямой антимикробной активности растворов фотосенсибилизаторов в отношении эталонных штаммов *Ps. aeruginosa*

Серия	n	Диапазон полученных результатов, КОЕ/мл	Среднее значение, КОЕ/мл	Десятичный логарифм среднего значения (\lg средн.)	Коэффициент редукции (R_f)	Результаты статистической обработки данных
Контроль	11	$(0,6-1,6) \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	5,0	–	–
Фотолон	11	$(0,6-1,6) \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	5,0	0	$p > 0,05$ Значение t – в зоне незначимости
Метиленовый синий	11	$(0,7-1,0) \times 10^5$	$8,5 \times 10^4$	4,9	0,1	$p > 0,05$ Значение t – в зоне незначимости

Таблица 3. Оценка прямой антимикробной активности растворов фотосенсибилизаторов в отношении эталонных штаммов *S. albicans*

Серия	n	Диапазон полученных результатов, КОЕ/мл	Среднее значение, КОЕ/мл	Десятичный логарифм среднего значения (\lg средн.)	Коэффициент редукции (R_f)	Результаты статистической обработки данных
Контроль	11	$(0,6-1,6) \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	5,0	–	–
Фотолон	11	$(0,6-1,6) \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	5,0	0	$p > 0,05$ Значение t – в зоне незначимости
Метиленовый синий	11	$(3,2-8,0) \times 10^4$	$5,0 \times 10^4$	4,7	0,3	$p < 0,05$ Значение t – в зоне значимости

По результатам исследований, проведенных в этой группе, не было выявлено значимого влияния ФС на рост культуры *St. aureus* (значения Rf в диапазоне 0–0,1). Аналогичная картина была отмечена и для *Ps. aeruginosa* (значения Rf в диапазоне 0–0,1). Полученные данные свидетельствовали об отсутствии прямого антимикробного действия используемых ФС на рост как Грам-положительных, так и Грам-отрицательных микроорганизмов.

При анализе результатов, полученных в третьей подгруппе, было выявлено, что при использовании раствора метиленового синего отмечалось некоторое подавление роста культуры *S. albicans*, в то время как применение Фотолон не оказывало существенного влияния на пролиферацию микроорганизмов.

Таким образом, при проведении исследований во второй группе эксперимента, не было выявлено стати-

стически достоверной прямой антимикробной активности используемых фотосенсибилизаторов (Фотолон и метиленовый синий в форме 0,1%-ных водных растворов) в отношении *St. aureus* (табл. 1) и *Ps. aeruginosa* (табл. 2). В отношении *S. albicans* была отмечена статистически достоверная прямая антимикробная активность 0,1%-ного раствора метиленового синего ($p < 0,05$), однако коэффициент редукции Rf составил лишь 0,3 единицы (табл. 3).

В третьей группе исследований (при плотности энергии на облучаемой поверхности 60–100 Дж/см²) оценивали антимикробное действие НСИ с длинами волн $\lambda_1 = (0,410 \pm 0,015)$ мкм, $\lambda_2 = (0,630 \pm 0,015)$ мкм и $\lambda_3 = (0,870 \pm 0,015)$ мкм на культуры *St. aureus* (табл. 4), *Ps. aeruginosa* (табл. 5) и *S. albicans* (табл. 6) без использования ФС. Полученные данные также сравнивали с группой контроля.

Таблица 4. Оценка антимикробного действия неполяризованного светодиодного излучения с различными физическими параметрами (расчетная плотность энергии на облучаемой поверхности 60–100 Дж/см²) на культуру *St. aureus*

Серия	n	Диапазон полученных результатов, КОЕ/мл	Среднее значение, КОЕ/мл	Десятичный логарифм среднего значения (lg средн.)	Коэффициент редукции (Rf)	Результаты статистической обработки данных
Контроль	11	(0,6–1,6)×10 ⁵	1,0×10 ⁵	5,0	–	–
$\lambda_1 = (0,410 \pm 0,015)$ мкм.	11	(0,64–1,6)×10 ⁴	1,0×10 ⁴	4,0	1,0	$p < 0,05$ Значение t – в зоне значимости
$\lambda_2 = (0,630 \pm 0,015)$ мкм.	11	(3,2–8,0)×10 ⁴	5,0×10 ⁴	4,7	0,3	$p < 0,05$ Значение t – в зоне значимости
$\lambda_3 = (0,870 \pm 0,015)$ мкм.	11	(0,6–1,6)×10 ⁵	1,0×10 ⁵	5	0	$p > 0,05$ Значение t – в зоне незначимости

Таблица 5. Оценка антимикробного действия неполяризованного светодиодного излучения с различными физическими параметрами (расчетная плотность энергии на облучаемой поверхности 60–100 Дж/см²) на культуру *Ps. aeruginosa*

Серия	n	Диапазон полученных результатов, КОЕ/мл	Среднее значение, КОЕ/мл	Десятичный логарифм среднего значения (lg средн.)	Коэффициент редукции (Rf)	Результаты статистической обработки данных
Контроль	11	(0,6–1,6)×10 ⁵	1,0×10 ⁵	5,0	–	–
$\lambda_1 = (0,410 \pm 0,015)$ мкм.	11	(0,7–1,0)×10 ⁵	8,5×10 ⁴	4,9	0,1	$p > 0,05$ Значение t – в зоне незначимости
$\lambda_2 = (0,630 \pm 0,015)$ мкм.	11	(0,6–1,3)×10 ⁵	9,0×10 ⁴	4,95	0,05	$p > 0,05$ Значение t – в зоне незначимости
$\lambda_3 = (0,870 \pm 0,015)$ мкм.	11	(0,6–1,6)×10 ⁵	1,0×10 ⁵	5	0	$p > 0,05$ Значение t – в зоне незначимости

Таблица 6. Оценка антимикробного действия неполяризованного светодиодного излучения с различными физическими параметрами (расчетная плотность энергии на облучаемой поверхности 60–100 Дж/см²) на культуру *S. albicans*

Серия	n	Диапазон полученных результатов, КОЕ/мл	Среднее значение, КОЕ/мл	Десятичный логарифм среднего значения (lg средн.)	Коэффициент редукции (Rf)	Результаты статистической обработки данных
Контроль	11	(0,6–1,6)×10 ⁵	1,0×10 ⁵	5,0	–	–
$\lambda_1 = (0,410 \pm 0,015)$ мкм.	11	(0,4–1,3)×10 ³	0,7×10 ³	2,85	2,15	$p < 0,05$ Значение t – в зоне значимости
$\lambda_2 = (0,630 \pm 0,015)$ мкм.	11	(1,0–2,4)×10 ⁴	1,5×10 ⁴	4,18	0,82	$p < 0,05$ Значение t – в зоне значимости
$\lambda_3 = (0,870 \pm 0,015)$ мкм.	11	(2,5–5,0)×10 ⁴	3,4×10 ⁴	4,53	0,47	$p < 0,05$ Значение t – в зоне значимости

В результате проведенных исследований было выявлено умеренно выраженное антимикробное действие на культуру *St. aureus* при воздействии НСИ с $\lambda_1 = (0,410 \pm 0,015)$ мкм и слабое влияние НСИ при $\lambda_2 = (0,630 \pm 0,015)$ мкм. При использовании НСИ с $\lambda_3 = (0,870 \pm 0,015)$ мкм антимикробный эффект выявлен не был.

Таким образом, применение НСИ с заданными параметрами не оказывало непосредственного антимикробного действия на рост Грам-отрицательных микроорганизмов (*Ps. aeruginosa*).

Анализ данных, полученных в этих сериях исследований, показал чувствительность грибов рода *Candida* к действию НСИ, причем наиболее выраженный эффект был отмечен при использовании света с длиной волны $\lambda_1 = (0,410 \pm 0,015)$ мкм.

В третьей группе исследований было установлено статистически достоверное ($p < 0,05$) антимикробное действие НСИ с длинами волн $\lambda_1 = (0,410 \pm 0,015)$ мкм и $\lambda_2 = (0,630 \pm 0,015)$ мкм как на культуры *St. aureus* ($Rf_1 = 1,0$ и $Rf_2 = 0,3$ соответственно), так и *C. albicans* ($Rf_1 = 2,15$ и $Rf_2 = 0,82$ соответственно), а также НСИ с длиной волны $\lambda_3 = (0,870 \pm 0,015)$ мкм на культуру *C. albicans* ($Rf_3 = 0,47$). Результаты воздействия НСИ на культуру *Ps. aeruginosa* не имели статистически достоверных различий ($p > 0,05$) с контрольной группой (значения Rf в диапазоне 0–0,1).

Также было установлено, что использование любой из указанных длин волн НСИ с расчетной плотностью энергии на облучаемой поверхности 20–30 Дж/см² (6 серий исследований) не вызывало статистически достоверного антимикробного действия на культуры микроорганизмов ($p > 0,05$, $Rf = 0$) в сравнении с контрольной группой.

При проведении дальнейших исследований нами не использовалось НСИ с длиной волны $\lambda_3 = (0,870 \pm 0,015)$ мкм. Это было обусловлено низкой прямой антимикробной активностью такого вида излучения, а также отсутствием ФС с соответствующим максимумом поглощения (λ_{max} , мкм).

В четвертой группе исследований суспензию микроорганизмов смешивали с раствором ФС, полученную взвесь засеивали на питательную среду. Затем проводили адресное АФВ, используя длину волны НСИ, соответствующую максимуму абсорбции выбранного фотосенсибилизатора (λ_{max} , мкм). Эффективность АФВ также оценивали путем сравнения полученных данных с результатами контрольных исследований. Во всех подгруппах и сериях этой группы были установлены статистически достоверные различия с контрольными данными ($p < 0,05$), а также получены высокие коэффициенты редукции Rf (3,0–4,0). Результаты исследований представлены в табл. 7–9.

Таблица 7. Результаты локального АФВ с расчетной плотностью энергии на облучаемой поверхности 20–30 Дж/см² на культуру *St. aureus*

Серия	n	Диапазон полученных результатов, КОЕ/мл	Среднее значение, КОЕ/мл	Десятичный логарифм среднего значения (lg средн.)	Коэффициент редукции (Rf)	Результаты статистической обработки данных
Контроль	11	$(0,6-1,6) \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	5,0	–	–
Фотолон + НСИ с $\lambda_1 = (0,405 \pm 0,02)$ мкм.	11	$(1,3-3,0) \times 10^1$	$2,0 \times 10^1$	1,3	3,7	$p < 0,05$ Значение t – в зоне значимости
Метиленовый синий + НСИ с $\lambda_2 = (0,630 \pm 0,03)$ мкм.	11	$(0,6-1,5) \times 10^1$	$1,0 \times 10^1$	1,0	4,0	$p < 0,05$ Значение t – в зоне значимости

Таблица 8. Результаты локального АФВ с расчетной плотностью энергии на облучаемой поверхности 20–30 Дж/см² на культуру *Ps. aeruginosa*

Серия	n	Диапазон полученных результатов, КОЕ/мл	Среднее значение, КОЕ/мл	Десятичный логарифм среднего значения (lg средн.)	Коэффициент редукции (Rf)	Результаты статистической обработки данных
Контроль	11	$(0,6-1,6) \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	5,0	–	–
Фотолон + НСИ с $\lambda_1 = (0,405 \pm 0,02)$ мкм.	11	$(0,3-1,0) \times 10^2$	$5,0 \times 10^1$	1,77	3,23	$p < 0,05$ Значение t – в зоне значимости
Метиленовый синий + НСИ с $\lambda_2 = (0,630 \pm 0,03)$ мкм.	11	$(0,6-1,6) \times 10^2$	$1,0 \times 10^2$	2,0	3,0	$p < 0,05$ Значение t – в зоне значимости

Таблица 9. Результаты локального АФВ с расчетной плотностью энергии на облучаемой поверхности 20–30 Дж/см² на культуру *C. albicans*

Серия	n	Диапазон полученных результатов, КОЕ/мл	Среднее значение, КОЕ/мл	Десятичный логарифм среднего значения (lg средн.)	Коэффициент редукции (Rf)	Результаты статистической обработки данных
Контроль	11	$(0,6-1,6) \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	5,0	–	–
Фотолон + НСИ с $\lambda_1 = (0,405 \pm 0,02)$ мкм.	11	$(0,6-1,5) \times 10^1$	$1,0 \times 10^1$	1,0	4,0	$p < 0,05$ Значение t – в зоне значимости
Метиленовый синий + НСИ с $\lambda_2 = (0,630 \pm 0,03)$ мкм.	11	$(0,6-1,5) \times 10^1$	$1,0 \times 10^1$	1,0	4,0	$p < 0,05$ Значение t – в зоне значимости

Полученные в ходе эксперимента данные в первой подгруппе свидетельствовали о выраженном антимикробном действии локального АФВ с заданными параметрами на эталонные штаммы *St. aureus* (рис. 1–2).

Влияние АФВ с выбранными параметрами на культуры *Ps. aeruginosa* заключалось в достаточно сильном бактерицидном действии, более выраженном при использовании в качестве ФС препарата Фотолон (рис. 3–4).

Таким образом, локальное АФВ с применением НСИ оказалось эффективным в отношении как Грам-положительных (*St. aureus*), так и Грам-отрицательных (*Ps. aeruginosa*) бактерий.

Грибы рода *Candida* так же оказались одинаково чувствительны к локальному АФВ с использованием выбранных ФС, причем коэффициенты редукции Rf при этом имели достаточно высокие значения (рис. 5–6).

Результаты проведенных *in vitro* исследований свидетельствовали о наличии статистически достоверной

($p < 0,05$) антимикробной активности локального фотодинамического воздействия с использованием ФС Фотолон и метиленового синего в форме 0,1%-ных водных растворов и НСИ с длинами волн $\lambda_1 = (0,405 \pm 0,02)$ мкм и $\lambda_2 = (0,630 \pm 0,03)$ мкм соответственно (при условии совпадения длины волны излучения с максимумом абсорбции фотосенсибилизатора и достаточной плотности энергии на облучаемой поверхности) в отношении Грам-положительных и Грам-отрицательных бактерий, а также грибов *Candida albicans* (значения Rf в диапазоне 3,0–4,0).

Использование ФС без последующего облучения НСИ, равно как и воздействие НСИ без применения ФС в большинстве случаев не могут обеспечить статистически достоверного антимикробного эффекта даже при высоких значениях плотности энергии на облучаемой поверхности (60–100 Дж/см²).

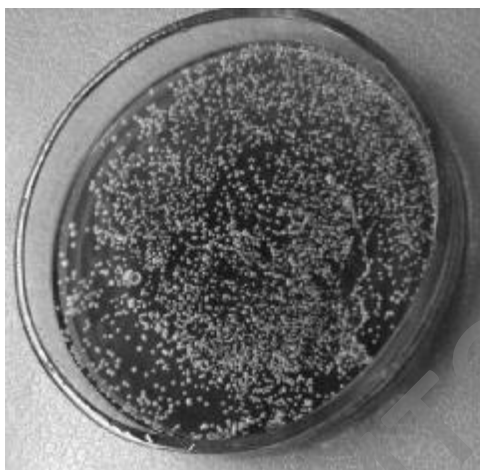


Рис. 1. Культура: *Staphylococcus aureus*. ФС: метиленовый синий 0,1% водный. Без облучения. Коэффициент редукции Rf = 0,1

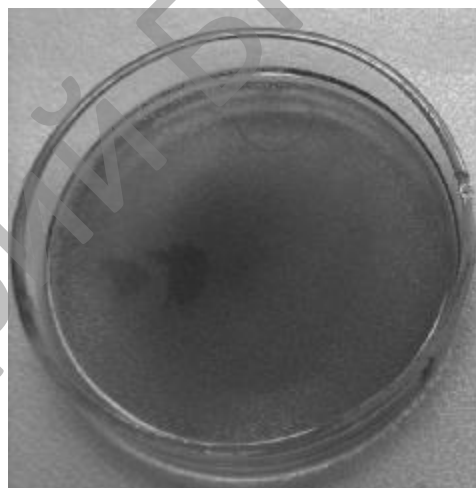


Рис. 2. Культура: *Staphylococcus aureus*. ФС: метиленовый синий 0,1% водный. Длина волны НСИ: $\lambda_1 = (0,410 \pm 0,015)$ мкм. Коэффициент редукции Rf = 4,0



Рис. 3. Культура: *Pseudomonas aeruginosa*. Без фотосенсибилизатора. Длина волны НСИ: $\lambda_1 = (0,405 \pm 0,02)$ мкм. Коэффициент редукции Rf = 0,1



Рис. 4. Культура: *Pseudomonas aeruginosa*. ФС: Фотолон 0,1% водный. Длина волны НСИ: $\lambda_1 = (0,405 \pm 0,02)$ мкм. Коэффициент редукции Rf = 3,23

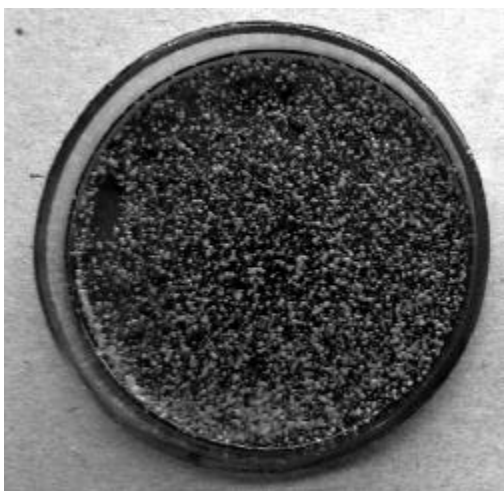


Рис. 5. Культура: *Candida albicans*. Без фотосенсибилизатора. Без облучения

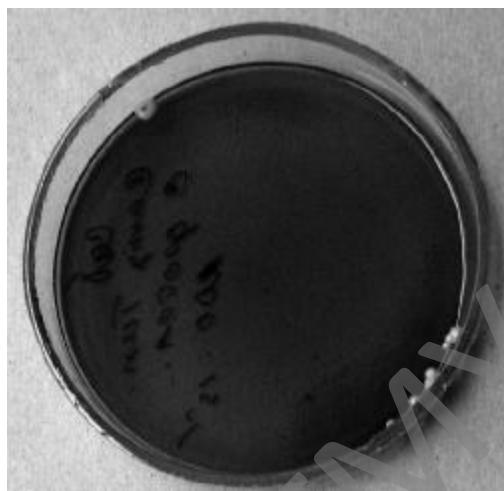


Рис. 6. Культура: *Candida albicans*. ФС: Фотолон 0,1% водный. Длина волны НСИ: $\lambda_1 = (0,405 \pm 0,02)$ мкм. Коэффициент редукции $R_f = 4,0$

Выводы

1. Неполаризованное светодиодное излучение без применения фотосенсибилизаторов может вызывать повреждение и гибель микробных клеток. Однако степень выраженности и эффективность этого воздействия в отношении микроорганизмов различных видов достаточно вариабельна и часто неудовлетворительна.

2. Прямая антимикробная активность использованных фотосенсибилизаторов в отношении микроорганизмов разных видов отсутствует или выражена достаточно слабо.

3. Применение неполяризованного светодиодного излучения и выбранных ФС в эксперименте *in vitro* приводит к реализации бактериостатического и бактерицидного эффектов как в отношении Грам-положительных, так и Грам-отрицательных бактерий, а также обеспечивает фунгицидное действие на грибы *Candida albicans*, что свидетельствует об универсальности и эффективности локального фотодинамического воздействия.

Таким образом, анализ экспериментальных данных позволяет рассматривать метод локальной антимикробной фотодинамической терапии с использованием неполяризованного светодиодного излучения и выбранных фотосенсибилизаторов (Фотолон, метиленовый синий) в качестве достаточно перспективного варианта эффективного местного лечения пациентов с хирургическими инфекциями кожи и мягких тканей. Бактерицидное и фунгицидное действие АФВ потенциально способно уменьшить продолжительность фазы воспаления, и, соответственно, ускорить течение раневого процесса и регенерацию раневого дефекта.

Литература

1. Абаев, Ю. К. Раневая инфекция в хирургии: учебное пособие. Минск: Беларусь, 2003. С. 293.

2. Бондаренко, В. М. Эффект фотодинамического воздействия металлокомплексов производных хлорина Е6 на условно-патогенные бактерии с использованием сверхъярких светодиодов «холодного» белого света / В. М. Бондаренко [и др.] // Лазерная медицина. 2008. № 12 (2). С. 26–30.

3. Коробов, У. М., Юлдашева, Н. Э., Пахмурин, И. Р. Фотохимическое воздействие на патогенные микроорганизмы гнойных ран в эксперименте // Паллиативная медицина и реабилитация. 2006. № 4. С. 31–32.

4. Мостовников, В. А. Биологическая активность и терапевтическая эффективность излучения сверхъярких светодиодов / В. А. Мостовников, Г. Р. Мостовникова, В. Ю. Плавский, Н. С. Сердюченко // Лазерно-оптические технологии в биологии и медицине: программа и тез. докл. междунар. конф. Минск, 2004. С. 28.

5. Пальчун, В. Т., Лапченко, А. С. Современный взгляд на антимикробную фотодинамическую терапию // Вестник оториноларингологии: медицинский научно-практический журнал. 2007. № 3. С. 4–6.

6. Савельев, В. С. Хирургические инфекции кожи и мягких тканей / В. С. Савельев [и др.] // Российские национальные рекомендации. М., 2009. С. 90.

7. Странадко, Е. Ф. Основные механизмы фотодинамической терапии // Фотобиол. и экспер. мед. 1999. № 1. С. 36–43.

8. Странадко, Е. Ф., Кулешов, И. Ю., Караханов, Г. И. Фотодинамическое воздействие на патогенные микроорганизмы (Современное состояние проблемы антимикробной фотодинамической терапии). // Лазерная медицина. 2010. Т. 14. № 2. С. 52–56.

9. Толстых, П. И., Странадко, Е. Ф., Коробов, У. М. [и др.]. Фотодинамическое воздействие на бактериальную микрофлору ран в эксперименте // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2001. № 2. С. 85–87.

10. Трухачева, Т. В. [и др.]. Фотолон – новое средство для фотодинамической терапии. Обзор результатов фармацевтических, фармакологических и клинических исследований // Минск: Белмедпрепараты. 2009. С. 64.

Поступила 14.03.2014 г.