

© В.В. Пантьо, В.І. Ніколайчук, В.І. Пантьо, 2011

УДК: 576.851.252.097.22:615.33:615.849.19

²В.В. ПАНТЬО, ¹В.І. НИКОЛАЙЧУК, ²В.І. ПАНТЬО

¹Ужгородський національний університет, біологічний факультет, кафедра генетики, фізіології рослин та мікробіології; ²медичний факультет, кафедра загальної хірургії, Ужгород

ЗМІНА АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТІ МУЗЕЙНОГО ТА КЛІНІЧНОГО ШТАМІВ ЗОЛОТИСТОГО СТАФІЛОКОКУ ВІД ВПЛИВУ ЛАЗЕРНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ РІЗНОЇ ДОВЖИНИ ХВИЛЬ

У статті наведені результати досліджень з вивчення впливу низькоінтенсивного лазерного випромінювання з довжиною хвиль 635 та 870 нм на антибіотикочувливість культури золотистого стафілококу (музейний штам ATCC 25923 та штам, висіяний із ран). Зміну резистентності до антибактеріальних препаратів вимірювали за допомогою диско-дифузійного методу. Отримані дані статистично оброблені та наочно проілюстровані за допомогою фотографій, таблиць та гістограм.

Ключові слова: стафілокок, лазер, антибіотик, резистентність

Вступ. З моменту відкриття Александером Флемінгом першого антибіотику – пеніциліну 1928 року розпочалася нова ера в історії медицини. Численні бактеріальні інфекції, які до того викликали епідемії з високим рівнем смертності, почали ефективно лікувати [3, 7].

Відомості про зменшення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів, про появу полірезистентних штамів більшість людства не насторожували. Тим більше, що з року в рік з'являлися нові засоби цієї групи ліків, які знову доводили перевагу людського інтелекту над здатністю мікроорганізмів змінювати свої властивості з метою виживання [3, 5].

Наприкінці ХХ століття стало зрозумілим, що перемогу у боротьбі із патогенними мікроорганізмами людство не тільки не здобуло, але у багатьох випадках катастрофічно здало свої позиції. Таким чином, виявилось, що святкувати перемогу над хвороботворними мікроорганізмами рано, перевага людини над природою виявилась ілюзорною. Більше того, питання боротьби людини та мікроорганізмів набуло несподіваної драматичної гостроти [2, 3].

Внаслідок цього вчені дедалі більше уваги звертають на альтернативні шляхи боротьби з інфекціями, серед яких перспективним, зокрема, є використання низькоінтенсивного лазерного випромінювання (НЛВ).

Провідні позиції у здатності набувати резистентність до загальнозживаних антибіотиків посідає золотистий стафілокок. Стійкість до антибіотиків у даного виду пов'язана з наявністю певних плазмід. Клітини стафілокока, які містять плазмиди стійкості до антибіотика, синтезують ферменти, які інактивують або модифікують молекулу антибіотика. Резистентність може бути також пов'язана із блокуванням транспорту антибіотика через мембрану, що також детермінується специфічною плазмідною [5].

Створення лазера справедливо можна вважати одним із найбільш значних винаходів ХХ століття. На сьогоднішній день лазер активно застосовуєть-

ся у різноманітних галузях, у тому числі біології та медицині, де лазерне випромінювання використовується вже понад 40 років [1, 2, 4, 6, 7]. Цікавим є напрямком використання НЛВ у мікробіологічних дослідженнях, зокрема, у контексті вивчення його дії на антибіотикочувливість мікроорганізмів.

Мета дослідження. Вивчити вплив НЛВ на антибіотикорезистентність золотистого стафілококу.

Матеріали та методи. На базі лазерної лабораторії УжНУ проведено серію досліджень, присвячених вивченню впливу НЛВ на антибіотикорезистентність золотистого стафілококу. Об'єкт дослідження – музейний штам золотистого стафілококу ATCC 25923 та штам, який був виділений із осередків гнійно-септичних процесів (фурункули, абсцеси та ін.).

Для визначення чутливості об'єктів дослідження до антибіотиків використовували диско-дифузійний метод. При цьому окремими серіями поводити вивчення антибіотикочувливості контрольних (неопромінених) культур та культур, які були опромінені НЛВ різних довжин хвиль. Визначення чутливості проводилося по відношенню до наступних антибактеріальних препаратів: ампіцилін, гентаміцин, оксацилін, цефотаксим та тетрациклін.

Опромінення культур проводили нерухомих променем лазера за допомогою кварц-полімерного моноволоконного світловода з відстані 1 см до стандартного завису культур (5 млн. мікробних тіл на 1 мл), які знаходилися у пробірці. При дослідженні антибіотикочувливості золотистого стафілококу диско-дифузійним методом використовували експозиції 180, 360 та 600 секунд, при цьому доза випромінювання становила відповідно 2,7 Дж, 5,4 Дж та 9,0 Дж. Джерелами червоного (довжина хвилі 635 нм, потужність 15 мВт) та інфрачервоного (довжина хвилі 870 нм, потужність 15 мВт) лазерного випромінювання були вітчизняні лазери „Ліка-терапевт” та „МІТ-1” (серія „ЛІКА”).

Отримані дані статистично обробляли, визначаючи середні арифметичні величини вибірок та

середнє квадратичне відхилення. Порівнюючи достовірність різниці між експериментальними даними та контролем користувалися формулою Госсета (Стьюдента). Для розрахунку формул та графічного представлення результатів використовували комп'ютерні програми Statistica 8.0 та Microsoft Office Excel 2003.

Результати досліджень та їх обговорення. В результаті проведених досліджень відзначаємо

значне збільшення чутливості об'єкта дослідження до обраних антибіотиків. Порівнюючи результати експозиції 180, 360 та 600 секунд, зазначимо, що найбільший фотомодифікуючий вплив НЛВ спостерігався за 180-секундного опромінення. Ця закономірність у однаковій мірі стосується НЛВ як червоного, так і інфрачервоного спектру, а також як музейного, так і штаму золотистого стафілококу, висіяного із ран (рис.1, табл. 1, 2).

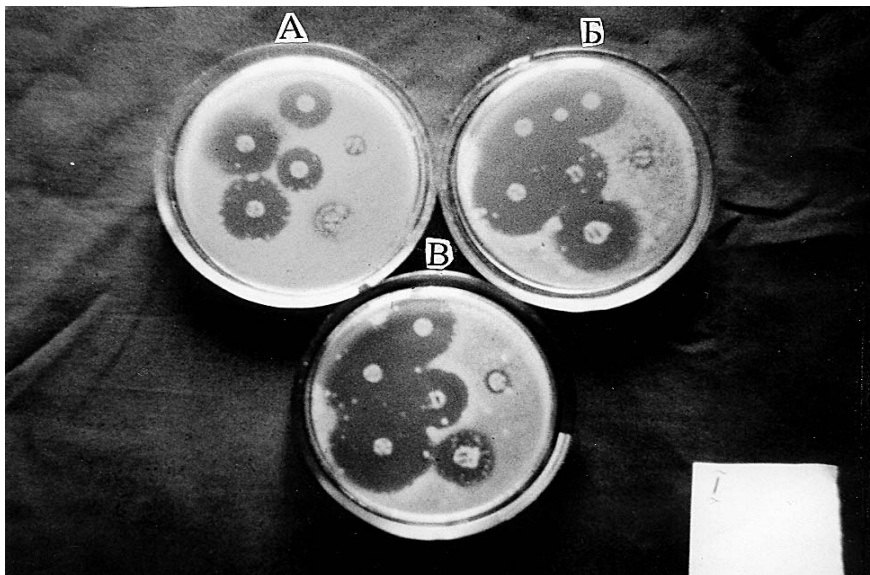


Рис. 1. Визначення чутливості культури *Staphylococcus aureus* до антибіотиків методом дифузії в агар (експозиція 180 сек): А – контроль, Б – опромінення червоним лазером, В – опромінення інфрачервоним лазером

Таблиця 1

Діаметр (мм, $M \pm m$) зон затримки росту при лазерному опроміненні штаму *Staphylococcus aureus*, висіяного із ран

Антибіотик	Контроль (n=22)	Експозиція 180 сек (n=27)		Експозиція 360 сек (n=27)		Експозиція 600 сек (n=27)	
		червоний лазер	інфрачерв. лазер	червоний лазер	інфрачерв. лазер	червоний лазер	інфрачерв. лазер
Цефотаксим	23,7±0,2	29,2±0,5 ($P_1 < 0,05$)	30,1±0,4 ($P_1 < 0,001$)	27,2±0,4 ($P_2 < 0,05$)	26,7±0,5 ($P_2 < 0,05$)	25,3±0,3 ($P_3 < 0,05$)	24,1±0,2 ($P_3 > 0,05$)
Ампіцилін	19,1±0,3	30,8±0,6 ($P_1 < 0,001$)	25,9±0,3 ($P_1 < 0,05$)	27,6±0,3 ($P_2 < 0,05$)	24,3±0,3 ($P_2 > 0,05$)	25,7±0,4 ($P_3 < 0,05$)	22,3±0,2 ($P_3 > 0,05$)
Гентаміцин	21,8±0,4	28,2±0,3 ($P_1 < 0,001$)	26,1±0,5 ($P_1 < 0,05$)	26,1±0,4 ($P_2 < 0,05$)	25,4±0,2 ($P_2 < 0,05$)	23,2±0,2 ($P_3 > 0,05$)	22,4±0,3 ($P_3 > 0,05$)
Оксацилін	22,2±0,2	26,8±0,4 ($P_1 < 0,05$)	25,8±0,4 ($P_1 < 0,05$)	23,4±0,2 ($P_2 > 0,05$)	25,1±0,3 ($P_2 < 0,05$)	22,4±0,3 ($P_3 > 0,05$)	23,1±0,2 ($P_3 > 0,05$)
Тетрациклін	22,7±0,2	27,8±0,4 ($P_1 < 0,05$)	29,5±0,2 ($P_1 < 0,05$)	24,6±0,2 ($P_2 > 0,05$)	25,4±0,2 ($P_2 > 0,05$)	23,5±0,3 ($P_3 > 0,05$)	23,8±0,3 ($P_3 > 0,05$)

P_1 – достовірність різниці між 180-секундною експозицією та контролем.

P_2 – достовірність різниці між 360-секундною експозицією та контролем.

P_3 – достовірність різниці між 600-секундною експозицією та контролем

За допомогою рисунків 2-11 можна наочно переконатися у збільшенні ефективності дії досліджених антибактеріальних препаратів по відно-

шенню до опромінених культур золотистого стафілококу порівняно з контролем (неопромінені культури).

Таблиця 2

Діаметр (мм, $M \pm m$) зон затримки росту при лазерному опроміненні музейного штаму *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Антибіотик	Контроль (n=20)	Експозиція 180 сек (n=20)		Експозиція 360 сек (n=20)		Експозиція 600 сек (n=20)	
		червоний лазер	інфрачерв. лазер	червоний лазер	інфрачерв. лазер	червоний лазер	інфрачерв. лазер
Цефатаксім	23,7±0,2	29,5±0,5 (P ₁ < 0,05)	29,9±0,4 (P ₁ < 0,001)	27,1±0,4 (P ₂ < 0,05)	26,4±0,5 (P ₂ < 0,05)	25,1±0,3 (P ₃ < 0,05)	24,3±0,2 (P ₃ > 0,05)
Ампіцилін	19,1±0,3	30,6±0,6 (P ₁ < 0,001)	26,2±0,3 (P ₁ < 0,05)	27,8±0,3 (P ₂ < 0,05)	24,7±0,3 (P ₂ > 0,05)	25,5±0,4 (P ₃ < 0,05)	22,1±0,2 (P ₃ > 0,05)
Гентаміцин	21,8±0,4	28,5±0,3 (P ₁ < 0,001)	26,4±0,5 (P ₁ < 0,05)	26,3±0,4 (P ₂ < 0,05)	25,7±0,2 (P ₂ < 0,05)	23,3±0,2 (P ₃ > 0,05)	22,6±0,3 (P ₃ > 0,05)
Оксацилін	22,2±0,2	26,6±0,4 (P ₁ < 0,05)	26,1±0,4 (P ₁ < 0,05)	23,6±0,2 (P ₂ > 0,05)	25,2±0,3 (P ₂ < 0,05)	22,6±0,3 (P ₃ > 0,05)	23,4±0,2 (P ₃ > 0,05)
Тетрациклін	22,6±0,2	28,0±0,4 (P ₁ < 0,05)	29,7±0,2 (P ₁ < 0,05)	24,7±0,2 (P ₂ > 0,05)	25,8±0,2 (P ₂ > 0,05)	23,6±0,3 (P ₃ > 0,05)	23,9±0,3 (P ₃ > 0,05)

P₁ – достовірність різниці між 180-секундною експозицією та контролем.

P₂ – достовірність різниці між 360-секундною експозицією та контролем.

P₃ – достовірність різниці між 600-секундною експозицією та контролем

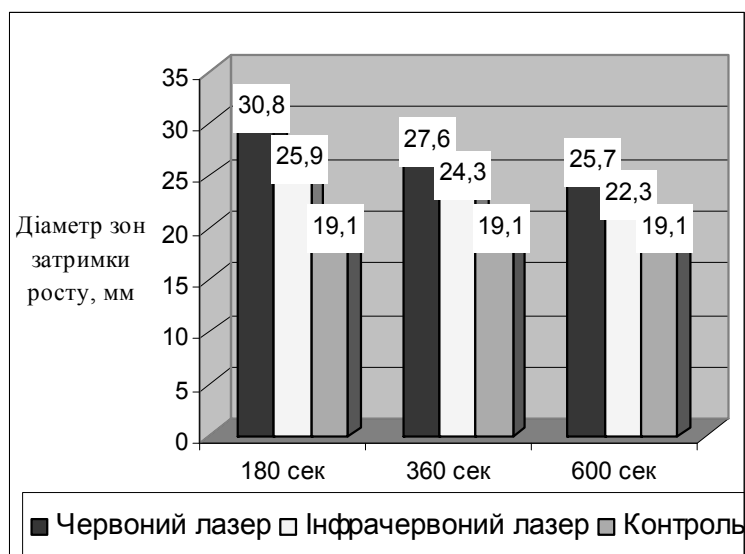


Рис. 2. Зміна діаметра зон затримки росту штаму золотистого стафілококу, висіяного із ран, до ампіциліну.

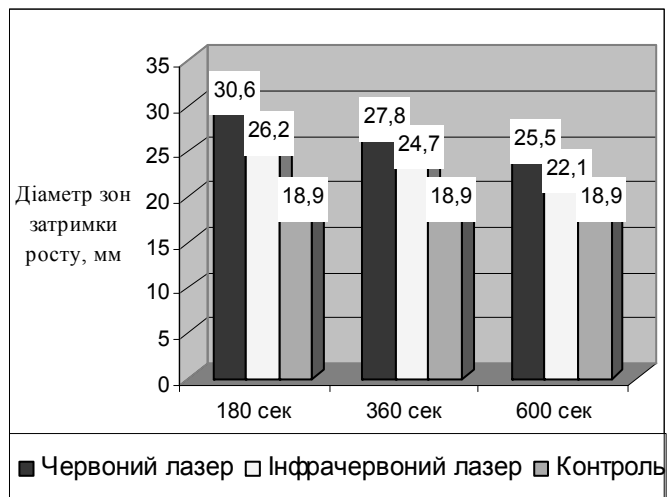


Рис. 3. Зміна діаметра зон затримки росту музейного штаму золотистого стафілококу ATCC 25923 (F-49) до ампіциліну

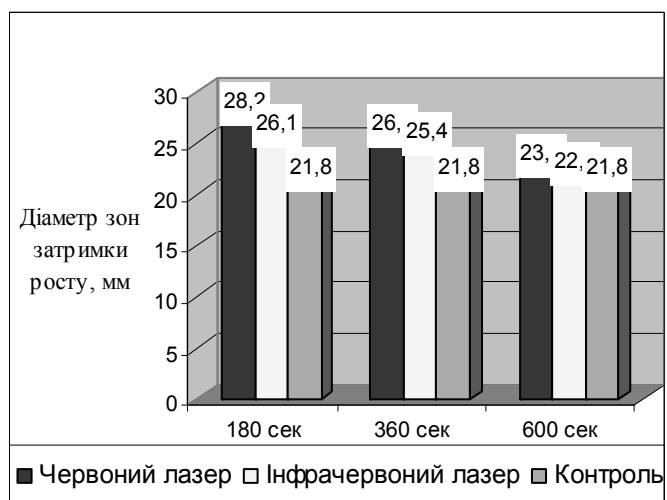


Рис. 4. Зміна діаметра зон затримки росту штаму золотистого стафілококу, висіяного із ран, до гентаміцину

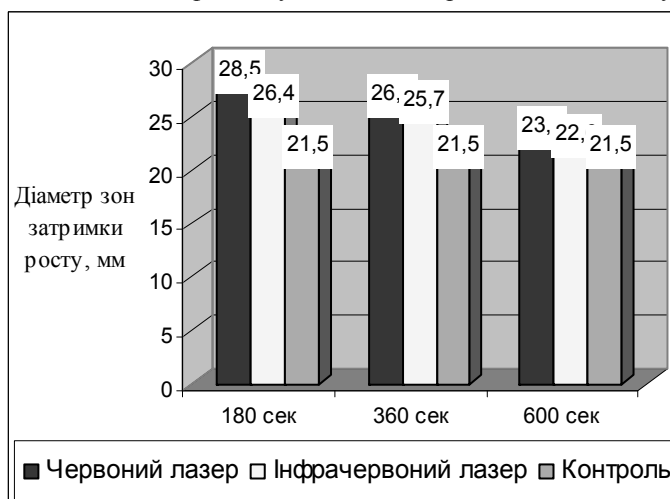


Рис. 5. Зміна діаметра зон затримки росту музейного штаму золотистого стафілококу ATCC 25923 (F-49) до гентаміцину

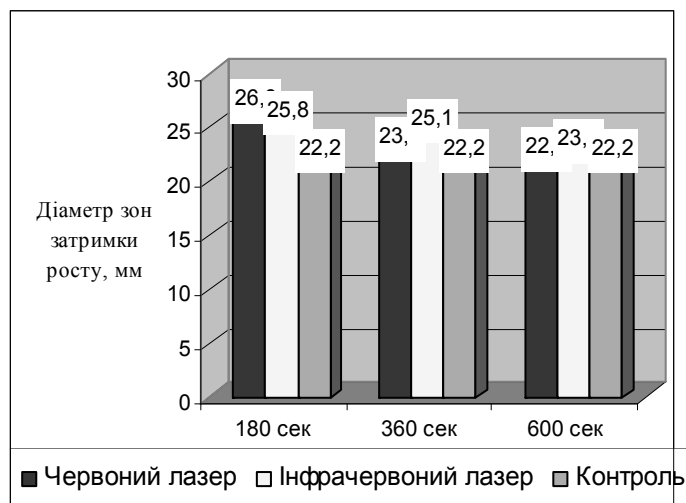


Рис. 6. Зміна діаметра зон затримки росту штаму золотистого стафілококу, висіяненого із ран, до оксациліну

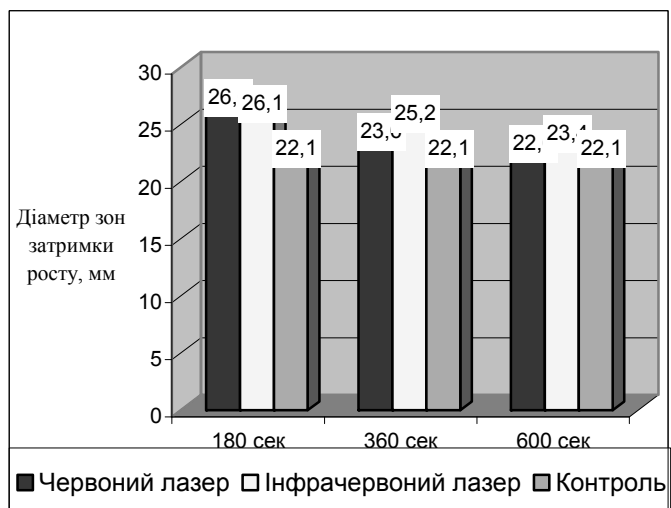


Рис. 7. Зміна діаметра зон затримки росту музейного штаму золотистого стафілококу ATCC 25923 (F-49) до оксациліну

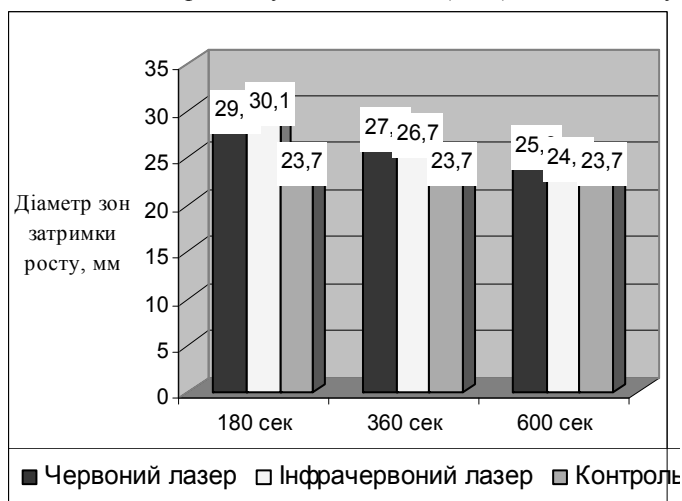


Рис. 8. Зміна діаметра зон затримки росту штаму золотистого стафілококу, висіяненого із ран, до цефотаксиму

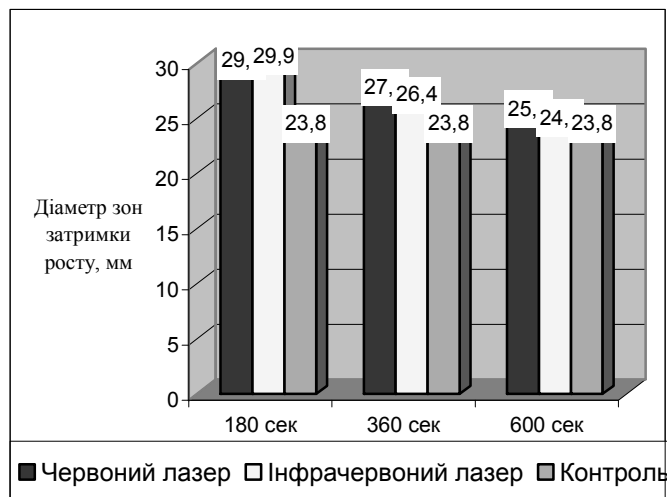


Рис 9. Зміна діаметра зон затримки росту музейного штаму золотистого стафілококу ATCC 25923 (F-49) до цефотаксиму

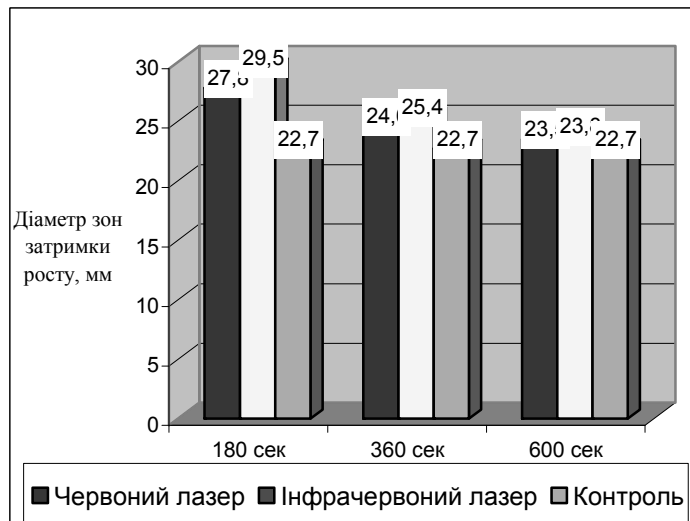


Рис 10. Зміна діаметра зон затримки росту штаму золотистого стафілококу, висіяного із ран, до тетрацикліну

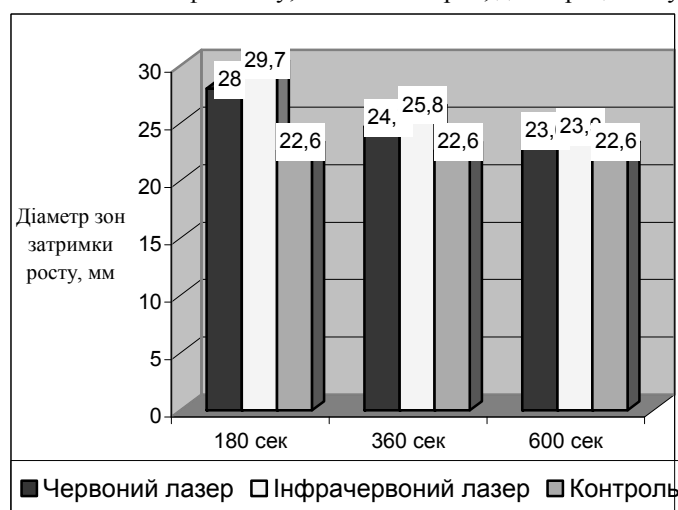


Рис 11. Зміна діаметра зон затримки росту музейного штаму золотистого стафілококу ATCC 25923 (F-49) до тетрацикліну

Висновки. 1. НІЛВ червоного та ближнього інфрачервоного діапазонів має виражену фотомодифікуючу дію. 2. НІЛВ червоного та ближнього інфрачерво-

ного діапазонів суттєво збільшує чутливість до антибактеріальних препаратів музейного (ATCC 25923 (F-49)) штаму золотистого стафілококу.

3. НІЛВ червоного та ближнього інфрачервоного діапазонів суттєво збільшує чутливість до антибактеріальних препаратів клінічного (висія-

ного із ран) штаму золотистого стафілококу.

4. Ефект впливу НІЛВ на антибіотикорезистентність досліджуваних культур є дозозалежним та залежить від експозиції випромінювання. Найбільш яскраво виражені результати отримали при 180-секундному опроміненні.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бриль Г.Е. Некоторые методологические аспекты изучения биологических эффектов низкоинтенсивного лазерного излучения / Г.Е. Бриль // Фотобиология та фотомедицина. — 2007 — Т.5, № 1. — С. 5—13.
2. Герцен А.В. Лазероантибиотикотерапия / А.В. Герцен, Т.А. Васина, А.А. Белопольский. — М.: Региональная общественная организация ученых по проблемам прикладной геофизики, 2002. — 231 с.
3. Посохова К.А. Антибіотики (властивості, застосування, взаємодія): навчальний посібник / К.А. Посохова, О.П. Вікторов. — Тернопіль: ТДМУ, 2005. — 296 с.
4. Современные аспекты лазерной терапии / Под ред. В.Д. Попова. — Черкассы:Вертикаль, 2011. — 608 с.
5. Стафилококк / [Смирнов В.В., Вершигора А.Е., Вихоть Н.Е. и др.]; под ред. Смирнова В.В., Вершигоры А.Е. — Киев: Наукова думка, 1988. — 248 с.
6. Karu T. Low-power laser therapy / T. Karu // Biomedical Photonics Handbook. — 2003. — Vol.48, № 1. — P. 48—25.
7. Sarda J. N. Antibiotic prophylaxis in surgery / J.N. Sarda [et al] // Med. Clin. (Barc.). — 1994. — Vol. 102, № 1. — P. 38 — 40.

Стаття надійшла до редакції 3.03.2011

CHANGES IN ANTIBIOTIC RESISTANCE OF MUSEUM AND CLINICAL STRAINS OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS AFTER LASER RADIATION OF DIFFERENT WAVELENGTHS

V.V. PANTYO, V.I. NICOLAYCHUK, V.I.*PANTYO

Uzhgorod national university, biological faculty, cathedra of genetics, plants physiology and microbiology, medical faculty, cathedra of general surgery *

In this article the study results of influence of low-energy laser radiation with wavelengths 635 and 870 nm on antibiotal sensitivity of staphylococcus aureus is shown (museum strain ATCC 25923 and stem taken from wound). Changes in antibiotal resistance have been measured with disc-diffusion method. The results have been statistically processed and illustrated with photos, tables and histograms.

Key words : staphylococcus, laser, antibiotic, resistance