

within 2,35 - 16,45 times higher than in healthy children depended on the level of control of the disease. Vasoregulatory vascular endothelial dysfunction confirmed by changes in processes of vital activity of the sympathetic division of the autonomic nervous system (stress index $100,91 \pm 0,46$ units) and ultrasonographic examination of the carotid arteries (IM thickening to $1,07 \pm 0,02$ mm).

Key words: bronchial asthma, children, endothelial dysfunction.

Стаття надійшла до редакції 15.12.2014

Дудник Вероніка Михайлівна - д.м.н., професор, завідувач кафедри педіатрії №2 Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова; +38 067 7449148; dudnykv@mail.ru

Хромих Катерина Вадимівна - клінічний ординатор кафедри педіатрії №2 Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова

© Пантьо В.В. 1, Коваль Г.М. 1, Пантьо В.І. 2, Назарчук О. А. 3

УДК: 579.861.24.097.22:615.33:615.849.19]-093

Пантьо В.В.¹, Коваль Г.М.¹, Пантьо В.І.², Назарчук О. А.³

ДВНЗ "Ужгородський національний університет" медичний факультет (пл. Народна 1, м. Ужгород, 88000); ¹кафедра мікробіології, вірусології та імунології; ² кафедра загальної хірургії; ³Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова (вул. Пирогова 56, м. Вінниця, 21018)

ВПЛИВ ЛАЗЕРНОГО ОПРОМІНЕННЯ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* НА МІНІМАЛЬНУ ІНГІБУЮЧУ КОНЦЕНТРАЦІЮ ДЕЯКИХ АНТИБАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ

Резюме. У статті представлені результати дослідження впливу низькоінтенсивного лазерного випромінювання з довжинами хвиль 635 та 870 нм на чутливість клінічних ізолятів *Staphylococcus aureus*, а також колекційного тест-штаму *S. aureus* ATCC 29213 до антибактеріальних препаратів різних груп методом серійних макророзведень у рідкому поживному середовищі. Отримані результати свідчать про суттєве підвищення чутливості до антибактеріальних препаратів (напівсинтетичні антибіотики пеніцилінової групи, цефалоспорици, аміноглікозиди, тетрацикліни) опромінених культур *Staphylococcus aureus*. При опроміненні усіх штамів *Staphylococcus aureus*, МІК досліджуваних антибактеріальних препаратів зменшилася у 2-4 рази, порівняно з контрольними серіями дослідів, у яких використовували неопромінені культури.

Ключові слова: стафілокок, антибіотик, чутливість, лазер.

Вступ

Умовно-патогенні мікроорганізми - збудники опортуністичних інфекцій характеризуються вираженою популяційною пластичністю і високим адаптаційним потенціалом [Пульнева та ін., 2011; Levy, 2002; Bhavani et al., 2006]. В умовах наростаючого селекційного тиску з боку застосовуваних хімотерапевтичних, антисептичних і дезінфікуючих засобів спостерігається швидке виникнення і поширення резистентності мікроорганізмів до цих препаратів. Суттєвим недоліком нерациональної антибіотикотерапії є різке прискорення термінів еволюції патогенних мікроорганізмів [Tkachuk, Dima, 2004].

Одне з провідних місць серед збудників госпітальних інфекцій посідає *Staphylococcus aureus*. Особливого значення проблема стафілококових інфекцій набула у зв'язку із здатністю до міжвидового і, навіть, міжродового обміну генетичним матеріалом і обумовленим цим швидким поширенням полірезистентних до антибіотиків штамів [Garcia-Lara et al., 2005; Gibbons et al., 2004; Kovalchuk et al., 2011].

Широке використання антибіотиків з профілактичною метою сприяє селекції резистентних штамів мікроорганізмів, підвищує вірогідність розвитку суперінфекції [Kutsyk, 2011; Rymsha, 2012].

У зв'язку з цим сьогодні виняткової актуальності набувають питання вивчення механізмів резистентності сучасних нозокоміальних патогенів до протимікробних

засобів, налагодження систем моніторингу за поширенням госпітальних штамів і впровадження дієвих протиепідемічних заходів, відчувається гостра проблема в розробці нових стратегічних підходів до протимікробної терапії [Levy et al., 2002; Tkachuk, Dima, 2004; Rymsha, 2012].

Одним із таких підходів є поєднання фізичних факторів у комплексі з традиційною антибіотикотерапією. Зокрема, поширення набуло використання низькоінтенсивного лазерного випромінювання (НІЛВ) [Karu, 2003; Porov, 2011].

На сьогоднішній день у нашій країні достатньо широко використовують лазерне випромінювання низької інтенсивності при лікуванні та профілактиці різноманітних захворювань, що дозволяє стверджувати про наявність в Україні лазерної медицини [Porov, 2011].

Разом з тим багато питань взаємодії НІЛВ різних довжин хвиль з клітинами прокариот залишаються відкритими та потребують подальшого вивчення.

Метою роботи було дослідження впливу низькоінтенсивного лазерного випромінювання з довжинами хвиль 635 та 870 нм на чутливість *Staphylococcus aureus* до загальноновживаних антибактеріальних препаратів різних груп.

Матеріали та методи

Досліджено вплив НІЛВ на чутливість до антибакте-

Таблиця 1. Розподіл хворих по виду гнійно-запального ураження ступні, у яких був висіяний *Staphylococcus aureus*.

Вид гнійно-запального ураження ступні	Нейропатично-інфікована форма синдрому ступні діабетика	Змішана форма синдрому ступні діабетика
Глибока виразка	16 (22 %)	12 (16%)
Поверхневий некроз	7 (10 %)	9 (12 %)
Остеомієліт пальців ступні	5 (7 %)	1 (1,4 %)
Флегмона ступні	15 (20 %)	8 (11 %)

Таблиця 2. Допустимі діапазони значень МІК для *S. aureus* ATCC 29213.

Антибіотик	Діапазон значень МІК(мкг/мл)
Ампіцилін	0,5-2
Гентаміцин	0,12-1
Оксацилін	0,12-0,5
Тетрациклін	0,12-1
Цефотаксим	1-4

ріальних препаратів 73 штамів *Staphylococcus aureus*, висіяних із гнійних ран, а також референтного штаму *S. aureus* ATCC 29213 методом серійних макророзведень у рідкому поживному середовищі.

Об'єкт дослідження - 73 штами *Staphylococcus aureus*, висіяні із гнійних ран нижніх кінцівок на фоні цукрового діабету, які перебували на лікуванні в хірургічному відділенні Ужгородської відділової клінічної лікарні, а також музейний тест-штам *S. aureus* ATCC 29213 (табл. 1).

Для проведення дослідів використовували 5-6-годинну бульйонну культуру. Останню стандартизували і доводили до мутності 10^6 КУО/см³ (стандарт мутності 0,5 за Макфарландом розведений у 100 разів). Таку суміш в об'ємі 0,5 мл додавали до 0,5 мл кожного розведення а/б, при цьому розчин а/б розводився ще в 2 рази. Таким чином кінцева концентрація бактеріальної суспензії у кожній пробірці сягала 5×10^5 КУО/см³. Після зараження пробірки інкубували у термостаті електричного сухоповітряного при температурі 37°C протягом 16-20 годин, залежно від появи росту в контролі [МОЗ, 2007]. Контрольні пробірки містили 0,5 мл бульйону без а/б і 0,5 мл культури для кожного досліджуваного штаму (негативний контроль).

Чутливість культур визначали до наступних антибактеріальних препаратів: ампіцилін, оксацилін, цефотаксим, гентаміцин, тетрациклін. При дослідженні антибіотикочутливості окремими серіями проводили визначення мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) антибіотиків для контрольних культур *Staphylococcus aureus*, а також культур, які були опромінені НІЛВ з довжинами хвиль 635 та 870 нм. Опромінення проводили нерухомим променем лазера за допомогою моноволоконного кварц-полімерного світловоду з відстані 1 см від завису культури з експозицією 180 секунд (щільність дози 2,7 Дж/см²) безпосередньо перед постановкою дослідів. Джерелом НІЛВ (довжини хвиль 635 та 870 нм, щільність

потужності 15 мВт/см²) був сертифікований вітчизняний лазер "Ліка-терапевт".

З метою контролю якості досліджень, у всіх серіях дослідів з клінічними ізолятами *S. aureus*, використовували референтний штам *S. aureus* ATCC 29213 з вже відомими діапазонами допустимих значень МІК (табл. 2).

Результати. Обговорення

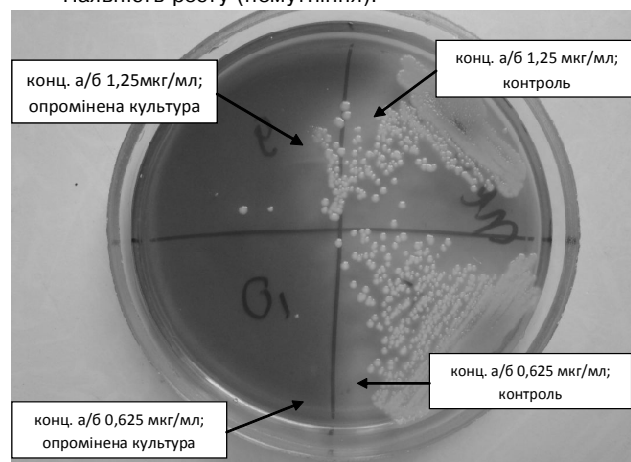
У результаті проведених досліджень слід відзначити, що при опроміненні культур *Staphylococcus aureus* НІЛВ з довжинами хвиль 635 та 870 нм, МІК усіх антибіотиків знизилася порівняно із контролем (неопромінені культури) у 2-4 рази, що свідчить про підвищення чутливості опромінених культур до антибактеріальних препаратів. Дану закономірність спостерігали для всіх ізолятів *Staphylococcus aureus*, висіяних із ран.

Аналогічну закономірність спостерігали і в серіях дослідів з колекційним тест-штамом *S. aureus* ATCC 29213. Так, МІК ампіциліну знизилася з 1,25 мкг/мл для контрольних серій до 0,312 мкг/мл при використанні НІЛВ червоного діапазону, тобто у 4 рази. Використання лазерного випромінювання інфрачервоного діапазону призвело до зниження МІК даного антибіотика у 2 рази (табл. 3).

Таблиця 3. Зміна мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) ампіциліну при опроміненні штаму *S. aureus* ATCC 29213 НІЛВ з довжинами хвиль 635 та 870 нм.

№ пробірки	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Конц. а/б мкг/мл	160	80	40	20	10	5	2,5	1,25	0,625	0,312
Контроль (n=73)	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Культура, опромінена НІЛВ Ч діапазону (n=25)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Культура, опромінена НІЛВ Ч діапазону (n=25)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

Примітки: " - " Відсутність росту (прозоре середовище); " + " Наявність росту (помутніння).

**Рис. 1.** Контроль росту *S. aureus* ATCC 29213 при дослідженні впливу НІЛВ з довжиною хвилі 635 нм на МІК ампіциліну.

Таблиця 4. Зміна МІК оксациліну при опроміненні штаму *S. aureus* ATCC 29213 НІЛВ з довжинами хвиль 635 та 870 нм.

№ пробірки	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Конц. а/б мкг/мл	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25
Контроль (n=73)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Культура, опромінена НІЛВ Ч діапазону (n=25)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Культура, опромінена НІЛВ ІЧ діапазону (n=25)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

Примітки: " - " Відсутність росту (прозоре середовище); " + " наявність росту (помутніння).

Таблиця 5. Зміна МІК гентаміцину при опроміненні штаму *S. aureus* ATCC 29213 НІЛВ з довжинами хвиль 635 та 870 нм.

№ пробірки	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Конц. а/б мкг/мл	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125
Контроль (n=73)	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Культура, опромінена НІЛВ Ч діапазону (n=25)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Культура, опромінена НІЛВ ІЧ діапазону (n=25)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

Примітки: " - " Відсутність росту (прозоре середовище) " + " наявність росту (помутніння).

Таблиця 6. Зміна МІК цефотаксиму при опроміненні штаму *S. aureus* ATCC 29213 НІЛВ з довжинами хвиль 635 та 870 нм.

№ пробірки	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Конц. а/б мкг/мл	160	80	40	20	10	5	2,5	1,25	0,625	0,312
Контроль (n=73)	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Культура, опромінена НІЛВ Ч діапазону (n=25)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Культура, опромінена НІЛВ ІЧ діапазону (n=25)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

Примітки: " - " Відсутність росту (прозоре середовище) " + " наявність росту (помутніння).

Таблиця 7. Зміна МІК тетрацикліну при опроміненні штаму *S. aureus* ATCC 29213 НІЛВ з довжинами хвиль 635 та 870 нм.

№ пробірки	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Конц. а/б мкг/мл	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25
Контроль (n=73)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Культура, опромінена НІЛВ Ч діапазону (n=25)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Культура, опромінена НІЛВ ІЧ діапазону (n=25)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

Примітки: " - " - відсутність росту (прозоре середовище); " + " - наявність росту (помутніння).

Відсутність росту в пробірках підтверджували шля-

хом пересіву культури на тверде поживне середовище у чашки Петрі (рис. 1).

Як видно з рис. 1, при однакових концентраціях антибіотику, спостерігається ріст контрольної (неопроміненої) культури та відсутність росту культури, яка була опромінена НІЛВ з довжиною хвилі 635 нм, що свідчить про підвищення антибіотикочутливості опромінених культур.

МІК оксациліну знизилася з 0,5 мкг/мл для контрольної культури *S. aureus* ATCC 29213 до 0,25 мкг/мл для культур опромінених НІЛВ з довжинами хвиль як 635 так і 870 нм (табл. 4).

МІК гентаміцину знизилася із 0,5 мкг/мл у контролі до 0,125 мкг/мл при опроміненні НІЛВ з довжиною хвилі 635 нм, що свідчить про значне підвищення чутливості штаму *S. aureus* ATCC 29213 до даного антибіотика. (табл. 5).

При опроміненні штаму *S. aureus* ATCC 29213 НІЛВ з довжиною хвилі 870 нм, МІК гентаміцину знизилася до 0,25 мкг/мл, тобто у 2 рази менше, ніж при використанні НІЛВ з довжиною хвилі 635 нм (табл. 5).

При опроміненні *S. aureus* ATCC 29213 НІЛВ з довжиною хвилі 635 нм МІК цефотаксиму знизилася із 1,25 мкг/мл для контролю до 0,625 мкг/мл. Опромінення культури *Staphylococcus aureus* НІЛВ з довжиною хвилі 870 нм зумовило ще більш суттєве зменшення МІК цефотаксиму - до 0,312 мкг/мл (табл. 6).

Опромінення штаму *S. aureus* ATCC 29213 НІЛВ з довжинами хвиль 635 та 870 нм знизило МІК тетрацикліну із 0,5 мкг/мл для контрольних штамів до 0,25 мкг/мл (табл. 7).

Таким чином, МІК референтного штаму *S. aureus* ATCC 29213 у всіх серіях контрольних досліджень відповідала допустимим діапазнам значень, згідно паспорту тест-штаму (табл. 2).

Отримані результати свідчать про суттєве підвищення чутливості до антибактеріальних препаратів різних груп (напівсинтетичні антибіотики пеніцилінової групи, цефалоспоринони, аміноглікозиди, тетрацикліни) усіх досліджених штамів *Staphylococcus aureus*, висіяних із ран, а також референтного штаму *S. aureus* ATCC 29213, які були опромінені НІЛВ з довжинами хвиль 635 та 870 нм.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. НІЛВ з довжинами хвиль 635 та 870 нм має виражену фотомодифікуючу дію та призводить до підвищення чутливості усіх досліджуваних штамів *Staphylococcus aureus* до антибактеріальних препаратів різних груп.

2. При опроміненні штамів *Staphylococcus aureus*, висіяних із ран, а також референтного штаму *S. aureus* ATCC 29213, МІК усіх досліджуваних антибактеріальних препаратів зменшилася у 2-4 рази, порівняно з контрольними серіями досліджень.

Список літератури

- Міністерство охорони здоров'я України. - Наказ про затвердження методичних вказівок "Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів". - 05.04.2007. - № 167.
- Проблема мікробіологічного моніторингу стафілококової інфекції на регіональному рівні / О.М. Пульнева, Л.Г. Федорова, Н.Г. Ліман [та ін.] // Матеріали XV з'їзду українського науково-медичного товариства мікробіологів, епідеміологів та паразитологів ім. Д.К. Заболотного "Проблеми та еволюція епідемічного процесу і паразитарних систем провідних інфекцій сучасності". - Харків. - 2011. - С. 94.
- Bhavani S.M. Pharmacokinetic-pharmacodynamic relationships describing the efficacy of oritavancin in patients with Staphylococcus aureus bacteremia / S.M. Bhavani, J.A. Passarell, J.S.Owen // Antimicrob. Agents Chemother. - 2006. - Vol.50, № 3. - P. 994-1000.
- Garcia-Lara J. Staphylococcus aureus: The search for novel targets / J. Garcia-Lara, M. Masalha, J.S. Foster // Drug Discovery Today: Targets. - 2005. - Vol. 10, № 9. - P. 643-651.
- Gibbons S. Catechin gallates inhibit multidrug resistance (MDR) in S. aureus / S. Gibbons, E. Moser, G.W. Kaatz // Planta Med. - 2004. - Vol.70, № 12. - P. 1240-1242.
- Karu T. Low-power laser therapy / T. Karu // Biomedical Photonics Handbook. - 2003. - CRC Press LLC. - P. 25- 48.
- Kovalchuk V.P. Epidemiological monitoring of staphylococcus antibiotic-resistant strains in the hospital environment / V.P. Kovalchuk, V.M. Condratyuk, N.S. Fomina [et al.] // Materials of the XV Congress of the Ukrainian Scientific-Medical Society of microbiologists, epidemiologists and parasitologists named after D.K. Zabolotny "Problems and evolution of the epidemic process and parasitic systems of modern leading infections." - Kharkiv. - 2011. - P. 41.
- Kutsyk R.V. Methicillin-resistant Staphylococcus: global world problem. MRSA monitoring in the Carpathians / R.V. Kutsyk // Assembly report XV Congress of Ukrainian Scientific-Medical Society of microbiologists, epidemiologists and parasitologists named after D.K. Zabolotny "Problems and evolution of the epidemic process and parasitic systems of modern leading infections." - Kharkiv. - 2011. - 102 p.
- Levy S.B. Active efflux, a common mechanism for biocide and antibiotic resistance / S.B. Levy // J. Appl. Microbiol. Symp. - 2002. - Vol. 92, Suppl. - P. 65-71.
- Popov V.D. Modern aspects of laser therapy / V.D. Popov. - Cherkassy: Vertical, publisher Kandych S.H. - 2011. - 608p.
- Rymsha O.V. Antiseptic drugs in the prevention of inflammatory complications / O.V. Rymsha // Materials of scientific conference with international scientists participation "Strategy and tactics of infectious diseases fighting." - Kharkiv. - 2012. - P. 4.
- Tkachyk I. Rational antibiotic treatment of infections caused by problematic gram-positive pathogens / I. Tkachyk, O. Dima // Drugs. - 2004. - № 3. - P. 52-55.

Пантьо В.В., Коваль Г.М., Пантьо В.И., Назарчук А. А.

ВЛИЯНИЕ ЛАЗЕРНОГО ОБЛУЧЕНИЯ КУЛЬТУРЫ STAPHYLOCOCCUS AUREUS НА МИНИМАЛЬНУЮ ИНГИБИРУЮЩУЮ КОНЦЕНТРАЦИЮ НЕКОТОРЫХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Резюме. В статье представлены результаты исследования влияния низкоинтенсивного лазерного излучения с длиной волны 635 и 870 нм на чувствительность клинических изолятов *Staphylococcus aureus*, а также коллекционного тест-штамма *S. aureus* ATCC 29213 к антибактериальным препаратам разных групп методом серийных макроразведений в жидкой питательной среде. Полученные результаты свидетельствуют о существенном повышении чувствительности к антибактериальным препаратам (полусинтетические антибиотики пенициллиновой группы, цефалоспорины, аминогликозиды, тетрациклины) облученных культур *Staphylococcus aureus*. При облучении всех штаммов *Staphylococcus aureus*, МИК исследуемых антибактериальных препаратов уменьшилась в 2-4 раза, в сравнении с контрольными сериями исследований, в которых использовали необлученные культуры.

Ключевые слова: стафилококк, антибиотик, чувствительность, лазер.

Pantyo V.V., Koval G.M., Pantyo V.I., Nazarchuk O. A.

INFLUENCE OF LASER IRRADIATION OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS CULTURE ON MINIMAL INHIBITORY CONCENTRATION OF SOME ANTIBACTERIAL DRUGS

Summary. The article shows the research results of low-intensive laser radiation with 635 and 870 nm wavelengths on the *Staphylococcus aureus* clinical isolates sensitivity and also collection *S. aureus* ATCC 29213 test-strain to the different groups of antibacterial drugs by the serial macro dilutions method in a liquid nutrient medium. The results indicate a significant sensitivity increase to antibiotics (penicillin group of semi-synthetic antibiotics, cephalosporins, aminoglycosides, tetracyclines) of irradiated *Staphylococcus aureus* cultures. During the irradiation of all *Staphylococcus aureus* strains, MIC of all investigated antimicrobial drugs has decreased by 2-4 times in comparison with control series of experiments in which unirradiated cultures have been used.

Key words: *staphylococcus aureus*, antibiotic, sensitivity, laser.

Стаття надійшла до редакції 87.12.2014

Пантьо Валерій Валерійович - кандидат біологічних наук, асистент кафедри мікробіології, вірусології та імунології з курсом інфекційних хвороб медичного факультету ДВНЗ "Ужгородський національний університет"; +38 066 775-50-63; pantyo@meta.ua

Коваль Галина Миколаївна - доктор мед. наук, професор, завідувач кафедри мікробіології, вірусології та імунології з курсом інфекційних хвороб медичного факультету ДВНЗ "Ужгородський національний університет"; koval_gm@mail.ru

Пантьо Валерій Іванович - кандидат мед. наук, доцент кафедри загальної хірургії медичного факультету ДВНЗ "Ужгородський національний університет"; +38 050 532-56-22; pantyo@meta.ua

Назарчук Олександр Адамович - кандидат медичних наук, асистент кафедри мікробіології, вірусології та імунології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова; nazarchukoa@gmail.com