

DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2018-22(2)-07

УДК: 615.849.19:579.24:[579.841.1+579.861.2]

ВПЛИВ PILER-ВИПРОМІНЮВАННЯ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ РОСТУ УМОВНО-ПАТОГЕННИХ МІКРООРГАНІЗМІВ

Пантьо В.В., Пантьо В.І., Данко Е.М.

ДВНЗ "Ужгородський національний університет" (пл. Народна, 3, м. Ужгород, Закарпатська обл., Україна, 88000)

Відповідальний за листування:
e-mail: valerij.pantyo@uzhnu.edu.ua

Статтю отримано 2 квітня 2018 р.; прийнято до друку 31 травня 2018 р.

Анотація. Поширення стійких до протимікробних агентів штамів опортуністичних мікроорганізмів викликає пошук нових шляхів боротьби з ними. Серед цих способів особлива увага приділяється використанню фізичних факторів, зокрема, різних типів випромінювання, що мають потенційну антимікробну активність. Мета - дослідити прямий вплив лінії довжини хвилі PILER на швидкість росту *S. aureus* ATCC 25923 та *P. aeruginosa* ATCC 27853 на твердих поживних середовищах. Досліджено вплив PILER (поляризована поліхроматична неоднорідна низькоенергетична радіація) з різною довжиною хвиль на інтенсивність росту тестових штамів *S. aureus* ATCC 25923 та *P. aeruginosa* ATCC 27853 на твердих неселективних поживних середовищах (МПА). Результати визначали шляхом підрахунку кількості бактеріальних колоній в порівнянні з контрольними подібними нерадіаційними культурами. Ефект PILER з різною довжиною хвиль та експозицій (5, 10, 15 та 20 хв) досліджували окремими серіями. Джерело світла PILER - Мед Біоптрон світлотерапія від Zepter Group. Отримані результати свідчать про значний вплив PILER-випромінювання на інтенсивність росту досліджуваних об'єктів. Ступінь впливу залежала від тривалості опромінення і показала незначну стимуляцію росту бактерій за 5-10 хвилинних експозицій та виражений бактерицидний і бактериостатичний ефект при експозиції протягом 20 хвилин. Так, 20-хвилинний вплив PILER на штам *S. aureus* 25923 призвів до зменшення кількості бактеріальних колоній на 37-65% порівняно з контролем, *P. aeruginosa* 27853 - на 58-81% порівняно з контролем. PILER має значний ефект модулятора на ріст дослідних умовно-патогенних мікроорганізмів на твердих поживних середовищах. Ступінь цього ефекту залежить від параметрів випромінювання, зокрема від дози та довжини хвилі світла, а при експозиціях 20 хвилин виявляється з вираженим бактерицидним і бактериостатичним впливом на мікроорганізми.

Ключові слова: PILER, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, ріст.

Вступ

Поширення резистентних до протимікробних засобів штамів умовно-патогенних мікроорганізмів зумовлює пошук нових шляхів боротьби з ними [8, 10]. Дані шляхи можна умовно поділити на кілька груп.

Перша група - розробка нових та модифікація існуючих хімотерапевтичних засобів та дослідження протимікробної активності новосинтезованих хімічних речовин [6, 9].

До другої групи можна віднести моніторинг за поширенням антибіотикорезистентних штамів мікроорганізмів, дослідження та розробку практичних рекомендацій стосовно комбінованого застосування антибіотиків, а також бактеріофаготерапію [3].

Третя група - дослідження безпосереднього впливу фізичних факторів на біологічні властивості мікроорганізмів. Особливу увагу в цьому аспекті заслуговує використання світлових технологій [2, 4].

На сьогоднішній день існує чимало інформації щодо використання таких джерел електромагнітного випромінювання, як лазерне, світлодіодне та поліхроматичне поляризоване некогерентне низькоінтенсивне (PILER) у майже всіх галузях медицини [1], а також щодо механізмів їх впливу на біологічні об'єкти різних рівнів організації [5, 7].

Однак, незважаючи на це, даних щодо безпосереднього впливу поляризованого випромінювання на бактеріальні клітини, механізм даного впливу та за-

лежність ефектів дії світла від його параметрів, недостатньо.

Мета роботи - дослідити безпосередній вплив лінійки довжин хвиль PILER-випромінювання на інтенсивність росту *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 на твердих поживних середовищах.

Матеріали та методи

Досліджено вплив PILER (Polarized Polychromatic Incoherent Low Energy Radiation) випромінювання різних довжин хвиль (з фіолетовим, блакитним, синім, зеленим, жовтим, помаранчевим та червоним світлофільтрами, а також поліхроматичного випромінювання з ультрафіолетовою складовою та без ультрафіолетової складової) на інтенсивність росту колекційних тест-штамів *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 на щільних неселективних поживних середовищах (МПА).

Для досліджень брали 16-24-годинні агарові культури мікроорганізмів, стандартизовані в МПБ до концентрації $1,5 \times 10^8$ КУО/мл (0,5 за Мак-Фарландом) та розведені в $1,6 \times 10^5$ разів. Опромінення здійснювали в стерильних скляних чашках Петрі діаметром 50 мм (відповідає діаметру світлового променя) з відстані 5 см (рис. 1).

Після опромінення бактеріальний інокулюм об'ємом 0,1 мл пересівали на чашки Петрі та культиву-



Рис. 1. Опромінювання мікроорганізмів PILER випромінюванням з фіолетовим (а) та зеленим (б) світлофільтрами.

вали в термостаті 24 год. при 37 °С. Результати визначали шляхом підрахунку кількості бактеріальних колоній на чашках та порівнювали з контролем - аналогічними неопроміненими культурами. Вплив PILER-випромінювання різних довжин хвиль та експозицій (5; 10; 15 та 20 хв.) досліджували окремими серіями. Джерело PILER-світла - апарат Bioptron Med All виробництва Bioptron light therapy system by Zepter Group.

Отримані результати обробляли статистично, визначаючи середнє арифметичне та стандартне відхилення вибірки, а також достовірність різниці між контрольними та експериментальними групами з використанням комп'ютерних програм Microsoft Office Excel 2010 та Statistica 10.0.

У таблиці 1 представлені статистично оброблені результати впливу PILER-випромінювання на інтенсивність росту *S. aureus* 25923 та *P. aeruginosa* 27853.

Залежно від довжини хвилі випромінювання, 20-хвилинне опромінювання PILER-світлом тест-штаму *S. aureus* 25923 зумовлювало зменшення кількості бактеріальних колоній на 37-65%, порівняно з контролем. Аналогічне опромінювання *P. aeruginosa* 27853 призводило до зменшення кількості колоній мікроорганізмів на 58-81%, порівняно з контролем.

Порівнюючи бактерицидну активність PILER-світла різних довжин хвиль, відзначимо, що найбільшу протимікробну дію проявляло короткохвильове (фіолетовий та синій спектри), а також широкополосне випромінювання з ультрафіолетовою складовою (без світлофільтра). Наймеш вираженим бактерицидним ефектом володіло широкополосне випромінювання без ультрафіолетової складової.

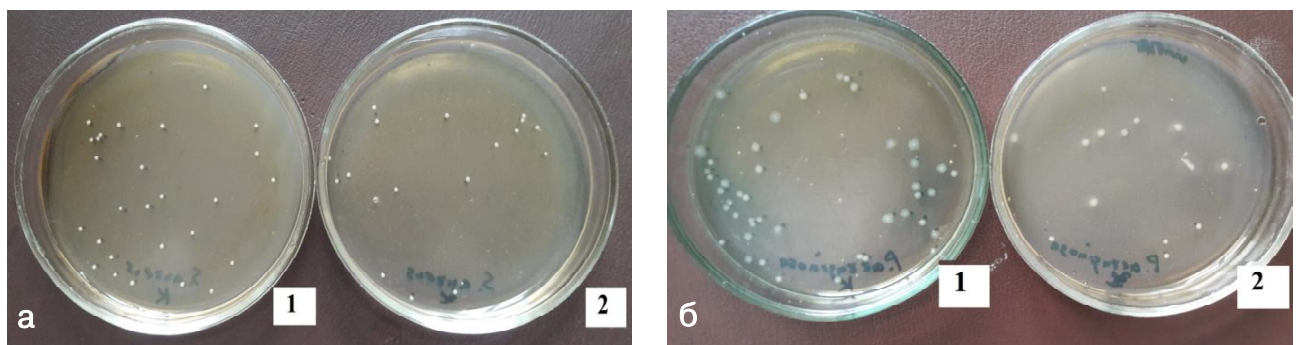


Рис. 2. Вплив PILER випромінювання з фіолетовим світлофільтром на інтенсивність росту *S. aureus* ATCC 25923 (а) та *P. aeruginosa* ATCC 27853 (б).

Примітки: 1 - контрольні культури; 2 - культури, опромінені PILER-випромінюванням з експозицією 20 хв.

Результати. Обговорення

Отримані результати свідчать про значний вплив PILER-випромінювання на інтенсивність росту об'єктів дослідження. Ступінь впливу залежав від тривалості опромінювання та проявлявся незначним стимулюванням росту бактерій при 5-10-хвилинних експозиціях та вираженим бактерицидним та бактериостатичним впливом при експозиції 20 хвилин.

Суттєвий вплив на інтенсивність росту досліджуваних мікроорганізмів мала також і довжина хвилі світла: найбільша бактерицидна дія була притаманна випромінюванню з фіолетовим світлофільтром. Зазначене стосується обох досліджених штамів, при чому бактерицидний ефект випромінювання був більш виражений щодо *P. aeruginosa* (рис. 2).

Таблиця 1. Вплив PILER-випромінювання з експозицією 20 хвилин на ріст мікроорганізмів на твердих поживних середовищах.

Спектр PILER випромінювання	Кількість бактеріальних колоній	
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
Контроль	34,3±5,1	41,0±6,3
Фіолетовий фільтр	12,3±3,5	9,3±2,1
Блакитний фільтр	16,9±4,6	15,1±4,0
Синій фільтр	14,6±4,0	10,5±3,3
Зелений фільтр	17,5±4,8	13,2±3,5
Жовтий фільтр	19,1±3,9	15,7±3,7
Помаранчевий фільтр	18,5±4,8	16,0±4,3
Червоний фільтр	15,0±3,6	14,6±3,8
Поліхроматичне PILER світло	21,7±5,2	20,9±4,8
Поліхроматичне PILER світло + ультрафіолетовий діапазон (без фільтра)	13,5±2,9	9,9±1,8

Примітка. Рівень достовірності різниці між експериментальними та контрольними групами становив менше 0,05 ($p < 0,05$).

Таким чином, безпосередній вплив PILER-випромінювання на стандартизований завис музейних тест штамів *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 зумовлює модифікуючу дію на інтенсивність їх росту. Ефект впливу залежить як від тривалості експозиції, так і від довжини хвилі випромінювання.

Список посилань

1. Гуляр, С. А. & Косаковский, А. Л. (2011). *Применение БИОПТРОН-ПАЙЛЕР-света в медицине*. Киев: ИФБ НАН Украины НМАПО МЗ Украины.
2. Данко, Е. М., Костенко, С. Б., Костенко, Є. Я., & Добровольська, М. К. (2017). Вплив світлодіодного випромінювання на мікрофлору ротової порожнини хворих на хронічний генералізований пародонтит II-III ступенів. *Современная стоматология*, 4 (88), 24-27.
3. Куля, А. Ф., Сабо, Й., & Коваль, Г. М. (2011). Порівняльний аналіз методів антибіотикочутливості умовно-патогенних бактерій - збудників опортуністичних інфекцій людини. *Мікробіологічний журнал*, 73 (5), 47-53.
4. Пантьо, В. В., Коваль, Г. М., Пантьо, В. І., & Гуляр, С. О. (2017). Вплив світлодіодного випромінювання різних довжин хвиль на інтенсивність росту *Staphylococcus aureus*. *ScienceRise: Biological Science*, 4 (7), 16-20. <https://doi.org/10.15587/2519-8025.2017.109244>.
5. Пантьо, В. В., Ніколайчук, В. І., & Пантьо, В. І. (2009). Вплив низькоінтенсивного лазерного випромінювання на біологічні об'єкти (огляд літератури). *Науковий вісник Ужгородського університету: Серія Біологія*, 26, 99-106.
6. Babii, O., Afonin, S., Berditsch, M., Reiler, S., Mykhailiuk, P. K., Kubyshekin, V. S., & Komarov, I. V. (2014). Controlling biological activity with light: diarylethene containing cyclic peptidomimetics. *Angewandte Chemie International Edition*, 53 (13), 3392-3395. doi: 10.1002/anie.201310019.
7. Brill, G. E. (2011). Some methodological aspects of the study of low-power laser radiation biological effects. *Photobiology and*

Враховуючи широке використання у майже всіх галузях медицини світлових технологій загалом та PILER-випромінювання зокрема, доведений позитивний біостимулюючий вплив поляризованого світла на організм людини, а також майже повну відсутність протипоказань, отримані результати можуть бути використані у комплексній терапії гнійно-запальних захворювань, зумовлених *S.aureus* та *P.aeruginosa*.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. PILER-випромінювання володіє суттєвою модулюючою дією на ріст досліджених умовно-патогенних мікроорганізмів на твердих поживних середовищах.

2. Ступінь даного впливу залежить від параметрів випромінювання, зокрема від щільності дози та довжини хвилі світла і при експозиції 20 хвилин проявляється у вираженій бактерицидній та бактериостатичній дії на мікроорганізми. При 20-хвилинному опроміненні досліджуваної мікрофлори PILER-випромінюванням фіолетового спектру кількість колоній *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 зменшувалася, відповідно, на 65 та 81 %, порівняно з контролем.

Перспективними напрямками подальших досліджень у даному напрямку може бути збільшення кількості досліджуваних мікроорганізмів, зокрема, визначення потенційної фунгіцидної або фунгістатичної активності PILER випромінювання, а також встановлення механізмів дії світла на бактеріальну клітину.

photomedicine, 1-2, 5-13.

8. Fair, R. J., & Tor, Y. (2014). Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century. *Perspectives in medicinal chemistry*, 6, 25. doi: 10.4137/PMC.S14459.
9. Slivka, M., Korol, N., & Pantyo, V. (2017). Regio- and stereoselective synthesis of [1,3]thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazol-7-ium salts via electrophilic heterocyclization of 3-S-propargylthio-4H-1,2,4-triazoles and their antimicrobial activity. *Heterocyclic Communications*, 23 (2), 109-113. DOI: 10.1515/hc-2016-0233.
10. Wang, H. H., & Schaffner, D. W. (2011). Antibiotic resistance: how much do we know and where do we go from here? *Applied and environmental microbiology*, 77 (20), 7093-7095. doi: 10.1128/AEM.06565-11.

References

1. Gulyar, S. A. & Kosakovskij, A. L. (2011). *Применение БИОПТРОН-ПАЙЛЕР-света в медицине [Uses of BIOPTRON-PYLER-light in medicine]*. Kiev: IFB NAN Ukrainy NMAPO MZ Ukrainy - Kiev: IFB NAS of Ukraine NMAPE MOH of Ukraine.
2. Danko, E. M., Kostenko, S. B., Kostenko, Ye. Ya., & Dobrovolska, M. K. (2017). Vplyv svitlodiodnoho vyprominiuvannia na mikrofloru rotovoi porozhnyny khvorykh na khronichnyi heneralizovanyi parodontyt II-III stupeniv [Influence of LED radiation on the microflora of the oral cavity of patients with cronic generalize periodontitis of II-III degrees]. *Sovremennaiia stomatolohiia - Modern dentistry*, 4 (88), 24-27.

3. Kulia, A. F., Sabo, Y., & Koval, H. M. (2011). Porivnialnyi analiz metodiv antybiotykochnosti umovno-patohennykh bakterii - zbudnykiv oportunistychnykh infektsii liudyny [Comparative analysis of the antibiotic sensitivity determination methods of conventionally pathogenic bacteria - agents of human opportunistic infections]. *Mikrobiologichnyi zhurnal - Microbiological Journal*, 73 (5), 47-53.
4. Panto, V. V., Koval, H. M., Panto, V. I., & Huliari, S. O. (2017). Vplyv svitlodiodnoho vyprominiuvannia riznykh dovzhyn khvyl na intensyvniost rostu Staphylococcus aureus [Influence of led radiation of various wave length on growth intensity of staphylococcus aureus]. *ScienceRise: Biological Science*, 4 (7), 16-20. <https://doi.org/10.15587/2519-8025.2017.109244>.
5. Panto, V. V., Nikolaichuk, V. I., & Panto, V. I. (2009). Vplyv nyzkointensyvnogo lazernoho vyprominiuvannia na biolohichni ob'ekty (ohliad literatury) [Influence of low-intensive laser radiation on biological objects (examination of literature)]. *Naukovyi visnyk Uzhhorodskoho universytetu: Seriya Biologiya - Uzhhorod University Scientific Herald. Series: Biology*, 26, 99-106.
6. Babii, O., Afonin, S., Berditsch, M., Reißer, S., Mykhailiuk, P. K., Kubyshkin, V. S., & Komarov, I. V. (2014). Controlling biological activity with light: diarylethene containing cyclic peptidomimetics. *Angewandte Chemie International Edition*, 53 (13), 3392-3395. doi: 10.1002/anie.201310019.
7. Brill, G. E. (2011). Some methodological aspects of the study of low-power laser radiation biological effects. *Photobiology and photomedicine*, 1-2, 5-13.
8. Fair, R. J., & Tor, Y. (2014). Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century. *Perspectives in medicinal chemistry*, 6, 25. doi: 10.4137/PMC.S14459.
9. Slivka, M., Korol, N., & Pantyo, V. (2017). Regio- and stereoselective synthesis of [1,3]thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazol-7-ium salts via electrophilic heterocyclization of 3-S-propargylthio-4H-1,2,4-triazoles and their antimicrobial activity. *Heterocyclic Communications*, 23 (2), 109-113. DOI: 10.1515/hc-2016-0233.
10. Wang, H. H., & Schaffner, D. W. (2011). Antibiotic resistance: how much do we know and where do we go from here? *Applied and environmental microbiology*, 77 (20), 7093-7095. doi: 10.1128/AEM.06565-11.

Пантьо В. В., Пантьо В. И., Данко Э. М.

ВЛИЯНИЕ PILER-ИЗЛУЧЕНИЯ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ РОСТА УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Аннотация. Распространение устойчивых к противомикробным агентам штаммов оппортунистических микроорганизмов обосновывает поиск новых путей борьбы с ними. Среди этих способов особое внимание уделяется использованию физических факторов, в частности, различных типов излучения, имеющих потенциальную антимикробную активность. Цель - исследовать прямое влияние длины волны PILER на скорость роста *S.aureus* ATCC 25923 и *P.aeruginosa* ATCC 27853 на твердых питательных средах. Исследовано влияние PILER (поляризованная полихроматическая неоднородная низкоэнергетическая радиация) с различной длиной волны на интенсивность роста тестовых штаммов *S.aureus* ATCC 25923 и *P.aeruginosa* ATCC 27853 на твердых неселективных питательных средах (МПА). Результаты определяли путем подсчета количества бактериальных колоний по сравнению с контрольными подобными нерадиационными культурами. Эффект PILER с разной длиной волны и экспозиций (5, 10, 15 и 20 мин) исследовался отдельными сериями. Источник света PILER - Мед Биоптрон светотерапия от Zepter Group. Полученные результаты свидетельствуют о значительном влиянии PILER-излучения на интенсивность роста исследуемых объектов. Степень влияния зависела от продолжительности облучения и показала незначительную стимуляцию роста бактерий с 5-10 минутной экспозицией и выраженный бактерицидный и бактериостатический эффект при экспозиции в течение 20 минут. Так, 20-минутное влияние PILER на штамм *S.aureus* 25923 привело к уменьшению количества бактериальных колоний на 37-65% по сравнению с контролем, *P.aeruginosa* 27853 - на 58-81% по сравнению с контролем. PILER имеет значительный модулирующий эффект на рост исследуемых условно-патогенных микроорганизмов на твердых питательных средах. Степень этого эффекта зависит от параметров излучения, в частности от дозы и длины волны света, а при экспозиции 20 минут - выраженным бактерицидным и бактериостатическим действием на микроорганизмы.

Ключевые слова: PILER, *S.aureus*, *P.aeruginosa*, рост.

Pantyo V. V., Pantyo V. I., Danko E. M.

THE IMPACT OF PILER-RADIATION ON THE GROWTH RATE OF OPPORTUNISTIC MICROORGANISMS

Annotation. The spread of resistant to antimicrobial agents strains of opportunistic microorganisms causes the search for new ways of struggle with them. Among these ways, special attention is drawn to the use of physical factors, in particular, different types of radiation, with potential antimicrobial activity. Purpose: to investigate the direct effect of the PILER wave length line on the growth rate of *S.aureus* ATCC 25923 and *P.aeruginosa* ATCC 27853 on solid nutrient media. The influence of PILER (Polarized Polychromatic Incoherent Low Energy Radiation) on various wavelengths on the growth intensity of the collection test- strains of *S.aureus* ATCC 25923 and *P.aeruginosa* ATCC 27853 on solid nonselective nutrient media (NA) was investigated. The results were determined by counting the number of bacterial colonies on the dishes and compared with control - similar unirradiated cultures. The effect of PILER of different wavelengths and exposures (5, 10, 15 and 20 min) was investigated by separate series. PILER light source - Med All Bioptron light therapy system by Zepter Group. The obtained results testify to the significant influence of PILER radiation on the intensity of the growth of research objects. The degree of influence depended on the duration of irradiation and showed insignificant stimulation of the growth of bacteria in 5-10-minute exposures and expressed bactericidal and bacteriostatic effect at exposure for 20 minutes. The 20-minute exposure PILER on the *S.aureus* 25923 strain resulted in a decrease of the number of bacterial colonies by 37-65% compared to control, *P.aeruginosa* 27853 - by 58-81% compared to control. PILER has a significant modulator effect on the growth of the examined conditionally pathogenic microorganisms on solid nutrient media. The degree of this effect depends on the radiation parameters, in particular on the dose density and the wavelength of light, and at exposures of 20 minutes is manifested in marked bactericidal and bacteriostatic effects on microorganisms.

Keywords: PILER, *S.aureus*, *P.aeruginosa*, growth.