

БАКТЕРИЦИДНЫЕ ЭФФЕКТЫ МОНОХРОМАТИЧЕСКОГО СВЕТА 635 НМ И 450 НМ, В ОТНОШЕНИИ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* У ПАЦИЕНТОВ СО СТАФИЛОДЕРМИЯМИ

© 2019 г. О. А. Гизингер^{1*}, О. Р. Зиганшин^{1,2}, А. О. Лакницкая²

*E-mail: OGizinger@gmail.com

¹ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», Челябинск, Россия;

^{1,2}Областной кожно-венерологический диспансер, Челябинск, Россия

Поступила: 26.05.2019. Принята: 30.06.2019

В работе приведены результаты исследования антибактериальных свойств монохроматического некогерентного света с длинами волны 635 нм средней мощностью 50 мВт, плотностью 5 Дж/см² и 450 нм средней мощностью 50 мВт, плотностью энергии 5 Дж/см², площадью освещенной зоны – 9,25 см², освещенность – 11 мВт/см² в условиях *in vitro* с использованием штаммов *Staphylococcus aureus*, выделенных с поверхности кожи пациентов со стафилодермиями, время воздействия на изоляты микроорганизмов – 900 секунд, площадь освещенной зоны – 9,25 см², освещенность – 11 мВт/см². Установлено, что свет с длиной волны 635±10 нм обладает слабо выраженными бактериостатическими эффектами в отношении *Staphylococcus aureus*, что подтверждалось ростом *Staphylococcus aureus* в изолятах после облучения, свет с длиной волны 450±10 нм, обладает бактериостатическими свойствами, что подтверждалось снижением числа колоний *Staphylococcus aureus* после воздействия светом с длиной волны 450±10 нм.

Ключевые слова: монохроматический свет, *S. aureus*, стафилодермии

DOI: 10.31857/S102872210007235-3

Адрес: Челябинск, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», Гизингер Оксана Анатольевна. Тел.: +7919 319 46 04 (моб.).

E-mail: OGizinger@gmail.com

Авторы:

Гизингер О. А., д.б.н., профессор, профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения «Южно-Уральский государственный медицинский университет», Челябинск, Россия;

Зиганшин О. Р., д.м.н., профессор, профессор кафедры дерматовенерологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения «Южно-Уральский государственный медицинский университет», Челябинск, Россия; главный врач областного кожно-венерологического диспансера, Челябинск, Россия;

Лакницкая А. О., врач-дерматовенеролог областного кожно-венерологического диспансера, Челябинск, Россия.

ВВЕДЕНИЕ

Эволюция представлений о роли и взаимоотношениях в системе «*S. aureus*-макроорганизм» и общих принципах лечения стафилококковых инфекций позволило разработать принципы

системной и локальной антибиотикотерапии, лечения с использованием иммуномодулирующих препаратов, чем существенно улучшило клинические результаты терапии и снизило риск осложнений. Сравнительно недавно в качестве ключевых факторов в патогенезе стафилококковых поражений кожи стали рассматривать снижение синтеза антимикробных пептидов: кателицидина (LL-37) и β-дефензинов (hBD-1, hBD-2 и hBD-3), которые являются химической составляющей эпидермального врожденного барьера [1]. Недостаточная выработка антимикробных пептидов у больных со стафилодермиями увеличивает контаминацию кожи *Staphylococcus aureus* в геометрической прогрессии при аллергическом воспалении в пораженных участках кожи. Широкая распространенность и неуклонный рост дерматозов, вызванных стафилококками, увеличение частоты тяжелых форм заболевания требуют совершенствования существующих методов терапии, актуальным является поиск новых методов, обладающих

высокой терапевтической активностью и минимальным риском развития местных и системных побочных явлений [2]. Методом патогенетической терапии может быть топическое использование некогерентного монохроматического света оптического диапазона. Рассматривая возможность использования и клиническую эффективность каждого *de novo* предлагаемого физиотерапевтического метода необходимо с особой тщательностью оценивать его прямое влияние на патоген, вызвавший заболевание. Дискутабельным остается вопрос по позиции «эффективность-длина волны монохроматического света». Ранее проведенные исследования в целом свидетельствуют о бактерицидных и бактериостатических эффектах синего света, хотя встречаются работы, рассматривающие микробиологическую эффективность синего света [3]. Длина волны может быть лимитирующим бактерицидным фактором для патогенных микроорганизмов, поскольку первичная фотореакция бактериальной клетки связана с акцепцией квантов света фоточувствительными молекулами (хромофорами) определенного биологического объекта [4]. Действие света с длиной волны 635 нм способствует санации организма от патогенов путем нормализации функционирования факторов антимикробной защиты, т.е. опосредовано через активацию системы микроциркуляции и повышению функционально-метаболического статуса клеточных, восстановлению концентрации гуморальных факторов иммунитета, снижению активности воспалительной реакции и усилению лимфоидно-плазмочитарно-клеточной кооперации [5].

Целью настоящего исследования явилось изучение антибактериальных эффектов видимого света с длинами волн 635 ± 10 нм и 450 ± 10 нм, в условиях *in vitro* с использованием *S. aureus*, выделенного с поверхности кожи пациентов со стафилодермией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены на базе клинко-диагностической лаборатории областного кожно-венерологического диспансера (г. Челябинск).

С целью выявления носительства стафилококка был проведен забор отделяемого с поверхности кожи конечностей у 30 пациентов (15 мужчин и 15 женщин) в возрасте $41,8 \pm 5,7$ лет. Длительность заболевания варьировала от двух месяцев до года. Бактериологическое обследование кожных покровов включало: посев от-

деляемого с поврежденной кожи, взятого стерильным тампоном, на желточно-солевой агар, количественную оценку роста по числу выросших колоний, определение гемолитической активности на 5% кровяном агаре, определение лецитиназной активности на молочно-солевом, желточно-солевом агарах и постановку реакции плазмокоагуляции с кроличьей плазмой. Определение чувствительности выделенных культур к антибиотикам проводили дискодиффузионным методом. С целью изучения бактерицидных свойств монохроматического некогерентного света с длинами волн 635 нм и 450 нм в условиях *in vitro* были проведены исследования на модели коагулазоположительного *S. aureus*, обнаруженным у 30 (100%) обследуемых. Первым этапом было выделение чистой культуры *S. aureus* с последующей идентификацией чистой культуры по биохимическим свойствам. В день проведения эксперимента готовили экспериментальную систему, состоящую из 3 рядов пробирок по 4 пробирки в каждом (всего 12 пробирок) с 0,9 мл взвеси на физиологическом растворе, выделенной чистой суточной культуры коагулазоположительного штамма *S. aureus*, в концентрациях 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 КОЕ/мл, полученной от пациентов, включенных в исследование. На изоляты чистой культуры *S. aureus*, выделенных с поверхности кожи, действовали светом с длиной волн 635 ± 10 нм (первый ряд пробирок), средней мощностью 50 мВт, плотностью 5 Дж/см² или светом 450 ± 10 нм, средней мощностью 50 мВт, плотностью энергии 5 Дж/см². (второй ряд пробирок) с использованием светодиодных излучающих головок, аппарат «Мустанг», Россия, (Регистрационное удостоверение № РЗН 2015/2687 от 25.05.2015, № РЗН 2014/1410 от 06.02.2014, № ФСР 2007/00589 от 24.10.2007), время воздействия на взвесь *S. aureus* в физиологическом растворе – 900 секунд. Контрольные образцы (третий ряд пробирок) инкубировали без светодиодного облучения. Расстояние между светодиодом и пробиркой было постоянным, чтобы поддерживать правильную плотность мощности. Светодиодный источник располагался на расстоянии 50 мм непосредственно от центра пробирки. Установленный светодиодный модуль имел параметры: постоянный ток (0–9 А и 0–30 В). Ток был установлен на уровне $2,0 \pm 0,05$ А при напряжении $5,0 \pm 0,1$ В, что давало интенсивность излучения 6 мВт/см² в течение 1 часа в пробирке. Световое поле для облучения микроорганизмов в пробирках кон-

фигурировали таким образом, чтобы в любой точке воздействия света значения отклонения плотности светового потока, измеренного при помощи люксметра составляло бы не более 10%, что обеспечивало равные условия воздействия на взвесь бактерий в физиологическом растворе. Облучённую светом с длинами волн 635 ± 10 нм и 450 ± 10 нм взвесь микроорганизмов объемом 0,1 мл перемещали на чашки Петри с 1% кровавым агаром и инкубировали при температуре 37°C 24 часа в термостате. По инкубации подсчитывали количество выросших колоний *S. aureus*, выражая результаты в КОЕ/мл. Статистический анализ данных проводился с использованием t-критерия Стьюдента, как метода наиболее адекватного с математической точки зрения для данного исследования, различия считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ роста *S. aureus* на питательной среде после облучения их светом оптического диапазона с длиной волны 635 ± 10 нм показал, что данный вид воздействий не обладает бактерицидными свойствами, что подтверждалось 90%, 95%, 80%, 87% ростом *S. aureus* (более 10 КОЕ/мл) в концентрациях 10^3 КОЕ/мл. Свет с длиной волны 450 ± 10 нм в условиях *in vitro* обладает бактериостатическими свойствами, что подтверждалось снижением на 95% роста *S. aureus* и только 5% ростом *S. aureus* (более 10 КОЕ/мл). Анализ роста *S. aureus* на питательной среде после облучения их светом оптического диапазона с длиной волны 450 ± 10 нм показал, что данный вид воздействий обладает бактерицидными свойствами, что подтверждалось 90%, 95%, 80%,

87% ростом *S. aureus* (более 10 КОЕ/мл) в концентрациях 10^3 КОЕ/мл, полученные данные, представлены в **Таблице 1**.

ОБСУЖДЕНИЕ

Бактерицидный эффект оптического излучения с длиной волны 450 ± 10 нм в отношении *S. aureus*, был достоверно выше по отношению эффектам света с длиной волны 635 ± 10 нм. По нашему мнению, выраженные бактерицидные эффекты синего света связаны выделением под действием света активных форм кислорода, непосредственно разрушающих клеточную стенку и ядерный аппарат *S. aureus*, вызывая инактивацию ферментов цитоплазмы и клеточной стенки, влияя на процесс синтеза ацетилмурамовой кислоты, что приводит к структурным изменениям мембран *S. aureus*. Кроме того, образование свободнорадикальных форм кислорода при поглощении квантов света фотоакцепторами *S. aureus*, такими как терминальные оксидазы дыхательной цепи митохондрий *S. aureus* может рассматриваться как один из первичных механизмов, запускающих цепь биохимических реакций с токсических биологических эффектов в отношении патогена [6]. Кроме того, бактериостатические эффекты света с длиной волны 450 нм, могут быть обусловлены прооксидантными эффектами данного вида света на реакции перекисного окисления липидов клеточных мембран *S. aureus*, сопровождаемого незначительным усилением активности фермента каталазы [7]. Более того, *S. aureus* сам обладает способностью образования на своей наружной мембране активных форм кислорода, стимуляция которых светом с длиной волны 450 нм

Таблица 1. Антибактериальные эффекты оптического монохроматического некогерентного излучения с длиной волны 635 ± 10 нм и 450 ± 10 нм в отношении *S. aureus*

Диапазон оптического излучения	Тестируемый микробионт	Концентрация тестируемого микробионта <i>S. aureus</i> (КОЕ/мл)			
		10^3 КОЕ/мл	10^4 КОЕ/мл	10^5 КОЕ/мл	10^6 КОЕ/мл
635 ± 10 нм (красный свет)	<i>S. aureus</i>	Наличие роста <i>S. aureus</i> $3,12 \pm 0,12$	Наличие роста <i>S. aureus</i> $4,31 \pm 0,19^*$	Наличие роста <i>S. aureus</i> $4,99 \pm 0,01^*$	Наличие роста <i>S. aureus</i> $6,00 \pm 0,01^*$
450 ± 10 нм (синий свет)	<i>S. aureus</i>	Единичные колонии <i>S. aureus</i> $1,02 \pm 0,11^{**}$	Единичные колонии <i>S. aureus</i> $1,00 \pm 0,10^{**}$	Единичные колонии <i>S. aureus</i> $1,03 \pm 0,05^{**}$	Единичные колонии <i>S. aureus</i> $1,00 \pm 0,07^{**}$

Примечание: КОЕ-колониобразующая единица, *-достоверность сравниваемых показателей между группами, при действии на *S. aureus* светом с длиной волны 635 ± 10 нм, **-достоверность сравниваемых показателей между группами, при действии на *S. aureus* светом с длиной волны 450 ± 10 нм и 635 ± 10 нм

усиливает респираторный взрыв на поверхности мембранных структур, повреждая сам микроорганизм и формируя гибель *S. aureus* путем осмотического шока даже без экзогенных фотосенсибилизаторов, оказывая фототоксическое действие. Воздействие света с длиной волны 635 нм не выявило прямых бактериостатических эффектов, хотя в некоторых исследовательских работах имеются указания на микробиологические эффекты красного света, связанные с нашим взглядом, с ранее доказанными иммуотропными эффектами красного света, усилением киллинговой активности клеток врожденного иммунитета, выделением фагоцитами активных форм кислорода, повреждающего клеточную стенку патогена. Полученные результаты диктуют необходимость проведения дальнейших экспериментов по изучению влияния различных параметров монохроматического света оптического диапазона.

ВЫВОД

Выявлены антибактериальные эффекты оптического монохроматического некогерентного излучения с длиной волны 450 ± 10 нм в отношении *S. aureus*, и отсутствие бактериостатических эффектов оптического излучения с длиной волны 635 ± 10 нм в отношении *S. aureus*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Bardoel B. W.* Evasion of Toll-like receptor 2 activation by staphylococcal superantigen-like protein 3. *Journal of Molecular Medicine.*— 2012.— Vol. 90, No 10.— P. 1109–1120.
2. *Шетинин С. А., Гизингер О. А., Кормазов А. М.* Клинические проявления и дисфункции иммунного статуса у детей с хроническим рецидивирующим аденоидитом и методы их коррекции с использованием озонотерапии *Российский иммунологический журнал.* 2015, 9 (3), 255–257. [*Schetinin S. A., Gizinger O. A., Korkmazov A. M.* Clinical manifestations and dysfunctions of the immune status in children with chronic recurrent adenoiditis and methods for their correction using ozone therapy. *Russian immunological magazine.* 2015.9 (3), 255–257.]
3. *Гизингер О. А., Ишпахтина К. Г., Колесников О. Л.* Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на нейтрофилы периферической крови доноров в условиях эксперимента. *Иммунология.* 2009; 5: 263–267. [*Gizinger O. A., Kolesnikov O. L., Ishpakhtina K. G.* The influence of low-intensity laser radiation on neutrophils of donor peripheral blood under experimental conditions. *Immunology.* 2009; 5: 263–267].
4. *Долгушин И. И., Гизингер О. А.* Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на нейтрофилы цервикального секрета у женщин с микоплазменной инфекцией. *Вопр. курортологии, физиотерапии и лечеб. физкультуры.* 2008. 4, 29–31. [*Dolgushin I. I., Gisinger O. A.* Effect of low-intensity laser radiation on cervical secretion neutrophils in women with mycoplasma infection. *Vopr. balneology, physiotherapy and treatment. physical education.* 2008. 4, 29–31.]
5. *Гизингер О. А., Долгушин И. И.* Система провоспалительных цитокинов у женщин с урогенитальным трихомониазом. *Медицинская иммунология.*—2005, 7, 5–6. 601–604. [*Gisinger O. A., Dolgushin I. I.*, The system of proinflammatory cytokines in women with urogenital trichomoniasis. *Medical immunology.* 2005, 7, 5–6, 601–604.]
6. *Aeh N. G., Yeh N. G., Wu C. H., Cheng T. C.* Light-emitting diodes—their potential in biomedical applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* 2010, 14 (8), 2161–2166.
7. *Guffey J. S., Wilborn J.* In vitro bactericidal effects of 405-nm and 470-nm blue light. *Photomed Laser Surg.* 2006, 24(6), 684–688.

**BACTERICIDAL EFFECTS OF MONOCHROMATIC LIGHT 635 NM
AND 450 NM, WITH RESPECT TO *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
IN PATIENTS WITH STAFILODERMY**

© 2019 O. A. Gizinger^{1*}, O. R. Ziganshin^{1,2}, A. O. Laknitskaya²

*E-mail: OGizinger@gmail.com

¹South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia;

²Regional Dermatovenerologic Dispensary, Chelyabinsk, Russia

Received: 26.05.2019. Accepted: 30.06.2019

The paper presents the results of a study of the antibacterial properties of monochromatic incoherent light with wavelengths of 635 nm with an average power of 50 mW, a density of 5 J/cm² and 450 nm with an average power of 50 mW, an energy density of 5 J/cm², the area of the illuminated zone – 9.25 cm², illumination – 11 mW/cm² *in vitro* using *Staphylococcus aureus* strains isolated from the skin of patients with staphylococcal skin lesions, the exposure time to the isolates of microorganisms is 900 seconds, the area of the illuminated zone is 9.25 cm², the illumination is 11 mW/cm². It was established that light with a wavelength of 635 ± 10 nm has poorly pronounced bacteriostatic effects on *Staphylococcus aureus*, which was confirmed by the growth of *Staphylococcus aureus* in isolates after irradiation, light with a wavelength of 450 ± 10 nm, has bacteriostatic properties, which was confirmed by a decrease in the number of *Staphylococcus aureus* colonies after exposure to light with a wavelength of 450 ± 10 nm.

Key words: monochromatic light, *S. aureus*, staphylodermia

Authors:

Gizinger O. A., ✉ Doctor of Biological Sciences, Professor, Professor of the Department of Microbiology, Virology, Immunology and Clinical Laboratory Diagnostics of the Federal State Budgetary Educational Institution “South Ural State Medical University”, Chelyabinsk, Russia;

Chelyabinsk, Federal State Budgetary Educational Institution “South Ural State Medical University”. Phone: +79193194604.

E-mail: OGizinger@gmail.com

Ziganshin O. R., MD, Professor, Professor of the Department of Dermatology and Venereology of the Federal State Budgetary Educational Institution “South Ural State Medical University”, Chelyabinsk, Russia; Chief Physician of the Regional Dermatovenerologic Dispensary, Chelyabinsk, Russia;

Laknitskaya A. O., the doctor-dermatologist regional regional dermatovenerologic dispensary, Chelyabinsk, Russia.