

УДК [616.381-002-089.849.19:616.381-008.87]-092.4

ПУТИ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВЛИЯНИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА МИКРОФЛОРУ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ПЕРИТОНИТА

В.И. Русин, аспирант; А.И. Жмакин, к.м.н., доцент;

С.М. Смотрин, д.м.н., доцент; С.С. Ануфрик, д.ф.-м.н., профессор

Кафедра хирургических болезней №2 с курсом урологии

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

*В статье приведены результаты исследования по изучению влияния низкоинтенсивного лазерного излучения ($\lambda = 0,67$ мкм, $\lambda = 0,45$ мкм), фотосенсибилизаторов родамина, кумарина, нильского синего, хлорофиллипта и фотодинамической терапии на микрофлору неспецифического перитонита. Установлено, что лазерное излучение красного и синего спектров ($\lambda = 0,67$ мкм и $\lambda = 0,45$ мкм, соответственно) *in vitro* эффектом угнетения роста микрофлоры неспецифического перитонита не обладает, а эффект действия фотосенсибилизаторов родамина, кумарина, нильского синего, хлорофиллипта отмечен не во всех случаях. Повышение эффективности противомикробного действия низкоинтенсивного лазерного излучения на индикаторную микрофлору неспецифического перитонита может быть достигнуто при совместном использовании лазера красного и синего спектров и спиртовых растворов фотосенсибилизаторов родамина, кумарина, нильского синего, хлорофиллипта в концентрациях 0,01% и 0,001%.*

Ключевые слова: Лазерное излучение, фотосенсибилизаторы, острый перитонит, микроорганизмы.

*The article presents the results of the study of the effect of low-intensity laser radiation ($\lambda = 0.67$ mm, $\lambda = 0.45$ m), photosensitizers of rhodamine, coumarin, Nile blue, hlorofillipt and photodynamic therapy on the microflora of nonspecific peritonitis. It has been established that laser radiation of red and blue spectra ($\lambda = 0.67$ m and $\lambda = 0.45$ m respectively) *in vitro* does not have a growth inhibition effect on microflora in nonspecific peritonitis, and the effect of photosensitizers of rhodamine, coumarin, Nile blue, hlorofillipt is marked not in all cases. Improving effectiveness of the antibacterial impact of low-intensity laser radiation on the microflora of a nonspecific indicator of peritonitis can be achieved by combined use of laser of red and blue spectra, and alcohol solutions of photosensitizers of rhodamine, coumarin, Nile blue, hlorofillipt in concentrations of 0.01% and 0.001%.*

Key words: laser radiation, photosensitizers, acute peritonitis, microbes.

Введение

Ряд достижений в клинической медицине в значительной мере определяются прогрессом в области квантовой электроники. Известно, что лазерное излучение обладает по-настоящему неисчерпаемыми терапевтическими возможностями, которые в настоящее время изучены далеко не полностью, в связи с чем представляют большой интерес для исследователей. Уже сегодня известны целый спектр положительных эффектов, которые проявляются при воздействии низкоинтенсивного лазерного излучения на биологические объекты [2, 3, 9]. Это находит выражение во многих клинических эффектах на уровне целого организма, таких как иммуномодулирующий, бактерицидный, противовоспалительный, обезболивающий, регенераторный, противоотечный и других [1, 5, 12]. В настоящее время не подвергается сомнению эффективность применения низкоинтенсивного лазерного излучения в хирургической практике при лечении такой патологии, как облитерирующие заболевания сосудов конечностей, трофические язвы, заболевания поджелудочной железы и гепатобилиарной системы, чистые и гнойные раны, анастомозиты, различные послеоперационные осложнения и другие [1, 2, 10, 13]. Имеются сведения о применении низкоинтенсивного лазерного излучения и в комплексном лечении острого перитонита [1]. Однако противомикробное действие низкоинтенсивного лазерного излучения не полностью удовлетворяет клиницистов-практиков. В связи с этим постоянно проводится поиск путей повышения эффективности противомикробного действия лазерного излучения. Одним из них является использование фотосенсибилизаторов. Все фотосенсибилизаторы делятся на эндогенные и экзогенные. К первым относятся, например, эндогенные

порфирины крови [6]. Вторые же в настоящее время получили довольно широкое распространение в клинической практике [7, 11, 14, 15, 16]. Использование фотодинамической терапии в хирургии является достаточно перспективным направлением, так как эффект воздействия не убывает с течением времени, носит локальный характер и не влияет на состояние микробиоценоза [7].

Целью нашего исследования явилось выяснение влияния низкоинтенсивного лазерного излучения и фотосенсибилизаторов родамина, кумарина, нильского синего, хлорофиллипта на микрофлору неспецифических перитонитов.

Материалы и методы

Нами изучено влияние низкоинтенсивного лазерного излучения красного ($\lambda = 0,67$ мкм) и синего ($\lambda = 0,45$ мкм) спектральных диапазонов, а также спиртовых растворов фотосенсибилизаторов родамина, кумарина, нильского синего, хлорофиллипта на индикаторные для калового перитонита микроорганизмы *Enterococcus faecalis* и *Escherichia coli* [4, 8]. В качестве источников оптического излучения использовались полупроводниковые лазеры красной ($\lambda = 0,67 \pm 0,02$ мкм) и синей ($\lambda = 0,47 \pm 0,02$ мкм) спектральных областей. Режим воздействия – непрерывный. Мощность лазерного излучения на выходе излучателя регулируется в диапазоне от $1,0 \pm 0,3$ мВт до 30 ± 2 мВт, в эксперименте использовалась мощность излучения, равная 25 мВт (красный спектр) и 5 мВт (синий спектр). Плотность мощности излучения на поверхности питательной среды составляла $0,25$ мВт/см² и определялась по формуле: $P = 4W / 0,01\pi d^2$, где P – плотность мощности излучения на поверхности питательной среды (мВт/см²); W – мощность излучения на дисталь-

ном конце световода; $\pi = 3,14$; d – диаметр светового пятна на поверхности среды = большому диаметру насадки = 100 мм. Воздействие НИЛИ на поверхность среды осуществлялось с помощью специальной насадки для облучения чашек Петри (патент Республики Беларусь № 5733). В качестве тест – объекта взяты культуры *Enterococcus faecalis* и *Escherichia coli*. Изучалось действие спиртовых растворов фотосенсибилизаторов и лазерного облучения на рост *Enterococcus faecalis* и *Escherichia coli*. В работы были взяты 0,001% и 0,01 % спиртовые растворы фотосенсибилизаторов: родамин, кумарин, нильский синий, хлорофиллипт. Так как этиловый спирт в указанных концентрациях достоверно влиял на рост тест-культуры, а разница в их влиянии между собой была недостоверна, для контроля (сравнения с экспериментальными сериями) брали 0,001% и 0,01 % растворы этилового спирта, объединив данные по обеим вышеуказанным концентрациям. Растворы готовились непосредственно в день эксперимента сразу в чашке Петри с питательным агаром, перед засевом тест-культуры. Доза засева тест-культуры: шпателем 0,1 мл $1/2 \times 10^5$ смыва суточной культуры, выросшей на скошенном мясопептонном агаре (МПА). После засева опытные чашки облучались лазерным излучением красного и синего спектров. Контрольные чашки оставались интактными. Все чашки в течение суток термостатировали при 37 °С, после чего подсчитывали количество выросших колоний. Всего в опытах было задействовано 480 чашек Петри с тест-культурами. Для статистической обработки результатов использовалась программа Statistica 6.0. Для сопоставления результатов, полученных в различных сериях эксперимента, количество колоний пересчитывалось в процентах к контролю.

Результаты и обсуждение

Установлено, что спиртовой раствор родамина в концентрации 0,01% угнетает рост тест-культуры *Enterococcus faecalis*. Рост тест-культуры *Enterococcus faecalis* угнетается ещё больше при совместном воздействии спиртового раствора родамина и лазерного излучения красного спектра, причём в концентрации 0,01% спиртового раствора родамина этот эффект выражен значительно. При совместном воздействии спиртового раствора родамина концентраций 0,01% и 0,001% и лазерного излучения синего спектра эффекта угнетения роста тест-культуры *Enterococcus faecalis* не наблюдается (рис. 1).

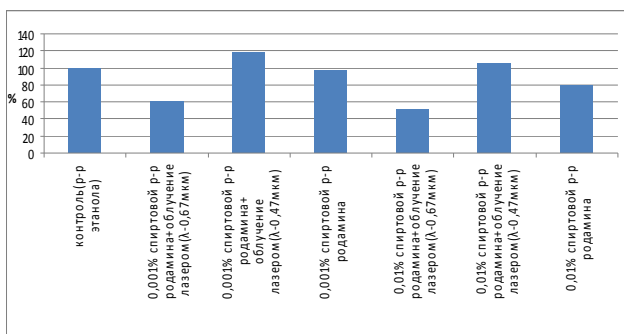


Рисунок 1 – Влияние изученных физико-химических факторов на рост колоний микроорганизмов *Enterococcus faecalis* через 24 часа после воздействия

Рост тест-культуры *Escherichia coli* угнетается при изолированном воздействии спиртового раствора родамина в концентрации 0,001%. Рост тест-культуры *Escherichia coli* угнетается при совместном воздействии

спиртового раствора родамина в концентрации 0,01% и лазерного излучения красного и синего спектров, причём для синего спектра эффект угнетения выражен больше (рис. 2).

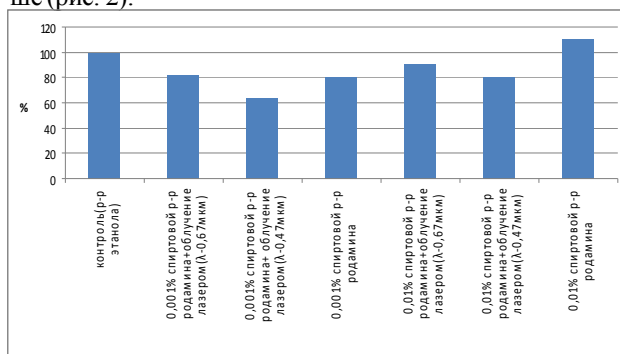


Рисунок 2 – Влияние изученных физико-химических факторов на рост колоний микроорганизмов *Escherichia coli* через 24 часа после воздействия

Рост тест-культуры *Enterococcus faecalis* угнетается при изолированном воздействии спиртового раствора кумарина в концентрации 0,001%. При совместном воздействии спиртового раствора родамина обеих данных концентраций и лазерного излучения обоих спектров эффекта угнетения роста тест-культуры *Enterococcus faecalis* не наблюдается (рис. 3).

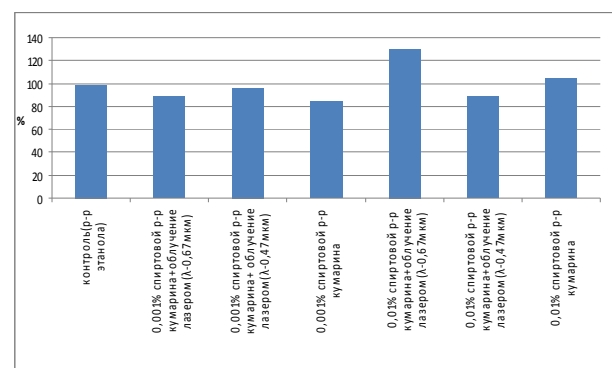


Рисунок 3 – Влияние изученных физико-химических факторов на рост колоний микроорганизмов *Enterococcus faecalis* через 24 часа после воздействия

Рост тест-культуры *Escherichia coli* угнетается при совместном воздействии спиртового раствора кумарина в концентрации 0,001% и лазерного излучения красного спектра. При других вариантах описанного выше физико-химического воздействия на тест-культуру со спиртовым раствором кумарина эффекта угнетения её роста не наблюдается (рис. 4).

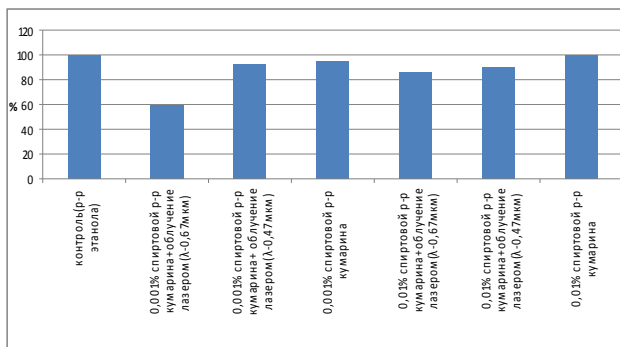


Рисунок 4 – Влияние изученных физико-химических факторов на рост колоний микроорганизмов *Escherichia coli* через 24 часа после воздействия

Рост тест-культуры *Enterococcus faecalis* угнетается при изолированном воздействии спиртового раствора нильского синего в концентрации 0,001%. Наблюдается тенденция угнетения роста тест-культуры *Enterococcus faecalis* при совместном воздействии спиртового раствора нильского синего в концентрации 0,01% и лазерного излучения красного спектра (рис. 5).

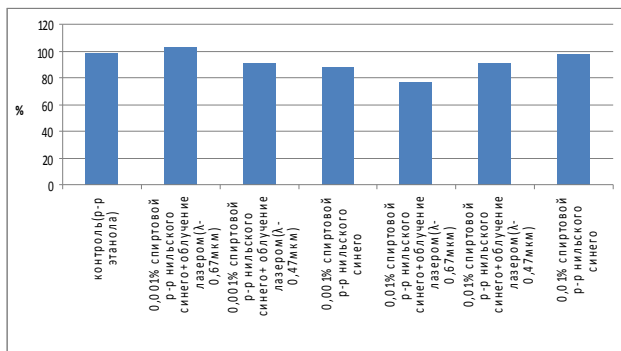


Рисунок 5 – Влияние изученных физико-химических факторов на рост колоний микроорганизмов *Enterococcus faecalis* через 24 часа после воздействия

При совместном воздействии спиртового раствора нильского синего концентраций 0,01%, 0,001% и лазерного излучения синего спектра наблюдается эффект угнетения роста тест-культуры *Escherichia coli*. При других вариантах описанного выше физико-химического воздействия на тест-культуру со спиртовым раствором нильского синего эффекта угнетения её роста не наблюдается (рис. 6).

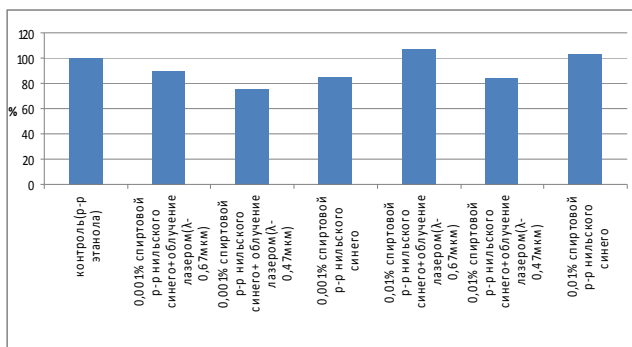


Рисунок 6 – Влияние изученных физико-химических факторов на рост колоний микроорганизмов *Escherichia coli* через 24 часа после воздействия

Наблюдается тенденция угнетения роста тест-культуры *Enterococcus faecalis* при совместном воздействии спиртового раствора хлорофиллипта в концентрации 0,001% и лазерного излучения синего спектра. При других вариантах описанного выше физико-химического воздействия на тест-культуру со спиртовым раствором хлорофиллипта эффекта угнетения её роста не наблюдается (рис. 7).

Рост тест-культуры *Escherichia coli* угнетается при изолированном воздействии спиртового раствора хлорофиллипта в концентрации 0,01%. При совместном воздействии спиртового раствора хлорофиллипта концентраций 0,01%, 0,001% и лазерного излучения красного спектра наблюдается тенденция угнетения роста тест-культуры *Escherichia coli*, причём в концентрации 0,01% спиртового раствора хлорофиллипта этот эффект выра-

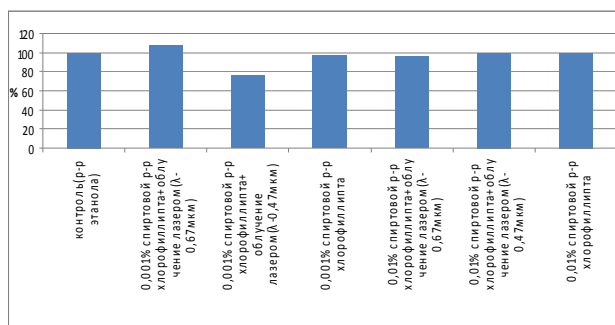


Рисунок 7 – Влияние изученных физико-химических факторов на рост колоний микроорганизмов *Enterococcus faecalis* через 24 часа после воздействия

жен значительнее. При совместном воздействии спиртового раствора хлорофиллипта в концентрации 0,01%, 0,001% и лазерного излучения синего спектра наблюдается тенденция угнетения роста тест-культуры *Escherichia coli*, причём в концентрации 0,01% спиртового раствора хлорофиллипта этот эффект выражен значительнее (рис. 8).

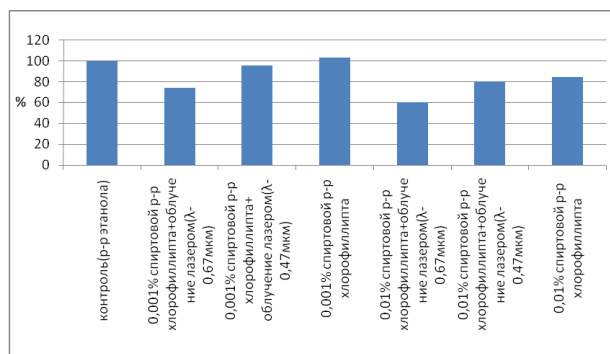


Рисунок 8 – Влияние изученных физико-химических факторов на рост колоний микроорганизмов *Escherichia coli* через 24 часа после воздействия

Совместное воздействие лазерного излучения красного и синего спектров и 0,01%, 0,001% растворов этанола эффектом угнетения роста тест-культур *Enterococcus faecalis* не обладает (рис. 9).

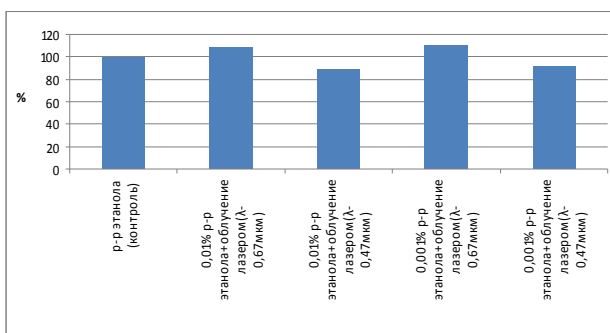


Рисунок 9 – Влияние изученных физико-химических факторов на рост колоний микроорганизмов *Enterococcus faecalis* через 24 часа после воздействия

Совместное воздействие лазерного излучения красного и синего спектра и 0,01%, 0,001% растворов этанола угнетения роста тест-культур *Escherichia coli* не вызывает (рис. 10).

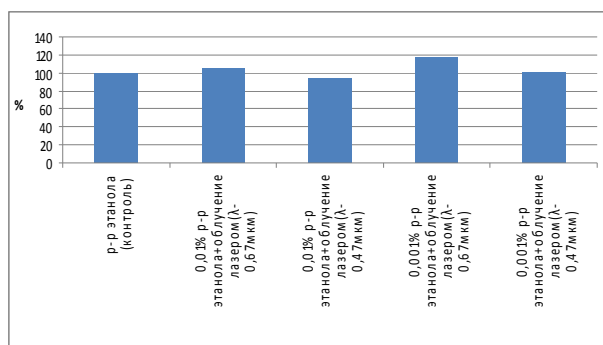


Рисунок 10 – Влияние изученных физико-химических факторов на рост колоний микроорганизмов *Escherichia coli* через 24 часа после воздействия

Выводы

1. Лазерное излучение красного и синего спектральных диапазонов *in vitro* не обладает эффектом угнетения роста индикаторной микрофлоры неспецифического перитонита *Enterococcus faecalis* и *Escherichia coli*.

2. Спиртовые растворы фотосенсибилизаторов родамина и нильского синего *in vitro* угнетают рост индикаторной микрофлоры неспецифического перитонита *Enterococcus faecalis* и *Escherichia coli*. Спиртовой раствор хлорофиллипта угнетает рост только *Escherichia coli*. Спиртовой раствор кумарина не оказывает влияния на рост *Enterococcus faecalis* и *Escherichia coli*.

3. Совместное воздействие спиртовых растворов фотосенсибилизаторов родамина, кумарина, нильского синего и хлорофиллипта и низкоинтенсивного лазерного излучения *in vitro* сопровождается усилением эффекта угнетения роста *Escherichia coli*. Рост *Enterococcus faecalis in vitro* угнетается при совместном воздействии спиртовых растворов фотосенсибилизаторов родамина, нильского синего, хлорофиллипта и низкоинтенсивного лазерного излучения.

Литература

- Буйлин, Б.А. Низкоинтенсивные лазеры в хирургии: реальность и перспективы / Б.А. Буйлин, Е.И. Брехов, В.И. Брыков // *Анналы хирургии* – 2003. – № 2. – С. 8.
- Вишневский, Е.Л. Использование низкоинтенсивного лазерного излучения при ряде хирургических заболеваний у детей: методическое пособие для врачей / Е.Л. Вишневский [и др.] – Москва: ЗАО “МИЛТА-ПКП ГИТ”, 2001. – С. 12.
- Волотовская, А.В. Современные технологии лазерной терапии / А.В. Волотовская, В.С. Улащик // *БелМАПО*, Минск [Элек-

тронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.belmapo.by/downloads/fizioterapiya/sovz_tehnolog_lazernoj.doc – Дата доступа: 17.01.2010.

4. Воробьев, Г.И. Антимикробная профилактика у больных, оперированных на дистальном отделе прямой кишки, анальном канале и промежности / Г.И. Воробьев [и др.] // *Русский медицинский журнал*. – 1999. – Т.1. – №1. – С. 34.

5. Илларионов, В.Е. Основы лазерной терапии / В.Е. Илларионов. – Москва: Респект, 1992. – 122 с.

6. Клебанов, Г.И. Влияние эндогенных фотосенсибилизаторов на лазер-индуцированный прайминг лейкоцитов крови / Клебанов Г.И. [и др.] // *Биол. мембраны* – 1998. – Т.15. – №3. – С. 273-285.

7. Лекции по онкологии: лекция №2 Исторические аспекты развития фотодинамической терапии // Центр лазерной медицины «Волшебный луч» (Москва) [Электронный ресурс]. – 2006. – Режим доступа: <http://oncologic.narod.ru/Lekcii/fdt/l-fdt-2.html> – Дата доступа: 17.01.2010.

8. Парфенов, А.И. Лечение дисбактериоза кишечника препаратом Хилак-форте / А.И. Парфенов, Ю.К. Калоев, Н.Г. Федотова // Центральный НИИ гастроэнтерологии, Москва, 9-й лечебно-диагностический центр МО РФ [Электронный ресурс]. – 1998. – Режим доступа: <http://www.provisor.com.ua/archive/1998/N18/hilak.htm> – Дата доступа: 17.01.2010.

9. Светолечение в физиотерапии. Виды излучения и формы воздействия. / Медицинский информационный сайт [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.kovostok.ru/info/svetolechenoe.html> – Дата доступа: 17.01.2010.

10. Смотрин, С.М. Хирургическая рана: прогнозирование и оптимизация заживления / С.М. Смотрин. – Гродно: ГрГМУ, 2005. – 180 с.

11. Соколов, В.В. Фотодинамическая терапия злокачественных опухолей основных локализаций с препаратами фотогем и фотосенс (результаты трехлетних наблюдений) / В.В. Соколов [и др.] // *Вопросы онкологии*. – 1995. – №41. – С. 134-138.

12. Терапевтическая эффективность низкоинтенсивного лазерного излучения / А.С. Крюк [и др.]; под ред. А.С. Крюка. – Минск: Наука и техника, 1986. – 231 с.

13. Dominguez, J.M. Intestinal anastomotic healing at varying times after irradiation / J.M. Dominguez [et al.] // *Journal of surgical research*. – 1996. – V. 61(1). – P. 293-299.

14. Dougherty, T.J. Studies on the structure of porphyrins contained in Photofrin II / T.J. Dougherty // *Photochem. Photobiol.* – 1987. – Vol. 46 (5). – P. 569.

15. Dougherty, T.J. Use of hematoporphyrin in photodynamic therapy / T.J. Dougherty // *Photochem. Photobiol.* – 1993. – V. 58. – P. 895-900.

16. Orenstein, A. The use of porphyrins for eradication of *Staphylococcus aureus* in burn wound infections / A. Orenstein [et al.] // *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* – 1997. – V. 19(4). – P. 307-314.

Поступила 26.05.10