

В роботі надані дані щодо виявлення автоімунного процесу в бронхолегеневій системі у дітей, хворих на бронхіальну астму, віком від 5 до 14 років в періоді загострення. Групу порівняння склали 25 здорових дітей у віці від 7 до 14 років. Показано, що ліпополісахарідні антигени з проміжної сполучної тканини бронхолегневих структур, отримані від випадково загиблих дітей, мають більш високу специфічність у порівнянні з білковими антигенами і дозволяють ідентифікувати морфологічні зміни в бронхолегеневій системі, ступінь тяжкості перебігу та здійснювати контроль ефективності проведеної терапії.

Ключові слова: бронхіальна астма, діти, білкові антигени, ліпополісахарідні антигени, автоімунний процес.

THE DIAGNOSIS OF THE AUTOIMMUNE PROCESS IN BRONCHIAL ASTHMA IN CHILDREN USING ANTIGENS OF THE BRONCHOPULMONARY SYSTEM

V. H. Chernuskyi, M. M. Popov, O. L. Hovalenkova, H. V. Letiaho, V. L. Kashina-Yarmak, T. V. Yevdokymova.

The paper presents data on the detection of an autoimmune process in the bronchopulmonary system in children with BA aged from 5 to 14 years in the period of exacerbation. The comparison group consisted of 25 healthy children aged from 7 to 14 years. It has been shown that lipopolysaccharide antigens from the interstitial connective tissue of bronchopulmonary structures obtained from accidentally killed children have a higher specificity than protein antigens and allow identifying morphological changes in the bronchopulmonary system, the severity of the course and monitoring the effectiveness of the therapy.

Key words: bronchial asthma, children, protein antigens, lipopolysaccharide antigens, autoimmune process

УДК: 579.841.1.017:544.023:[615.849.1+615.281.9

DOI: 10.26565/2617-409X-2018-1-11

ФОРМУВАННЯ БІОПЛІВОК ПОЛІРЕЗИСТЕНТНИМИ ШТАМАМИ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ПІД ВПЛИВОМ ОПТИЧНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ СИНЬОГО ТА ФІОЛЕТОВОГО СПЕКТРІВ

С. Г. Маланчук.

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

Робота присвячена вивченню впливу світлодіодного випромінювання синього та фіолетового спектрів на біоплівки *Pseudomonas aeruginosa* in vitro

Здатність утворювати біоплівки визначали в полістиролових планшетах з попередньою синхронізацією періодичної культури досліджуваних штамів. Було показано, що при визначенні здатності до біоплівкоутворення полірезистентними нозокоміальними штамми *Pseudomonas aeruginosa* вплив світлодіодного випромінювання синього та фіолетового спектрів протягом 10 хвилин призводить до зменшення оптичної щільності первинних біоплівок у 4,8 рази за дії фіолетового та у 3,3 рази за дії синього спектрів, та пригнічує процес утворення вторинних

© Маланчук С.Г., 2018

біоплівки у 8,6 та у 10,6 разів відповідно. На підставі проведеного дослідження запропоновано застосування світлодіодного випромінювання синього та фіолетового спектрів у складі комплексної протимікробної терапії гнійно-запальних процесів з метою попередження колонізації *Pseudomonas aeruginosa* та розповсюдження нозокоміальних інфекцій.

Ключові слова: біоплівки, *Pseudomonas aeruginosa*, світлодіодне випромінювання синього та фіолетового спектрів

Вступ.

Проблема виникнення полірезистентних штамів мікроорганізмів набуває останнім часом все більшого масштабу. Звертає на себе увагу той факт, що частота вилучення полірезистентних штамів *Pseudomonas aeruginosa* сягає майже 50% залежно від особливостей стаціонару, тактики вибору і частоти використання антибактеріальних засобів. Таке підвищення здатності мікроорганізмів протистояти дії антибіотиків, антисептиків тощо можна пояснити багатьма факторами, та на сьогодні сучасні наукові дослідження пов'язують полірезистентність насамперед зі здатністю бактерій формувати щільні біоплівки [3]. Результати моніторингу етіологічної ролі бактерій *Pseudomonas aeruginosa* у розвитку нозокоміальних інфекцій вказують на її зростання з 2 до 47% за останнє десятиріччя. [2]

В останні роки науковці всього світу все більше уваги стали приділяти впливу різноманітних фізичних чинників на біологічні об'єкти. Зокрема досить великого значення набуває світлодіодне випромінювання. Дотепер відсутні відомості щодо впливу світлодіодного випромінювання синього та фіолетового спектрів на біоплівки внутрішньолікарняних полірезистентних штамів *Pseudomonas aeruginosa*, а також данні щодо здатності планктонних клітин формувати нові (вторинні) біоплівки. Таке підвищення здатності мікроорганізмів протистояти дії антибіотикам, антисептикам тощо можна пояснити багатьма факторами, та на сьогодні сучасні наукові дослідження пов'язують полірезистентність насамперед зі здатністю бактерій формувати щільні біоплівки.

Тому **метою** даної роботи було вивчення впливу світлодіодного випромінювання синього та фіолетового спектрів на біоплівки *Pseudomonas aeruginosa* in vitro.

Матеріали і методи дослідження:

Роботу виконано в рамках планової теми наукових досліджень: кафедри загальної і клінічної імунології та алергології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна: «Вивчення ролі імунних, аутоімунних та метаболічних розладів у патогенезі та наслідках інфекційного процесу», № державної реєстрації 0112U005911

Здатність утворювати біоплівки визначали в полістиролових планшетах з попередньою синхронізацією періодичної культури штамів, що досліджувались. Синхронізація бактеріальної культури проводилась після встановлення кінетики росту асинхронної культури, шляхом селекції за методом Мітчсона і Вінсента [9]. Приготування суспензій ізолятів [5] із визначеною концентрацією мікробних клітин проводилося за допомогою електронного приладу Densi-La-Meter (PLIVA-Lachema a.s., Чехія) за шкалою McFarland згідно з інструкцією до приладу та додавали дослідні антибактеріальні препарати та поживне середовище

Вимірювання оптичної щільності біоплівки *Pseudomonas aeruginosa* проводили після добової інкубації при $t=37^{\circ}\text{C}$ та за порівнянням оптичної щільності дослідних та контрольних сформованих біоплівок робили висновок про ступінь формування біоплівок. Планктонні клітини,

що були вилучені з добових біоплівки, інокулювали у комірки планшету, додавали суспензійне поживне середовище а потім термостатували у вологій камері протягом доби. Далі оцінювали ступінь агрегації мікробних клітин. Оптичну щільність біоплівки вимірювали на спектрофотометрі «Multiskan EX 355», виражали в одиницях оптичної щільності (од.ощ.).

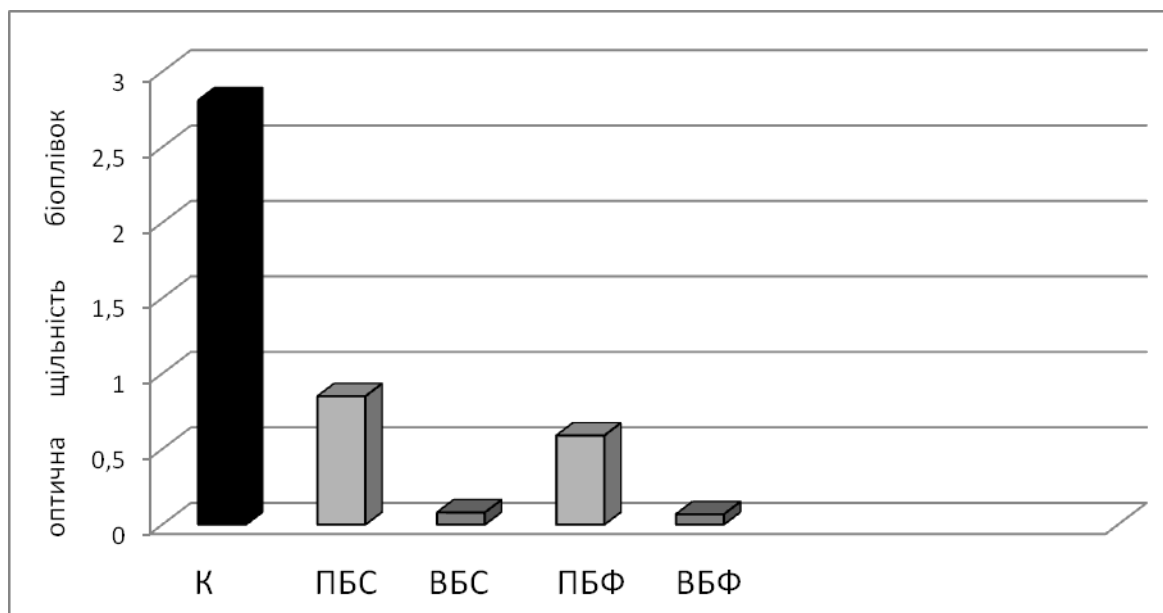
Опромінення *in vitro* проводилось світлодіодними джерелами синього (450 - 480 нм) й фіолетового (380 - 430 нм) випромінювання фотонної матриці апарата Коробова «Барва-Флекс», що містить світлодіодну матрицю з суперлюмінісцентними світлодіодами (24 шт.) і блок живлення. При обробці результатів використовували статистичні програми «Statistica» і «Biostat».

Результати і обговорення.

За результатами дослідження застосування оптичного випромінювання фіолетового спектру *in vitro* на сформовані добові біоплівки полірезистентних штамів *Pseudomonas aeruginosa* було встановлено, що після опромінення сформованих біоплівки *Pseudomonas aeruginosa* протягом 10 хвилин спостерігається зниження оптичної щільності біоплівки у 4,8 рази порівняно з оптичною щільністю біоплівки *Pseudomonas aeruginosa* до опромінення ($0,59 \pm 0,03$ та $2,81 \pm 0,46$ од.ощ. відповідно).

При вивченні дії світлодіодного випромінювання синього спектру на добові біоплівки полірезистентних штамів *Pseudomonas aeruginosa* були отримані аналогічні дані, а саме зафіксовано зниження показника оптичної щільності у 3,3 рази порівняно з таким до опромінення ($0,85 \pm 0,07$ та $2,81 \pm 0,46$ од.ощ. відповідно), що свідчить про порушення цілісності сформованих біоплівки ізоліатів.

Надалі було досліджено здатність планктонних клітин *Pseudomonas aeruginosa*, що відокремились від первинної біоплівки формувати нові (вторинні) біоплівки після опромінення світло діодами синього та фіолетового спектрів. (рис. 1)



К – біоплівка *Pseudomonas aeruginosa* без опромінення

ПБС – первинна біоплівка, після опромінення синім світлодіодом

ВБС – вторинна біоплівка, після опромінення синім світлодіодом планктонних клітин

ПБФ – первинна біоплівка, після опромінення фіолетовим світлодіодом

ВБФ – вторинна біоплівка, після опромінення фіолетовим світлодіодом планктонних клітин

Рис.1. Оптична щільність біоплівки полірезистентних штамів *Pseudomonas aeruginosa*

Встановлено, що після дії світлодіодного випромінювання синього спектру протягом 10 хвилин оптична щільність вторинної біоплівки становила лише $0,08 \pm 0,01$ од.ощ., тобто була у 10,6 разів тоншою за первинну ($0,85 \pm 0,07$ од.ощ.).

При визначенні здатності до біоплівкоутворення планктонними клітинами *Pseudomonas aeruginosa* після дії світлодіодного випромінювання фіолетового спектру протягом 10 хвилин встановлено, що оптична щільність вторинної біоплівки становила $0,068 \pm 0,01$ од.ощ., що є у 8,6 разів менше за первинну ($0,59 \pm 0,03$ од.ощ.).

Висновки.

Таким чином, в результаті проведеного дослідження встановлено біодеструктивний вплив світлодіодного випромінювання на щільні біоплівки полірезистентних штамів *Pseudomonas aeruginosa*. Звертає на себе увагу той факт, що випромінювання фіолетового спектру більш пригнічує первинну біоплівку, в той час як випромінювання синього спектру має більш виражений інгібуючий вплив на формування вторинної. На підставі проведеного дослідження запропоновано застосування світлодіодного випромінювання синього та фіолетового спектрів у складі комплексної протимікробної терапії гнійно-запальних процесів з метою попередження колонізації *Pseudomonas aeruginosa* та розповсюдження нозокоміальних інфекцій.

Література

1. Ильина Т.С. Биопленки как способ существования бактерий в окружающей среде и организме хозяина: феномен, генетический контроль и системы регуляции их развития /Ильина Т.С., Романова Ю.М., Гинцбург А.Л. / Генетика. – 2004. - № 40 (11). – С. 1 - 12.
2. Кузнецов А.А. Дискуссионные аспекты проблемы сепсиса // Матеріали науч.-практ. конф. «Сепсис. Проблеми діагностики, терапії та профілактики», Харків – 2006. – С. 19-22.
3. Мавров И.И. Биопленки и Quorum sensing у микроорганизмов. Биопленки и проблема эффективности антибактериальной терапии /И.И. Мавров, В.Н. Васильченко, А.П. Белозеров //Дерматология та венерология. – 2007. –Т.38, № 4. – С. 19-22.
4. Олескин А.В. Колониальная организация и межклеточная коммуникация у микроорганизмов /А.В. Олескин, И.В. Ботвинко, Е.А. Цавкелова //Соросовский образовательный журнал. – 2003. – Т.2, № 7. – С.24-32.
5. Фадеев С.Б. Формирование биопленок возбудителями хирургической инфекции мягких тканей / Фадеев С.Б., Немцева Н.В. // Журн. микробиол. эпидемиол. иммунобиол. – 2009. - №4. - С. 114 - 117.
5. Методические указания по применению унифицированных микробиологических (бактериологических) методов исследования в клинико-диагностических лабораториях /Приложение I к Приказу Министерства здравоохранения СССР № 535 от 22 апреля 1985г. - 123с.
7. Пат. на корисну модель 47944 Україна, МПК G09B23/00. Спосіб відтворення біоплівок мікроорганізмів in vitro /А.Я.Циганенко, М.М.Мішина, Р.А. Курбанов(UA);Харк. націон. мед. ун-т. – № u200910353; Заявл.12.10.2009; Опубл. 25.02.2010, Бюл. № 4.
8. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н., Лапач, А.В., Чубенко, П.Н. Бабич –К.: МОРИОН–. 2000. – 320 с.
9. Mitchison J. M., Vincent W. S. Nature/ J. M. Mitchison, W. S. Vincent .– London.– 1965. –205с

**ФОРМИРОВАНИЕ БИОПЛЕНОК ПОЛИРЕЗИСТЕНТНЫМИ ШТАММАМИ
PSEUDOMONAS AERUGINOSA ПОД ВЛИЯНИЕМ ОПТИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ
СИНЕГО И ФИОЛЕТОВОГО СПЕКТРОВ**

С. Г. Маланчук.

Работа посвящена изучению влияния светодиодного излучения синего и фиолетового спектров на биопленки *Pseudomonas aeruginosa* in vitro

Способность образовывать биопленки определяли в полистироловых планшетах с предыдущей синхронизацией периодической культуры исследуемых штаммов. Было показано, что при определении способности к формированию биопленок полирезистентными нозокомиальными штаммами *Pseudomonas aeruginosa* влияние светодиодного излучения синего и фиолетового спектров в течение 10 минут приводит к уменьшению оптической плотности первичных биопленок в 4,8 раза, при действии фиолетового и в 3,3 раза при действии синего спектров, а также подавляет процесс образования вторичных биопленок в 8,6 и в 10,6 раз соответственно. На основании проведенного исследования предложено применение светодиодного излучения синего и фиолетового спектров в составе комплексной противомикробной терапии гнойно-воспалительных процессов с целью предупреждения колонизации *Pseudomonas aeruginosa* и распространения нозокомиальных инфекций.

Ключевые слова: биопленки, *Pseudomonas aeruginosa*, светодиодное излучение синего и фиолетового спектров

**PSEUDOMONAS AERUGINOSA MULTIRESISTANT STRAINS BIOFILMS FORMATION
ON THE IMPACT BY LED EMISSION OF BLUE AND VIOLET SPECTRUM**

S. G. Malanchuk.

The work is devoted to investigate the impact of LED emission of blue and violet spectrum on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation in vitro. The ability to form biofilms was observed on polystyrene dishes with primary synchronization of periodic culture of studied strains. In determining the ability *Pseudomonas aeruginosa* on formed biofilms after exposure of LED radiation blue and violet spectra within 10 minutes found that the radiation leads to decrease the optical density of the primary biofilms in 4.8 times on the actions of violet and 3.3 times on the actions of blue spectra, and inhibits the formation of secondary biofilms in 8.6 to 10.6 times, respectively. Based on the conducted research it has been suggested to use the LED emission of blue and violet spectra as a part of a complex antimicrobial therapy of pyoinflammatory sites aimed at prevention of *Pseudomonas aeruginosa* colonization and extension of hospital-related infections.

Key word: biofilm, *Pseudomonas aeruginosa*, LED emission of blue and violet spectra

=====