

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ТРИКАРБОЦИАНИНОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ

И. А. Зуев

*Белорусский государственный университет, г. Минск;
ivanziuei@tut.by; науч. рук. – Л. С. Ляшенко, канд. физ.-мат. наук, доц.*

Получены результаты по антибактериальной активности исследуемого водорастворимого трикарбоцианинового красителя. Установлено значительное отличие в эффективности повреждения грамположительных и грамотрицательных бактериальных штаммов при фотоинаktivации с препаратом.

Ключевые слова: резистентность; антимикробная фотодинамическая терапия; трикарбоцианиновые красители; штаммы; фотосенсибилизатор.

В настоящий момент большинство болезней, которые вызываются болезнетворными микроорганизмами, лечатся антибиотиками, противогрибковыми или противовирусными препаратами. Но микроорганизмы вырабатывают защитный механизм – резистентность, феномен устойчивости штамма возбудителей инфекции к действию одного или нескольких препаратов.

Резистентность к антимикробным препаратам неуклонно растет, принося ежегодно миллионы смертей. В настоящее время несколько инфекций стали абсолютно неизлечимыми вследствие резистентности. Все классы микробов (грибки, бактерии, простейшие паразиты) развивают резистентность [1].

Одним из наиболее перспективных способов для борьбы с патогенными микроорганизмами является их фотодинамическая инаktivация фотосенсибилизаторами (антимикробная фотодинамическая терапия (АФДТ)) [1].

Так как антимикробная активность при фотодинамическом процессе обуславливается, как правило, свободорадикальными реакциями, то развитие резистентности к фотодинамической инаktivации фактически невозможно [2].

Перспективными для использования в качестве фотосенсибилизаторов для фотодинамической антимикробной терапии являются трикарбоцианиновые красители. За последние десятилетия показания к применению фотодинамической терапии существенно расширились [3]. Некоторыми исследователями отмечено, что воспаленным тканям, как и опухолевым, также свойственна способность задерживать красители, и поэтому ткани, инфицированные патогенными бактериями и вирусами, могут быть объектом для фотодинамического воздействия [3, 4, 5].

В данной работе исследуется трикарбоцианиновый краситель (ПК220), синтезированный в лаборатории спектроскопии НИИ Прикладных физических проблем имени А.В. Севченко.

Для проверки антимикробных свойств исследуемого красителя использовались грамположительные бактериальные штаммы – *Staphylococcus aureus* и грамотрицательные – *Salmonella typhi* (сальмонелла). В качестве питательной среды для культивирования микроорганизмов использовался мясопептонный бульон (МПБ) и изотонический раствор.

В работе было использовано три концентрации красителя. Концентрация 500 мкг/мл, 250 мкг/, 2,5 мкг/мл. Водный раствор красителя готовился непосредственно перед его введением в бульон. После введения раствора красителя в бульон образцы с бактериальной смесью помещались в темное место (термостат) при температуре 37°C на 18 часов.

Образцы подвергали облучению светодиодным источником с длиной волны 652 нм и плотностью мощности 57 мВт/см² в течении 33 минут. После облучения раствор высевался на мясопептонный агар-агар в чашках Петри. Чашки Петри с образцами помещались в термостат на 24 часа при температуре 37°C. Колонии бактерий считались с помощью счетчика колоний микроорганизмов Electronic counter – 01

Для получения спектров поглощения использовался спектрофотометр SolarPV1251.

Одним из основных требований, которое предъявляется к препаратам для внутривенного введения, является хорошая растворимость в воде или разрешенных для этого жидкостях и кровезаменителях. В данной работе в качестве растворителя используется дистиллированная вода. На рисунке 1 приведены спектры поглощения ПК при изменении концентрации красителя. При уменьшении концентрации красителя происходит падение оптической плотности. Установлено, что молекулы ПК в водном растворе присутствуют в двух формах.

В процессе взаимодействия трикарбоцианинового красителя с бактериальной средой произошло обесцвечивание красителя. Грамположительные бактерии почти полностью обесцветили краситель. В образцах с грамотрицательными бактерия изменение цвета было не значительно. При высоких значениях концентраций проявлялась высокая темновая антибактериальная активность красителя. Зафиксировано уменьшение количества бактериальных колоний после облучения для обеих групп бактериальных штаммов (таблица 1, рисунок 2,3).

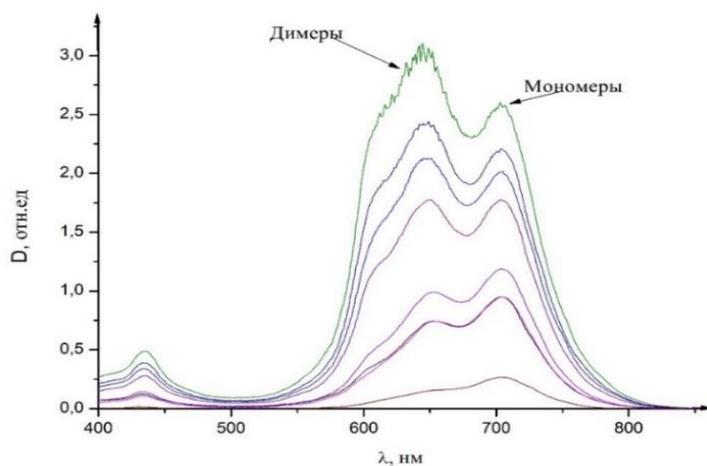


Рис. 1. Спектр поглощения исследуемого трикарбоцианинового красителя

Таблица 1.

Результаты подсчета колоний

Концентрация, кг/м ³	Количество бактерий	Штамм
0	284000000	Salmonella typhi
0	642000000	Staphylococcus aureus
500	70000	Salmonella typhi
500	98	Staphylococcus aureus
250	570000	Salmonella typhi
250	10	Staphylococcus aureus
2.5	газон	Salmonella typhi
2.5	газон	Staphylococcus aureus
500	49500	Salmonella typhi
500	2	Staphylococcus aureus
250	62000	Salmonella typhi
250	11	Staphylococcus aureus
2.5	газон	Salmonella typhi
2.5	газон	Staphylococcus aureus

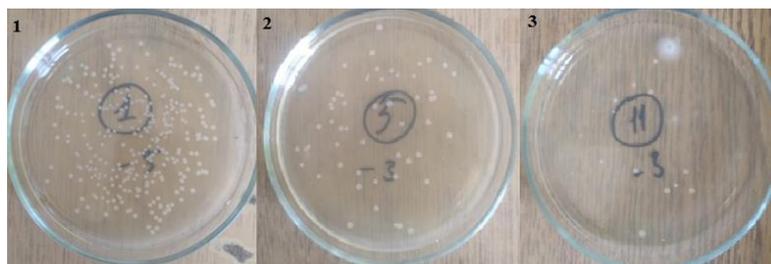


Рис. 2. Взаимодействие Salmonella typhi с исследуемым красителем:

- 1 – контрольный образец, 2 – образец с красителем без облучения,
3 – образец с красителем после облучения

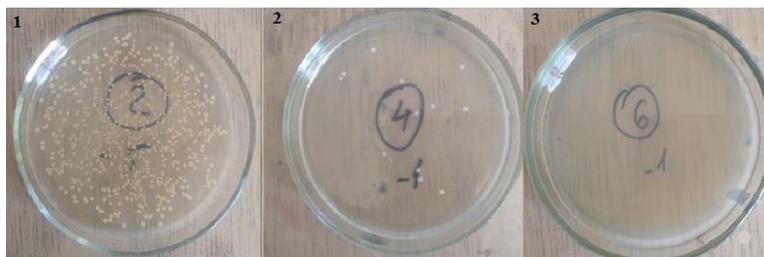


Рис.3. Взаимодействие *Staphylococcus aureus* с исследуемым красителем:

- 1 – контрольный образец, 2 – образец с красителем без облучения,
3 – образец с красителем после облучения

Обнаружено, что краситель влияет на размеры колоний. Рост клетки обуславливается репликацией ДНК, фотосенсибилизатор замедляет этот процесс. В нормальных условиях на рост колоний влияет только концентрация бактерий в среде, так как идет конкуренция за питательный субстрат. В рассматриваемом же случае концентрация колоний невелика, и, как следствие, конкуренция сводится к минимуму. Так же обнаружено влияние самого излучения на рост. В образцах, которые подвергались облучению, колонии меньше по размерам.

В ходе проведения исследовательской работы была установлена антимикробная активность водорастворимого красителя. При темновой активности количество грамотрицательных бактерий снизилось на пять порядков, при облучении на семь. Для грамположительных бактериальных штаммов наблюдалась почти полная гибель микроорганизмов. Краситель влиял на рост и морфологию бактериальных колоний.

Библиографические ссылки

1. Bactericidal effect of photodynamic therapy against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain with the use of various porphyrin photosensitizers / M. Grinholc [et al.] // *Acta Biochim. Pol.* 2007. Vol. 54 (3). P. 665–670.
2. The role of photosensitizer molecular charge and structure on the efficacy of photodynamic therapy against *Leishmania* parasites / O. E. Akilov // *Chem. Biol.* 2006. Vol. 13 (8). P. 19–847.
3. Malik Z., Hanania J., Nitran Y. Bactericidal effects of photoactivated porphyrins – an alternative approach to antimicrobial drugs // *J. Photochem. Photobiol. B.* 1990. Vol. 5 (3–4). P. 281–293.
4. Hamblin M. R., Dai T. Can surgical site infections be treated by photodynamic therapy? // *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* 2010. Vol. 7 (2). P. 6–136.
5. Воропай Е. С., Самцов М. П. Особенности флуоресценции трикарбоцианиновых красителей – фотосенсибилизаторов нового поколения // *Спектроскопия и люминесценция молекулярных систем* / под ред. Е. С. Воропая, К. Н. Соловьева, Д. С. Умрейко. Мн., 2002. С. 181–192.