

Корисна модель належить до галузі медичної мікробіології та може бути застосована як засіб санації сформованих біоплівочок умовно-патогенних мікроорганізмів у різних біотопах.

Антибіотикорезистентність мікроорганізмів є невирішеною проблемою у галузі охорони здоров'я. Стійкі мікроорганізми призводять до погіршення результатів лікування, підвищення летальності та зумовлюють значні економічні збитки.

Внаслідок цього актуальною є розробка та впровадження нових способів боротьби з інфекційними агентами. Спосіб антимікробної фотодинамічної терапії (аФДТ) полягає в застосуванні фотосенсибілізатора з подальшим опроміненням низькоінтенсивним випромінюванням відповідної довжини хвилі, що запускає фотохімічну реакцію, яка супроводжується генерацією активних форм кисню. Останні зумовлюють протимікробну дію.

Перевагами аФДТ є висока активність щодо широкого кола Грам-позитивних та Грам-негативних бактерій, а також грибів та вірусів, неможливість розвитку резистентності в мікроорганізмів, зниження медикаментозного навантаження та майже повна відсутність побічних ефектів та протипоказів.

Відомий спосіб протимікробної дії при комплексному застосуванні метиленового синього та поляризованого та неполяризованого низькоінтенсивного випромінювання червоного спектра на деякі мікроорганізми - збудники опортуністичних інфекцій [1], але він не враховує комплексний вплив фотосенсибілізатора та низькоінтенсивного випромінювання червоного спектра на біоплівки мікроорганізмів, які суттєво відрізняються від планктонних форм, зокрема значно вищим ступенем стійкості як до фізичних, так і до хімічних факторів.

Найбільш близьким за технічною суттю та ефектом, який досягається, є спосіб антибіоплівкового впливу комплексного застосування метиленового синього та світлодіодного випромінювання червоного та інфрачервоного спектра [2]. Даний спосіб полягає у впливі на сформовані 5-денні мікробні біоплівки 0,1 % водного розчину метиленового синього з подальшим опроміненням світлодіодним випромінюванням з довжинами хвиль 640 ± 30 та 880 ± 30 нм зі щільністю потужності $5,25$ мВт/см² при тривалості експозиції 20 хвилин.

Вказаний спосіб [2] дозволяє досягти суттєвого протимікробного ефекту на сформовані біоплівки умовно-патогенних мікроорганізмів. Проте даний спосіб не враховує комплексний вплив на біоплівки мікроорганізмів 0,1 % водного розчину метиленового синього та низькоінтенсивного лазерного випромінювання, яке відрізняється від світлодіодного випромінювання рядом властивостей, зокрема когерентністю, поляризованістю, а також довжиною хвилі ($\lambda=660$ нм) та щільністю потужності (40 мВт/см²).

Задача корисної моделі полягає у розробці способу антибіоплівкового впливу при сумісному застосуванні фотосенсибілізатора метиленового синього та низькоінтенсивного лазерного випромінювання червоного спектра.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі антибіоплівкового впливу метиленового синього та низькоінтенсивного лазерного випромінювання червоного спектра на *Staphylococcus aureus*, що включає вирощування 5-добових біоплівок клінічних ізолятів *Staphylococcus aureus* та колекційного штаму *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 у 96-лункових мікротитрувальних планшетах із подальшим видаленням планктонних форм мікроорганізмів і внесенням 0,1 % водного розчину метиленового синього, витримуванням 20-хвилинної темної фази та опроміненням низькоінтенсивним випромінюванням червоного спектра, згідно з корисною моделлю, опромінюють мікробні біоплівки низькоінтенсивним випромінюванням лазерного фізіотерапевтичного апарата з довжиною хвилі 660 нм при щільності потужності 40 мВт/см² з тривалістю експозиції 20 хвилин фігурою сканування "коло, що сходиться", отримані результати визначають шляхом пересіву суспендованих та титрованих зішкрібів біоплівок із дна лунок та порівнюють з контрольними групами.

Спосіб здійснюється таким чином.

Добова агарова культура *Staphylococcus aureus* доводиться в рідкому поживному середовищі до стандарту мутності 0,5 за Мак-Фарландом та в об'ємі 10 мкл вноситься до лунок 96-лункових мікротитрувальних планшетів з 190 мкл стерильного рідкого поживного середовища - м'ясо-пептонного бульйону. Далі планшети культивують в термостаті при температурі 37° протягом 5 діб, видаляють планктонні форми з лунок та двічі промивають стерильною дистильованою водою. В кожен лунку вносять по 200 мкл 0,1 % водного розчину метиленового синього, витримують 20 хвилин в термостаті (темнова фаза), видаляють фотосенсибілізатор та опромінюють лунки з мікробними біоплівками низькоінтенсивним випромінюванням лазерного фізіотерапевтичного апарата з довжиною хвилі 660 нм при щільності потужності 40 мВт/см² з тривалістю експозиції 20 хвилин фігурою сканування "коло, що сходиться". Для визначення антибіоплівкового впливу, після опромінення в лунки вносять по 200 мкл стерильної дистильованої води, насадкою піпет-дозатора ретельно зішкрібають біоплівки з дна лунок, після цього отриману суспензію серійно 10-кратно розводять у стерильній дистильованій воді та пересівають на чашки Петрі з поживним середовищем. Про антибіоплівковий ефект свідчить нижча інтенсивність росту мікроорганізмів на чашках Петрі після 24-годинної інкубації в термостаті при температурі 37°, порівняно з контролем.

На кресленні представлено ріст контрольної та експериментальних груп *Staphylococcus aureus* на

чашках Петрі з манітол-сольовим агаром після зіскребу з дна лунок та розведення у 10^4 разів.

В таблиці представлені статистично оброблені дані інтенсивності росту суспендованих клінічних ізолятів *Staphylococcus aureus* (n=5), виділених із пародонтальних кишень хворих на генералізований пародонтит та колекційного тест-штаму *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 після розведення в 10^4 разів та пересіву на чашки Петрі. Для отримання статистично достовірних даних, дослідження з колекційним штамом *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 відтворювали 5-кратно.

Таблиця

Показники інтенсивності росту суспендованих клінічних ізолятів *Staphylococcus aureus* (n=5) та тест-штаму *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Вид мікроорганізмів	Група 1 (контроль)	Група 2 (опромінення ШЛВ 20 хв)	Група 3 (додавання МС)	Група 4 (додавання МС + опромінення)
<i>Staphylococcus aureus</i> (клінічні ізоляти, n=5)	44,2±9,36	42,4±9,74 (p=0,77)	24,0±5,24 (p=0,003)	4,8±3,70 (p<0,0001)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	53,4±7,02	52,8±7,89 (p=0,90)	32,8±8,07 (p=0,0026)	4,4±2,97 (p<0,0001)

* Примітка: p - достовірність різниці між інтенсивністю росту мікроорганізмів експериментальних та контрольної групи

При комплексному застосуванні фотосенсибілізатора метиленового синього та низькоінтенсивного лазерного випромінювання з довжиною хвилі 660 нм на мікробні біоплівки клінічних ізолятів *Staphylococcus aureus*, інтенсивність їх росту після суспендування та розведення в 10^4 разів знизилася в середньому на 89,1 %, порівняно з контролем. Аналогічний вплив на біоплівки колекційного штаму *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 призвів до зменшення інтенсивності росту мікроорганізмів в середньому на 91,8 %, порівняно з контролем.

Опромінення біоплівок досліджуваних штамів низькоінтенсивним лазерним випромінюванням з довжиною хвилі 660 нм при щільності потужності 40 мВт/см² з тривалістю експозиції 20 хвилин не зумовлювало статистично достовірного впливу на інтенсивність росту суспендованого інокулюму. Додавання метиленового синього призводило до зменшення інтенсивності росту досліджуваних клінічних штамів *Staphylococcus aureus* в середньому на 45,7 % та колекційного тест штаму *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 - в середньому на 38,6 %, порівняно з контролем, що значно менше, порівняно із застосуванням запропонованого способу аФДТ.

Корисна модель належить до галузі медичної мікробіології та може бути рекомендована як немедикаментозний спосіб впливу на сформовані біоплівки умовно-патогенних мікроорганізмів на різних поверхнях.

Джерела інформації:

1. Pantyo, V.V., Koval, G.M., Danko, E.M., & Pantyo, V.I. (2020). Complex impact of polarized and non-polarized low intense light and methylene blue on growth rate of some opportunistic microorganisms. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 77(4), 520-523. <https://doi.org/10.15421/022079> - Аналог.

2. Pantyo, V.V., Pallah, O.V., Boiko, N.V., Danko, E.M., Koval, G.M, Pantyo, V.I., & Chobey, A.S. (2025). Impact of methylene blue and LED radiation on microbial biofilms. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 76(1), e25014. <https://doi.org/10.15421/0225014> - Найближчий аналог.

