

TRATAMENTUL CAVITĂȚILOR INFECTATE CU IRADIERE FOTONICĂ

Iurie Nica¹, Leonid Pogorelischii¹, Eugen Maximov¹, Valeriu Cebotari¹,
Constantin Iavorschi^{1,2}, Vitalie Bologa², Vladimir Nahaba³, Emilia Țîmbalari³

¹ Institutul de Inginerie Electronică și Nanotehnologii „Dumitru Ghițu”,

² Institutul de Ftiziopulmonologie „Chiril Draganiuc”,

³ Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu
tehmed@iieti.asm.md

Abstract. A device for a procedure for preoperatively preparing patients with progressive drug-resistant fiber-cavernous tuberculosis also for treatment of other diseases, as lungs and other organs is developed. The device performed process of treating infected cavities and contains: mercury tube, focusing system for selection of segment of the radiation spectral band 250-500 nm, optical guide with connectors and a puncture needle. Use the tube with high pressure mercury vapor as a radiation source allows to obtain the broadband photon radiation for treatment more efficient and for recovery time reduce. It also provides a substantial simplification of the device and reducing its costs. The device was used to approve the method of treatment of infected cavities by means of endocavitary broadband irradiation. In the experiments we used cultures of *Escherichia coli* and *Candida albicans*. Effect of annihilation of bacteria colony is almost directly proportional to the duration of exposure and complete suppression occurs within 2 min.

Cuvinte- cheie: fotosanare antimicrobiană, iradiere ultravioletă, tub cu vapori de mercur

I. Introducere

Una din cele mai dificile probleme cu care se confruntă medicina contemporană este combaterea maladiilor de origine infecțioasă. Concomitent, devine tot mai actuală problema depășirii rezistenței microorganismelor patogene față de cele mai moderne preparate antibacteriene (problema chimiorezistenței).

Din acest motiv ne – am propus elaborarea unui dispozitiv pentru fotosanarea cu radiații ultraviolete C a cavităților populate cu colonii de microfloră nespecifică sau/și tuberculoză.

Tehnologiile utilizării laserului ultraviolet în tratamentul formelor distructive ale tuberculozei își încep istoria cu elaborarea și utilizarea laserului ultraviolet cu azot ca substanță de lucru (instalația medicală „Almițin” cu lungimea de undă $\lambda=337\text{ nm}$ elaborată în 1995 sub conducerea laureatului Premiului Nobel academicianul Prohorov A.M.). Această instalație s-a fabricat în serii mici în Rusia (Samara) și a fost utilizată cu succes în Institutul Central de Tuberculoză (Moscova), clinica Chytram (Indor, India) și spitalul universitar Blumfonten (Republica Sud Africană) în tratamentul a peste 1500 de pacienți. Actualmente acest dispozitiv nu se mai produce.

În procesul investigațiilor suplimentare s-a constatat că eficacitatea maximală de fotosanare a cavernelor tuberculoase are loc la utilizarea ultravioletului din regiunea C (240 – 280 nm), cu maximumul absolut de eficiență pentru $\lambda=254,6\text{ nm}$. Din aceste considerente s-a elaborat dispozitivul „Amulet” cu radiație cu lungimea de undă $\lambda=266\text{ nm}$. Această lungime de undă se obține prin multiplicarea frecvenței radiației laserului cu neodim $\lambda=1064\text{ nm}$. Fabricarea în serie instalațiilor cu lungimea de undă 266 nm nu s-a efectuat din cauza costurilor foarte mari și a puterii mici obținută în fluxul de iradiere (5mW) [1].

Componenta principală a instalației „Maria” este laserul cu excimeri KrF, care generează radiație

laser în impulsuri cu lungimea de undă 248 nm și frecvența 100 Hz. Prin intermediul unei sisteme optice radiația este admisă către vârful unei fibre optice sterile de unică utilizare introdusă printr-un microdrenaj în caverna pulmonară.

Anume această instalație se utilizează actualmente la Institutul Central de Tuberculoză al AȘM FR, unde a fost elaborată metoda de fotosanare a cavităților pulmonare în cazurile tuberculozei fibrocavernoase[2,3], care este cea mai periculoasă formă clinică a acestei maladii din punct de vedere epidemiologic. După cum se menționează în studiile publicate, fotosanarea cavităților pulmonare micșorează numărul de forme rezistente și multidrogrezistente, contribuind la ameliorarea situației privind evoluția tuberculozei în general.

Mecanismul modificării moleculelor ADN constă în formarea în ele sub acțiunea fotonilor a dimerilor de timină prin saturarea legăturilor covalente între două baze vecine [4].

De menționat, că viteza de distrugere a ADN-ului este foarte mare. Recent [5], s-a demonstrat că reacția de dimerizare a timinei (pirimidina C₅H₆ N₂O₂) sub acțiunea radiației ultraviolete durează circa 1 pcs (10⁻¹² sec).

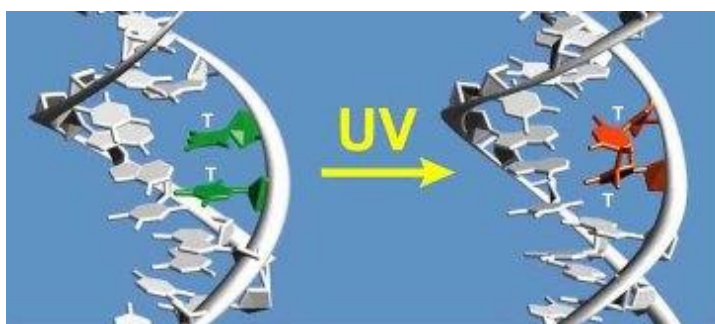


Fig.1 Modelul modificării ADN – ui sub influența radiației ultraviolete

Acumularea acestor modificări de structură în ADN microorganismelor cauzează micșorarea vitezei de reproducere a microorganismelor și, deci, anihilarea lor.

Cercetările efectuate demonstrează că pentru diferiți reprezentanți ai microflorei nespecifice, dozele letale sunt diferite. Vivacitatea și dozele letale la lungimea de undă 248 nm pentru 5 tulpini inițiale: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae* și *Staphylococcus aureus* sunt prezentate în Des.2 [6].

Menționăm sensibilitatea variată a diferitor tulpini la energia emisiei laserului ultraviolet. Cea mai sensibilă este tulpina *Staphylococcus aureus* cu doza letală 3 mJ/cm², iar cea mai rezistentă *Enterobacter aerogenes* – 7 mJ/cm². Cum vedem din dependența numărului coloniilor care supraviețuiesc radiației de doza de iradiere, pentru lungimea de undă 248 nm, doza letală sigură este de 8 – 10 mJ/cm². În mod deosebit, menționăm faptul absenței în literatura de specialitate a dovezilor modificărilor genetice a celulelor care aparțin organismului uman sub acțiunea radiației ultraviolete C [7,8].

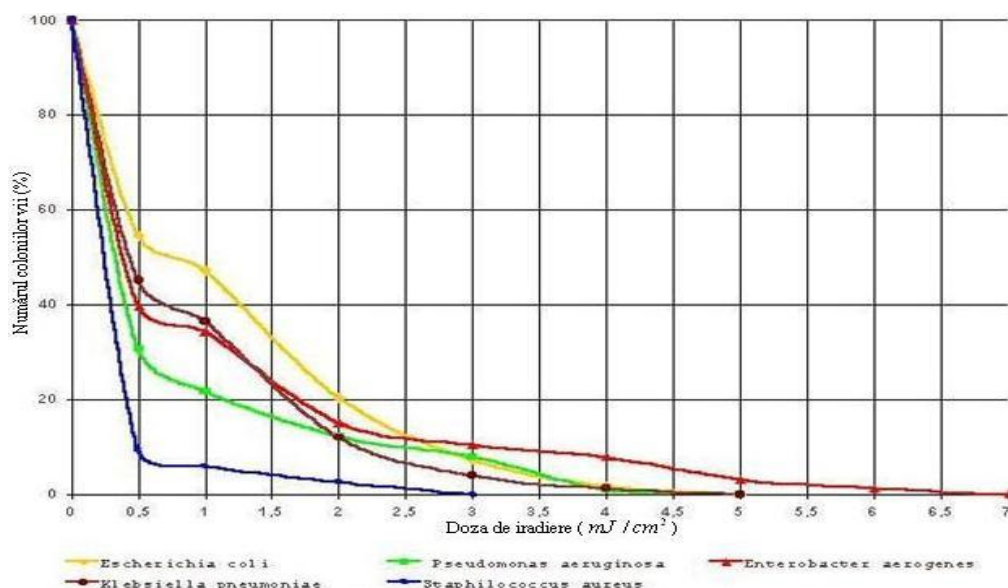


Fig. 2 Dependența doză – vivacitate la acțiunea bacteriocidică a radiației laser cu lungimea de undă 248 nm asupra microflorei nespecifice

II. Dispozitiv de fotosanare a cavităților infectate din corpul uman

Obiectivul propus este efectuarea investigațiilor necesare și elaborarea unui dispozitiv de fotosanare cu radiație ultravioletă C a cavităților corpului uman populate cu colonii de microfloră nespecifică și/sau tuberculoasă.

Aceste investigații și elaborarea dispozitivelor de iradiere antimicrobiană sunt necesare având în vedere creșterea permanentă a rezistenței florei patogene la antibiotice [9].

Din toată informația, pe care o posedăm, nu reiese necesitatea coerenței radiației ultraviolete pentru acțiunea de distrugere a bacteriilor. În principiu, ca sursă de radiație pot fi și LED. Noi am elaborat și fabricat un modul de iradiere cu LEDul T9F25C (Seoul Optodevice Co., Ltd.) [10]. Însă actualmente LEDurile produse (Seoul Optodevice Co., Ltd., Photon Systems, Inc.ș.a.) care iradiază în regiunea C au o putere optică de emisie insuficientă.

Din cât se cunoaște, lămpile cu mercur au o acțiune foarte pronunțată de sterilizare, caracterul radiației lor nefiind coerent. Importantă este, deci în primul rând, lungimea de undă a fotonului (adică, energia), intensitatea și durata iradierii.

Din aceste considerente, în dispozitivul de fotosanare cu radiație ultravioletă C a cavităților corpului uman populate cu colonii de microfloră nespecifică și/sau tuberculoasă, ca sursă de radiație servește descărcarea în arc în tubul cu vapori de mercur la presiune înaltă. În acest mod, eliminăm elementul cel mai scump din componența dispozitivului de iradiere – laserul/LED. Utilizarea ca sursă de radiație a tubului cu mercur la presiune înaltă permite eficientizarea metodei de tratament prin lărgirea benzii de radiație utilizate în proces și realizarea unui dispozitiv care generează în banda de lungimi de undă 250-500 nm cu posibilitatea selectării segmentului spectral al radiației. Radiația de bandă largă, în afară de efectul bacteriostatic pronunțat, mai exercită și o acțiune stimulatorie asupra proceselor microcirculatorii în zona iradiată, ce duce la eficientizarea tratamentului și micșorarea termenului de vindecare a bolnavului.

Dispozitivul pentru tratamentul cavităților infectate prin metoda iradierii fotonice de bandă largă este constituit din: tubul cu vapori de mercur 1, condensatorul din cuarț 2, obturatorul 3, dispozitivul de selectare spectrală a radiației 4, conectorul optic 5, ghidul optic 6, conectorul optic 7, segmentul distal al ghidului optic 8, ac de puncție 9, blocul de alimentare 13, care prin stabilizatorul

de putere 10 alimentează tubul 1, taimerul-dozator 11 (care dirijează obturatorul 3) și dispozitivul de măsurare a puterii radiației injectate în ghidul optic 12, fotoreceptorul 14 asamblat cu conecto-
rul optic 15.

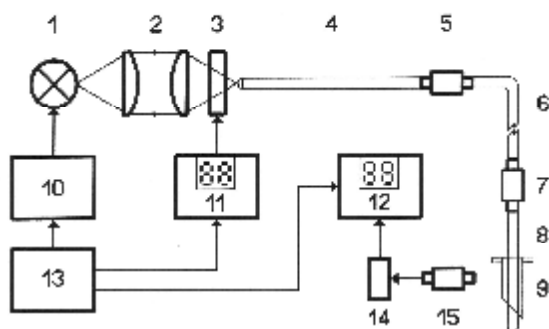


Fig.3 Bloc schema dispozitivului de fotosanare

Utilizarea tubului cu vapori de mercur la presiune înalta în calitate de sursă de radiație permite obținerea radiației fotonice de bandă largă, simplificarea substanțială a dispozitivului și micșorarea costului lui.

Dispozitivul de iradiere este prezentat în imaginea 4.

III. Procedura de iradiere și rezultatele

Dispozitivul pentru tratarea cavitațiilor infectate prin metoda iradierii fotonice de bandă largă a fost confecționat și utilizat pentru aprobarea metodei de tratament a cavitațiilor infectate prin metoda iradierii endocavitare de bandă largă.



Fig.4 Dispozitivul pentru tratamentul cavitațiilor infectate prin metoda iradierii fotonice de bandă largă

Experimentele au fost efectuate în Laboratorul de diagnostic medical al Institutului de Ftiziopulmonologie și laboratorul de microbiologie, virusologie și imunologie al Facultății de Perfecționare a Medicilor a USMF “Nicolae Testemițanu”, cercetându-se în vitro influența radiației de bandă largă asupra diferitor tulpini bacteriene. Parametrii radiației au avut următoarele valori: puterea optică la lungimea de unda 254 nm – 1mW, iar în intervalul 280-500 nm – 15mW. În experimente s-au utilizat culturi de Escherichia coli și Candida albicans. Au fost efectuate 10 însemnări și din culturile obținute s-au preparat suspensii după tehnologii standard. În cutii Petri cu geloză – sânge s-au picurat câte 0,1 ml de suspensie cu concentrația 10^6

microorganisme în 1cm^3 de soluție. Cutiile Petri astfel preparate, au fost expuse 10; 20; 30; 40s și 1; 2; 3; 4; 5min. Au fost iradiate sectoare cu aria de 1cm^2 , lăsându-se pentru comparație sectoare neiradiate între cele expuse. Cutiile Petri au fost incubate 24 ore în termostat la temperatura de 37°C . Contabilizările au fost efectuate printr – un microscop optic cu mărire $\times 100$. Rezultatele sunt prezentate grafic în Des. 5.

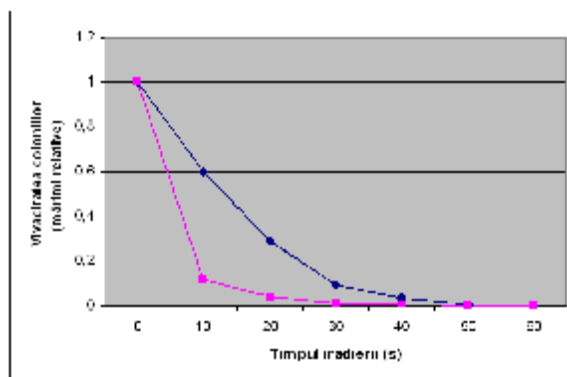


Fig. 5 Dependentă vivacității coloniilor de *Candida albicans* (curba de sus) și *Escherichia coli*

Cum reiese din rezultatele prezentate (Des. 6), efectul anihilării microorganismelor este în dependență aproximativ direct proporțională de durata expunerii până la suprimarea, practic, totală în decurs de 2 min. Sectoarele neiradiate sunt acoperite de un covor dens de colonii de microorganisme.



Fig. 6 Rezultatele iradierilor coloniilor de bacterii de *Staphylococcus aureus* cultivată pe geloză – sânge (timpul iradierii = 15,45,60s, 2,3,5 min)

Aceste rezultate sunt superioare celor obținute prin iradiere monocromă cu ajutorul dispozitivului cu laser [1,2].

În concluzie, metoda și dispozitivul propuse permit suprimarea rapidă a populațiilor de microorganisme patogene de pe plăgi și din cavitățile infectate, ridicându-se astfel, viteza și eficiența tratamentului.

Lucrarea este executată în cadrul proiectului 11.817.05.07A finanțat de Consiliul Suprem pentru Știință și Dezvoltare Tehnologică al Academiei de Științe a Republicii Moldova

IV. Referinte

1. <http://www.aetechnologies.ru/dev/14-details.htm> Создание лазерного комплекса для лечения туберкулеза
2. В.Г.Добкин, М.А.Багиров, Д.Р.Файзулин, Г.П.Кузьмин. Эндокавитарное облучение ультрафиолетовым лазером в предоперационной подготовке больных прогрессирующим фиброзно-кавернозным туберкулезом. Проблемы туберкулеза и болезней легких №2, стр.25– 28, 2006.
3. О.В. Ловачева, И.Ю. Шумская, Н.Ф. Сидорова, Г.В. Евгущенко, А.В. Никитин Использование эндобронхиального лазерного ультрафиолетового излучения в комплексном лечении туберкулеза бронхов. Проблемы туберкулеза и болезней легких №12, стр. 20 – 24, 2006.
4. Douki T, Reynaud-Angelin A, Cadet J, Sage E. "Bipyrimidine photoproducts rather than oxidative lesions are the main type of DNA damage involved in the genotoxic effect of solar UVA radiation". *Biochemistry* 42 (30): 9221 – 6, 2003.
5. Wolfgang J. Schreier, Tobias E. Schrader, Florian O. Koller, Peter Gilch, Carlos E. Crespo-Hernández, Vijay N. Swaminathan, Thomas Carell, Wolfgang Zinth, and Bern Kohler. Thymine Dimerization in DNA Is an Ultrafast Photoreaction *Science* 315: 625-629, 2 February 2007.
6. <http://genestho.ru/article2.shtml> Лечение деструктивных форм туберкулеза с помощью эндокавитарного воздействия лазерным ультрафиолетовым излучением
7. Н.Н.Николаева, М.Г.Винокуров, В.А.Долгачев, В.Н.Афанасьев, Н.И.Косякова, В.А. Печатников Влияние ультрафиолета С на функции лимфоцитов и нейтрофилов периферической крови человека и животных. 2005.
8. И.Н.Рямзина, В.А. Черешнев Влияние аутовеенозного ультрафиолетового облучения крови на состояние гемостаза больных перенесших инфаркт миокарда. *Российский кардиологический журнал* №5 , 2003
9. Tim Maisch. Anti-microbial photodynamic therapy: useful in the future? *Lasers Medical Sciences* 22: 83–91, 2007.