



WPŁYW MAGNETOSTYMULACJI NA ŻYWOTNOŚĆ DROBNOUSTROJÓW KOLONIZUJĄCYCH RANY PRZEWLEKŁE

M. Oleksy^{1,2}, A. Junka^{1*}, D. Rurańska-Smutnicka¹, A. Matera-Witkiewicz², M. Bartoszewicz¹

Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

¹Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii,

²Pracownia Przesiewowych Testów Aktywności Biologicznej i Gromadzenia Materiału Biologicznego

WSTĘP

Narastająca częstość występowania i trudności z leczeniem ran przewlekłych skłaniają do poszukiwania nowych rozwiązań terapeutycznych prowadzących do postępów w gojeniu oraz skracających czas rekonwalescencji. Dane literaturowe opisują przypadki wykazujące korzystne działanie magnetostymulacji w procesie gojenia ran. Reakcja komórek zależy od linii komórkowej, parametrów pola a także czasu ekspozycji. Rusak i Rybak (2013) wykazali korzystny wpływ zmiennego pola magnetycznego wytwarzanego przez urządzenie Viofor JPS Classic na żywotność fibroblastów Balb3T3, a tym samym na proces gojenia. Trzy z sześciu wybranych programów powodowały zwiększenie żywotności komórek w stosunku do kontroli (którą przyjęto za 100%): 139%, 128% i 108%. Brak jest natomiast doniesień o wpływie magnetostymulacji na żywotność drobnoustrojów zasiedlających rany przewlekłe. Z kolei Fijałkowski i wsp. badając możliwości wykorzystania różnego typu pól magnetycznych (PM) w bioreaktorach do stymulacji wzrostu mikroorganizmów wykazali, że jednogodzinna ekspozycja na wirujące pole magnetyczne (WPM) o częstotliwości 50 Hz i indukcji magnetycznej 20 mT powoduje znaczący wzrost (ponad 20%) hodowli bakteryjnej *E. coli* i *S. aureus*. Badacze ci udowodnili także wyższą aktywność metaboliczną (o ponad 40%) tych mikroorganizmów w polu magnetycznym w porównaniu do bakterii z grupy kontrolnej (nietraktowanej polem). Analiza wpływu WPM o różnej częstotliwości i indukcji magnetycznej ($B = 25-34$ mT, $f = 5-50$ Hz) na szybkość wzrostu, aktywność metaboliczną oraz wytwarzanie biofilmu przez różne gatunki drobnoustrojów wykazała, że ekspozycja na WPM działała stymulująco na badane parametry komórkowe u większości uwzględnionych w doświadczeniu bakterii (*S. aureus*, *E. coli*, *S. marcescens*, *S. mutans*, *C. sakazakii*, *K. oxytoca* i *S. xyloso*). Udowodniono tym samym, że WPM, zależnie od częstotliwości i indukcji magnetycznej może modulować parametry komórkowe różnych gatunków mikroorganizmów.



WYNIKI:

Liczba komórek drobnoustrojów w próbkach kontrolnych a poddanych działaniu pola magnetycznego nie różniła się od siebie w sposób istotny statystycznie.

CEL PRACY

Ocena wpływu zmiennego pola magnetycznego o częstotliwości 180 - 195 Hz, wytwarzanego przez urządzenie Viofor JPS Classic, na żywotność i zdolności proliferacyjne drobnoustrojów będących patogenami oportunistycznymi ran przewlekłych.

MATERIAŁY I METODY

1. Badaniu poddano szczepy wzorcowe: *S. aureus* ATCC6538, *P. aeruginosa* ATCC14532, *K. pneumoniae* ATCC4352 i *E. faecalis* ATCC 29212

2. Jeden mL hodowli bakteryjnej o gęstości 10^5 CFU/mL wprowadzono do dołka płytki 24-dółkowej, którą umieszczano na aplikatorze niejednorodnego pola magnetycznego wytwarzanego przez system Viofor JPS Classic. Układ składający się z systemem Viofor oraz płytki testowej znajdował się w 37°C. Bakterie poddawano działaniu następujących programów systemu Viofor JPS:

Nr pomiarowy programu	Program Viofor JPS System	Intensywność	Czas ekspozycji	8 punktowa wartość optyczna impulsów
1	M1P2	12	30 min., 1x	672
2	M2P2	12	12 min., 1x	672
3	M1P2	12	2x10 min., co godz., 3x	672
4	M2P2	12	2x12 min., co godz., 3x	672

Łączny czas inkubacji szczepów w 37°C (w polu magnetycznym oraz poza nim) wyniósł 3 godziny. Kontrolną doświadczenia były szczepy inkubowane 3h w 37°C, niepoddane działaniu pola magnetycznego, w dalszej części pracy określane skrótem „K”.

3. Po upływie czasu doświadczenia, z dołka płytki pobierano 100µL zawiesiny, poddawano ją serijnym rozcieńczeniom w 0.9% NaCl i wysiewano na odpowiednie podłoża stałe:

- McConkey Agar dla *Klebsiella pneumoniae* i *Pseudomonas aeruginosa*,
- Agar z 5% krwią baranią dla *Staphylococcus aureus* oraz *Enterococcus faecalis*.
Płytki agarowe inkubowano 24h/37°C, a po upływie tego czasu zliczano ilość wyrosłych kolonii. Komórki znajdujące się w zawieszynie w dalszej części pracy określane są mianem „planktonicznych” lub „P”.

4. Z dołków płytki usuwano zawiesinę, dno płytki przepłukiwano 2x0.9% NaCl i wprowadzano 1000 µL 0.5% saponiny w celu oderwania przyległych do dna dołka komórek bakteryjnych. Płytkę wytrząsano przez 1min./1000obr. w wytrząsarce (Schuttler MTS 2; Ika, Wilmington, S.C.). Następnie, pobierano 100 µL tak uzyskanej zawiesiny i poddawano procedurom analitycznym do tych opisanych w pkt.3. Komórki uzyskane na drodze oderwania ich z dołka płytki, w dalszej części pracy określane są jako „przyległe” lub „A” (zadherowane).

Wszystkie pomiary wykonano w 3 powtórzeniach.

<i>P. aeruginosa</i> ATCC14532	K	Program Viofor				
		1	2	3	4	
Komórki przyległe		25±2	28,3±5,1	22,6±5,1	28,2±6	27±2
Plankton	CFU x 10 ⁴	4010,5	4015	4011	5413	3711

<i>S. aureus</i> ATCC6538	K	Program Viofor				
		1	2	3	4	
Komórki przyległe		12±4	12,6±3,2	18,2±4	15±6,2	15±6,2
Plankton	CFU x 10 ⁵	46±3	36±5	44±2	38±3	46±5

<i>K. pneumoniae</i> ATCC4352	K	Program Viofor				
		1	2	3	4	
Komórki przyległe		39,3±18,5	30±10	43±9	45±11,13	32,3±6,5
Plankton	CFU x 10 ⁷	20,66±9	22±2	25±6	18±6	18±5

<i>E. faecalis</i> ATCC29212	K	Program Viofor				
		1	2	3	4	
Komórki przyległe		88±11,8	93,3±11,5	100±10	106±15	60±1,1
Plankton	CFU x 10 ⁶	43±14	40±11	53±5	80±7	40±1,1

WNIOSKI:

Na podstawie uzyskanych wyników można wnioskować, że stosowanie urządzenia Viofor JPS w ranach skolonizowanych przez badane drobnoustroje nie niesie ze sobą ryzyka zwiększenia ich liczby.

BIBLIOGRAFIA:

- Rusak A., Zybak Z. Czy magnetostymulacja może mieć wpływ na gojenie ran? *Badania in vitro*. Polim. Med. 2013; 43, 3, 147-152
- Fijałkowski K., Nawrotek P., Struk M. i in. *Effects of rotating magnetic field exposure on the functional parameters of different species of bacteria*. Electromagn. Biol. Med. 2015; 34(1): 48-55
- Nawrotek P., Fijałkowski K., Struk M. i in. *Effects of 50 Hz rotating magnetic field on the viability of Escherichia coli and Staphylococcus aureus*. Electromagn. Biol. Med. 2014; 33: 29-34
- Fijałkowski K., Nawrotek P., Struk M. i in. *The effects of rotating magnetic field on growth rate, cell metabolic activity and biofilm by Staphylococcus aureus and Escherichia coli*. Journal of Magnetism 18: 1-8

Adres do korespondencji: feliks.junka@gmail.com