

· 海外发表论文选读 ·

460 纳米蓝光对体外和体内白色念珠菌杀灭作用的实验研究

王川 杨志胤 彭银波 郭园园 姚敏 董继英

白色念珠菌耐药的一个主要因素是其可较快适应不同的环境,并黏附在不同物体表面以生物膜的形式生长。生物膜的出现使得临床治疗白色念珠菌感染变得更加困难。生物膜内的白色念珠菌对各种抗真菌药物如氟康唑、制霉菌素、两性霉素 B 和氟己定等具有高度的抵抗性。因此,迫切需要寻找一种新的抗真菌方法来应对愈加难治的真菌感染。波长 400 ~ 500 nm 的蓝光能够杀灭痤疮丙酸杆菌,目前在临床上广泛用来治疗痤疮。而波长 405 ~ 470 nm 的蓝光被用来杀灭铜绿假单胞菌、鲍氏不动杆菌、抗甲氧西林金黄色葡萄球菌等各种病原菌。然而,蓝光是否能够杀灭生物膜内的白色念珠菌仍不清楚。本实验中,笔者主要探究蓝光对体外游离和生物膜内白色念珠菌及小鼠创面上白色念珠菌的杀灭作用。

1 材料与方 法

蓝光光源:波长 450 ~ 470 nm,峰值 460 nm。白色念珠菌标准菌株(ATCC 10231)购自上海北诺生物科技有限公司。首先采用平板涂板法检测 0、12、60、120、240 J/cm² 能量密度的蓝光和红光对游离白色念珠菌的杀灭作用,流式细胞仪检测 240 J/cm² 能量密度的蓝光和红光照射后白色念珠菌的死亡率。采用 240 J/cm² 能量密度的蓝光对体外人 Fb 和 KC 进行照射,倒置光学显微镜下观察细胞的形态变化,细胞计数试剂盒 CCK-8 检测细胞的活性变化。

构建白色念珠菌生物膜体外模型,将成熟生物膜模型分为空白对照组和蓝光干预组,空白对照组不照射,蓝光干预组采用 240 J/cm² 能量密度的蓝光照射,然后 2 组采用 Live/Dead 染料染色后在激光扫描共聚焦显微镜下观察并比较蓝光的杀菌效果。

BALB/c 裸鼠,6 ~ 8 周龄,15 ~ 20 g,购自第二军医大学(现海军军医大学)动物实验中心。将 30 只裸鼠按随机数字表法分为蓝光干预组、阳性对照组、阴性对照组,每组 10 只,均于裸鼠背部制作 1 cm × 1 cm 全层皮肤缺损创面。于蓝光干预组、阳性对照组裸鼠创面上接种 20 μL 浓度为 1 × 10⁹ CFU/mL 的白色念珠菌菌液。蓝光干预组裸鼠创面采用 240 J/cm² 能量密度的蓝光分别于伤后第 0、1、2 天进行照

射,阳性对照组裸鼠创面不照射。采用平板涂板法检测光照第 0、1、2、3 天的杀菌效果。对各组小鼠创面愈合情况进行观察比较,同时对各组裸鼠创面皮肤组织行 HE 染色并在光学显微镜下观察炎性细胞的浸润情况。

2 结 果

与相同能量密度的红光相比,60、120、240 J/cm² 能量密度的蓝光可以有效杀灭体外游离白色念珠菌, $P < 0.01$ 。白色念珠菌经过 240 J/cm² 能量密度的蓝光照射后的死亡率与对照组相比,差异明显($P < 0.01$)。240 J/cm² 能量密度的蓝光照射对人 Fb 和 KC 没有明显的光毒性。240 J/cm² 能量密度的蓝光可以杀灭生物膜全层内的白色念珠菌。另外,240 J/cm² 能量密度的蓝光可以有效杀灭小鼠创面上的白色念珠菌,减轻炎性细胞的浸润程度,促进小鼠白色念珠菌感染创面的愈合。

3 讨 论

目前关于蓝光杀灭各种游离和生物膜内的细菌以及游离的白色念珠菌处于临床前研究阶段。本研究证实 460 nm 波长的蓝光可以有效杀灭体外游离和生物膜内的白色念珠菌,并能够抑制在体的白色念珠菌感染。该研究结果有助于为临床治疗生物膜内的难治性白色念珠菌感染提供新的策略。然而,关于蓝光杀灭游离以及生物膜内的白色念珠菌的具体机制还不清楚,有研究认为蓝光杀灭铜绿假单胞菌、幽门螺旋杆菌等细菌是通过激发细胞的内源性卟啉,进而引发了具有细胞毒性的活性氧的产生。笔者在前期研究中观察到蓝光能够通过诱导噬菌体的激活来杀灭抗甲氧西林金黄色葡萄球菌。未来,蓝光杀灭白色念珠菌的作用还需进一步行大动物实验及人体试验,蓝光是否能够引发白色念珠菌对其耐药性以及蓝光杀灭白色念珠菌的具体机制也需进一步探究。

[本文已以英文发表,全文见"Wang C, Yang ZY, Peng YB, et al. Application of 460 nm visible light for the elimination of *Candida albicans* in vitro and in vivo. Mol Med Rep, 2018, 18(2):2017-2026."]

(收稿日期:2018-07-14)

本文引用格式

王川,杨志胤,彭银波,等. 460 纳米蓝光对体外和体内白色念珠菌杀灭作用的实验研究[J]. 中华烧伤杂志, 2018, 34(9):658. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2018.09.019.

DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2018.09.019

作者单位:201999 上海交通大学医学院附属第九人民医院整复外科

通信作者:董继英,Email:114007@sh9hospital.org