

# STUDIAREA IMPACTULUI CÂMPURILOR ELECTROMAGNETICE ASUPRA MICROORGANISMELOR

MÁTHÉ ISTVÁN<sup>1\*</sup>, MÁRIALIGETI KÁROLY<sup>2</sup>, GYÖRGY ÉVA<sup>1</sup>,  
MARA GYÖNGYVÉR<sup>1</sup>, ALBERT BEÁTA<sup>1</sup>, LÁNYI SZABOLCS<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universitatea Sapientia - Miercurea Ciuc, Catedra de Științe Tehnice și ale Naturii

<sup>2</sup>Universitatea Eötvös Loránd din Budapesta, Catedra de Microbiologie

\*Email: [matheistvan@sapientia.siculorum.ro](mailto:matheistvan@sapientia.siculorum.ro)

*The same quantities of bacterial cells suspended in physiological solution from seven bacterial strains were exposed to the low frequency electromagnetic radiation (50 Hz, 3mTesla) for 4 respectively 24 hours. The irradiated and non-irradiated samples were transferred into liquid medium and added to individual wells of 96-well PVC plate. The PVC plates were incubated for 20-24 hours, and the OD<sub>620</sub> was read with a microtiter plate reader every 20 minutes. From these data typical bacterial growth curves were obtained. Based on our data, the applied electromagnetic radiation has no effects on Escherichia coli, Salmonella typhi, Aeromonas hydrophila, Listeria sp. strains. Other bacterial strains, as Pseudomonas fluorescens, Staphylococcus aureus, Brevibacterium linens were influenced by the 24 hour irradiation. A low inhibition effect was observed in bacterial growth, the adaptation or lag phase being longer as usual, due to the electromagnetic field which affects the membrane potential and membrane transport processes. Energy is needed in the lag phase for the repair processes, causing a decreased bacterial growth compared to the non-irradiated samples.*

Nivelul câmpurilor electromagnetice (Electromagnetic field - EMF) generate de dispozitive create de om a crescut în mod constant în ultimii 50 de ani. Această creștere se datorează folosirii pe scară din ce în ce mai largă a electricității și a noilor tehnologii IT&C. În ultimele decenii, posibilele influențe negative și pozitive ale câmpurilor electromagnetice asupra sistemelor vii, în general, și asupra structurilor celulare procariote și eucariote în mod special, este unul din domeniile de mare atractivitate pentru știință și pentru aplicații deopotrivă [Lányi și colab. 2007]. Pe lângă studierea efectelor câmpurilor de radio frecvență ( $\nu=800-1800$  MHz) folosite de sistemele GSM de telefonie mobilă, sunt destul de frecvent studiate și *efectele radiației electromagnetice de frecvență foarte joasă* (Extra Low Frequency Electromagnetic Field - ELF-EMF) ( $\nu=30-300$ Hz) emanate de aparatele electrocasnice, de stațiile de transformare a energiei electrice (50Hz), sau provenite de la liniile de tensiune etc.

Expunerea îndelungată la radiații electromagnetice poate afecta sistemul vizual al omului, sistemul nervos și poate avea efecte cardiovasculare negative [Jeong și colab. 2005]. Câțeva studii epidemiologice au ajuns la concluzia că datorită expunerii la radiația electromagnetică de frecvență joasă (ELF-EMF) poate să crească riscul de cancer, în special de leucemie la copii, însă rezultatele nu sunt concludente, fiind necesară continuarea cercetărilor în acest sens [D'Andrea 2004]. Metaanaliza studiilor epidemiologice sugerează că riscul de leucemie este de două ori mai mare în cazul copiilor care sunt expuși radiațiilor LF-EMF ( $>0.4$   $\mu$ Tesla) [IARC 2002]. Neconcludente sunt și rezultatele referitoare la o potențială legătura între LF-EMF și avorturi spontane, cel puțin două astfel de cazuri au fost asociate cu LF-EMF [Kheifets și colab. 2005]. Agenția Internațională de Cercetare a Cancerului (International Agency on Research in Cancer - IARC) a clasificat radiația electromagnetică de frecvență joasă (LF-EMF) ca un potențial agent carcinogen uman (categoria IARC fiind 2B) [IARC 2002]. Limitele internaționale referitoare la ELF-EMF (50Hz) stabilite de ICNIRP (International Committee for Non-Ionizing Radiation Protection) și de Uniunea Europeană sunt: pentru populație 100 $\mu$ Tesla, iar limita de expunere profesională este de 500 $\mu$ Tesla. Amplitudinea câmpului electromagnetic în imediata apropiere a aparatului electric de bărbierit este de 3000  $\mu$ T, iar lângă aparatul de sudură poate atinge și 130000  $\mu$ T.

La nivelul celulelor procariote și eucariote radiațiile electromagnetice de frecvență foarte joasă (ELF-EMF) poate afecta viabilitatea și proliferarea celulelor [Fojt și colab.

2004], permeabilitatea peretelui celular [Fadel și colab. 2003]. În unele studii a fost evidențiat faptul că ELF-EMF poate avea efecte genotoxice [McCann și colab. 1998], iar în altele contrariul, ELF-EMF a sporit eficiența proceselor de reparare a ADN-ului [Chow și Tung 2000a] sau a stimulat transpoziția [Chow și Tung 2000b].

Scopul cercetărilor noastre este studierea efectelor electromagnetice de frecvență foarte joasă (50Hz, 3mTesla) asupra unor bacterii Gram pozitive și negative.

## **Materiale și metode**

### ***Microorganismele studiate***

În cadrul experimentelor au fost folosite șapte specii bacteriene, dintre care *Pseudomonas fluorescens*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Aeromonas hydrophila* sunt Gram-negative, iar *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*. și *Brevibacterium linens* sunt Gram-pozitive. *Salmonella typhi* și *Listeria monocytogenes* au fost cultivate pe agar cu sânge, iar celelalte specii pe nutrient agar, la temperatura de 28°C.

### ***Standardizarea suspensiei microbiene***

Din culturile bacteriene incubate la 28°C, timp de 24 de ore, au fost făcute suspensii de microbi folosind ser fiziologic, care au fost standardizate cu ajutorul aparatului de măsurare a densității optice BIOLOG (Type: 219α<sub>0</sub>), folosind un standard de turbiditate (BIOLOG Turbidity Standard), numărul bacteriilor din suspensii fiind în jurul valorii de 10<sup>6</sup> colonii de bacterii (CFU)/ml.

### ***Expunerea bacteriilor la radiații electromagnetice de frecvență foarte joasă (ELF-EMF)***

Suspensiile bacteriene au fost împărțite în două eprubete la fiecare specie aparte. Prima eprubetă a fost expusă la radiații electromagnetice de frecvență foarte joasă (50Hz), cu amplitudinea de 3mT, timp de 4 respectiv 24 de ore, la o temperatură de 28°C. Generarea pulsurilor electromagnetice de frecvență foarte joasă (ELF-EMF) s-a făcut cu ajutorul bobinelor de inducție, folosind aparatul Magnetogen (Type MFG-3-07), care poate genera câmpuri magnetice având frecvența de 50 Hz, și amplitudinea reglabilă între 0,1 - 3mTesla. Inducția magnetică de 3mT folosită este de 30 de ori mai mare decât limita maximă admisă de către Comisia Internațională de Protecție Împotriva Radiațiilor Neionizante (ICNIRP) pentru populație, și de 6 ori mai mare decât limita de expunere profesională (ICNIRP 1998).

A doua eprubetă (proba martor) nu a fost expusă radiației, dar a fost ținută în același condiții (4 respectiv 24 ore la temperatura de 28°C).

### ***Înregistrarea curbelor de creștere***

Din suspensiile bacteriene iradiate și martor au fost făcute diluții zecimale succesive (10<sup>-1</sup> și 10<sup>-2</sup>) folosind de fiecare dată 0,3 ml suspensie de bază + 2,7 ml mediu nutritiv lichid BHB (Bacto-Haas-Buschnell Broth), având următoarea compoziție: MgSO<sub>4</sub> (0,20g), CaCl<sub>2</sub> (0,02g), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (1g), NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> (1g), FeCl<sub>3</sub> x 6H<sub>2</sub>O (0,05g), resazurină (0,001g), apă distilată (1000 ml), pH=7. La 1000ml mediu lichid BHB a fost adăugată glucoză (2,5g), peptonă (2,5g), extract de carne (1,5g) și extract de drojdie (0,5g), sterilizarea mediului fiind făcut la temperatura de 121°C timp de 20 de minute.

Din fiecare diluție au fost pipetate câte 300μl de soluții în 5 godeuri diferite ale unei plăci de microtitrare (cu 96 godeuri), astfel din fiecare diluție am avut 5 repetiții.

Cu ajutorul unui cititor de plăci de microtitrare de tip Tecan Sunrise a fost măsurată absorbanta la 620 nm, din 20 în 20 minute, timp de 20-24 de ore, obținând astfel curbe de creștere bacteriene. Aparatul a menținut o temperatură constantă de 28°C, agitând în continuu placa de microtitrare.

## 2.5. Studiarea influenței radiațiilor electromagnetice asupra supraviețuirii celulelor bacteriene.

Atât în cazul suspensiilor bacteriene (realizate în ser fiziologic), care au fost expuse radiațiilor electromagnetice (50Hz, 3mTesla) timp de 24 de ore, cât și în cazul probelor martor neiradiate a fost determinat numărul celulelor bacteriene vii, cu metoda MPN (Most Probable Number) [Haines și colab. 1996], folosind plăci de microtitrare și diluții zecimale. Astfel am putut testa influența radiațiilor electromagnetice de frecvență foarte joasă asupra supraviețuirii celulelor bacteriene.

### Rezultate și discuții

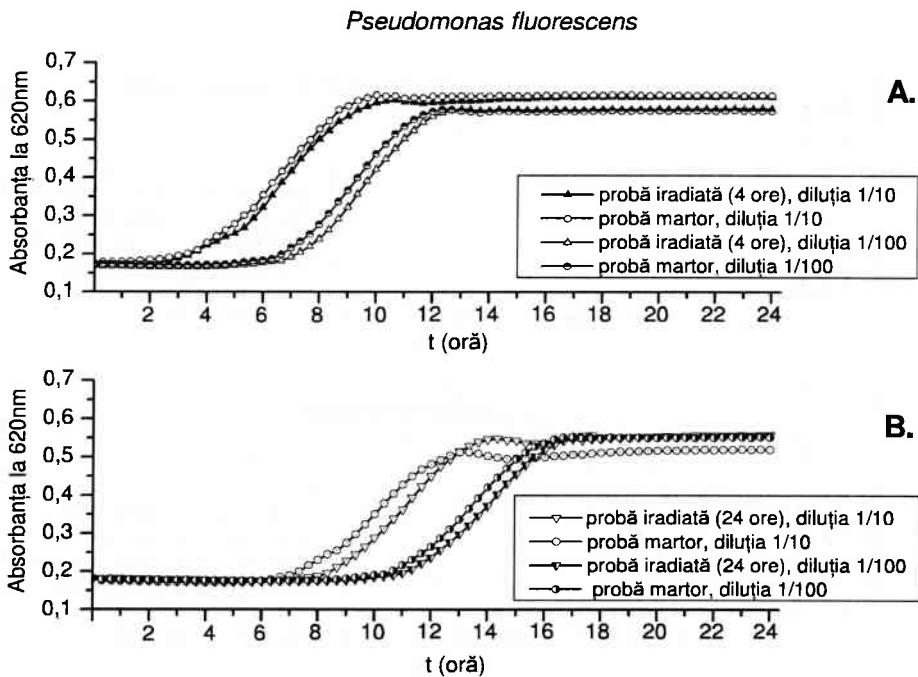
Rezultatele supraviețuirii celulelor bacteriene expuse la câmpuri electromagnetice (50Hz, 3mTesla) timp de 24 de ore, în comparație cu probele martor neiradiate, arată că nu există o diferență detectabilă între numărului celulelor vii a celor două grupe. Atât în cazul probelor martor cât și în cazul probelor iradiate numărul celulelor vii este de ordinul  $10^6$ - $10^7$ /ml, iradierea neafectând negativ supraviețuirea bacteriilor în cazul probelor iradiate în comparație cu cele neiradiate.

Măsurând densitatea celulară (la 620 nm) timp de 20-24 de ore a probelor martor (neiradiate) și a probelor iradiate, am obținut curbe de creștere bacteriene tipice (fig. 1), în cazul cărora pot fi distinse primele trei faze caracteristice creșterii bacteriene: faza de lag, faza creșterii logaritmice (faza log) și faza de staționare (ex. fig 1A,B). Deoarece măsurătorile nu au durat mai mult de 24 de ore, faza de declin nu apare.

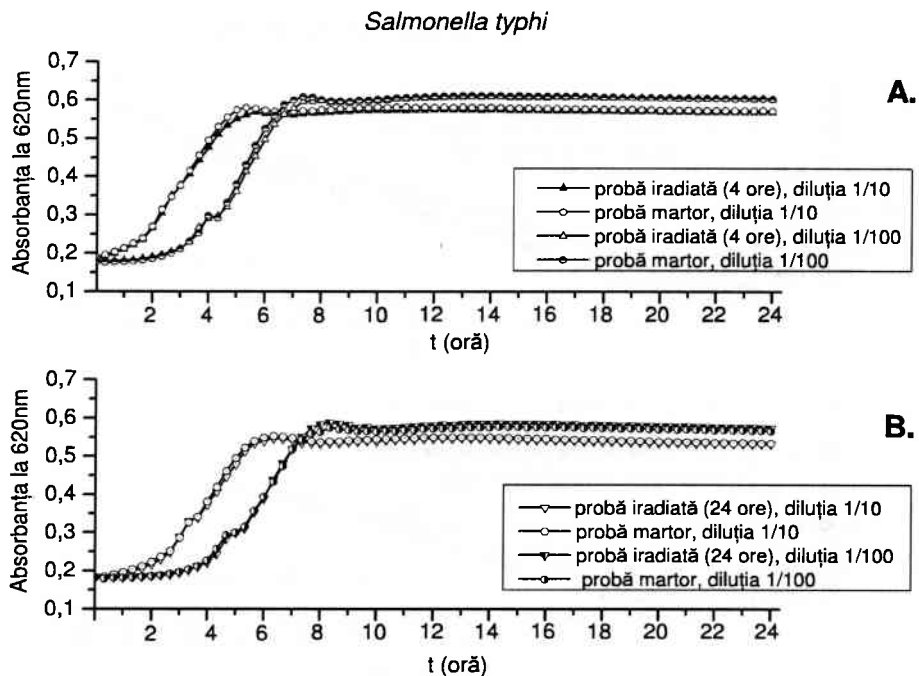
Figurile 1'-7. prezintă curbele de creștere bacteriene pe baza valorilor medii în cazul probelor martor și a celor expuse la câmpuri electromagnetice (50Hz, 3mTesla) timp de 4 respectiv 24 de ore.

Atât la probele martor cât și la cele iradiate forma curbelor de creștere în cazul celor două diluții ( $10^{-1}$  și  $10^{-2}$ ) este foarte asemănătoare, însă se poate observa o decalare a curbelor odată cu creșterea diluției, deoarece în diluțiile succesive numărul celulelor bacteriene inițiale este din ce în ce mai mic, iar fazele de staționare aparentă devin din ce în ce mai lungi. Acest lucru este în strânsă legătură cu sensibilitatea aparatului de măsurare, deoarece numărul celulelor trebuie să atingă o anumită concentrație (cca.  $10^3$  celule/ml), care poate determina o schimbare în valoarea absorbbanței măsurate. Putem remarca deci că în cazul curbelor de creștere a unei specii de bacterii, numărul celulelor este același la punctele de unde pornește faza log.

În cazul bacteriilor Gram-negative *Salmonella typhi* (fig. 2) *Escherichia coli* (fig. 3) și *Aeromonas hydrophila* (fig. 4), respectiv a bacteriei Gram-pozitivă *Listeria monocytogenes* (fig. 5) nu se poate observa vreo diferență între curbele de creștere a probelor martor respectiv a probelor iradiate, drept care putem deduce că radiația electromagnetică aplicată nu are efecte vizibile asupra acestor bacterii.



**Fig. 1.** Curbele de creștere la *Pseudomonas fluorescens* pe baza valorilor medii în cazul probelor martori și cele iradiate (50Hz, 3mTesla) timp de 4 ore (A.) respectiv 24 de ore (B.)



**Fig. 2.** Curbele de creștere la *Salmonella typhi* pe baza valorilor medii în cazul probelor martori și cele iradiate (50Hz, 3mTesla) timp de 4 ore (A.) respectiv 24 de ore (B.)

*Escherichia coli*

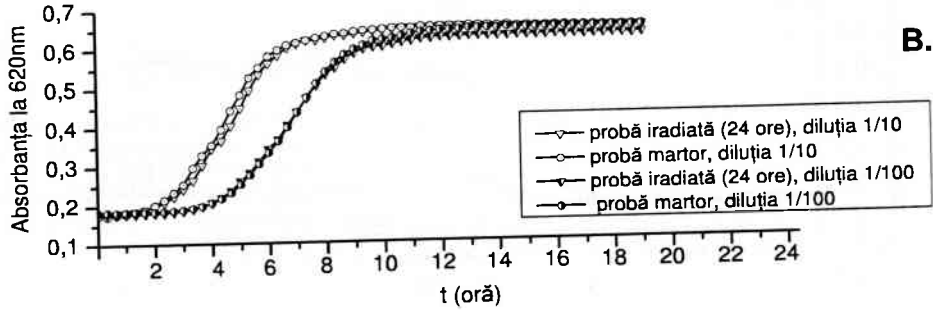
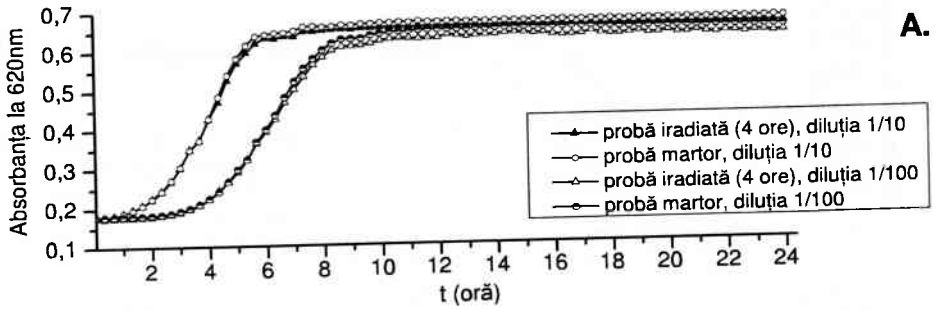


Fig. 3. Curbele de creștere la *Escherichia coli* pe baza valorilor medii în cazul probelor martori și cele iradiate (50Hz, 3mTesla) timp de 4 ore (A.) respectiv 24 de ore (B.)

*Aeromonas hydrophila*

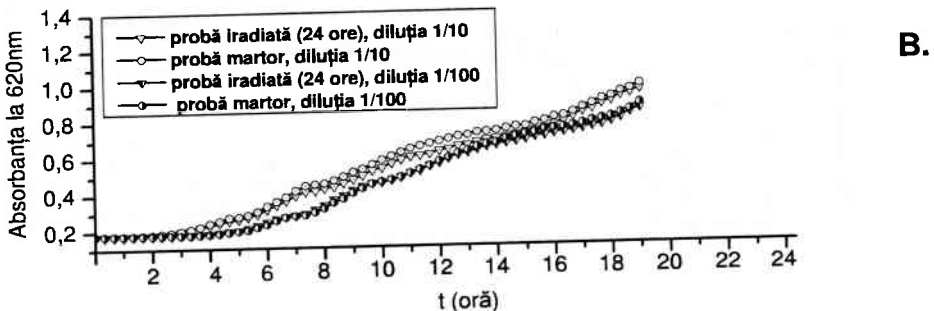
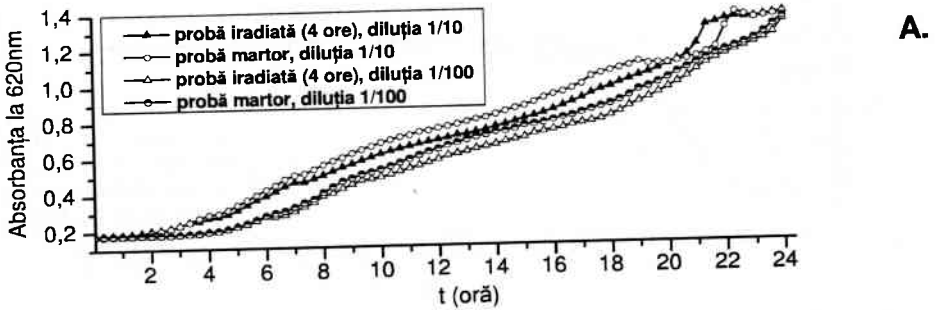


Fig. 4. Curbele de creștere la *Aeromonas hydrophila* pe baza valorilor medii în cazul probelor martori și cele iradiate (50Hz, 3mTesla) timp de 4 ore (A.) respectiv 24 de ore (B.)

*Listeria monocytogenes*

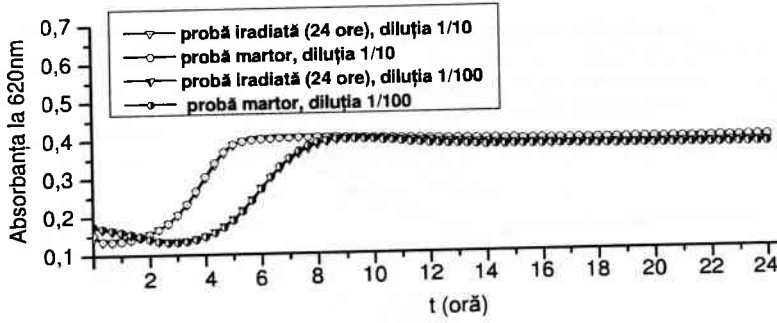
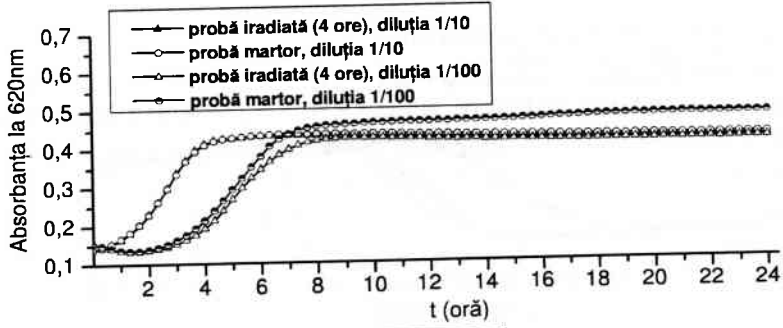


Fig. 5. Curbele de creștere la *Listeria monocytogenes* pe baza valorilor medii în cazul probelor martori și cele iradiate (50Hz, 3mTesla) timp de 4 ore (A.) respectiv 24 de ore (B.)

*Staphylococcus aureus*

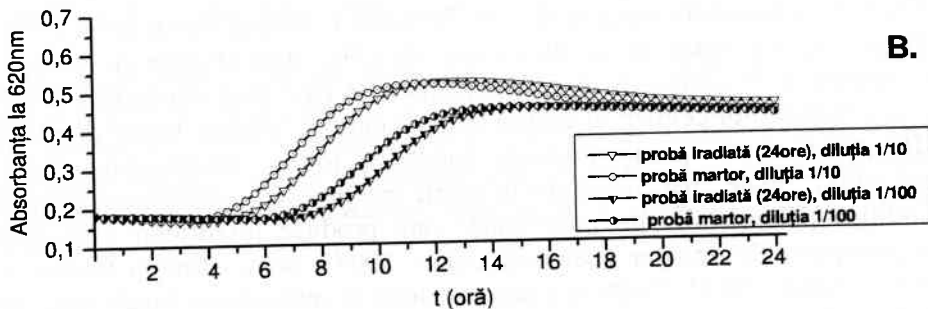
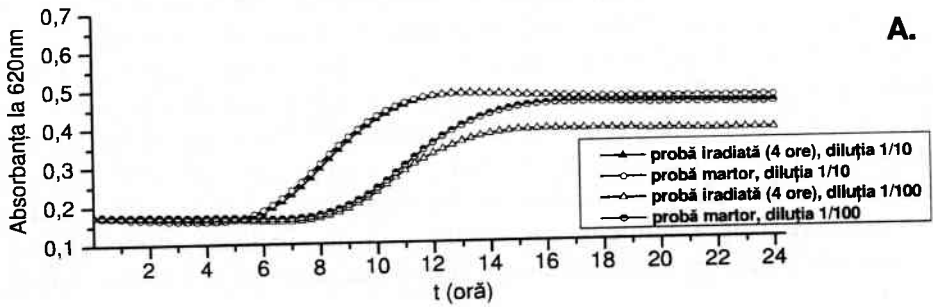
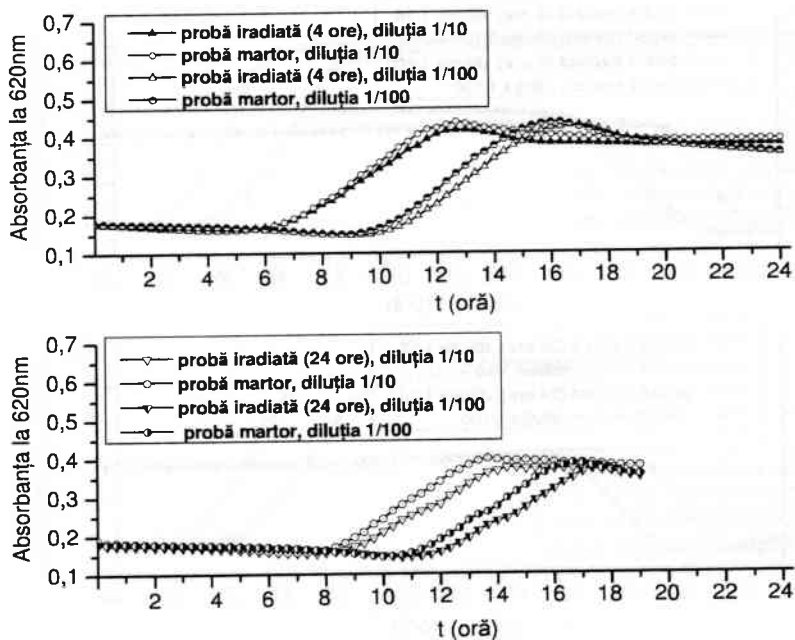


Fig. 6. Curbele de creștere la *Staphylococcus aureus* pe baza valorilor medii în cazul probelor martori și cele iradiate (50Hz, 3mTesla) timp de 4 ore (A.) respectiv 24 de ore (B.)

*Brevibacterium linens*



A.

B.

Fig. 7. Curbele de creștere la *Brevibacterium linens* pe baza valorilor medii în cazul probelor martori și cele iradiate (50Hz, 3mTesla) timp de 4 ore (A.) respectiv 24 de ore (B.)

La bacteriile Gram-pozitive *Staphylococcus aureus* (fig. 6) și *Brevibacterium linens* (fig. 7) respectiv la bacteria Gram-negativă *Pseudomonas fluorescens* (fig. 1), atât în cazul experimentului cu iradiere (50Hz, 3mTesla) timp de 4 ore, dar mai ales în cazul iradierei timp de 24 de ore, fazele de lag (de adaptare) a probelor iradiate sunt vizibil mai lungi decât ale probelor neiradiate. Totodată panta curbei log, adică rata de creștere a bacteriilor nu diferă la probele iradiate respectiv la cele martori. Pe baza perioadei lag mai lungi ale suspensiilor bacteriene iradiate în prealabil, în comparație cu cele neiradiate, putem presupune că radiațiile electromagnetice de frecvență foarte joasă (50Hz, 3mTesla) aplicată are efecte negative asupra celulelor bacteriene, însă nu afectează supraviețuirea acestora în mod mai negativ decât în cazul celulelor neiradiate, cum au arătat rezultatele testelor de supraviețuire.

Conform rezultatelor cercetărilor lui Tenforde (1996) și Repacholi (1998), câmpurile electromagnetice, mai mici decât câteva sute de kHz, sunt umbrite de pereții celulari, și astfel se presupune că câmpurile electromagnetice de frecvență joasă (ELF-EMF) au efecte mai ales asupra pereților celulari și asupra componentelor celulare legate de ei. Expunerea la ELF-EMF poate afecta permeabilitatea canalelor ionice membranare [Galvanoskis și Sandblom 1998]; poate crea disfuncții în cazul receptorilor membranari [Thuróczy 2002]; poate modifica potențialului de membrană, care produce modificări conformaționale ale canalelor pompelor de transfer [Lányi și colab. 2007]; poate stimula formarea radicalilor liberi [Fojt și colab. 2004]. Toate acestea pot duce la interacțiuni biochimice intracelulare, care pot afecta nu doar funcțiile fiziologice și rata de creștere a celulelor, dar și comunicările intercelulare [Gaafar 2008].

Astfel în cazul celulelor iradiate cu radiații electromagnetice de frecvență foarte joasă (50Hz, 3mTesla) timp de 4 respectiv 24 de ore, procesele repair cresc necesarul de energie (au nevoie de mai multe ATP etc.) și simultan cu aceasta scade rata de înmulțire a celulelor bacteriene în comparație cu probele neiradiate, ceea ce explică perioadele lag mai lungi în cazul curbelor de creștere a bacteriilor iradiate în prealabil.

## Bibliografie

- K.C. Chow, W.L. Tung. Magnetic field exposure enhances DNA repairing through the induction of DnaK/J synthesis. *FEBS Letters*, 2000a, 478:133-136.
- K.C. Chow, W.L. Tung. Magnetic field exposure stimulates transposition through the induction of DnaK/J synthesis. *Biochem Biophys Res Comm*, 2000b, 270(3): 745-748.
- J.A. D'Andrea. Electromagnetic fields: overview of laboratory studies. *Asia-Pacific EMF Conference: Electromagnetic Fields, Research, Health Effects and Standards Harmonization*, January 26-30, 2004, Bangkok, Thailand, pp. 22.
- M.A. Fadel, S.M. Wael, R. Mostafa. Effect of 50Hz, 0.2 mT magnetic fields on RBC properties and heart functions of albino rats. *Bioelectromagnetic*, 2003, 24: 535-545.
- L. Fojt, L. Strašák, V. Vetterl, J. Šmarda. Comparison of the low-frequency magnetic field effects on bacteria *Escherichia coli*, *Leclercia adecarboxylata* and *Staphylococcus aureus*. *Bioelectrochemistry* 2004, 63: 337-341.
- E.-S.A. Gaafar, M.S. Hanafy, E.Y. Tohamy, M.H. Ibrahim. The effect of electromagnetic field on protein molecular structure of *E. coli* and its pathogenesis. *Romanian J. Biophys.*, 2008, 18(2): 145-169.
- J. Galvanoskis, J. Sandblom. Periodic forcing of intracellular calcium oscillators. Theoretical studies of the effects of low-frequency fields on the magnitude of oscillations, *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 1998, 46: 161-174.
- J.R. Haines, B.A. Wrenn, E.L., Holder, K.L. Strohmeier, R.T. Herrington, A.D. Venosa. Measurement of hydrocarbon-degrading microbial populations by a 96-well plate most-probable-number procedure. *Journal of Industrial Microbiology*, 1996, 16(1): 36-41.
- International Agency For Research On Cancer: Static and extremely low-frequency (ELF) electric and magnetic fields. Summary of Data Reported and Evaluation, 2002, 80(1), pp. 1-8.
- J.H. Jeong, K.B. Choi. Extremely Low Frequency Frequency Magnetic Fields Modulate Bicuculline-Induced-Convulsion in Rats. *Arch. Pharm. Res.* 2005, 28: 587-591.
- L. Kheifets, M. Repacholi, R. Saunders, E. van Deventer. The sensitivity of children to electromagnetic fields. *Pediatrics*. 2005, 116(2): 303-313.
- J. McCann, F. Dietrich, C. Rafferty. The genotoxic potential of electric and magnetic fields: An update. *Mutat. Res.* 1998, 411:45 -86.
- Sz. Lányi, F.D. Irimie, B. Ábrahám. Studiu privind interacțiunea câmpului electromagnetic - microorganismele. pg. 107-128. *In: C. Popescu, H. Gavrilă (coord.): Impactul câmpurilor electromagnetice de natură antropică asupra ecosistemelor.* Editura Printech, București, 2007.
- M.H. Repacholi. Low-level exposure to radiofrequency electromagnetic fields: Health Effects and Research Needs. *Bioelectromagnetics*, 1998, 19(1): 1-19.
- T.S. Tenforde. Interaction of ELF magnetic fields with living systems. *In: C.H. Polk, E. Postow (eds): Biological effects of electromagnetic fields.* Ed. Boca Raton, pp. 185-230.
- G. Thuróczy, A rádiófrekvenciás sugárzások egészségügyi kérdései. *Magyar Tudomány*, 2002, 8: 1010.