

Оценка действия Полижинакса на микроорганизмы, выделенные из влагалища женщин, в опыте *in vitro*

А.М. Савичева, Е.В. Рыбина

Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН, г. Санкт-Петербург

«Российский вестник акушера-гинеколога», 2012, № 4, с. 104–107

Проведена оценка действия Полижинакса на суточные культуры 163 штаммов микроорганизмов, выделенных из влагалища женщин репродуктивного возраста, в опыте *in vitro*. Исследовали концентрированный раствор Полижинакса и разведения этого препарата в изотоническом растворе натрия хлорида. Установлено, что грамотрицательные бактерии высокочувствительны к антибактериальным препаратам, входящим в состав Полижинакса. Дрожжеподобные грибы рода *Candida* чувствительны к нистатину, который входит в состав Полижинакса. Лактобациллы, выделенные из влагалища женщин репродуктивного возраста, резистентны к Полижинаксу даже в самой низкой концентрации.

Ключевые слова: вульвовагинит, культуры микроорганизмов, выделенных из влагалища женщин, Полижинакс.

Проблема выделений из влагалища – самая распространенная жалоба среди женщин, обратившихся за амбулаторной гинекологической помощью. Причина этих выделений – наличие бактериального вагиноза, вульвовагинита, цервицита [1]. Этиология перечисленных заболеваний может быть самой разнообразной. При бактериальном вагинозе преобладают факультативные и облигатные анаэробные бактерии. При вульвовагините наиболее частыми возбудителями являются трихомонады, дрожжеподобные грибы рода *Candida*, а также ассоциации аэробных и анаэробных микроорганизмов. Цервицит наиболее часто вызывают хламидии, гонококки, микоплазмы, относящиеся к виду *Mycoplasma genitalium* [1–3].

В связи с тем что часто возбудителями этих заболеваний являются ассоциации разных микроорганизмов, необходим поиск комбинированных препаратов, способных активно влиять на те микроорганизмы, которые могут составлять этиологическую структуру инфекций нижних отделов генитального тракта [6].

Таким средством является Полижинакс – комбинированный препарат в форме вагинальных капсул, содержащий неомицина сульфат 35 000 МЕ, полимиксина В сульфат 35 000 МЕ и нистатина 100 000 МЕ. Спектр действия этого препарата достаточно широк. Он оказывает действие на дрожжеподобные грибы, грамположительные и грамотрицательные бактерии [4].

Цель исследования: оценка действия комбинированного препарата Полижинакса на микроорганизмы, выделенные из влагалища женщин репродуктивного возраста, в опыте *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 163 штамма микроорганизмов: *Candida albicans* (10 штаммов), *Escherichia coli* (14 штаммов), *Citrobacter spp.* (14 штаммов), *Klebsiella spp.* (11 штаммов), *Proteus spp.* (16 штаммов), *Pseudomonas aeruginosa* (10 штаммов), *Haemophilus spp.* (10 штаммов), *Streptococcus agalactiae* (11 штаммов), *Streptococcus spp.* (14 штаммов), *Enterococcus spp.* (11 штаммов), *Staphylococcus aureus* (18 штаммов), *Staphylococcus saprophyticus* (5 штаммов), *Lactobacillus spp.* (19 штаммов). Все микроорганизмы были выделены из влагалища женщин репродуктивного возраста.

В опыте *in vitro* использовали суточные культуры бактерий, выращенные на жидких питательных средах: на среде Сабуро для дрожжеподобных грибов, среде MRS – для лактобацилл и тиогликолевой среде – для факультативных анаэробных бактерий.

Капсулы Полижинакса вскрывали и растворяли их содержимое в изотоническом растворе натрия хлорида. Исследовали следующие разведения Полижинакса: концентрированный раствор (содержимое 1 капсулы), далее разведения этого препарата в изотоническом растворе натрия хлорида 1:10, 1:100 и 1:1000.

Для определения чувствительности микроорганизмов к препарату использовали следующие питательные среды: Muller–Hinton Agar и Blood Muller–Hinton Agar (BioRad, США) с добавлением 3% донорской эритроцитарной массы и 2% сыворотки крупного рогатого скота. Выбор питательной среды проводили в зависимости от требовательности микроорганизма к условиям культивирования.

При проведении исследования 0,5 мл культуры микроорганизма из жидкой питательной среды наносили на поверхность плотной питательной среды (Muller–Hinton Agar или 5% Blood Muller–Hinton Agar) и равномерно с помощью шпателя распределяли по поверхности среды. Затем поочередно на четыре сектора калиброванной петлей наносили разведения Полижинакса – от концентрированного препарата до его разведений (от 1:10 до 1:1000), на сектора 1, 2, 3 и 4 соответственно. Чашки Петри с нанесенными культурами и разведениями препарата инкубировали 24 ч при температуре термостата 37 °С. Культуры лактобацилл и *Streptococcus spp.* инкубировали в анаэроустате с Gas Pack («HiMedia», Индия) при температуре 37 °С 24 ч.

Учет результатов чувствительности микроорганизмов к препарату в разных разведениях проводили визуально, измеряя диаметр зоны задержки роста. Чувствительной к данному препарату считали культуру микроорганизмов с диаметром задержки роста для дрожжеподобных грибов более 18 мм (по нистатину), для других микроорганизмов – более 17 мм (по неомицину).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 приведены данные по чувствительности 10 штаммов *Candida albicans*, выделенных из влагалища женщин репродуктивного возраста, к Полижинаксу. Все изоляты этих дрожжеподобных грибов были чувствительны к этому препарату, исследуемому как в цельном виде (без разведения), так и в разведениях в 10, 100 и 1000 раз.

Эти данные свидетельствуют о том, что нистатин, входящий в состав Полижинакса, является эффективным препаратом в лечении кандидозного вульвовагинита.

Результаты исследования чувствительности грамотрицательных микроорганизмов к Полижинаксу приведены в табл. 2.

Поиск препаратов, эффективных в отношении бактерий, относящихся к семейству *Enterobacteriaceae*, очень

Чувствительность дрожжеподобных грибов рода *Candida* к Полижинаксу

| Род гриба | Препарат без разведения | Концентрация препарата | | | | | |
|--------------------------------|-------------------------|------------------------|---------------------|-----------------|---------------------|-----------------|---------------------|
| | | 0,1 | | 0,01 | | 0,001 | |
| | чувствительность, % | устойчивость, % | чувствительность, % | устойчивость, % | чувствительность, % | устойчивость, % | чувствительность, % |
| <i>Candida albicans</i> (n=10) | 100 | 0 | 100 | 0 | 100 | 0 | 100 |

Таблица 2

Чувствительность грамотрицательных микроорганизмов к Полижинаксу

| Микроорганизм | Препарат без разведения | Концентрация препарата | | | | | |
|---|-------------------------|------------------------|---------------------|-----------------|---------------------|-----------------|---------------------|
| | | 0,1 | | 0,01 | | 0,001 | |
| | чувствительность, % | устойчивость, % | чувствительность, % | устойчивость, % | чувствительность, % | устойчивость, % | чувствительность, % |
| Грамотрицательные микроорганизмы (n=75) | 100 | 0 | 100 | 22,676 | 77,33 | 32,00 | 68,00 |
| <i>Escherichia coli</i> , n=14 | 100 | 0 | 100 | 0 | 100 | 0 | 100 |
| <i>Citrobacter spp.</i> , n=14 | 100 | 0 | 100 | 0 | 100 | 14,29 | 85,71 |
| <i>Klebsiella spp.</i> , n=11 | 100 | 0 | 100 | 0 | 100 | 27,27 | 72,73 |
| <i>Proteus spp.</i> , n=16 | 100 | 0 | 100 | 50,0 | 50,0 | 100 | 0 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , n=10 | 100 | 0 | 100 | 90,00 | 10,00 | 100 | 0 |
| <i>Haemophilus spp.</i> , n=10 | 100 | 0 | 100 | 0 | 100 | 0 | 100 |

Таблица 3

Чувствительность грамположительных микроорганизмов к Полижинаксу

| Микроорганизм | Препарат без разведения | Концентрация препарата | | | | | |
|--|-------------------------|------------------------|---------------------|-----------------|---------------------|-----------------|---------------------|
| | | 0,1 | | 0,01 | | 0,001 | |
| | чувствительность, % | устойчивость, % | чувствительность, % | устойчивость, % | чувствительность, % | устойчивость, % | чувствительность, % |
| Грамположительные микроорганизмы (n=59) | 100 | 3,39 | 96,61 | 23,73 | 76,27 | 62,71 | 37,29 |
| <i>Streptococcus agalactiae</i> (gr. B) (n=11) | 100 | 9,1 | 90,9 | 81,82 | 18,18 | 100 | 0 |
| <i>Streptococcus spp.</i> (n=14) | 100 | 0 | 100 | 0 | 100 | 14,29 | 85,71 |
| <i>Enterococcus spp.</i> (n=11) | 100 | 9,1 | 90,9 | 45,45 | 54,65 | 100 | 0 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> (n=18) | 100 | 0 | 100 | 0 | 100 | 66,67 | 33,33 |
| <i>Staphylococcus saprophyticus</i> (n=5) | 100 | 0 | 100 | 0 | 100 | 20,00 | 80,00 |

важен, так как именно эти микроорганизмы являются частыми возбудителями неспецифических вульвовагинитов. Кроме того, в настоящее время описаны случаи выявления резистентности грамотрицательных бактерий к наиболее часто используемому антибактериальным препаратам [5, 7].

В состав Полижинакса входит неомицина сульфат и полимиксин В. Неомицин – антибактериальный препарат, оказывающий бактерицидное действие как на грамположительные, так и на грамотрицательные микроорганизмы, а полимиксин действует преимущественно на грамотрицательные микроорганизмы. Поэтому не удивительно, что *in vitro* Полижинакс эффективно действует на значительный спектр грамотрицательных бактерий. Их количество было значительным в исследовании – 75 штаммов.

Полижинакс без разведения и в разведении 1:10 (т.е. в концентрации 0,1) оказывал 100% эффект на все грамотрицательные микроорганизмы. Это имеет большое клиническое значе-

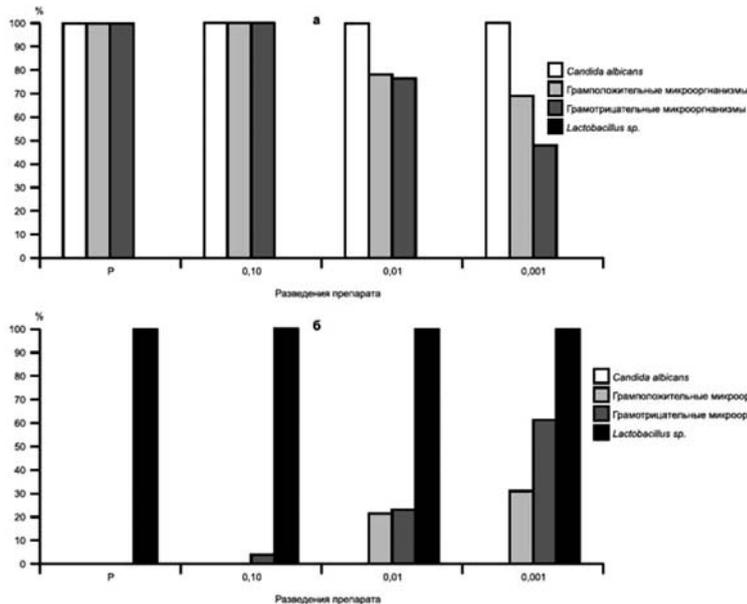
ние, так как капсулу препарата вводят во влагалище и препарат поступает в просвет влагалища в концентрированном виде. Что касается чувствительности грамотрицательных микроорганизмов к большим разведениям Полижинакса (в 100 и 1000 раз), то лишь протей и синегнойная палочка были резистентны к этим разведениям препарата. В клинической практике вряд ли следует ожидать большого разведения препарата вагинальными выделениями.

Что касается чувствительности грамположительных бактерий к антибиотикам, входящим в состав Полижинакса, в неразведенном состоянии препарат оказывает также 100% бактерицидный эффект (табл. 3). В разведении 1:10 число чувствительных штаммов микроорганизмов остается высоким – от 100% до 90,9%. Отрадно отметить, что *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus saprophyticus* оказываются высокочувствительными к препарату и в разведении 1:100.

Очень важным аспектом в изучении антибактериальных препаратов, назначаемых вагинально, является исследование

Чувствительность лактобацилл к Полижинаксу

| Лакто- бациллы | Препарат без разведения | Концентрация препарата | | | | | |
|--|----------------------------|------------------------|--------------------------|----------------------|--------------------------|----------------------|--------------------------|
| | | 0,1 | | 0,01 | | 0,001 | |
| | чувстви- тельность, % | устойчи- вость, % | чувстви- тельность, % | устойчи- вость, % | чувстви- тельность, % | устойчи- вость, % | чувстви- тельность, % |
| <i>Lactobacillus</i> <i>spp.</i> (n=19) | 0 | 100 | 0 | 100 | 0 | 100 | 0 |



Чувствительность (а) и устойчивость (б) микроорганизмов, выделенных из влагалища женщин, к Полижинаксу
P – концентрированный раствор

их эффективности в отношении лактобацилл, выделяемых из вагинального биотопа. Важно, чтобы вагинальные лактобациллы были резистентны к изучаемому препарату, что гарантирует отсутствие негативного воздействия антибиотиков, входящих в состав Полижинакса, на нормальную микрофлору влагалища [8].

Данные о чувствительности вагинальных лактобацилл к Полижинаксу представлены в табл. 4. Из приведенных данных видно, что все лактобациллы (19 штаммов), выделенные из влагалища женщин, были резистентны к антибактериальным препаратам, входящим в состав Полижинакса.

Данные по чувствительности и резистентности разных групп микроорганизмов к Полижинаксу суммированы на рисунке (а, б). Таким образом, Полижинакс является медикаментозным препаратом, высокоэффективным в отношении всех групп микроорганизмов. Однако лактобациллы во всех исследуемых разведениях препарата оказались резистентными.

Таким образом, Полижинакс, показавший *in vitro* высокую эффективность против большинства грамотрицательных и грамположительных бактерий, выделенных из влагалища женщин репродуктивного возраста, а также против дрожжеподобных грибов рода *Candida*, не оказывающий действия на вагинальные лактобациллы, может быть рекомендован для лечения вагинальных инфекций.

ВЫВОДЫ

1. На основании проведенного исследования по оценке действия Полижинакса, комбинированного препарата, на

Статья поступила в редакцию 04.04.2013

микроорганизмы, выделенные из влагалища женщин репродуктивного возраста, в опыте *in vitro* установлено, что грамотрицательные бактерии (*Esherichia coli*, *Citrobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus spp.*) и грамположительные бактерии (*Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*) высоко чувствительны к антибактериальным препаратам, входящим в состав Полижинакса.

2. Дрожжеподобные грибы рода *Candida* чувствительны к нистатину, который входит в состав Полижинакса.

3. Лактобациллы, выделенные из влагалища женщин репродуктивного возраста, резистентны к Полижинаксу, даже в самой низкой концентрации.

In vitro evaluation of the effect of polygynax on the microorganisms isolated from the female vagina
A.M. Savicheva, E.V. Rybina

The effect of polygynax on 24-hour cultures of 163 strains of the microorganisms isolated from the vagina of reproductive-aged women was evaluated in an *in vitro* experiment. The concentrated solution of polygynax and its dilutions in isotonic sodium chloride solution were tested. Gram-negative bacteria were found to be highly susceptible to the antibacterial agents contained in polygynax. Yeast-like fungi of the genus *Candida* were susceptible to nystatin that is a component of polygynax. The lactobacilli isolated from the vagina of reproductive-aged women were resistant to polygynax even at the lowest concentration.

Key words: *vulvovaginitis; cultures of microorganisms isolated from the female vagina, polygynax.*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Савичева А.М., Соколовский Е.В., Домейка М. Краткое руководство по микроскопической диагностике инфекций, передаваемых половым путем. СПб: Фолиант 2004; 128.
2. Fan A.P., Xue F.X. Clinical characteristics of aerobic vaginitis and its mixed infections. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi* 2010; 45: 12: 904–908.
3. Frey Tirri B. Antimicrobial topical agents used in the vagina. *Curr Probl Dermatol* 2011; 40: 36–47.
4. Goran D., Vesna A., Adela S., Biljana T.K., Snezana M. Polygynax in the treatment of fungal and non specific vaginitis. *Akush Ginekol (Sofia)* 2004; 43: 6: 23–26.
5. Nolewajka-Lasak I., Rajca M., Kaminski K., Kunicka M., Krol W. Antibiotic sensitivity of Enterobacteriaceae isolated from women vagina and uterine cervix. *Med Dosw Mikrobiol* 2003; 55: 4: 351–356.
6. Tempera G., Furneri P.M. Management of aerobic vaginitis. *Gynec Obstet Invest* 2010; 70: 4: 244–249.
7. Paterson D.L. Resistance in gram-negative bacteria: enterobacteriaceae. *Am J Med* 2006; 119: 6: Suppl 1: 20–28.
8. Strus M., Malinowska M., Heczko P.B. In vitro antagonistic effect of Lactobacillus on organisms associated with bacterial vaginosis. *J Reprod Med* 2002; 47: 1: 41–46.