

Гульчій Олеся Петрівна - проректор з міжнародних зв'язків та науково-педагогічної роботи з іноземними громадянами, проф. д.мед.н.

Пономаренко Микола Семенович - зав. кафедри організації і економіки фармації НМАПО імені П. Л. Шупика, проф., д. фарм. н.

Загорій Гліб Володимирович - професор кафедри організації і економіки фармації НМАПО імені П. Л. Шупика, д. фарм. н.

УДК 615.281.9 + 615.451

© Ж.М. ПОЛОВА, 2016

Ж.М. Полова

МІКРОБІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИСЕПТИЧНОГО ЗАСОБУ

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ

Вступ. Створення нових ефективних профілактичних антимікробних засобів є одним із завдань фармацевтичної технології. Навіть при широкому асортименті антисептиків, що відповідають сучасним вимогам, є необхідність розробки нових препаратів. Це обумовлено відкриттям нових видів збудників; посиленням наявних або виникненням нових вимог з безпеки антисептичних засобів для людини і навколишнього середовища; зміною сировинної бази та умов виробництва; відкриттям нових ефективних субстанцій для виробництва.

Мета. Дослідження антимікробної активності зразків препарату срібла та міді на полірезистентні клінічні штами мікроорганізмів.

Матеріали і методи. Об'єктами дослідження постали розроблені складі антисептичного розчину та клінічні полірезистентні штами мікроорганізмів. Було використано метод дисків для визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів.

Результати. Встановлено залежність діаметрів зон затримки росту досліджуваних культур *Pseudomonas aeruginosa* 185, *Staphylococcus aureus* 421, *S. epidermidis* 439, *Escherichia coli* 197, навколо дисків, просочених антисептичним розчином від концентрації цитрату срібла та міді і концентрації мікробної зависі, нанесеної на поверхню середовища Мюллер-Хінтон. Значення діаметрів зон затримки росту 23 мм стосовно клінічного множиннорезистентного штаму *S. epidermidis* 439 спостерігалось при нанесенні мікробної зависі у концентрації 10^4 кл/мл. Досліджувані зразки препарату у рідкій формі характеризувались високими протимікробними властивостями щодо клінічного штаму *P. aeruginosa* 185.

Висновки. Розроблений антисептичний засіб проявляє бактеріостатичну та бактерицидну дію відносно полірезистентних клінічних штамів різних видів мікроорганізмів.

Ключові слова: мікробіологічні дослідження, клінічні штами мікроорганізмів, рідка форма, антисептичний препарат

Вступ. В минулих століттях людство найбільше потерпало від епідемій інфекційних хвороб, а кінець другого тисячоліття характеризується різким зменшенням розповсюдження останніх і широким поширенням місцевих гнійно-запальних захворювань, викликаних умовно-патогенною флорою. Це пов'язано з широким і не завжди раціональним застосуванням різних препаратів антимікробної дії, коли порушуються властивості мікроорганізмів в еволюційно сформованих екологічних системах мікробних асоціацій, що сприяє появі стійких до антибіотиків штамів, що змінюють мікробний пейзаж організму.

Створення нових ефективних антисептичних засобів (АЗ) є одним із завдань фармацевтичної технології та профілактичної епідеміології. Навіть при широкому асортименті антисептиків, що відповідають сучасним вимогам, є необхідність розробки нових засобів. Це обумовлено постійним підвищенням вимог до властивостей і змінами умов застосування останніх: відкриттям нових видів збудників і появою генетично змінених збудників з невстановленою стійкістю до АЗ; формуванням стійкості до застосовуваних АЗ у відомих збудників інфекцій; посиленням наявних або виникненням нових вимог з безпеки АЗ для людини і навколишнього середовища; зміною сировинної бази та умов виробництва; відкриттям нових ефективних субстанцій для виробництва АЗ. Застосування відомих антисептичних препаратів у розчинах забезпечує тільки тимчасовий ефект тому, що концентрація діючої речовини в процесі контакту з об'єктом знезаражування не може впродовж значного проміжку часу підтримуватись на сталому рівні [2]. Перспективним науково-практичним напрямком є створення АЗ з цитратами срібла та міді рідкої форми випуску [3]. Нами були розроблені експериментальні зразки такого препарату.

Мета. Вивчення антимікробної активності зразків розчину антисептика по відношенню до полірезистентних клінічних штамів мікроорганізмів.

Матеріали і методи. Об'єктами дослідження постали зразки препарату, що містять цитрат срібла (Ag) та міді (Cu) у різних концентраціях на клінічні полірезистентні штами мікроорганізмів, одержані з лабораторії ДУ «Інституту епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України».

Досліджувані культури різних видів мікроорганізмів вирощували на середовищі Мюллер-Хінтон при 37°C протягом доби. Готували мікробну завись у стерильному фізіологічному розчині (5 см²) в концентраціях 10⁶, 10⁴ кл/мл із використанням приладу денситометру DENSIMAT та стандартів McFarland. Чутливість тест-штамів до досліджуваного антисептичного засобу вивчали із використанням стерильних дисків, що просочували розчином препарату, що містив цитрату срібла та міді. Для інокуляції використовували приготовлені мікробні зависі культур двох концентрацій. Стандартний інокулюм наносили піпеткою на поверхню середовища Мюллер-Хінтон рівномірно розподіляли на поверхні середовища, надлишок відсмоктували піпеткою і підсушували. Потім за допомогою стерильного пінцета клали диски, просочені зразками досліджуваного препарату [1]. В якості контролю використовували стерильні диски без просочування зразками експериментального засобу. Результати оцінювали за діаметрами зон затримки росту досліджуваних штамів навколо дисків, просочених препаратом, через 24 години інкубації в термостаті при 37°C. В якості тест-об'єктів використовували клінічні штами *Pseudomonas aeruginosa* 185, *Escherichia coli* 197, *Staphylococcus aureus* 421, *S. epidermidis* 439, які превалюють у патогенезі захворювання, для профілактики якого розроблений даний засіб.

Результати та їх обговорення. В результаті досліджень встановлено, що шість зразків антисептичного розчину володіють різною антимікробною активністю, яка залежить від концентрації цитрату срібла та міді, часу експозиції, концентрації мікробної зависі.

Як видно з рисунків 1 та 2, найбільше значення діаметрів зон затримки росту *Pseudomonas aeruginosa* 185 спостерігались при нанесенні культури в концентрації 10⁴ кл/мл навколо диску, просоченого зразком №1. Діаметри

зон затримки росту зразків №2 та №3 були однаковими при значенні 20 мм. Тоді як найменше значення діаметру зони затримки росту клінічного штаму синьогнійної палички виявлено при мікробному навантаженні 10^4 кл/мл навколо диску із зразком №6.

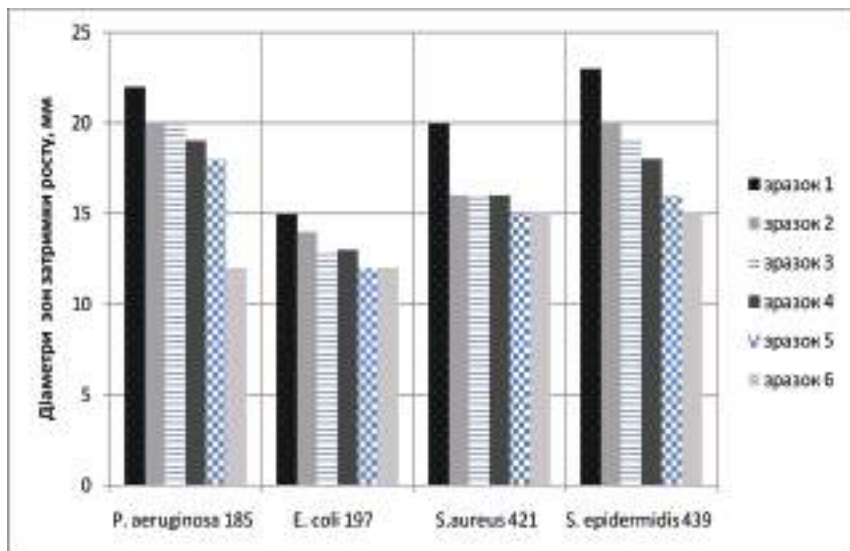


Рис. 1. Чутливість клінічних штамів мікроорганізмів до досліджуваних зразків антисептичного засобу при мікробному навантаженні 10^4 кл/мл.

При мікробному навантаженні 10^6 кл/мл діаметри зон затримки росту *Ps. aeruginosa* 185 дорівнювали 20 мм для зразку №1 та були однаковими для зразків №2, №3 та №4 (18мм). Тобто можна стверджувати, що штам *Ps. aeruginosa* 185 був чутливим до зразків №1 - №4 антисептичного засобу при мікробному навантаженні 10^6 кл/мл та 10^4 кл/мл.

Дані щодо протимікробної активності антисептичного розчину стосовно штаму мікроорганізмів *E. coli* 197 наступні: при мікробному навантаженні 10^4 кл/мл зразки №2, №3 та №4 проявили помірну активність, а зразок №1 виявив достатню антимікробну активність. Зразки №5 та №6 мали зони затримки росту 12 мм. При нанесенні культури в концентрації 10^6 кл/мл зразки №2 - №4 мали майже однакові зони затримки росту, а зразок №1 проявив бактеріостатичну дію на штам кишкової палички.

Таким чином, щодо протимікробної активності розроблених зразків антисептичного розчину, стосовно клінічних штамів грамнегативних мікроорганізмів, виявлено високу протимікробну активність щодо штаму *P. aeruginosa* 185 та помірну щодо штаму *E. coli* 197.

Наступним етапом були дослідження антимікробної активності АЗ стосовно грампозитивних штамів роду *Staphylococcus*. Слід відмітити, що *Staphylococcus epidermidis* (епідермальний стафілокок) – мікроорганізм, котрий є частиною флори шкіри, виявляється на слизових оболонках людини

і тварин. Незважаючи на те, що *S. epidermidis* є непатогенним збудником, у частини людей зі скомпроментованою імунною системою може викликати інфекції, як нозокоміальні, так і позалікарняні [4]. Нами була досліджена мікробіологічна активність зразків розчину щодо *S. epidermidis* 439 та встановлено, що усі зразки засобу при мікробному навантаженні 10^4 кл/мл проявили високу чутливість і діапазон зон затримки росту склав від 23 мм (зразок №1) до 15 мм (зразок №6). Дещо меншу активність мали зразки препарату при більшому мікробному навантаженні 10^6 кл/мл. Зразок №1 пригнічує ріст колоній *S. epidermidis* 439 (зона затримки навколо диску, просоченого антисептичним засобом 18 мм), Зразки препарату №2 - №6 проявили активність щодо штаму, що вивчається, по низхідній.

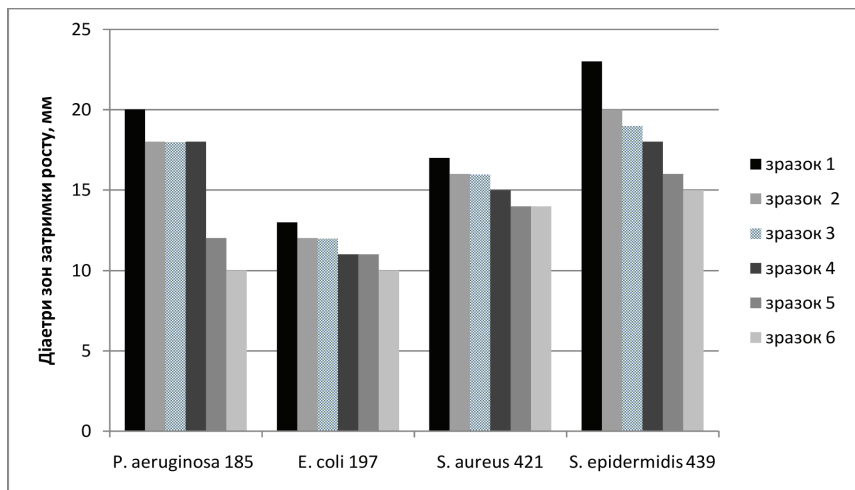


Рис. 2. Чутливість клінічних штамів мікроорганізмів до досліджуваних зразків антисептичного засобу при мікробному навантаженні 10^6 кл/мл.

Чутливість штаму *Staphylococcus aureus* 421 виявилась високою у зразка №1 (рис.1) та помірно у зразків №2 - №6 (зони затримки 16-15 мм). З досліджуваних зразків АЗ найвищу протимікробну активність стосовно клінічного множиннорезистентного штаму роду *S. aureus* 421 в концентрації 10^6 кл/мл виявив зразок №1 (рис.2).

Досліджувані зразки антисептичного засобу рідкої форми випуску характеризувались високими протимікробними властивостями щодо клінічного штаму *P. aeruginosa* 185, *Staphylococcus aureus* 421, *S. epidermidis* 439 при мікробних навантаженнях 10^4 , 10^6 кл/мл. Препарат проявив помірну активність до *Escherichia coli* 197.

Висновки. Встановлено, що діаметри зон затримки росту досліджуваних культур *Pseudomonas aeruginosa* 185, *Staphylococcus aureus* 421, *S. epidermidis* 439, *Escherichia coli* 197, навколо дисків, просочених зразками препарату срібла та міді у рідкій формі, залежать від концентрації мікробної зависі, нанесеної на поверхню середовища Мюллер-Хінтон та від концентрації

цитрату срібла та міді. Із досліджуваних зразків розробленого антисептичного засобу найвищими протимікробними властивостями характеризувалися зразки №1 - №4. Антисептичний розчин виявив високу антимікробну активність в усіх досліджуваних концентраціях щодо культури *P. aeruginosa* 185. Експериментальний профілактичний засіб проявляє бактеріостатичну та бактеріцидну дію відносно полірезистентних клінічних штамів різних видів мікроорганізмів та може застосовуватись як антисептичний препарат.

Література

1. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів : методичні вказівки МВ 9.9.5–143–2007. Офіційне вид. — К.: МОЗ України, 2007. — 79 с.
2. Borrego L. Povidone-iodine induced post-surgical irritant contact dermatitis localized outside of the surgical incision area // L. Borrego, N. Hernández, Z. Hernández // International Journal of Dermatology. — 2015. — DOI: 10.1111/ijd.12957.
3. Kruk T. Synthesis and antimicrobial activity of monodisperse copper nanoparticles // T.Kruk, K.Szczepanowicz, J.Stefańska // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. — 2015. — Vol.128. — P. 17-22.
4. Ziebuhr W. Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis: emerging pathogens in nosocomial infections // Contrib. Microbiol. — 2001. — Vol. 8. — P. 102-107.

Ж.Н.Полова

Микробиологические исследования антисептического средства

**Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца,
г. Киев**

Введение. Создание новых эффективных профилактических антимикробных препаратов является одной из задач фармацевтической технологии. Даже при широком ассортименте антисептиков, отвечающих современным требованиям, актуальной является разработка новых препаратов. Это обусловлено открытием новых видов возбудителей; усилением имеющихся или возникновением новых требований по безопасности антисептических средств для человека и окружающей среды; изменением сырьевой базы и условий производства; открытием новых эффективных субстанций для производства.

Цель. Исследование антимикробной активности образцов жидкого антисептического препарата серебра и меди в отношении полирезистентных клинических штаммов микроорганизмов.

Материалы и методы. Объектами исследования были образцы средства, а также клинические полирезистентные штаммы микроорганизмов. Использован метод дисков для определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам.

Результаты. Установлена зависимость диаметров зон задержки роста исследуемых культур *Pseudomonas aeruginosa* 185, *Staphylococcus aureus* 421, *S. epidermidis* 439, *Escherichia coli* 197, вокруг дисков, пропитанных антисептическим раствором от концентрации цитрата серебра и меди, а также концентрации микробной взвеси, нанесенной на поверхность среды Мюллер-Хинтон. Значения диаметров зон задержки роста 23 мм в отношении клинического штамма *S. epidermidis* 439 наблюдалось при нанесении микробной взвеси в концентрации

10⁴ кл / мл. Исследуемые образцы разработанного антисептического средства характеризовались высокими противомикробными свойствами относительно клинического штамма *P. aeruginosa* 185.

Выводы. Разработанное антисептическое средство проявляет бактериостатическое и бактерицидное действием в отношении полирезистентных клинических штаммов различных видов микроорганизмов.

Ключевые слова: микробиологические исследования, клинические штаммы микроорганизмов, жидкая форма, антисептический препарат

Z.N.Polova

Microbiological testing of antiseptic solution

O. O. Bohomolets National Medical University

Introduction. Creating new effective prophylactic antimicrobial products is one of the objectives of pharmaceutical technology. Even with the wide range of antiseptics, adequate to modern requirements, development of new drugs is relevant. This is due to the discovery of new types of pathogens; the appearance of new requirements regarding safety of antiseptic products for human use and the environment; changes in raw material base and production conditions; the discovery of new effective substances for production.

Purpose. Investigation of antimicrobial activity of samples of liquid antiseptic preparation of silver and copper against multidrug-resistant clinical strains of microorganisms.

Materials and methods. Samples of antiseptic preparation and clinical multidrug-resistant microorganisms were objects of the study. A disk method to determine the sensitivity of microorganisms to antibiotics was employed.

Results. Diameters of zones of growth inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* 185, *Staphylococcus aureus* 421, *S. epidermidis* 439, *Escherichia coli* 197 around disks saturated with an antiseptic solution were found to be dependent on the concentration of silver citrate and copper, as well as on the concentration of bacterial suspension applied to surface of the medium Mueller-Hinton. Growth inhibition zone diameters of 23 mm for clinical *S. epidermidis* 439 strain were observed when applying the microbial suspension in the concentration of 10⁴ colony-forming units/ml. The test samples of antiseptic agent were characterized by a relatively high antimicrobial properties to clinical *P. aeruginosa* strains 185.

Conclusions. The developed antiseptic solution shows bacteriostatic and bactericidal activity against multidrug-resistant clinical strains of different species of microorganisms.

Key words: microbiological research, clinical strains of microorganisms, antiseptics solutions.

Відомості про автора:

Полова Жанна Миколаївна, к.фарм.н., доц. каф. аптечної та промислової технології ліків Національного медичного університету імені О. О. Богомольця. Адреса: 01004, м. Київ, вул. Пушкінська, 22, тел.: (044) 235-90-66.