УДК 616-001.4: 616-08: 615-454.1: 615.28

Л.Б. Іванцик[1], Я.О. Бутко[1], Н.А. Гербіна[1], Т.П. Осолодченко[2]

Вивчення протимікробної активності нової комбінованої мазі з етонієм в умовах in vivo

[1]*Національний фармацевтичний університет, м. Харків,*

[2]*Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечнікова АМНУ, м. Харків*

Ключові слова: *гнійна рана, лікування, мазь, протимікробна активність.*

Вивчено протимікробну активність нової мазі з етонієм на моделі гнійно-некротичного процесу у щурів відносно до збудників ранової інфекції (*Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans*), а також порівняно її ефективність з мазями Левомеколь та Інфларакс. За отриманими результатами експерименту встановлено, що мазь з етонієм характеризується вираженою протимікробною дією, про що свідчить відсутність мікробного забруднення та скорочення терміну загоєння на 7 днів, тоді як препарати порівняння сприяли скороченню терміну загоєння на 5 днів порівняно з контрольною патологією. Отже, нова розроблена мазь з етонієм є перспективною для подальших фармакологічних досліджень з метою лікування гнійних ран.

Изучение противомикробной активности новой комбинированной мази с этонием в условиях in vivo

Л.Б. Иванцик, Я.А. Бутко, Н.А. Гербина, Т.П. Осолодченко

Изучена противомикробная активность новой мази с этонием на модели гнойно-некротического процесса у крыс в отношении к возбудителям раневой инфекции (*Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans*), а также проведено сравнение ее эфективности с мазями Левомеколь и Инфларакс. Согласно полученным результатам эксперимента установлено, что мазь с этонием проявляет выраженое противомикробное действие, о чем свидетельствует отсутствие микробного загрязнения и сокращение срока заживления на 7 дней, тогда как препараты сравнения способствовали сокращению срока заживления на 5 дней по сравнению с контрольной патологией. Таким образом, новая разработаная мазь с этонием является перспективной для дальнейших фармакологических исследований с целью лечения гнойных ран.

Ключевые слова: *гнойная рана, лечение, мазь, противомикробная активность*.

Study of antimicrobial activity of a new combinatid aethonium - containing ointment under in vivo experiment.

L.B. Ivantsyk, I.A. Butko, N.A. Herbina, T.P. Osolodchenko

The investigation of antimicrobial activity of new ointment with aethonium using the model of purulent necrosis process in rats against exciters of wound infection (Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans) and the comparison of its efficiency with ointments Laevomecol and Inflarax was carried out. According to the results of experiment it was established that the ointment with aethonium has an expressed antimicrobial effect shows the absent of microbial contamination and decrease of the term of healing to 7 days when the reference drugs promoted healing to 5 days as compared with the group of control pathology. So, the new developed ointment with aethonium is a perspective subject for further pharmacological investigations with a view to treatment of purulent wounds.

Key words: *purulent wound, treatment, ointment, antimicrobial effect.*

Проблема лікування і загоєння ран залишається актуальною для сучасної хірургічної практики. Це пов'язано зі збільшенням кількості хірургічних інфекційних захворювань і післяопераційних ускладнень [6,9]. Основними факторами, що впливають на виникнення ускладнень ран, є зниження імунологічної резистентності, яка призводить до зміни мікрофлори ран, підвищення антибіотикорезистентності збудників і неконтрольованого застосування хіміотерапевтичних засобів [8,11].

За даними більшості авторів, основними збудниками гнійно-ранової інфекції є стафілококи та стрептококи (50–65%) [7]. Останніми роками все частіше у гнійному вмісті висівають синьогнійну (30%) та кишкову палички (25%), протей (10%), інші види ентеробактерій (до 15%) і грибів (7–8%) [1]. Ці мікроорганізми трапляються як у монокультурі, так і в асоціаціях [4]. З розвитком місцевої гнійної інфекції склад мікрофлори часто змінюється, особливо у випадках неефективного лікування.

Незважаючи на досягнення медичної науки та застосування нових технологій, важливим методом лікування гнійних ран залишається місцеве лікування під пов'язкою з використанням мазей [3,10].

Сучасний фармацевтичний ринок України представляє широкий вибір мазей для лікування гнійних ран, але не всі мазі відповідають сучасним клінічним вимогам: багато мазей вузького спектра дії, до складу входять антибактеріальні препарати першого покоління, до яких є резистентність у збудників ранової інфекції. Виходячи з цього, зростає інтерес до антисептиків, які не мають набутої резистентності. З цією метою вчені НФаУ розробили комбіновану мазь з антисептиком, до складу якої ввійшли етоній, тіотріазолін, лідокаїну гідрохлорид і гідрофільна основа.

Мета роботи

Вивчення протимікробної дії нової мазі з етонієм та її порівняння з комбінованими мазями вітчизняного виробництва. Препарати порівняння обрано за спектром фармакологічної дії та показниками до застосування – Інфларакс (ТОВ ФК «Здоров'я», м. Харків) та Левомеколь (ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», м. Київ).

© Л.Б. Іванцик, Я.О. Бутко, Н.А. Гербіна, Т.П. Осолодченко, 2013

Матеріали і методи дослідження

Вивчення протимікробних активності мазей проводили на моделі експериментальної гнійно-некротичної рани, інфікованої сумішшю мікроорганізмів (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 + *Escherichia coli* ATCC 25922 + *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 2785 + *Candida albicans* ATCC 885/653) відповідно до методичних рекомендацій [2]. Моделювання місцевого інфекційного процесу проводили на 20 білих безпорідних щурах масою 230–260 г. Тварин розподілили на 4 групи (по 5 тварин у кожній).

Для отримання гнійної рани тваринам підшкірно вводили 0,5 мл 10% розчину кальцію хлорид. Через 3–4 дні утворилась зона з некротичною ділянкою шкіри. В центр зони некрозу внутрішньошкірно вводили 1 мл суспензії добових агарових культур *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *Ps. aeruginosa* ATCC 27853, *C. albicans* 885/653 у співвідношенні 1:4.

Тварин 1 групи не лікували (контрольна патологія), тваринам 2–4 груп наносили мазь з етоніем, Левомеколь, Інфларакс один раз на добу, щодня до повного загоєння. Ефективність лікування оцінювали за кількісною динамікою мікроорганізмів у рані (КУО/мл) та за планіметричними показниками загоєння ран (площа ран і процент зменшення ран за добу). Процент зменшення рани за добу визначали за формулою (1.1):

$[(S–S_n)\times 100/S_t]$ (1.1),

де S – площа рани при попередньому вимірюванні; Sn – площа рани при даному вимірюванні; t – кількість днів між вимірюванням.

Мікробіологічні дослідження в умовах in vivo проводили в ДУ «ІМІНАМН» під керівництвом зав. лаб. біохімії мікроорганізмів і поживних середовищ Т.П. Осолодченко.

Статистичну обробку результатів проводили із застосуванням непараметричного аналога однофакторного дисперсійного аналізу – критерій Крускала-Уоліса, після чого застосовували критерій Мана-Уїтні. Для визначення статистичних розбіжностей використовували стандартний пакет програм «Statistica 6.0» [5].

Результати та їх обговорення

Результати планіметричного і мікробіологічного дослідження мазі з етоніем, Левомеколю та Інфлараксу на моделі гнійно-некротичного процесу наведено в *таблиці 1*.

Слід зазначити, що розвиток гнійно-некротичного процесу у щурів всіх груп за клінічними показниками відбувався гостро. На зовнішній вигляд тварини були малорухомі, в'ялі, з катаральними явищами, кон'юнктивітом, шерсть потьмяніла, відсутній апетит. Місцево спостерігали некротичні осередки на шкірі, які були гіперемовані, набряклі та містили гнійний ексудат (сіро-жовтого з кров'яно-коричневим до чорного кольору згустком і запахом розкладання тканини з газоутворенням). Рівень мікробного навантаження у рані складав 10^7–10^8 КУО/мл (вихідні дані).

У групі тварин КП на 3 день рівень мікробного обсіменіння був високий (*S. aureus* 3×10^6-6×10^7 КУО/мл, *E.coli* 2×10^6-4×10^6 КУО/мл, *Ps. auruginosa* 5×10^7-6×10^8 КУО/мл, *C. albicans* 2×10^3-4×10^4 КУО/мл) та площа некротичної ділянки шкіри зменшилась на 26% (*рис. 1*) порівняно з вихідними даними. На 5 день ступінь бактеріального обсіменіння був вищим критичного у *S. aureus* 4×10^6-8×10^6 КУО/мл та у *Ps. auruginosa* 3×10^7-8×10^7 КУО/мл, нижчими *E. coli* 3×10^4-5×10^5 КУО/мл та *C. albicans* 10^3-3×10^3 КУО/мл, площа рани зменшилась на 42%. На 15 день на місці некрозу в 20% тварин групи КП

Таблиця 1

Вивчення протимікробної дії досліджуваних мазей на моделі гнійних ран у щурів, n=5

Група	Показники, КУО/мл	Дні спостереження							
		Вихідні дані	1-й	3-й	5-й	7-й	10-й	12-й	15-й
Контрольна група	S. aureus	3×10^7-10^8	5×10^8-4×10^8	3×10^6-6×10^7	4×10^6-8×10^6	2×10^4-8×10^5	10^3-6×10^4	10^3-$0{,}8\times10^3$	10^2-10^3
	E. coli	2×10^7-3×10^8	3×10^6-5×10^7	2×10^6-4×10^6	3×10^5-5×10^4	10^4-3×10^4	10^3-5×10^4	$0{,}6\times10^3$-10^3	ПК
	P. aerug	6×10^7-4×10^8	10^8-2×10^8	5×10^7-6×10^8	3×10^7-8×10^7	10^6-2×10^7	10^5-4×10^6	10^4-$0{,}7\times10^5$	10^3
	C. albic.	10^5-5×10^5	10^4-2×10^4	2×10^3-4×10^4	4×10^3-3×10^3	10^3-8×10^3	10^2-4×10^2	ПК	-
	S, мм^2	693,2±47,1	597,8±48,7	512,8±41,9*	402,8±40,0*	292,6±36,6*	160,8±19,8*	64,2±12,8*	14,6±2,6*
Мазь з етоніем	S. aureus	2×10^7-6×10^7	2×10^6-10^7	5×10^4-3×10^5	10^2-6×10^2	ПК	-		
	E. coli	10^7-5×10^8	7×10^7-3×10^6	10^4-10^5	2×10^3-10^4	ПК	-		
	P. aerug	6×10^7-5×10^8	3×10^6-5×10^7	2×10^5-6×10^5	5×10^3-8×10^3	ПК	-		
	C. albic.	10^5-5×10^5	3×10^3-3×10^4	10^3-2×10^3	ПК	-	-		
	S, мм^2	605,2±45,6	388,8±32,4*	182,4±27,4*@	81,2±12,6*@	18,4±2,7*@	ПЗ		
«Інфларакс»	S. aureus	3×10^7-2×10^8	2×10^6-10^7	10^4-2×10^5	10^3-2×10^3	10^2-4×10^2	ПК	-	
	E. coli	10^7-6×10^8	7×10^5-2×10^6	10^4-3×10^5	5×10^3-2×10^4	10^2-2×10^3	-		
	P. aerug.	3×10^7-7×10^8	2×10^6-2×10^7	10^5-4×10^5	10^3-8×10^3	4×10^2-2×10^3	ПК	-	
	C. albic.	2×10^5-5×10^5	8×10^3-2×10^4	10^3-3×10^3	10^2-2×10^3	10^2-$0{,}5\times10^2$	-		
	S, мм^2	575,4±36,6	435,6±21,0*	234,8±11,8*@	102,4±12,3*@	38,2±5,1*@	7,2±1,4*@	ПЗ	
«Левомеколь»	S. aureus	5×10^6-5×10^7	2×10^6-10^7	2×10^4-6×10^5	2×10^3-5×10^3	10^2-5×10^2	ПК	-	
	E. coli	3×10^7-2×10^8	5×10^5-7×10^6	10^4-3×10^5	4×10^3-3×10^4	5×10^2-2×10^3	ПК	-	
	P.aerug.	6×10^7-2×10^8	3×10^6-10^7	2×10^5-6×10^5	10^3-7×10^3	3×10^2-2×10^3	10^2-3×10^3	-	
	C. albic.	2×10^5-5×10^5	10^4-4×10^4	10^3-3×10^3	2×10^2-2×10^3	ПК	-		
	S, мм^2	657,8±23,1	482,0±17,6*	308,0±16,7*@#	178,6±15,5*@#	62,8±7,1*@	17,0±0,4*@	ПЗ	

Примітки: S – площа ран, мм^2; ПК – поодинокі колонії, КУО/мл; ПЗ – повне загоєння, n-кількість щурів у групі; * – відхилення вірогідне відносно до вихідних даних, $p<0{,}05$; @ – відхилення вірогідне відносно до контрольної патології, $p<0{,}05$; # – відхилення вірогідне відносно до мазі з етоніем, $p<0{,}05$.

спостерігали процес загоєння ран, проте в 80% тварин ще були кірки на шкіри, а також виявлено поодинокі колонії мікроорганізмів *S. aureus*, *E. coli*, *Ps. auruginosa* 10^2-10^3 КУО/мл. Повну епітелізацію ран у щурів цієї групи спостерігали на 17 день.

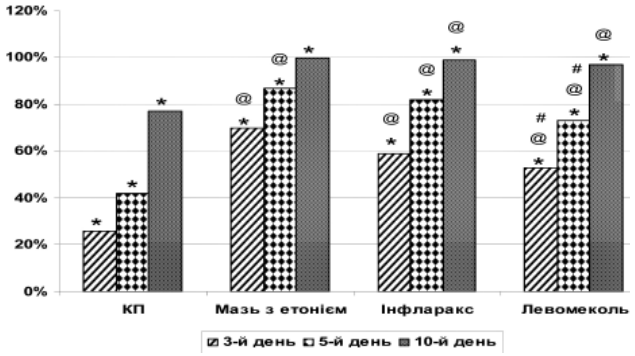

Рис. 1. Динаміка загоєння площі ран на моделі гнійно-некротичної рани на щурах.

Примітки: * – відхилення вірогідне відносно до вихідних даних, $p<0,05$; @ – відхилення вірогідне відносно до контрольної групи, $p<0,05$; # – відхилення вірогідне відносно до мазі з етонієм, $p<0,05$.

У дослідній групі тварин, лікованих маззю з етонієм, вже на 3 день рівень мікробного забруднення був нижчим критичного рівня та склав для *S. aureus* 5×10^4-3×10^5 КУО/мл, *E. coli* – 10^4-10^5 КУО/мл, *Ps. aeruginosa* – 2×10^5-6×10^5 КУО/мл, *C. albicans* – 10^3-2×10^3 КУО/мл. Площа некрозу зменшилась на 70% порівняно з вихідними даними. На 5 день лікування рівень мікробного забруднення склав для *Ps. aeruginosa* 5×10^3-8×10^3 КУО/мл , *E. coli* – 2×10^3-10^4 КУО/мл, поодинокі колонії для *S. aureus* – 10^2-6×10^2 КУО/мл, *C. albicans* – 2×10^2-6×10^2 КУО/мл; спостережено зменшення площі некротичної ділянки шкіри на 87% порівняно з вихідними даними. На 7 день у тварин цієї групи висівали поодинокі колонії *S. aureus, E. coli*, *Ps. aeruginosa*, визначено відсутність *C. albicans*, за планіметричними даними площа зменшилась на 97%. На 10 день у всіх тварин цієї групи відсутнє мікробне обсемінення, спостережено повне загоєння ран.

У групі тварин, лікованих мазями Левомеколь та Інфларакс, на 3 день рівень мікробного забруднення складав для *S. aureus* 10^4-10^5 КУО/мл, *E. coli* – 10^4-10^5 КУО/мл, *Ps. aeruginosa* – 10^5 КУО/мл, *C. albicans* – 10^3 КУО/мл, площа ран зменшилась на 53% та 59% відносно вихідних даних. На 5 день: *S. aureus* – 10^3 КУО/мл, *E. coli* – 10^3-10^4 КУО/мл, *Ps. aeruginosa* – 10^2-10^3 КУО/мл, *C. albicans* – 10^2-10^3 КУО/мл, площа загоєння зменшилась на 73% та 82%. На 10 день лікування мазями у щурів визначено тенденцію до повного загоєння ран (97% та 99%), але при бактеріологічному дослідженні у групі тварин, лікованих маззю Інфларакс, залишались поодинокі колонії *S. aureus* і *Ps. aeruginosa*, відсутні колонії *E. coli* та *C. albicans*. У групі тварин, лікованих маззю Левомеколь, визначено відсутність колоній *C. albicans*, але спостережено поодинокі колонії *S. aureus*, *E. coli* і незначну кількість колоній *Ps. aeruginosa*. Повне загоєння та очищення ран відбулось на 12 день.

Отже, на моделі гнійно-некротичного процесу, викликаного мікс-інфекцією, мазь з етонієм виявила протимікробну дію, про що свідчать бактеріологічні та планіметричні показники. При порівнянні лікувальної дії найефективніший перебіг ранозагоєння спостерігали при лікуванні маззю з етонієм, про що свідчить скорочення терміну загоєння на 7 днів, порівняно з групою КП та препаратами порівняння – на 5 днів раніше.

Висновки

На моделі локалізованої гнійно-некротичної рани у щурів, викликаної асоціаціями мікроорганізмів (*S. aureus* + *E. coli* + *Ps.aeruginosa* + *C. albicans*) виявлено антимікробну дію нової мазі з етонієм.

За мікробіологічними показниками та терміном загоєння ран мазь з етонієм сприяла загоєнню ран на 10 день лікування, а препарати порівняння – мазі Інфларакс і Левомеколь – на 12 день.

Результати вивчення антимікробної дії нової мазі з етонієм підтверджують її перспективність для подальшого фармакологічного вивчення з метою лікування гнійних ран.

Список літератури

1. *Абаев Ю.К.* Современные особенности хирургической инфекции / Ю.К. Абаев // Вестник хирургии. – 2005. – Т. 164, №3. – С. 107–111.
2. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: Метод. реком. / за ред. Волянського Ю.Л. – К., 2004. – 38 с.
3. *Даценко Б.М.* Патогенетическое обоснование местного лечения очагов гнойной инфекции / Б.М. Даценко, Т.И. Тамм, С.Г. Белов, А.В. Кириллов // Клінічна хірургія. – 2007. – №11–12. – С. 19–20.
4. *Кондратенко П.Г.* Хирургическая инфекция: Практическое руководство / П.Г. Кондратенко, В.В. Соболев – Донецк, 2007. – 512 с.
5. *Лапач С.Н.* Статистические методы в медикобиологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – К: Морион, 2000. – 320 с.
6. *Пиптюк О.В.* Моніторінг ведення післяопераційних хворих на перитоніт / О.В. Пиптюк, І.К. Чупрій, К.Л. Чупрій // Український Журнал Хірургії. – 2011. – №3 (12). – С. 60–61.
7. *Салманов А.Г.* Аналіз етіологічної структури збудників нозокоміальних інфекцій у хірургічних стаціонарах України в 2009 р. / А.Г. Салманов, В.Ф. Марієвський, С.І. Доан // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2010. – №3 (5). – С. 199–125.
8. *Сипливий В.О.* Антибіотикорезистентність збудників ранової інфекції / В.О. Сипливий, К.В. Конь // Клінічна хірургія. – 2009. – №11–12. – С. 77–78.
9. *Kramer A.* Prevention of post-operative infections after surgical treatment of bite wounds / Kramer A. et. al // GSM Krankenhaushygiene Interdiszip. – 2010. – Vol. 5 (2). – P. 1–14.
10. *Bergquist L.M.* Microbiology: Principles and health science applications / L.M. Bergquist, B. Pogosian. – Philadelpia: Saunders, 2000. –581 p.
11. Surgical infections: a microbiological study / S. Saini, N. Gupta, M.S. Griwan et al. // Braz. J. Infect.Dis. – 2004. – Vol. 8, №2. – P. 1560–1590.

Відомості про авторів:

Іванцик Л.Б., аспірант каф. фармакології НФаУ.

Бутко Я.О., к. фарм. н., доцент каф. фармакології НФаУ.

Гербіна Н.А., к. фарм. н., асистент каф. заводської технології ліків НФаУ.

Осолодченко Т.П., к. біол.. н., зав. лабораторії біохімії мікроорганізмів та поживних середовищ ДУ ІМІНАМН.

Надійшла в редакцію 22.10.2012 р.