

© Желіба М. Д., Чернопищук Р. М., Бурковський М. І., Осолодченко Т. П.

УДК: 615.37:615.453.2:615.454.1

**Желіба М. Д.<sup>1</sup>, Чернопищук Р. М.<sup>1</sup>, Бурковський М. І.<sup>1</sup>, Осолодченко Т. П.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, кафедра загальної хірургії, м. Вінниця, Україна (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018, ro\_man@mail.ru); <sup>2</sup>Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України (вул. Пушкінська, 14, м. Харків, 61057)

## АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ЛІАСТЕНУ В КОМБІНАЦІЇ З МАЗЯМИ НА ГІДРОФІЛЬНІЙ ОСНОВІ

**Резюме.** Проведена оцінка антимікробної активності глікопептиду клітинної стінки молочнокислих бактерій - ліастену та його комбінації із мазями на гідрофільній основі "in vitro" показала, що сам ліастен не володіє вираженою антимікробною активністю. Проте використання певних доз цього препарату у комбінації із мазями на гідрофільній основі значно підвищує антимікробну активність останніх до всіх досліджуваних штамів мікроорганізмів. Отримані результати дозволяють припустити перспективність використання таких комбінацій лікарських засобів при місцевому лікуванні гнійних ран.

**Ключові слова:** ліастен, мазі на гідрофільній основі, антимікробна активність.

### Вступ

Проблема профілактики, діагностики та лікування ранової інфекції залишається актуальною, оскільки остання посідає провідне місце у структурі захворюваності населення України та Світу. Зокрема щорічно в країнах СНД реєструється близько 5 млн. хворих із гнійно-запальними захворюваннями, а у 7-50% померлих у стаціонарі ці захворювання стали основною причиною смерті [Велігоцький, Бугаков, 2009]. Така ситуація пояснюється різними причинами, зокрема: появою антибіотикорезистентних патогенних мікроорганізмів, посиленням вірулентності умовно-патогенної мікрофлори, зниженням захисних сил макроорганізму тощо [Пастернак, Регада, 2007]. Погіршення результатів традиційного методу лікування, які головним чином базуються на антибактеріальній терапії, високі матеріальні затрати вимагають розробки і впровадження більш ефективніших засобів для корекції цієї патології.

Значні досягнення теоретичної та практичної імунології за останні роки, а також активний пошук і впровадження в клінічну практику численних імуномодуляторів різноманітних груп створюють можливість для підвищення ефективності антибактеріальної терапії [Никитин, 1987]. Проведені дослідження встановили, що деякі препарати імунорегуляторних пептидів володіють властивостями антибіотиків ендogenous походження по відношенню до музейних штамів збудників та клінічних ізолятів бактерій [Спиридонова, 2001]. При цьому на сьогодні все більше уваги вчені надають питанням вивчення можливостей застосування в профілактиці й лікуванні ранової інфекції мікробних полісахаридів, які окрім імуностимулюючих властивостей можуть слугувати основою для приєднання інших активних компонентів [Перегутов, 1986]. На українському ринку представлений препарат ліастен - глікопептид клітинної стінки молочнокислих бактерій [Мосієнко та ін., 1999]. Проведені дослідження вказують на його здатність підвищувати клітинний і гуморальний імунітет, покращувати мікроциркуляцію, стимулювати діяльність ретикуло-ендотеліальної системи та репаративних процесів. При цьому на тлі розробки методів системної дії імунопре-

паратів, надзвичайно перспективним є можливість їх місцевого використання у вогнищі ранової інфекції [Латюшина, 2008]. Відсутність інформації про антимікробні властивості імуностимулятора ліастену та його комбінації із мазями на гідрофільній основі зумовило проведення цього мікробіологічного дослідження.

Тому метою нашої роботи стало вивчення антимікробної активності ліастену та його композиції із мазями левомеколь, мірамістин, нітацид та інфларакс.

### Матеріали та методи

Для дослідження використовувались розчин ліастену у концентраціях 0,008 г/мл, 0,004 г/мл, 0,002 г/мл, 0,001 г/мл, 0,0005 г/мл, 0,00025 г/мл та їх комбінація із мазями левомеколь 20 г, мірамістин 20 г. Також проводилось вивчення антимікробної активності комбінації розчину ліастену 0,002 г/мл із мазями інфларакс 20 г та нітацид 20 г. В якості контролю проводились дослідження цих же мазей без додавання будь-яких сторонніх речовин.

Визначення активності антибактеріальних препаратів проводилось методом дифузії в агар "колодцями" на двох шарах щільного поживного середовища, розлитого в чашки Петрі. У нижньому шарі, висотою 10 мм, використовували "голодні" незасіяні середовища (агар-агар, вода, солі). На цю основу встановлювали 3-6 тонкостінних циліндри із нержавіючою сталі діаметром 8 мм і висотою 10 мм. Навколо циліндрів заливали верхній шар, який складався із ретельно змішаного поживного агаризованого середовища із внесеною добовою культурою тест-мікроорганізма, об'ємом 14-16 мл. Для цього, у відповідності із рекомендаціями ВООЗ, використовували тест-штами Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli ATCC 25922, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853, Basillus subtilis ATCC 6633, Proteus vulgaris ATCC 4636, Candida albicans ATCC 885/653. Мікробне навантаження становило 10<sup>7</sup> мікробних тіл на 1 мл середовища, що встановлювалось апаратним методом за стандартом McFarland. Для дослідження використовували агар Мюллера-Хінтона. Після застигання циліндри стерильним пінцетом видалялись і втворені

**Таблиця 1.** Антибактеріальні властивості мазей левомеколь, мірамістин, нітацид, інфларакс та їх комбінації із препаратом ліастен.

Досліджувані зразки	Діаметри зон затримки росту, мм (n = 6)					
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 4636	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Candida albicans</i> ATCC 653/885
Левомеколь	24,0±0,36	23,0±0	22,33±0,21	21,33±0,21	25,0±0	13,33±0,21
Левомеколь 20,0 + Ліастен 0,008	24,67±0,21	22,67±0,21	20,33±0,21*	18,67±0,21*	22,0±0,36*	-
Левомеколь 20,0 + Ліастен 0,004	25,67±0,21	23,67±0,21	23,0±0,36	20,33±0,21	23,0±0*	.*
Левомеколь 20,0 + Ліастен 0,002	26,0±0,36	24,67±0,21*	24,33±0,21*	23,33±0,21*	27,33±0,21*	13,67±0,21
Левомеколь 20,0 + Ліастен 0,001	25,67±0,21	25,33±0,21*	24,67±0,21*	24,67±0,21*	27,0±0,36*	13,67±0,21
Левомеколь 20,0 + Ліастен 0,0005	26,33±0,21*	26,33±0,42*	25,0±0*	23,67±0,21*	27,0±0,36*	14,0±0
Левомеколь 20,0 + Ліастен 0,00025	25,33±0,21	25,0±0,36*	25,33±0,21*	23,33±0,21*	27,33±0,21*	13,67±0,21
Мірамістин	24,67±0,21	23,67±0,21	20,67±0,21	19,67±0,21	26,33±0,21	14,67±0,21
Мірамістин 20,0 + Ліастен 0,008	21,0±0,36*	19,67±0,21*	.*	.*	21,33±0,42*	.*
Мірамістин 20,0 + Ліастен 0,004	22,67±0,21*	19,67±0,21*	.*	.*	20,33±0,21*	.*
Мірамістин 20,0 + Ліастен 0,002	22,0±0*	20,0±0*	15,33±0,21*	15,0±0*	18,33±0,21*	14,0±0*
Мірамістин 20,0 + Ліастен 0,001	22,67±0,21	21,0±0	20,33±0,21	20,0±0,36	24,0±0,36*	13,67±0,21
Мірамістин 20,0 + Ліастен 0,0005	24,67±0,21	23,67±0,21	23,67±0,21*	23,0±0*	27,67±0,21	14,67±0,21
Мірамістин 20,0 + Ліастен 0,00025	27,33±0,42*	26,67±0,21*	21,33±0,21	20,33±0,21	27,67±0,21	15,67±0,21
Нітацид	26,0±0,36	26,33±0,21	24,67±0,21	21,67±0,21	28,0±0,36	0
Нітацид + Ліастен 0,002	28,67±0,21*	27,0±0	25,67±0,21	26,0±0,36*	29,67±0,21	13,33±0,21*
Інфларакс	26,33±0,21	27,67±0,21	24,33±0,21	21,67±0,21	27,33±0,21	15,33±0,21
Інфларакс + Ліастен 0,002	28,67±0,21*	28,67±0,21	26,67±0,21	26,33±0,21	29,67±0,21	14,33±0,21

**Примітки:** ".\*" - діаметр затримки росту менше 10 мм; \* - достовірна різниця ( $p \leq 0,05$ ) між даним показником та показником, визначеним для відповідної мазі без комбінації.

лунки поміщали досліджуваний матеріал в об'ємі 0,3 мл. Чашки підсушувались 30-40 хвилин при кімнатній температурі і поміщались в термостат на 24 години. Оцінка антимікробної дії проводилась за ступенем затримки росту у зоні нанесення досліджуваної композиції. Для цього використовувались наступні критерії: відсутність зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунки, а також затримка до 10 мм вказували на відсутність чутливості мікроорганізму до досліджуваного препарату; зона затримки росту діаметром 10-15 мм вказувала на низьку чутливість культури до досліджуваної концентрації антибактеріальної речовини; зона затримки росту діаметром 15-25 мм розцінювалась як показник чутливості мікроорганізму до досліджуваної лікарської речовини; зона затримки росту більше 25 мм вказувала на високу чутливість мікроорганізму до досліджуваних препаратів [Волянський та ін., 2004, 2004; Наказ МОЗ України № 167 від 05.04.2007].

Статистичне опрацювання результатів здійснювали з використанням комп'ютерної програми STATISTICA 6.1.

### Результати. Обговорення

Діаметр зони затримки росту тест мікроорганізмів на тлі використання розчину ліастену різної концентрації не перевищував 14 мм, що вказувало на відсутність

або ж низьку антимікробну активність досліджуваної речовини. Дані результатів дослідження антимікробної активності мазей та їх комбінацій із Ліастеном наведено у таблиці 1.

Отримані дані вказують на різницю діаметру затримки росту мікроорганізмів у всіх дослідних групах в порівнянні з відповідною контрольною. При цьому визначення дозозалежності препарату ліастен та антимікробні властивості мазей дозволило встановити, що для левомеколя оптимальна концентрація цього імуностимулятора становить 0,00025 г на 20,0 г мазі. При цьому штамми мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 виявили статистично достовірно вищу ( $p > 0,05$ ) чутливість до цієї концентрації (зона затримки росту перевищувала 25 мм). Виключення становила лише *Candida albicans* ATCC 653/885, діаметр затримки росту якої не відрізнявся від контрольної групи. Збільшення чи зменшення вмісту імуномодулятора у мазі левомеколь супроводжувалось пригніченням антимікробних властивостей комбінації. Проведені подібні дослідження із маззю мірамістин підтвердили загальну концепцію впливу препарату ліастен на антимікробні властивості мазі. При цьому було встановле-

но, що штами *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та *Escherichia coli* ATCC 25922 проявляють високу чутливість до комбінації мірамистин-ліастен, де 20 г мазі містить 0,00025 г імунотропного препарату. Достовірно більшу затримку росту штамів *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 та *Proteus vulgaris* ATCC 4636 виявила комбінація із вмістом ліастену 0,0005 г на 20 г мазі.

Результати комбінування мазей інфларакс 20,0 г та нітацид 20,0 г із ліастеном у концентрації 0,002 г також характеризувались підвищенням антимікробної активності у порівнянні із контрольною групою. При цьому дослідження комбінації цього імуностимулятора із мазю нітацид встановило її низьку чутливість до штаму *Candida albicans* ATCC 653/885 (діаметр затримки росту

13,33±0,21), на відміну від просто мазі, до якої збудник виявився нечутливим (затримка росту менше 10 мм).

### Висновки та перспективи подальших розробок

1. Отримані результати вказують на дозозалежну потенціюючу антимікробну дію препарату ліастен на усі досліджувані зразки мазей на гідрофільній основі.

Наявна імуномодулююча дія препарату та його здатність підвищувати антимікробні властивості антибактеріальних засобів "in vitro" надає перспективу для подальших досліджень можливостей використання подібних комбінацій при лікуванні інфікованих ран в експерименті та клінічних умовах.

### Список літератури

- Бластен - новий вітчизняний імуномодулятор біологічного походження / В.С. Мосієнко, М. Д. Мосієнко, З. Д. Савцов [та ін.] // Журнал АМН України. - 1999. - Том 5. - № 1. - С. 79-86.
- Велігоцький М.М. Сучасні методи в лікуванні хворих з гнійними рановими процесами / М. М. Велігоцький, І. Є. Бугаков // Український журнал хірургії. - 2009. - № 1. - С. 22-23
- Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: метод, рекомендації: [наук. ред. Волянський, І. С. Гриценко, В. П. Широкобоков та ін.]. - Київ, 2004. - 38 с.
- Волянський Ю.Л. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів / Ю.Л. Волянський, І.С. Гриценко, В.П. Широкобоков: Метод, рекомендації. - Київ, 2004. - 38 с.
- Латюшина Л. С. Клинико-иммунологическая оценка локальной иммунорекции Ронколейкином в комплексном лечении больных с флегмонами челюстно-лицевой области / Л. С. Латюшина // Вестник новых медицинских технологий. - 2008. - Т. XV. - № 2. - С. 182-185.
- Наказ МОЗ України "Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів" від 05.04.2007 № 167.
- Никитин А. В. Роль иммуномодуляции в антибактериальной терапии / А. В. Никитина // Вопросы антибактериальной терапии инфекционных осложнений в неинфекционной клинике: всесоюзный семинар, 17-18 ноября 1987 г.: тез. докл. - Москва, 1987. - С. 145-146.
- Пастернак Ю.Б. Застосування мазей для місцевого лікування ран м'яких тканин / Ю. Б. Пастернак, М. С. Регада / Львівський мед. часопис. - 2007. - Т. XIII. - № 1-2. - С. 149-151.
- Перспективы использования микробных полисахаридов в профилактике и лечении раневой инфекции / И. Г. Перегудов, Н. П. Елинов, К. К. Зайцева [и др.] // Раны и раневая инфекция: II всесоюзная конф., 28-29 октября 1986 г.: тез. докл. - Москва, 1986. - С. 170-171.
- Спиридонова Т. Г. Консервативное лечение ожоговых ран / Т. Г. Спиридонова // Русский медицинский журнал. - 2001. - Т.9. - № 13. - С. 560-562.

**Желиба Н. Д., Чернопищук Р. Н., Бурковский Н. И., Осолодченко Т. П.**

### АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИАСТЕНА В КОМБИНАЦИИ С МАЗЯМИ НА ГИДРОФИЛЬНОЙ ОСНОВЕ

**Резюме.** Проведена оценка антимикробной активности гликопептида клеточной стенки молочнокислых бактерий - лиастена и его комбинации с мазями на гидрофильной основе "in vitro" показала, что сам лиастен не обладает выраженной антимикробной активностью. Однако использование определенных доз этого препарата в сочетании с мазями на гидрофильной основе значительно повышает антимикробную активность последних ко всем исследуемым штаммам микроорганизмов. Полученные результаты позволяют предположить перспективность использования таких комбинаций лекарственных средств при местном лечении гнойных ран.

**Ключевые слова:** лиастен, мази на гидрофильной основе, антимикробная активность.

**Zheliba M. D., Chornopyshchuk R. M., Burcovskiy M. I., Osolodchenko T. P.**

### ANTIMICROBIAL ACTIVITY LIASTENUM COMBINED WITH HYDROPHILIC OINTMENTS

**Summary.** The evaluation of the antimicrobial activity of the glycopeptide cell wall of lactic acid bacteria - Liasten and its combination with hydrophilic ointment on the basis of "in vitro" showed that the Liastenum itself doesn't have expressed antimicrobial activity. However, the use of certain doses of this medicine in combination with hydrophilic ointments greatly enhances the antimicrobial activity of the latter for all tested strains of microorganisms. These results suggest the use of such promising drug combinations in the topical treatment of purulent wounds.

**Key words:** Liastenum, hydrophilic ointments, antimicrobial activity.

Стаття надійшла до редакції 12.01..2015 р.

*Желиба Микола Дмитрович* - доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри загальної хірургії Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова; m.d.zheliba@rambler.ru

*Бурковський Микола Іванович* - кандидат медичних наук, доцент кафедри загальної хірургії Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова; burcov@gmail.com

*Осолодченко Тетяна Павлівна* - кандидат біологічних наук, завідувач лабораторії біохімії мікроорганізмів і поживних середовищ Інституту мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України; imitayana@mail.ru

*Чорнопищук Роман Миколайович* - магістрант кафедри загальної хірургії Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова; +38 097 212-89-63; ro\_man@mail.ru