

МЕТОДИКИ

DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2020-24(1)-22

УДК: 616.24-002.5-07:615.015.8:575.191.001.5.

ВПЛИВ АНТИМІКРОБНОЇ КОМПОЗИЦІЇ НА ОСНОВІ АЛЬГІНАТУ КАЛЬЦІЮ НА МУЗЕЙНІ ШТАМИ МІКРООРГАНІЗМІВ

Фаустова М.О.¹, Назарчук О. А.², Лобань Г.А.¹, Ананьєва М.М.¹, Коваленко С. В.², Превар С.А.², Мартинчук Н. О.³

¹Українська медична стоматологічна академія (вул. Шевченка, 23, м. Полтава, Україна, 36024)

²Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

³Клініка "Добробут" (вул. Татарська, 2е, м. Київ, Україна, 04107)

Відповідальний за листування:
e-mail: mashaustaova@ukr.net

Статтю отримано 16 грудня 2019 р.; прийнято до друку 17 січня 2020 р.

Анотація. В умовах розвитку антибіотикорезистентності пошук нових біологічно активних речовин для профілактики та лікування захворювань інфекційного характеру займає важливе місце серед фармацевтичних досліджень. Метою дослідження було вивчити вплив антимікробної композиції на основі альгінату кальцію на музейні штами мікроорганізмів. Для дослідження використовували стандартні штами *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*. Досліджувана протимікробна композиція містила декаметоксин (0,2-0,5%) та альгінат кальцію в якості плівкоутворювача. Дослідження чутливості музейних штамів мікроорганізмів проводили диско-дифузійним методом за загально-прийнятою методикою. Результат протимікробної активності оцінювали через 24 та 48 годин. Статистичний аналіз отриманих результатів здійснювали за допомогою стандартних пакетів програм "STATISTICA+" та "Microsoft Excel 2010". Встановлено, що протимікробна композиція на основі альгінату кальцію володіє вищою активністю щодо грампозитивних мікроорганізмів, порівняно з грамнегативним штамом. Протягом 24 год. композиція не поступається протимікробній дії розчину декаметоксину щодо всіх штамів мікроорганізмів. Більше того, через 48 год. інкубації досліджувана композиція зберігає протимікробну дію щодо музейних штамів мікроорганізмів.

Ключові слова: антимікробна композиція, декаметоксин, альгінат кальцію, антибіотикорезистентність.

Вступ

Зниження рівня інфекційних хвороб серед населення на сьогодні входить до вагомих завдань охорони здоров'я у всьому світі [8]. Однак, на шляху його вирішення постає вагомий проблема формування резистентності серед мікроорганізмів. Відповідно до Всесвітньої організації охорони здоров'я, стрімкий розвиток стійкості до антибіотиків, який спостерігають зараз, загрожує підірвати основи охорони здоров'я, зроблені медичною наукою протягом останніх десятиліть. Саме тому, антибіотикорезистентність оголошена однією з основних загроз людству і потребує негайного пошуку шляхів її ліквідації [5, 9].

У зв'язку з цим, в даний час пошук нових біологічно активних речовин як синтетичного, так і природного походження для профілактики та лікування захворювань інфекційного характеру займає важливе місце серед фармацевтичних досліджень [6, 7]. Останнім часом в якості ефективного місцевого протимікробного лікування та профілактики на перший план віднесено антисептичні засоби, оскільки антисептики володіють широким спектром дії, впливаючи на бактерії, гриби, найпростіші та віруси, не викликаючи при цьому сенсibilізації організму, та характеризуються низьким рівнем розвитку резистентності у бактерій [10].

Сучасний фармацевтичний ринок пропонує композиції, які містять в своєму складі протизапальні, антисептичні, знеболюючі, гормональні та ферментні препарати, які застосовують для лікування інфекційних захворювань слизових оболонок та шкіри у вигляді розчинів, лініментів та мазей [1]. Проте, не зважаючи на їх широ-

кий спектр, більшість композицій не задовольняють всіх вимог, що висувають до подібних препаратів, у повній мірі. Низька допоміжних речовин, що входять до складу композицій, всмоктуються слизовими оболонками, в шлунково-кишковому тракті та впливають на обмінні процеси організму, викликаючи побічні ефекти. Крім цього, низька ефективність застосування антисептиків у вигляді розчинів обумовлена їх короткочасною дією, особливо при місцевому лікуванні інфекційних захворювань слизових оболонок та шкіри [1]. Тому питання пошуку протимікробного засобу з широким спектром протимікробної активності та пролонгованою місцевою дією, який не чинить токсичного впливу на організм, залишається відкритим у перспективі пошуку нових засобів ефективного лікування інфекційних хвороб.

Мета - вивчити вплив антимікробної композиції на основі альгінату кальцію на музейні штами мікроорганізмів.

Матеріали та методи

Для дослідження використовували стандартні штами музею живих культур кафедри мікробіології, вірусології та імунології Української медичної стоматологічної академії (м. Полтава) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, отримані з ДУ "Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України" (м. Київ).

Досліджувана протимікробна композиція містила

декаметоксин (0,2-0,5%) та альгінат кальцію в якості плівкоутворювача. Диски, що використовували у дослідженні, одержували шляхом змішування компонентів при нагріванні на водяній бані з наступним охолодженням при кімнатній температурі у стерильному посуді у вигляді тонких пластин та нарізанням у вигляді дисків.

Дослідження чутливості музейних штамів мікроорганізмів проводили диско-дифузійним методом за загально-прийнятою методикою, відповідно до наказу МОЗ України за №167 від 05.04.2007 р. "Про затвердження методичних вказівок "Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів" [4]. Для культивування мікроорганізмів використовували м'ясо-пептонний агар (МПА) виробництва HIMEDIA, Індія. Для дослідження готували стандартний інокулюм, що відповідав 0,5 за стандартом МакФарланда (5×10^8 КУО/см³). На поверхню МПА з мікроорганізмом стерильним пінцетом проводили аплікацію дисків антимікробної композиції з наступною інкубацією при температурі 35° С протягом 24 год. Результати оцінювали у відбитому світлі шляхом вимірювання діаметрів зон затримки росту (ДЗЗР) мікроорганізмів навколо дисків з точністю до 1 мм. В якості контролю використовували стандартний паперовий диск, змочений розчином декаметоксину 0,2-0,5%.

Результат протимікробної активності оцінювали через 24 та 48 годин, при чому дослідження проводили не менше 10 разів щодо кожного із зазначених музейних штамів мікроорганізмів.

Статистичний аналіз отриманих результатів здійснювали за допомогою стандартних пакетів програм "STATISTICA+" та "Microsoft Excel 2010". Вираховували середню арифметичну (M), середню похибку середнього арифметичного ($\pm m$), критерій достовірності відмінностей (p). Наявність відмінностей між досліджуваними показниками оцінювали за t -критерієм Ст'юдента. Результати вважали достовірними при значеннях $p < 0,05$.

Результати. Обговорення

За результатами досліджень встановлено, що протимікробна композиція на основі альгінату кальцію проявляла варіабельну протимікробну активність щодо музейних штамів грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів. Так, дія зазначеної композиції щодо стафілококів та ентерококу значно перевищувала таку щодо шта-

му кишкової палички (табл. 1).

Результати отримані на першу добу інкубації вказували на подібну чутливість грампозитивних мікроорганізмів до досліджуваних протимікробних засобів. Однак, досліджувані препарати володіли низькою активністю щодо грамнегативного штаму *E. coli*. Варто зауважити, що протягом 24 год. протимікробна композиція на основі альгінату кальцію не поступалася протимікробній дії розчину декаметоксину щодо всіх штамів мікроорганізмів.

Проте, через 48 год. інкубації дія розчину декаметоксину, диск з яким використовували у якості контролю, була обмежена, власне, діаметром диску. Це вказувало на відсутність протимікробної активності розчину на другу добу культивування. Поряд з цим, ДЗЗР досліджуваних музейних штамів навколо дисків протимікробної композиції через 48 год. майже не зменшилися, порівняно з ДЗЗР на першу добу дослідження зазначених мікроорганізмів. У той же час, ДЗЗР *S. aureus* під дією протимікробної композиції на основі альгінату кальцію достовірно перевищував цей показник мікроорганізму навколо диску з розчином декаметоксину в 2,3 рази ($p < 0,05$). Подібну тенденцію прослідковували щодо впливу композиції на коагулазонегативний штам стафілококу. ДЗЗР *S. epidermidis* навколо диску протимікробної композиції у 2,1 рази перевищував ДЗЗР цього мікроорганізму в присутності розчину декаметоксину через 48 год. ($p < 0,05$).

Безперечно, позитивні властивості протимікробної композиції на основі альгінату кальцію полягають у її потужній протимікробній дії, що обумовлена активністю діючої речовини - декаметоксину. Адже він є катіонною поверхнево-активною сполукою, яка завдяки дифільній структурі молекули здатна змінювати поверхневий натяг бактеріальної клітини, сприяючи порушенню її осмотичної рівноваги з наступним розвитком "осмотичного шоку" та загибелі мікроорганізму. Це пояснює вплив досліджуваної композиції як на грампозитивні, так і грамнегативні музейні штами мікроорганізмів [2, 3].

Однак, введення альгінату кальцію до складу протимікробної композиції в якості плівкоутворювача сприяло пролонгації локальної протимікробної дії антисептика у місці експозиції. Це створює передумови вважати, що лікарська форма у вигляді антимікробної плівки збільшує тривалість контакту діючої речовини з біологічними поверхнями і перешкоджає швидкому знижен-

Таблиця 1. Чутливість штамів мікроорганізмів до антимікробної композиції на основі альгінату кальцію.

Види мікроорганізмів	Діаметр зони затримки росту мікроорганізмів, мм, $M \pm m$, $n=10$			
	24 год		48 год	
	Декаметоксин	Протимікробна композиція	Декаметоксин	Протимікробна композиція
<i>S. aureus</i>	16 $\pm$ 1,3	16 $\pm$ 1,0	7 $\pm$ 1,3	16 $\pm$ 1,2*
<i>S. epidermidis</i>	16 $\pm$ 1,1	18 $\pm$ 1,1	8 $\pm$ 1,2	17 $\pm$ 0,9*
<i>E. coli</i>	7 $\pm$ 1,0	9 $\pm$ 1,3	7 $\pm$ 1,1	7 $\pm$ 1,1
<i>E. faecalis</i>	11 $\pm$ 1,2	13 $\pm$ 1,5	7 $\pm$ 1,3	13 $\pm$ 1,3

Примітка. * - достовірність різниці результатів ДЗЗР мікроорганізму навколо диску протимікробної композиції до ДЗЗР навколо диску з розчином декаметоксину, $p < 0,05$.

ню концентрації антисептика та його елімінації в ділянці застосування. Таким чином, створюється, так зване "депо" декаметоксину, який чинить місцеву протимікробну дію протягом лікувальної експозиції плівки.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Протимікробна композиція на основі альгінату кальцію володіє вищою активністю щодо грампозитивних мікроорганізмів порівняно з грамнегативними бак-

теріями. Протягом 24 год. композиція не поступається протимікробній дії розчину декаметоксину щодо всіх штамів мікроорганізмів. Більше того, через 48 год. інкубації досліджувана композиція зберігає протимікробну дію щодо музейних штамів мікроорганізмів.

Перспективним у розширенні уявлень щодо антимікробних матеріалів пролонгованої дії на основі біополімерів і антисептика декаметоксину залишається поглиблене дослідження їх клінічної ефективності при місцевому лікуванні інфекційних процесів.

Список посилань

1. Mashkovskiy, D. M. (2008). *Лекарственные средства: пособие для врачей*. (15-е изд., перераб., испр. и доп.). Москва: Новая Волна.
2. Palij, V. G., Suhlyak, V. V., & Zaderey, N. V. (2014). Протимікробна дія антисептичних препаратів, антибіотиків на збудники запальних захворювань. *Biomedical and biosocial anthropology*, 22, 44-47.
3. Palij, G. K., Nazarchuk, O. A., & Kravchuk, P. O. (2014). Дослідження протимікробних властивостей засобу з декаметоксином. *Світ медицини та біології*, 2 (44), 146-148.
4. Про затвердження методичних вказівок "Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів": Наказ МОЗ України від 5 квіт. 2007 р. № 167. Взято з <http://www.moz.gov.ua>.
5. Свіжак, В. К., & Дейнека, С. Є. (2014). Антибіотикорезистентність: багатогранність проблеми. *Клінічна та експериментальна патологія*, 13 (2), 222-224.
6. Фаустова, М. О., Ананьева, М. М., & Басараб, Я. О. (2016). Бактерицидна та фунгіцидна активність екстракту протефлазиду щодо музейних штамів мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, *Escherichia coli* ATCC25922, *Streptococcus faecalis* ATCC 29212, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Candida albicans* ATCC 10231. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*, 16, 4 (56, 3), 72-74.
7. Ananieva, M. M., Faustova, M. O., Basarab, Ya. O., & Loban', G. A. (2017). Antimicrobial effect of proteflazid extract on microflora of peri-implant areas in infectious and inflammatory complications after dental implantation. *Запорожский медицинский журнал*, 19, 6 (105), 809-812.
8. Long, S. S., Prober, C. G., & Fischer, M. (2017). *Principles and practice of pediatric infectious diseases*. (5th ed.). Amsterdam, the Netherlands: Elsevier.
9. WHO (2018). Antimicrobial Resistance. Retrieved from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>.
10. World Health Organization. (2016). Global Guidelines for the Prevention of Surgical Site Infection. Geneva, Switzerland: WHO Press. ISBN 978 92 4 154988 2. Retrieved from <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/250680/9789241549882-eng.pdf;jsessionid=1F8A9546C46F1803027E22A3F82DBEE4?sequence=1>.
11. and biosocial anthropology, 22, 44-47.
12. Palij, G. K., Nazarchuk, O. A., & Kravchuk, P. O. (2014). Doslidzhennya protimikrobnih vlastivostej zasobu z dekametoksinom [Investigation of the antimicrobial properties of the agent with decamethoxin]. *Svit medicini ta biologiyi - The world of medicine and biology*, 2 (44), 146-148.
13. Pro zatverdzhennia metodichnykh vkazivok "Vyznachennia chutlyvosti mikroorhanizmiv do antybakterialnykh preparativ": Nakaz MOZ Ukrainy vid 5 kvit. 2007 r. № 167 [On approval of methodological guidelines "Determination of sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs": Order of the Ministry of Health of Ukraine of April 5. 2007 № 167]. Vziato z <http://www.moz.gov.ua>.
14. Svizhak, V. K., & Dejneka, S. Ye. (2014). Antibiotikorezistentnist: bagatogrannist problemi [Antibiotic resistance: a multifaceted problem]. *Klinichna ta eksperimentalna patologiya - Clinical and experimental pathology*, 13 (2), 222-224.
15. Faustova, M. O., Ananieva, M. M., & Basarab, Ya. O. (2016). Baktericidna ta fungicidna aktivnist yekstraktu proteflazidu shodo muzejnih shtamiv mikroorganizmiv *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, *Escherichia coli* ATCC25922, *Streptococcus faecalis* ATCC 29212, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Candida albicans* ATCC 10231 [Bactericidal and fungicidal activity of proteflazide extract against museum strains of microorganisms *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, *Escherichia coli* ATCC25922, *Streptococcus faecalis* ATCC 29212, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Candida albicans* ATCC 10231]. *Aktualni problemi suchasnoyi medicini: Visnik Ukrayinskoyi medichnoyi stomatologichnoyi akademiyi - Topical issues of modern medicine: Bulletin of the Ukrainian Medical Dental Academy*, 16, 4 (56, 3), 72-74.
16. Ananieva, M. M., Faustova, M. O., Basarab, Ya. O., & Loban', G. A. (2017). Antimicrobial effect of proteflazid extract on microflora of peri-implant areas in infectious and inflammatory complications after dental implantation. *Zaporozhskij medicinskij zhurnal - Zaporozhye medical journal*, 19, 6 (105), 809-812.
17. Long, S. S., Prober, C. G., & Fischer, M. (2017). *Principles and practice of pediatric infectious diseases*. (5th ed.). Amsterdam, the Netherlands: Elsevier.
18. WHO (2018). Antimicrobial Resistance. Retrieved from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>.
19. World Health Organization. (2016). Global Guidelines for the Prevention of Surgical Site Infection. Geneva, Switzerland: WHO Press. ISBN 978 92 4 154988 2. Retrieved from <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/250680/9789241549882-eng.pdf;jsessionid=1F8A9546C46F1803027E22A3F82DBEE4?sequence=1>.

References

1. Mashkovskiy, D. M. (2008). *Lekarstvennyye sredstva: posobie dlya vrachej*. (15-e izd., pererab., ispr. i dop.) [Medicines: a manual for doctors]. Moskva: Novaya Volna.
2. Palij, V. G., Suhlyak, V. V., & Zaderey, N. V. (2014). Protimikrobnaya diya antisepticheskikh preparatov, antibiotikov na zbudniki zapalnykh zahvoryuvan [Antimicrobial action of antiseptic drugs, antibiotics on agents of inflammatory diseases]. *Biomedical*