

УДК 579.842.11:579.84:615.454.1:615.33:616-001-092.9

Є. А. Штанюк

Харківський національний медичний університет, м. Харків

### ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИБАКТЕРІАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ МАЗЕЙ З ЛЕВОФЛОКСАЦИНОМ ТА ДЕКАМЕТОКСИНОМ ЩОДО КЛІНІЧНИХ ШТАМІВ – ЗБУДНИКІВ РАНОВИХ ІНФЕКЦІЙ

В досліджах *in vitro* методом дифузії в агар вивчено антибактеріальну дію мазей левофлоксацину 0,1 % та мазей декаметоксину 0,5 % на водорозчинній основі щодо стандартних та клінічних штамів *S. aureus*, *E. coli* та *P. aeruginosa*. Було доведено, що левофлоксацин у формі мазі на водорозчинній основі виявляється високоефективним відносно стандартних штамів *S. aureus*, *E. coli* та *P. aeruginosa*, а також клінічного штаму *S. aureus*, але малоефективним та неефективним відносно клінічних штамів грамнегативних бактерій *E. coli* та *P. aeruginosa* відповідно. Декаметоксин, диметилсульфоксид та динатрію едетат потенціюють антибактеріальну дію мазі левофлоксацину 0,1 % відносно стандартних та клінічних штамів стафілококу та кишкової палички. Ефективність мазі на водорозчинній основі, що містить 0,1 % левофлоксацину, 0,5 % декаметоксину, 10 % ДМСО та 0,5 % ДНЕ, відносно клінічних штамів синьогнійної палички, визначається головним чином декаметоксином, а зазначені бактерії залишаються нечутливими до левофлоксацину.

**Ключові слова:** левофлоксацин, декаметоксин, мазі, бактерії, антибактеріальна дія, зони затримки росту.

*Робота є фрагментом НДР «Експериментальне мікробіологічне обґрунтування протимікробної терапії гнійно-запальних захворювань», номер державної реєстрації: 0114U003390.*

Актуальною проблемою медицини залишається лікування хірургічних ран, ускладнених полірезистентними до антибіотиків штамми бактерій. Стійкість бактеріальної мікрофлори до антимікробних препаратів зростає з кожним роком і вимагає впровадження в медичну практику нових ефективних лікарських препаратів в раціональних лікарських формах [1, 2, 3, 7, 10, 17].

Розвиток резистентності до антимікробних препаратів у багатьох бактеріальних патогенів робить традиційну терапію малоефективною, а це, в свою чергу, призводить до того, що лікування інфекцій стає більш складним і найчастіше дорогим. У розвитку й поширенні резистентності відіграють роль три основні фактори: - мутації у звичайних генах, що є причиною розширення спектра резистентності, - передача резистентності генів від одних мікроорганізмів до інших, - посилення селективного тиску умов середовища в лікарнях і за їхніми межами, що призводить до активізації процесу розвитку резистентних мікроорганізмів [2, 10].

Незважаючи на постійну увагу до лікування хворих з важкими гнійними ускладненнями, частота хірургічної інфекції в загальній структурі хірургічних захворювань зберігається на рівні 35-45 %, причому частка госпітальних інфекцій досягає 12-22 %, а летальність – 25 % [3, 7]. За даними літератури [3, 7], основними збудниками гнійно-запальних захворювань є золотистий стафілокок, кишкова паличка та синьогнійна паличка.

Своєчасна хірургічна обробка рани в комбінації з правильно обраними препаратами для місцевої терапії дозволяє локалізувати та ліквідувати гнійний процес та уникнути генералізації інфекції. З огляду на полірезистентність клінічних штамів бактерій доцільно дослідити ефективність сучасних антибіотиків (наприклад, фторхінолонів), антисептиків та інших допоміжних речовин, що потенційно здатні подолати резистентність бактерій до цих антибіотиків [15, 19]. Вчені України проводять пошукові дослідження в цьому напрямі [11, 12, 14, 15, 18].

**Метою** роботи було дослідження дії мазей левофлоксацину та декаметоксину на водорозчинній основі відносно стандартних та клінічних штамів *S. aureus*, *E. coli* та *P. aeruginosa*.

**Матеріал та методи дослідження.** В експерименті були використані 10 зразків мазей на водорозчинній основі, до складу якої входили поллоксамер, поліетиленоксиди та пропіленгліколь. В мазі було введено 0,1 % левофлоксацину та / або 0,5 % декаметоксину. Крім того, деякі зразки мазей додатково містили 0,5 % комплексоутворювача динатрію едетату (ДНЕ), 10 % підсилювача проникнення диметилсульфоксиду (ДМСО) або N-метилпіролідону (НМП), або транскутолу (моноетилового ефіру діетиленгліколю – МЕД), 0,5 % катіонної поверхнево-активної речовини (ПАР) мірамістину або етонію, або 1 % аніонної ПАР натрію лаурилсульфату (НЛС). Склад кожної з мазей зазначений в таблицях 1 та 2.

Антибактеріальна дія мазей перевірялася на стандартних штаммах *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 та госпітальних полірезистентних штаммах: *S. aureus* № 910, резистентного до оксациліну (MRSA), ампіциліну, амоксициліну, доксицикліну, гентаміцину, амікацину, ципрофлоксацину, офлоксацину, левофлоксацину, цефазоліну, цефтриаксону, меропенему,

цефепіму; *E. coli* № 6, резистентного до ампіциліну, амоксициліну, доксицикліну, гентаміцину, ципрофлоксацину, офлоксацину, левофлоксацину, цефазоліну та цефтриаксону; *P. aeruginosa* №№ 16, 246, 252 – резистентних до ампіциліну, гентаміцину, амікацину, ванкоміцину, ципрофлоксацину, офлоксацину, левофлоксацину, цефтриаксону, меропенему та цефепіму; *P. aeruginosa* № 17, резистентного до всіх зазначених антибіотиків, крім амікацину (до нього штам малочутливий). Патогенні культури отримані з лабораторії клінічної патофізіології та клінічних лабораторних досліджень ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії НАМН України», експериментальні зразки мазей виготовлені в лабораторії технології та аналізу лікарських препаратів ДНУ «Науково-технологічний комплекс «Інститут монокристалів» Національної академії наук України». Виділення та ідентифікацію чистих культур бактерій здійснювали за загальноприйнятими методами [6, 9, 13], а визначення їх чутливості до антибіотиків – за диско-дифузійним методом [5]. Для дослідження антибактеріальної дії мазей використовували метод дифузії в агар (метод «колодязів») згідно з методичними рекомендаціями [4]. Кожне дослідження повторювали 6 разів.

Отримані результати аналізували за допомогою методів варіаційної статистики. Достовірність отриманих результатів визначали за критерієм Ст'юдента (при  $p < 0,05$ ) [8].

**Результати дослідження та їх обговорення.** Результати дослідження антибактеріальної дії мазей з левофлоксацином на клінічні штами грамнегативних бактерій *E. coli* № 6 та *P. aeruginosa* № 17 наведені в табл. 1. Штам *E. coli* № 6 виявився малочутливим до мазі левофлоксацину 0,1 % (зони затримки росту менше 15 мм). Додавання 0,5 % ДНЕ достовірно сприяє підвищенню зон затримки росту клінічного штаму *E. coli* № 6. Достовірне ( $p \leq 0,05$ ) збільшення діаметру зон затримки росту спостерігається також при додаванні до мазі 0,5 % ДНЕ в комбінації з підсилювачами проникнення (ДМСО, НМП та МЕД) та ПАР. Причому штам *E. coli* № 6, що був малочутливим до мазі левофлоксацину ( $D = 12,30$  мм), став чутливим до неї ( $D$  від 19,82 мм до 22,10 мм). Досліджувані мазі з левофлоксацином, що містили комбінації додаткових допоміжних речовин, за ефективністю антибактеріальної дії відносно клінічного штаму *E. coli* № 6 знаходяться приблизно на одному рівні (табл. 1).

Таблиця 1

**Зони затримки росту клінічних штамів грамнегативних бактерій мазями на водорозчинній основі, що містять 0.1 % левофлоксацину та деякі допоміжні речовини**

Додаткова допоміжна речовина в мазевій основі та її концентрація (% мас.)	Діаметри зон затримки росту, мм ( $M \pm m$ ) при $n = 6$ , $mm^2$	
	<i>E. coli</i> № 6	<i>P. aeruginosa</i> № 17
Тільки водорозчинна основа (ВО)	12.30±0.78	Зон немає
ВО + ДНЕ 0.5 %	19.82±0.73	13.13±0.89
ВО + ДНЕ 0.5 % + ДМСО 10 %	21.62±0.54	14.25±1.21
ВО + ДНЕ 0.5 % + НМП 10 %	20.15±0.62	14.25±0.73
ВО + ДНЕ 0.5 % + МЕД 10 %	20.78±0.93	14.73±0.85
ВО + ДНЕ 0.5 % + мірамістин 0.5 %	20.62±0.26	13.77±0.78
ВО + ДНЕ 0.5 % + ДМСО 10 % + мірамістин 0.5 %	21.80±0.89	15.50±1.04
ВО + ДНЕ 0.5 % + ДМСО 10 % + декаметоксин 0.5 %	21.50±0.43	18.78±0.44
ВО + ДНЕ 0.5 % + ДМСО 10 % + етоній 0,5 %	21.43±0.62	15.63±0.80
ВО + ДНЕ 0.5 % + ДМСО 10 % + НЛС 1 %	22.10±0.58	15.17±0.23

Штам *P. aeruginosa* № 17 виявився нечутливим до мазі левофлоксацину 0,1 % (зони затримки відсутні) (табл. 1). Додавання 0,5 % ДНЕ приводить до появи зон затримки росту клінічного штаму *P. aeruginosa* № 17. Досліджувані мазі з левофлоксацином, що містили комбінації додаткових допоміжних речовин також утворювали зони затримки росту клінічного штаму *P. aeruginosa* № 17, але діаметри цих зон знаходилися на рівні приблизно 14-15 мм (табл. 1), що свідчить про низьку ефективність антибактеріальної дії та малу чутливість клінічного штаму *P. aeruginosa* № 17. Лише один зразок мазі, що містив 0,1 % левофлоксацину, 0,5 % ДНЕ, 10 % ДМСО та 0,5 % декаметоксину, володіє ефективною дією (зони затримки росту штаму *P. aeruginosa* № 17 складають 18,78±0,44 мм).

В наступній серії експериментів було досліджено зразки мазей з декаметоксином та найкращого за результатами попереднього дослідження зразка мазі з левофлоксацином на стандартних та клінічних штаммах *S. aureus*, *E. coli* та *P. aeruginosa*. Мазі з декаметоксином діють ефективно на всі досліджувані стандартні та клінічні штами бактерій (зони затримки росту від 15,87 мм до 20,47 мм). Додаткові допоміжні речовини (ДНЕ та ДМСО) практично не впливали на

ефективність мазі декаметоксину 0,5 % по відношенню до всіх досліджуваних штамів бактерій (табл. 2). Високочутливими до мазі левофлораксацину 0,1 % виявилися стандартні штами бактерій *S. aureus*, *E. coli* та *P. aeruginosa*, а також клінічний штам *S. aureus* № 910 (діаметри зон затримки росту більше 25 мм) (табл. 2). Клінічний штам *E. coli* № 6 виявився малочутливим до мазі левофлораксацину 0,1 %, а три клінічних штами *P. aeruginosa* – нечутливими (табл. 2).

Таблиця 2

**Зони затримки росту стандартних та клінічних штамів *S. aureus*, *E. coli* та *P. aeruginosa* антибактеріальними мазями**

Тест-штам бактерій	Діаметри зон затримки росту, мм (M + m) при n = 6			
	Д*	Д**	Л*	Л**
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	20.32±0.91	20.03±0.42	27.32±0.53	30.47±0.90
<i>S. aureus</i> № 910	20.47±0.80	21.35±0.96	30.63±0.45	34.07±0.59
<i>E. coli</i> ATCC 25922	16.32±0.87	16.33±0.66	29.73±0.38	31.45±0.33
<i>E. coli</i> № 6	19.62±0.31	20.08±0.66	13.10±0.56	21.35±0.66
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	16.78±0.39	16.30±0.73	32.42±0.39	33.87±0.97
<i>P. aeruginosa</i> № 16	17.65±0.44	17.92±0.39	Зон немає	18.55±0.40
<i>P. aeruginosa</i> № 246	15.87±0.44	16.55±0.27	Зон немає	17.10±0.33
<i>P. aeruginosa</i> № 252	18.00±0.50	18.28±0.56	Зон немає	18.68±0.52

Примітка: Д\* – 0,5 % декаметоксину; Д\*\* – 0,5 % декаметоксину + 10 % ДМСО + 0,5 % ДНЕ; Л\* – 0,1 % левофлораксацину; Л\*\* – 0,1 % левофлораксацину + 0,5 % декаметоксину + 10 % ДМСО + 0,5 % ДНЕ.

Додавання до мазі левофлораксацину 0,1 % додаткових речовин (0,5 % декаметоксину, 10 % ДМСО та 0,5 % ДНЕ) достовірно (при  $p < 0,05$ ) підвищувала чутливість до неї стандартних штамів бактерій *S. aureus*, *E. coli* та *P. aeruginosa*, а також клінічних штамів *S. aureus* № 910 та *E. coli* № 6 (табл. 2). Клінічні штами *P. aeruginosa* також стали чутливими до мазі, але діаметри зон затримки їх росту маззю левофлораксацину 0,1 % вийшли приблизно на рівень діаметрів зон затримки їх росту маззю декаметоксину 0,5 %, що додатково містила 10 % ДМСО та 0,5 % ДНЕ (табл. 2).

Результати досліджень свідчать, що декаметоксин, ДМСО та ДНЕ потенціюють антибактеріальну дію мазі левофлораксацину 0,1 % відносно стандартних та клінічних штамів стафілококу та кишкової палички. Клінічні штами синьогнійної палички залишаються нечутливими до левофлораксацину у формі мазі на водорозчинній основі, а її ефективність до них визначається головним чином декаметоксином.

*Перспективи подальших досліджень:* вивчення антибактеріальної дії найбільш ефективних зразків мазей відносно полірезистентних збудників ранової інфекції.

### Висновки

1. Левофлораксацин у формі мазі на водорозчинній основі виявляється високоефективним відносно стандартних штамів *S. aureus*, *E. coli* та *P. aeruginosa*, а також клінічного штаму *S. aureus*, але малоефективним та неефективним відносно клінічних штамів грамнегативних бактерій *E. coli* та *P. aeruginosa* відповідно.
2. Декаметоксин, диметилсульфоксид та династрію едетат потенціюють антибактеріальну дію мазі левофлораксацину 0,1 % відносно стандартних та клінічних штамів стафілококу та кишкової палички.
3. Ефективність мазі на водорозчинній основі, що містить 0,1 % левофлораксацину, 0,5 % декаметоксину, 10 % ДМСО та 0,5 % ДНЕ, відносно клінічних штамів синьогнійної палички, визначається головним чином декаметоксином, а зазначені бактерії залишаються нечутливими до левофлораксацину.

### Список літератури

1. Abaev Yu. K. Problema infektsii v hirurgii / Yu. K. Abaev // Meditsinskie novosti. – 2010. – No. 5-6. – S. 6-11.
2. Blatun L. A. Mestnoe medikamentoznoe lechenie ran. Problemy i novyye vozmozhnosti ih resheniya / L. A. Blatun // Consilium Medicum. Hirurgiya. – 2007. – No 1. – S. 25-28.
3. Boyko V. V. Polirezistentnost mikroflory v hirurgicheskoy klinike / V. V. Boyko, V. K. Logachov, I. A. Krivoruchko [i dr.] // Harkivska hirurgichna shkola. – 2012. – No. 2 (53). – S. 72-73.
4. Volyanskiy Yu. L. Metodichni rekomendatsiyi po vivchennyu spetsifichnoyi aktivnosti protimikrobnih likarskikh zasobiv / Yu. L. Volyanskiy, I. S. Gritsenko, V. P. Shirobokov [ta in.] // – K., - 2004. – S. 21-22.
5. Vznachennya chutlivosti mikroorganizmiv do antibakterialnih preparativ: metodichni vkazivki, zatverdzeni MOZ Ukrainy vid 05.04.07. – Kyiv, - 2007. – 9 s.

6. Volyanskiy Yu.L. Biologicheskaya karakteristika i mikrobiologicheskaya identifikatsiya nefermentiruyuschih gramotri-tsatelnykh bakteriy: uchebnoe posobie / Yu.L. Volyanskiy, V.I. Chernyavskiy, S.V. Biryukova [i dr.] // Harkiv. - 2010. - 47 s.
7. Viltanyuk O. A. Karakteristika zbudnikov gniyno-zapalnih protsesiv myakih tkanin ta pislyaoperatsiynih gniynih uskladnen u hvorih zagalno-hirurgichnogo statsionaru / O. A. Viltanyuk, M. O. Hutoryanskiy // Harkivska hirurgichna shkola. - 2012. - No. 2 (53). - S. 84-88.
8. Glants S. Mediko-biologicheskaya statistika / S. Glants // - Moskva: - 1999. - 360 s.
9. Znamenskiy V. A. Metodicheskie rekomendatsii po mikrobiologicheskoy diagnostike i profilaktike stafilokokkovoy infektsii / V. A. Znamenskiy, N. V. Degtyar, S. N. Kuzminskiy [i dr.] // - Kyiv, - 1979. - 11 s
10. Lutsevich O. E. Sovremennyy vzglyad na patofiziologiyu i lechenie gnoynnykh ran / O. E. Lutsevich, O. B. Tamrazova, A. Yu. Shikunova [i dr.] // Hirurgiya. - 2011. - No. 5. - S. 72-77.
11. Lyapunov N. A. Poverhnostno-aktivnyie, kolloidno-mitsellyarnyie i antibakterialnyie svoystva nekotorykh kationnykh antiseptikov / N. A. Lyapunov, A. V. Purtov, E. V. Dunay // Farmatsiya. - 2013. - No. 4. - S. 44-47.
12. Moroz V. M. Dosyagnennya ta strategiya doslIdzhennya novih vItchiznyanih Ilkarskih antiseptichnih preparatIv / V. M. Moroz, G. K. Pally, Yu. L. Volyanskiy // Visnik Vinnitskogo derzh. med. un-tu. - 2000. - No. 2. - S. 260-264.
13. Metodicheskie ukazaniya po mikrobiologicheskoy diagnostike zaboлевaniy, vyzivyaemykh enterobakteriyami // Prikaz MZ SSSR ot 17.04.1984 No. 04-723/3-84. - 23 s.
14. Oliynyk A. P. Povyazka dlya profilaktiki gnoyno-septicheskikh oslozhneniy posleoperatsionnoy rany / A. P. Oliynyk, A. A. Pereyaslov // Infektsii v hirurgii. - 2014. - No. 2. - S. 45-47.
15. Paliy G. K. Mikrobiologichna karakteristika ftorhinoloniv ta antiseptikov / G. K. Paliy, V. M. Boyko // Visnik Vinnitskogo derzhavnogo medichnogo universitetu. - 2004. - T. 8, No. 2. - S. 445-448.
16. Popov D. A. Dioksidin - antimikrobnaya aktivnost i perspektivy klinicheskogo primeneniya na sovremennom etape / D. A. Popov, N. M. Anuchina, A. A. Terentev [i dr.] // Antibiotiki i himioterapiya. - 2013. - No. 3. - S. 37-42.
17. Sipliviy V. O. Polirezistentnist sered zbudnikov hirurgichnih infektsiy / V. O. Sipliviy, A. Ya. Tsiganenko, K. V. Kon [ta in.] // Harkivska hirurgichna shkola. - 2012. - No. 2 (53). - S. 80-83.
18. Shtanyuk E. A. Izuchenie antimikrobnoy aktivnosti mazey, sodержaschih dioksidin, na standartnykh shtammah osnovnykh vzbuditeley ranevoy infektsii / E. A. Shtanyuk, V. V. Minuhin, N. A. Lyapunov [i dr.] // Universum: Meditsina i farmakologiya. - 2014. - No. 5 (6).
19. Credito K. Activity of Levofloxacin alone and in combination with a dnak inhibitor against gram-negative rods, including levofloxacin-resistant strains / K. Credito, G. Lin, L. Koeth [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. - 2009. - № 53(2). - C. 814-817.

### Реферати

#### ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МАЗЕЙ С ЛЕВОФЛОКСАЦИН И ДЕКАМЕТОКСИНОМ КЛИНИЧЕСКОГО ШТАММОВ - ВОЗБУДИТЕЛЕЙ РАНЕВОЙ ИНФЕКЦИИ

Штанюк Е. А.

В опытах *in vitro* методом диффузии в агар изучено антибактериальное действие мазей левофлоксацина 0,1% и мазей декаметоксина 0,5% на водорастворимой основе на стандартных и клинических штаммах *S. aureus*, *E. coli* и *P. aeruginosa*. Было доказано, что левофлоксацин в форме мази на водорастворимой основе оказывается высокоэффективным относительно стандартных штаммов *S. aureus*, *E. coli* и *P. aeruginosa*, а также клинического штамма *S. aureus*, но малоэффективным и неэффективным в отношении клинических штаммов грамотрицательных бактерий *E. coli* и *P. aeruginosa* соответственно. Декаметоксин, диметилсульфоксид и трилон Б потенцирует антибактериальное действие мази левофлоксацина 0,1% относительно стандартных и клинических штаммов стафилококка и кишечной палочки. Эффективность мази на водорастворимой основе, содержащей 0,1% левофлоксацина, 0,5% декаметоксина, 10% ДМСО и 0,5% ДНЭ, относительно клинических штаммов синегнойной палочки, определяется главным образом декаметоксином, а указанные бактерии остаются нечувствительными к левофлоксацину.

**Ключевые слова:** левофлоксацин, декаметоксин, мази, бактерии, антибактериальное действие, зоны задержки роста.

Статья найдшла 20.05.2015 р.

#### ANALYSIS OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF OINTMENTS WITH LEVOFLOXACIN AND DECAMETOXINE ON CLINICAL STRAINS - AGENTS OF WOUND INFECTIONS

Shtanyuk YE. A.

In experiments *in vitro* method of diffusion in agar was studied antibacterial ointments levofloxacin 0.1% and ointments decamethoxine 0.5% based on the water-soluble on standard strains and clinical *S. aureus*, *E. coli* and *P. aeruginosa*. It was proved that a levofloxacin form water soluble ointment basis is relatively highly standard strains *S. aureus*, *E. coli* and *P. aeruginosa*, and *S. aureus* clinical strain, but inefficient and ineffective against clinical strains of Gram-negative bacteria *E. coli* and *P. aeruginosa*, respectively. Decamethoxin, dimethyl sulfoxide and Trilon B potentiates the antibacterial ointment levofloxacin 0.1% relative to the standard and clinical strains of *Staphylococcus* and *E. coli*. The effectiveness of a water soluble ointment base containing 0.1% Levofloxacin 0.5% decamethoxine, 10% DMSO and 0.5% DNE regarding clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, is mainly determined by decamethoxin and said bacteria are insensitive to levofloxacin.

**Key words:** levofloxacin, decamethoxine, ointments, bacteria, antibacterial action, growth retardation zone.

Рецензент Бобирьов В.М.