

УДК 615.28:615.453.42

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИБАКТЕРІАЛЬНОЇ
АКТИВНОСТІ КОМБІНОВАНИХ
ПРЕПАРАТІВ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ВАГІНОЗІВ
РІЗНОЇ ЕТІОЛОГІЇ

Бобрицька Л. О.¹, Осолодченко Т. П.,²
Рубан О. А.¹

¹Національний фармацевтичний університет, м. Харків

²ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова Національної академії медичних наук України»

Дослідженнями останніх років встановлено, що при патологічних станах, що супроводжуються порушенням вагінальної мікрофлори, спостерігається різке підвищення кількості умовно-патогенних неспоруютьовуючих мікроорганізмів, зокрема *Gardnerella vaginalis*, *Fusobacterium spp.*, *Prevotella melaninogenica*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus*

epidermidis, *Candida albicans*, при вираженому зниженні кількості лактобактерій. Такий патологічний синдром прийнято позначати як бактеріальний вагіноз (БВ), що характеризується заміщенням лактобацил вагінальної флори умовно-патогенними аеробними та анаеробними мікроорганізмами. Частота виникнення бактеріального вагінозу в структурі запальних захворювань становить від 30 % до 80 %. Бактеріальний вагіноз може викликатись й мікст-інфекціями, які обумовлені не тільки бактеріями (гонорея, шанкроїд, сифіліс, донованоз, мікоплазменна інфекція та ін), а вірусами (цитомегаловірус, віруси герпесу, Епштейна-Барр, гепатиту, СНІДу, папіломавірус), хламідіями, найпростішими (трихомоніаз), грибами (рис. 1).

Поряд з іншими захворюваннями нижніх відділів статевих шляхів бактеріальний вагіноз є серйозною медико-соціальною проблемою [1-10].

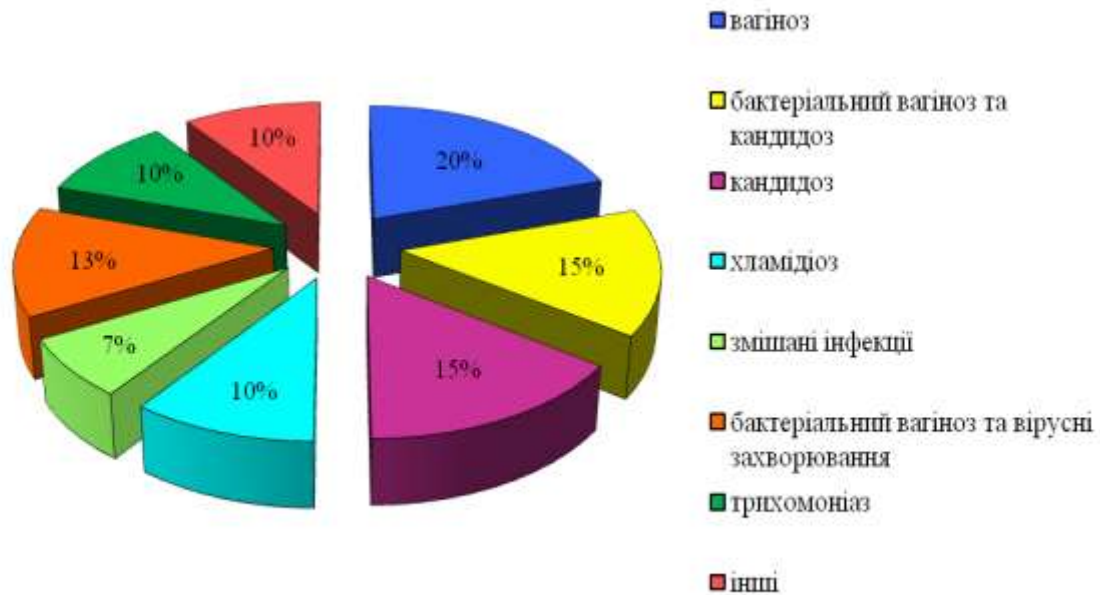


Рис. 1. Відносна поширеність різних типів вагінозів

Для лікування поєднаних інфекційно-запальних захворювань (мікст-інфекцій) в організмі людини запропоновано комбінований лікарський препарат у формі капсул з фламідом та орнідазолом [11].

Клініко-патогенетичний перебіг інфекційно-запальних захворювань патофізіологічно визначає виникнення процесу запалення, фармакотерапія якого обумовлює комплексне використання антимікробних, протизапальних і інших препаратів, які б сприяли ефективному лікуванню та запобіганню подальшого розвитку захворювання.

Найбільш ефективним за протизапальними властивостями, відносно біофармацевтичною сумісністю для організму, поширеністю клінічного використання визнано натрію диклофенак, який за

хімічним складом представляє натрієву сіль 2-[(2,6-дихлорфеніл)-аміно]-фенолоцтової кислоти. Встановлено, що саме завдяки вміщенню 2 атомів хлору та залишку фенолоцтової кислоти натрію диклофенак виявляє досить широкий спектр бактерицидних властивостей відносно *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* і *Pseudomonas aeruginosa* у концентраційних межах 70,4- 131,4 мкг/мл [12]. Цей виявлений потенціал було враховано при комплексній схемі сумісного клінічного використання з антибіотиками, а саме, з офлоксацином [12].

Мета роботи полягала у вивченні антибактеріальної активності комбінованих препаратів на клінічні штами мікроорганізмів, що були виділені від хворих з бактеріальним вагінозом.

Матеріали та методи

Вивчення антибактеріальних властивостей комбінованих препаратів проводили в лабораторії біохімії мікроорганізмів та поживних середовищ ДУ «ІМІ НАМН».

Для встановлення раціонального складу фармацевтичної композиції було виготовлено зразки капсул наступних складів:

1. склад капсул № 1: орнідазолу 0,3 г, фламину 0,05 г

2. склад капсул № 2: орнідазолу 0,5 г, фламину 0,05 г.

Об'єктом дослідження були штами мікроорганізмів, які отримані з нативного патологічного матеріалу (слизова оболонка вагіни). Під спостереженням знаходилось 52 жінки, у яких був поставлений діагноз бактеріальний вагіноз. Матеріал відбирали в гінекологічному відділенні медичного центру «Сввіва» стерильними тампонами одноразового призначення та протягом 2,0-2,5 годин доставляли в лабораторію. Матеріал розсівався на середовища:

1. поживний агар з додаванням 5 % дефібринованої крові
2. середовище Ендо
3. середовище Сабуро
4. середовище Чистовича
5. середовище для лактобактерій
6. тіогликолеве середовище.

Ідентифікацію виділених культур проводили відповідно до нормативної документації [13].

Для вирощування анаеробних коків *Peptostreptococcus anaerobius* *Peptococcus sp niger* у тіогликолеве середовище додавали 1,5 мкг/мл налідіксової кислоти і 100 мг/л канаміцину.

Для вирощування мікроорганізмів *Prevotella spp.* в тіогликолеве середовище додавали 100 мг/л канаміцину, фітоменадіона (вітамін К1) 1,5 мг/л, геміну 10 мг/л.

Для вирощування мікроорганізмів *Fusobacterium necrophorum* у тіогликолеве середовище додавали 100 мг/л канаміцину, фітоменадіона (вітамін К1) 1,5 мг/л, геміну 10 мг/л і розчин діамантової зелені - 0,0002 % [14].

Для визначення антибактеріальної активності мікробне навантаження становило 10^8 мікробних клітин на мл середовища. Приготування суспензії з певною концентрацією мікроорганізмів проводили з використанням приладу Densi-La-Meter (виробництва PLIVA-Lachema, Чехія; довжина хвилі 540 нм). Суспензію готували згідно інструкції до приладу та інформаційного листа № 163-2006 "Стандартизація приготування мікробних суспензій", м. Київ [15].

Посіви культивували 48-72 години. Крім того використовували комерційні пакети Anaerobe supplement (виробництво Франції) для редукції середовища.

За методом дифузії в агар в модифікації «колодязів» проводили визначення антибактеріальної активності [11].

Визначення статистичної достовірності результатів експериментів проводили за ДФУ (1-е вид., доп. 1, С. 187). Обробку експериментальних даних проводили за допомогою методів математичної статистики з використанням прикладних комп'ютерних програм STATISTIKA 6.0 та MS EXCEL 7.0.

Результати та їх обговорення

В результаті досліджень у хворих на бактеріальний вагіноз із патологічного матеріалу було виділено 94 штами мікроорганізмів (табл. 1). У 47 жінок мікрофлора була виділена в асоціації. Найбільша частка належала *Staphylococcus aureus* (9,6 %), *Escherichia coli* (12,8 %), *Klebsiella pneumoniae* (13,8 %), *Klebsiella mobilis* (9,6 %), *Candida albicans* (19,2 %). Частка анаеробних мікроорганізмів склала 20,1 %.

Таблиця 1 - Вміст мікрофлори слизової оболонки вагіни

Штами мікроорганізмів	Кількість мікроорганізмів	
	абсолютна	відносна, %
<i>Staphylococcus aureus</i> №5	9	9,6
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6	6,4
<i>Streptococcus agalactiae</i> № 6	8	8,5
<i>Escherichia coli</i> № 7	12	12,8
<i>Klebsiella pneumoniae</i> № 8	13	13,8
<i>Klebsiella mobilis</i>	9	9,6
<i>Candida albicans</i> № 9	18	19,2
<i>Peptococcus niger</i> № 1	4	4,2
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> № 13	6	6,4
<i>Prevotella melaninogenica</i> № 97	5	5,3
<i>Fusobacterium spp</i> № 22	4	4,2
Всього	94	100

Всі виділені клінічні штами мікроорганізмів від хворих з бактеріальним вагінозом були досліджені на чутливість до комбінованого препарату в формі капсул з орнідазолом та фламінном (табл. 2).

Як видно з табл. 2, капсули двох складів характеризуються антимікробною дією відносно клінічних штамів анаеробних та аеробних бактерій та грибів.

Таблиця 2 Антимікробна активність вмісту капсул клінічних штамів мікроорганізмів

Штами мікроорганізмів	Діаметри зон затримки росту мікроорганізмів, мм (n=5, M± m)		Визначення МПК, мкг/мл	
	вміст капсул № 1	вміст капсул № 2	орнідазол	фламін
<i>Staphylococcus aureus</i> №5	21,5±1,3	22,3±1,2	200,3±10,4	250,3±11,2
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	23,5±1,8	24,2±1,5	x	x
<i>Streptococcus agalactiae</i> № 6	19,4±0,7	18,5±1,2	x	x
<i>Escherichia coli</i> № 7	15,2±0,6	15,8±1,2	400,2±16,4	450,5±19,4
<i>Klebsiella pneumoniae</i> № 8	16,2±0,9	16,7±1,2	x	x
<i>Klebsiella mobilis</i>	14,2±0,9	15,7±0,5	x	x
<i>Candida albicans</i> № 9	14,5±0,4	14,7±0,5	400,2±11,4	350,3±12,3
<i>Peptococcus niger</i> № 1	23,4±1,2	24,6±1,5	7,3±1,3	8,3±2,3
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> № 13	20,2±0,9	22,3±1,2	x	x
<i>Prevotella melaninogenica</i> № 97	19,6±0,8	21,3±1,2	x	x
<i>Fusobacterium spp</i> № 22	18,7±0,6	20,3±0,4	x	x

Примітка: x – дослідження по визначенню МПК не проводили

Отримані результати показують, що композиція капсул складу № 1, які містять 0,3 г орнідазолу, проявляє таку ж антимікробну активність відносно анаеробних та аеробних бактерій та грибів, як і вміст капсул складу № 2, які містять 0,5 г орнідазолу. Аналіз отриманих у мікробіологічному дослідженні результатів дозволяє зробити висновок, що рослинна субстанція фламіну, в поєднанні з орнідазолом, з терапевтичною дозою 0,3 г, розширює спектр їх антибактеріальної дії до аеробних бактерій та грибів за рахунок власних антибактеріальних властивостей та синергізму.

Найбільшу чутливість до препаратів виявили клінічні тест-штами мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus* №5 (клінічний), *S.epidermidis*, *Peptococcus niger* (діаметр зони затримки росту складає 21,5-23,5 мм).

Враховуючи результати досліджень антимікробної активності вмісту капсул на клінічні штами мікроорганізмів, обрано склад капсул № 1 (орнідазолу 300 мг, фламіну 50 мг) під умовною назвою «Мерафлам».

Результати значень антимікробної активності комбінації натрію диклофенаку з офлоксацином наведені в табл. 3.

Таблиця 3 Антимікробна активність комбінації натрію диклофенаку з офлоксацином

Штами мікроорганізмів	Діаметри зон затримки росту мікроорганізмів, мм (n=5, M± m)	
	офлоксацин 0,2 г	натрію диклофенак 0,05 г + офлоксацин 0,2 г
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	30,5±2,3	34,5±1,5
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	29,0±1,5	35,0±1,3
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	31,0±1,3	34,0±2,3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	24,0±1,7	26,0±1,7
<i>Klebsiella mobilis</i> 772 (клінічний)	30,0±2,1	35,0±1,6
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (клінічний)	29,5±1,2	34,5±2,3

За результатами досліджень по оцінюванню діаметру зони затримки росту мікроорганізмів (табл. 3) встановлено, що комбінація офлоксацину з натрію диклофенаком проявляє більш достатню виражену антимікробну активність, при порівнянні цих значень для офлоксацину, за рахунок антимікробних властивостей, що притаманні для

натрію диклофенаку як дихлорвміщуючій речовині серед групи препаратів НПЗЗ (нестероїдних протизапальних засобів). Таким чином, з фармакологічної точки зору, натрію диклофенак може бути охарактеризований як препарат, що у своїй активності принципово поєднує протизапальні і антимікробні властивості.

Висновки

1. Комбінований препарат в капсулах з орнідазолом та фламінном під умовною назвою «Мерафлам» володіє антимікробною активністю відносно анаеробних, аеробних бактерій та грибів на клінічні штами мікроорганізмів, що були виділені від хворих з бактеріальним вагінозом.
2. Експериментально обґрунтована терапевтична доза орнідазолу 0,3 г у комбінації з фламінном 0,05 г, що поліпшує переносимість та розширює спектр антибактеріальної дії препарату.
3. Мікробіологічно обґрунтовано антибактеріальну комбінацію натрію диклофенаку з офлоксацином по відношенню до широкого спектру мікроорганізмів різних таксонометричних груп та запропоновано для лікування бактеріальних вагінозів різної етіології.

References

1. Tiberal in the treatment of bacterial vaginosis (pharmaceutical company F. Hoffmann-La Roche Ltd, Switzerland) . Information for health care professionals [Electronic resource]. - Access mode: <http://medi.ru/doc/2250102/htm>
2. Current approaches to the treatment of trichomoniasis in women / V. K. Chaika, O.N. Rogovaia, G.M. Adamova [et al.] // Women's doctor. - 2006. - № 2. - P. 9-15 .
3. Use of the "tiberal" in bacterial vaginosis. Information for health care professionals [Electronic resource]. - Access mode: http://roche.com.ua/press_biblio_tiberal_07.shtml
4. Gomberg, M. A. Infection of the vagina: view of venereologist. Treatment of trichomoniasis and bacterial vaginosis: problems and solutions [Electronic resource] / M. A. Gomberg , K. Plahova // Consilium-Medicum. - 2005. - V.7, № 3. - Access mode: http://media/consilium/05_03/210.shtml
5. Tikhomirov, A. L. Vulvovaginal candidiasis: a modern view of the problem / A.L. Tikhomirov, Ch.G. Oleinik // Farmatec. - 2003. - № 9. - P. 24 - 29.
6. Drug "Tiberal" in the treatment of bacterial vaginosis [Electronic resource] / V.N. Prilepskaya, A.S. Ancyра, V.V. Muraveva [et al.] // Gynecology. - 2006. - V. 8, № 4. - Access mode: www.consilium-medicum.com/article/7827
7. Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivation-independent methods / X. Zhou, SJ Bent S.J., M.G. Schneider [et al.] // Microbiology. - 2004. - V.150. - P. 2565-2573.
8. Clinical and cervical cytokine response to treatment with oral or vaginal metronidazole for bacterial vaginosis during pregnancy / M.H. Yudin, D.V. Landers, L. Meyn [et al.] // Obstet. & Gynecol. 2003 . - V. 102, № 3. - P. 527-534.
9. Ivanyuta, S.O. Tiberal for fighting with resistance during trichomoniasis treatment in women [Electronic resource] / S.O. Ivanyuta // Women's Health. - 2005. - № 2. - Access mode: http://roche.com.ua/press_biblio_tiberal_10.shtml
10. Ryzhko, P.P. The modern principles of integrated

treatment of trichomonas and chlamydial infection / P.P. Ryzhko // Women's doctor. - 2008. - № 3. - P. 26 - 30.

11. Antibacterial properties of pharmaceutical compositions with ornidazole and flamini [Electronic resource] / Bobritskaya L.A., Ruban H.A., Osolodchenko T.P., Shcherbak O.N., Dmitrievskiy D.I. // Annals of Mechnikov Institute. - 2013. - № 1. - P. 27 - 31. - Access mode: www.imiamn.org.ua / journal.htm
12. Filimonova, N. I. Microbiological substantiation of effective combined use of glucocorticoids and nonsteroid anti-inflammatory drugs with antibiotics : Thesis for . Sciences : special. 03.00.07 " microbiology" / N.I. Filimonova. - Kharkiv, 2003. - 39 p.
13. The Order of USSR Ministry of Health, 22.04.1985 About unification of microbiological (bacteriological) research methods that are used in clinical diagnostic laboratories of medical institutions [Electronic resource]. - Access mode: zakon.law7.ru/legal2/se4/pravo4231/page12.htm
14. Biryukova, S.V. The laboratory diagnostics of pyoinflammatory diseases caused by asporogenic anaerobic microorganisms : guideline / S.V. Biryukova, Yu. L. Volyansky, I.Yu. Kuchma. - Kharkiv , 2000 . - 38 p.
15. Standardization of microbial suspension / Yu. L. Volyansky, L. G. Myronenko, S.V. Kalinichenko [et al.] // Information letter about innovation in health care system, № 163. - 2006, Ministry of Health Ukraine ; Ukrainian center of scientific-medical information, patent and license works (Ukrmedpatentinform).

УДК 615.28:615.453.42

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИБАКТЕРІАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ КОМБІНОВАНИХ ПРЕПАРАТІВ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ВАГІНОЗІВ РІЗНОЇ ЕТІОЛОГІЇ

Бобрицька Л.О., Осолодченко Т.П., Рубан О.А.

Встановлено антимікробну активність комбінованого препарату в капсулах «Мерафлам» на клінічні штами мікроорганізмів, що були виділені від хворих з бактеріальним вагінозом.

Експериментально обґрунтована терапевтична доза орнідазолу 0,3 г у комбінації з фламінном 0,05 г, що поліпшує переносимість та розширює спектр антибактеріальної дії препарату. З врахуванням антимікробного потенціалу натрію диклофенаку запропоновано комбінацію його з офлоксацином для застосування у комплексній схемі лікування інфекційно-запальних захворювань, в тому числі бактеріальних вагінозів.

Ключові слова: антибактеріальні препарати, капсули, орнідазол, фламін, натрію диклофенак

УДК 615.28:615.453.42

ИССЛЕДОВАНИЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КОМБИНИРОВАННЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВАГИНОЗОВ РАЗНОЙ ЭТИОЛОГИИ

Бобрицкая Л.А., Осолодченко Т.П., Рубан Е.А.

Установлена антимикробная активность комбинированного препарата в капсулах

«Мерафлам» на клинические штаммы микроорганизмов, выделенных от больных с бактериальным вагинозом. Экспериментально обоснована терапевтическая доза орнидазола 0,3 г в комбинации с фламином 0,05 г, которая улучшает переносимость и расширяет спектр антибактериального действия препарата. С учетом антимикробного потенциала натрия диклофенака предложена его комбинация с офлоксацином для применения в комплексной схеме лечения инфекционно-воспалительных заболеваний, в том числе бактериального вагиноза.

Ключевые слова: антибактериальные препараты, капсулы, орнидазол, фламин, натрия диклофенак

УДК 615.28:615.453.42

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF COMBINATION DRUGS FOR TREATING VAGINOSIS DIFFERENT ETIOLOGIES

Bobritskaya L.A., Osolodchenko T.P., Ruban E.A.

Investigated the antimicrobial activity of the combination preparation in capsules "Meraflam" clinical of microbial strains isolated from patients with bacterial vaginosis. Experimentally proved the therapeutic dose of 0.3 g ornidazole in combination with Flamini 0.05 g, improve tolerability and expand the range of antibacterial action of the drug. In view of the antimicrobial capacity of diclofenac sodium from the combination of ofloxacin proposed for use in an integrated circuit - inflammatory treatment of infectious diseases, including bacterial vaginosis.

Key words: antibacterials preparations, capsule, ornidazole, flamini, diclofenac sodium