

Мельник А.Ю.

студентка,

Київський національний університет імені Тараса Шевченка,
ННЦ «Інститут біології та медицини»

АНТИБІОПЛІВКОВА АКТИВНІСТЬ АНТИФУНГАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ

В теперішній час доведено, що більшість хронічних захворювань, зумовлених мікроорганізмами, спричинені мікробними асоціаціями – біоплівками. Біоплівки здатні спричинити хронічний трахеїт, бронхопневмонію, ускладнюють перебіг муковісцидозу, спричиняють хронічний простати, пієлонефрит, рецидивуючий цистит та ін. Доведено, що урогенітальні інфекції займають 40% усіх нозокоміальних інфекцій, а 80% нозокоміальних урогенітальних інфекцій пов'язані з катетер-асоційованими інфекціями [1, с. 116]. Експериментально встановлено, що колонізація катетера та формування біоплівки, як на його поверхні, так і у просвіті, спостерігається вже впродовж перших днів після його установки. Відомо, що на катетерах, встановлених на термін до 10-ти днів, біоплівки утворюються у більшості випадків на зовнішній поверхні катетера, при більш тривалому використанні (10–30 днів) – в його просвіті [2, с. 13–16].

Сучасні наукові розробки дозволили дослідити вплив хімічних матеріалів та поверхонь, що використовуються при виготовленні урологічних катетерів, на перетікання катетер-асоційованих інфекцій. На сьогоднішній день доведена клінічна ефективність та безпечність гідрогелевого покриття з оксидом срібла на поверхні урологічних катетерів при короткочасній катетеризації. Також ефективність *in vitro* досліджена для методу попередньої обробки антимікробними препаратами поверхні катетерів або використання шару (наприклад ліпосом) з діючою речовиною, що здатна поступово вивільнятися. Такі способи попередження контамінації катетерів ефективні для запобігання адгезії та формування мікробних біоплівок [3, с. 796]. У повній мірі на сьогодні не досліджено антибіоплівкову активність офіційальних лікарських засобів.

Метою роботи було оцінити вплив полієнів та азолів на відносно біоплівок *Candida glabrata*.

Дослідження проведені з використанням 1-добової культури клінічного штаму *C. glabrata* 404, резистентного до дії флуконазолу, кетоконазолу, клотримазолу, ітраконазолу, тербінафіну та помірночутливого до дії амфотерицину В.

Специфічну активність досліджуваних офіційальних препаратів (ністатину, амфотерицину В, ітраконазолу та кетоконазолу) оцінювали за мінімальною інгібуючою концентрацією (МІК), яку визначали методом серійних розведень у рідкому поживному середовищу (Сабуро) [4, с. 18–19].

Експерименти щодо здатності грибів до плівкоутворення на катетерах здійснювали на урогенітальних катетерах із полівінілхлоридного матеріалу виробництва ТОВ «Допомога-1», Україна (розмір 16). Концентрації препаратів становили 5,0 МІК. Здатність препаратів попереджувати плівкоутворення вивчали за умови попередньої обробки катетерів розчинами сполук протягом 24 год при 37 °С. Для оцінки їх впливу на сформовані на катетерах біоплівки розчини вносили через 24 год після інокуляції катетерів. Вміст катетерів видаляли, тричі промивали дистильованою водою, вносили 0,1 % розчин генціанвіолету з подальшим екстрагуванням етанолом. Вимірювання оптичної щільності проводили на “Adsorbance Microplate Reader ELx×800” (BioTek, США) при довжині хвилі 630 нм. Контролем слугували інтактні культури мікроорганізмів, вирощені за тих самих умов без додавання розчинів сполук або препаратів.

Робота виконана на базі ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» (лабораторія фармакології протимікробних засобів, керівник – д.мед.н. Вринчану Н.О).

Для оцінки результатів досліджень та встановлення відмінностей були використані критерії Краскела-Уолеса та Ньюмена-Кейлса. Статистичну обробку проводили за допомогою комп'ютерної програми “Statistica 6.0” (StatSoft. Inc., USA) [5, с. 408].

Результати щодо впливу антифунгальних препаратів на плівкоутворення *C. glabrata* 404 (катетерна модель) за умови попередньої обробки наведено на рис. 1.

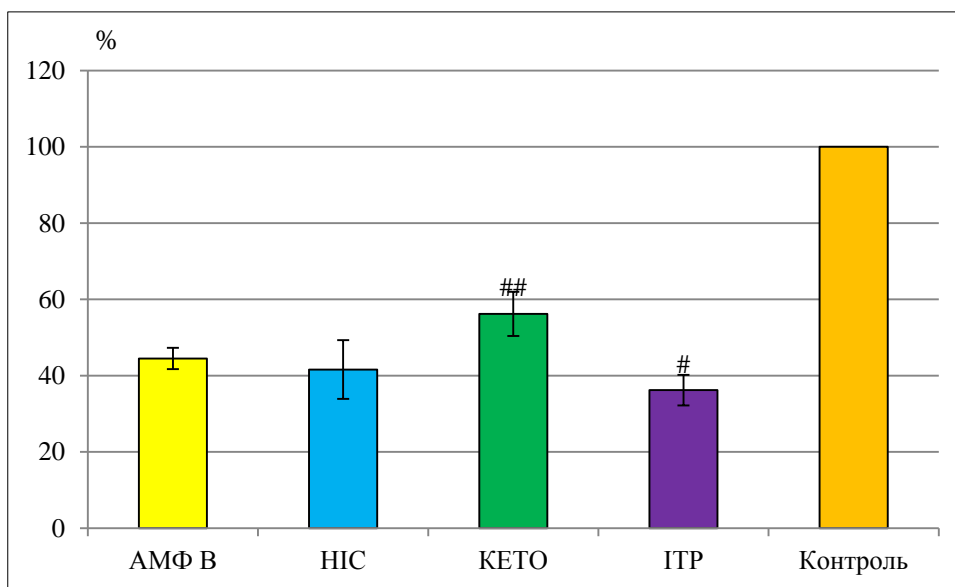


Рис. 1. Вплив сполук з адамантильним та N-алкіларильним радикалом на формування біоплівки *C. glabrata* 404 у катетері (% утвореної біоплівки відносно інтактного контролю)

Примітка. АМФ В – амфотерицин В, НІС – ністатин, ІТР – ітраконазол, КЕТО – кетоконазол; # – відмінності вірогідні по відношенню до кетоконазолу ($P < 0,05$), ## – $P < 0,05$ відмінності вірогідні по відношенню до ітраконазолу ($P < 0,05$).

Джерело: розроблено автором.

Експериментами встановлено (рис. 1), що попередня обробка поліуретанових катетерів розчинами препаратів призводить до пригнічення плівкоутворення *C. glabrata* 404, ступінь інгібування утворення біоплівки становить для ітраконазолу – 63,8%, ністатину – 58,4%, амфотерицину В – 55,5%, кетоконазолу – 43,8%.

Наступним етапом було дослідити вплив антифунгальних засобів на 1-добові біоплівки, сформовані у катетерах з полівінілхлориду.

Результати досліджень наведено на рис. 2.

Результати досліджень (рис. 2) показали, що виражену активність по відношенню до 1-добової біоплівки *C. glabrata* 404 виявили ністатин та амфотерицин В, ступінь руйнування біоплівки становить 54,3% та 70,9% відповідно. Встановлено, що ітраконазол та кетоконазол стимулюють плівкоутворення (біомаса зростає на 162,3% та 21% відповідно у порівнянні з контролем).

Отримані дані свідчать про необхідність детального дослідження впливу антифунгальних препаратів на сформовані біоплівки для визначення доцільності їх застосування при хронічних мікотичних інфекціях.

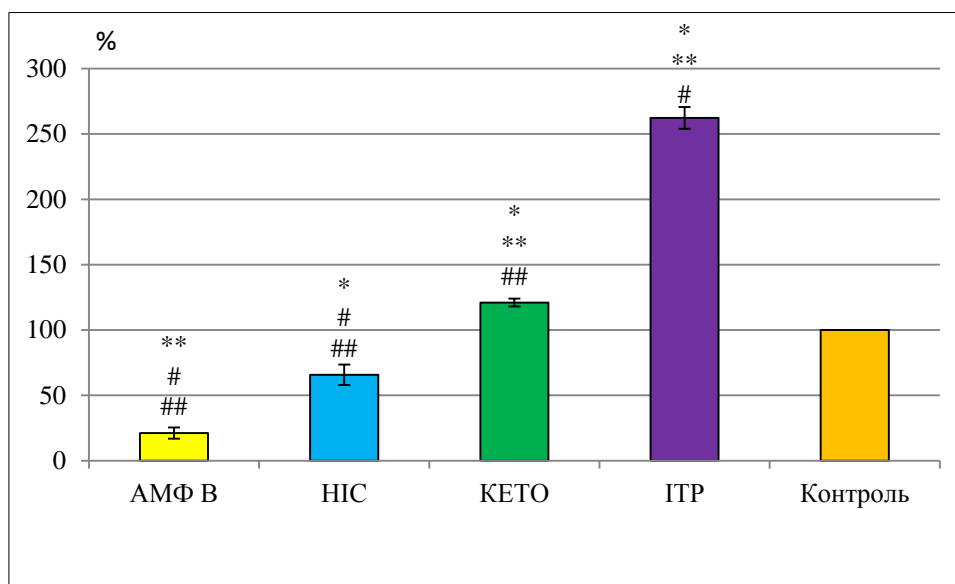


Рис. 2. Руйнування біоплівки *S. glabrata* 404, сформованої у катетерах, у присутності досліджуваних препаратів (% біоплівки відносно інтактного контролю)

Примітка. АМФ В – амфотерицин В, НІС – ністатин, ІТР – ітраконазол, КЕТО – кетоконазол; * – відмінності вірогідні по відношенню до амфотерицину В ($P < 0,05$), ** – відмінності вірогідні по відношенню до ністатину ($P < 0,05$), # – відмінності вірогідні по відношенню до ітраконазолу ($P < 0,05$), ## – $P < 0,05$ відмінності вірогідні по відношенню до кетоконазолу ($P < 0,05$).

Джерело: розроблено автором.

Список використаних джерел:

1. Systematic review: antimicrobial urinary catheters to prevent catheter-associated urinary tract infection in hospitalized patients / Johnson JR, Kuskowski MA, Wilt TJ. // *Ann Intern Med.* – 2006. – V. 144. – P. 116–126.
2. Недашківська В.В. Біоплівки та їх роль в інфекційних захворюваннях / В.В. Недашківська, М.Л. Дронова, Н.О. Вринчану // *Український науково-медичний молодіжний журнал.* – 2016. – № 4 (98). – С. 10–18.
3. Antimicrobial and antifouling efficacy of urinary catheters impregnated with a combination of macrolide and fluoroquinolone antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa* / Hina Saini, Sanjay Chhibber, Kusum. // *Biofouling.* - V.32 № 5. – 2016. – P. 795–2016
4. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: методичні рекомендації / МОЗ України; уклад.: Ю.Л. Волянський, І.С. Гриценко, В.П. Ширококов [та ін.] – Київ, 2004. – 38 с.
5. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – Киев: Морион, 2001. – 408 с.