

Key words: ointments, ofloxacin, levofloxacin, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*.

Стаття надійшла до редакції 18.11.2013р.

Штанюк Євгенія Анатоліївна - аспірант кафедри мікробіології, вірусології та імунології Харківського національного медичного університету; +38 050 947-31-30

Мінухін Валерій Володимирович - д. мед. н., професор, зав. кафедрою мікробіології, вірусології та імунології; +38 099 274-57-46

Ляпунов Микола Олександрович - д. фарм. н., провідний науковий співробітник лабораторії технології та аналізу лікарських препаратів ДНУ "Науково-технологічний комплекс "Інститут монокристалів" Національної академії наук України"; +38 067 578-35-77

Лисокобилка Олексій Андрійович - молодший науковий співробітник лабораторії технології та аналізу лікарських препаратів ДНУ "Науково-технологічний комплекс "Інститут монокристалів" Національної академії наук України"; +38 097 219-12-12

© Мінухін В.В., Коваленко Н.І., Ткаченко В.Л., Замазій Т.М., Гвоздецька А.-В.А., Коваленко Ю.Д.

УДК: 579.8: 615.281:615.33:616.24-002.363

Мінухін В.В., Коваленко Н.І., Ткаченко В.Л., Замазій Т.М., Гвоздецька А.-В.А., Коваленко Ю.Д.

Харківський національний медичний університет, кафедра мікробіології, вірусології та імунології (пр. Леніна, 4, м. Харків, Україна, 61022)

КОМБІНОВАНА ДІЯ ЕФІРНОЇ ОЛІЇ МАНУКИ З АНТИБІОТИКАМИ ПО ВІДНОШЕННЮ ДО ЗБУДНИКІВ ІНФЕКЦІЙ ВЕРХНІХ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ В ДОСЛІДАХ IN VITRO

Резюме. На підставі дослідження було виявлено синергізм протимікробної дії олії мануки та низки антибіотиків по відношенню до умовно-патогенних мікроорганізмів - збудників інфекційних захворювань верхніх дихальних шляхів. Найефективнішими були її комбінації з азитроміцином, доксицикліном, цефоперазоном та цефотаксимом.

Ключові слова: ефірна олія мануки, антибіотики, інфекції дихальних шляхів.

Вступ

Інфекції дихальних шляхів залишаються однією з важливих проблем сучасної медицини, що пов'язано з високим рівнем захворюваності як дітей, так і дорослих, частими ускладненнями і значними економічними збитками [Андреева, Стецюк, 2009]. Фарингіти і тонзиліти є найбільш поширеними захворюваннями верхніх дихальних шляхів у всіх вікових групах [Дуда, Бойко, 2012].

При виборі тактики антимікробної терапії необхідно враховувати не тільки спектр вірогідних збудників, але й тенденції формування резистентності провідних етіологічних агентів до антибіотиків, тому що в останній час спостереження свідчать про появу резистентності до кожного нового препарату приблизно через 5 років його інтенсивного застосування в клінічних умовах [Вісох, 2009].

Застосування антимікробних композицій, які містять препарати з різним механізмом дії, є пріоритетним напрямком пошуку нових шляхів впливу на мікроорганізми з метою попередження формування антибіотико-резистентності. Враховуючи синергічну антимікробну дію антисептиків, антибіотиків та ефірних олій на збудники бактеріальних інфекцій слизових оболонок, а також позитивний місцевий протизапальний ефект, доцільна подальша розробка комбінованих антимікробних лікувально-профілактичних препаратів [Вовк, Прокопчук, 2013; Гребова и др., 2013].

Одним із таких препаратів є ефірна олія мануки (*Leptospermum scoparium*) із Нової Зеландії, яка ефективна проти широкого спектру бактерій, має виражені антивірусні, протигрибкові властивості та не викликає виникнення резистентності мікроорганізмів [www.aromajournal.com].

Метою роботи було вивчення ефективності комбінованого застосування ефірної олії мануки та антибіотиків по відношенню до збудників інфекційних захворювань верхніх дихальних шляхів в дослідних *in vitro*.

Матеріали та методи

В якості тест-культур використовували стандартні штами мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 5505, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Proteus vulgaris* XZ 4636, *Proteus mirabilis* ГІСК 160208, *Candida albicans* ВКПГу 401/НСТС 885-653, а також клінічні штами, виділені від хворих, які знаходилися на стаціонарному лікуванні в комунальному підприємстві охорони здоров'я "Харківська міська клінічна лікарня № 30".

Антибактеріальну та протигрибкову активність ефірної олії мануки у дослідних *in vitro* вивчали методами серійних розведень та дифузії в агар відповідно до Наказу МОЗ України № 167 від 05.04.2007 та рекомендацій міжнародного комітету клінічних лабораторних

стандартів [NCCLS, 2002].

При визначенні МПК олії мануки у зв'язку з нерозчинністю у воді використовували 5% Твін 80 для її перетворення в емульсію, яка змішується з водними розчинами. Концентрація олії мануки варіювала від 0,02 до 9,6 об'єм. проц. Мікробне навантаження становило біля 10^7 КУО/мл.

Для вивчення сумісної дії олії мануки й антибіотиків використовували метод дифузії в агар. Концентрація олії мануки в агарі становила 70 мкг/мл або 0,007 об'єм. проц., а мікробне навантаження - $2 \cdot 10^9$ КУО/мл.

Обробка результатів досліджень проводилась за допомогою методу варіаційної статистики [Гланц, 1999].

Результати. Обговорення

Дослідження антибактеріальної та протигрибкової активності олії мануки методом серійних розведень та методом дифузії в агар показало, що як грамположитивні, так і грамнегативні бактерії, а також гриби роду *Candida* виявили чутливість до даної речовини (табл. 1). Причому, як стандартні, так і клінічні штами грамположитивних бактерій були чутливі до значно нижчих МПК (від 0,02 до 0,16 об'єм. проц.), ніж грамнегативні бактерії. Серед останніх найчутливішими виявилися стандартні штами *E. coli* ATCC 24923 та *P. aeruginosa* ATCC 27853 з МПК 2,56 об'єм. проц. Інші досліджені стандартні та клінічні штами синьогнійної палички, клебсієли та протей мали чутливість до МПК 5,12 об'єм. проц. Стандартний штам *C. albicans* характеризувався чутливістю до МПК 0,64 об'єм. проц.

Отримані нами дані по різниці чутливості до ефірних олій у грамположитивних і грамнегативних бактерій в цілому співпадають з даними, описаними в роботі [Reichling et al., 2009]. Інші автори [Бондаренко и др., 1975] відмічають, що із 700 видів вивчених ними лікарських рослин більше 80 % видів продукують речовини, активні по відношенню до грамположитивних бактерій, і тільки у 2 % досліджених видів рослин виявлені інгібітори грамнегативних бактерій. Специфіка дії ефірних олій на мікроорганізми може зумовлюватися як фізіологією самих мікробних клітин, так і різним хімічним складом олій.

При патології органів дихання та ЛОР-органів широко використовуються ефірні олії чайного дерева, чебрецю, евкаліпту, лаванди, бергамота, що обумовлено, зокрема, їх противірусною, бактерицидною, фунгіцидною, протизапальною дією [Вовк, Прокопчук, 2013; Гребова и др., 2013].

Відомо також, що ефірні олії та антибіотики проявляють синергізм у вигляді потенціювання ефектів протимікробної дії. Так, доведено, що ефірні олії базилика та монарди підвищують ефективність деяких антибіотиків, наприклад, стрептоміцину та еритроміцину в 4-10 разів [Николаевский, 2009].

Незважаючи на високі протимікробні властивості олії мануки, доцільне подальше вивчення можливості

Таблиця 1. Протимікробна активність олії мануки по відношенню до стандартних та клінічних штамів мікроорганізмів.

Вид мікроорганізмів	МПК, об'єм. проц.		Діаметр зон затримки росту, мм
	Власні результати	За даними літератури [www.manuka-oil.com]	
Стандартні штами			
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	0,08	0,078	33±1,2
<i>S. epidermidis</i> ATCC 14990	0,08	0,078	30±1,2
<i>E. coli</i> ATCC 25922	2,56	2,5	12±0,6
<i>K. pneumoniae</i> NCTC 5055	5,12	5,0	12±0,6
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	2,56	2,5	0
<i>P. vulgaris</i> XZ 4636	5,12	5,0	14±0,8
<i>P. mirabilis</i> FICK160208	5,12	-	15±0,6
<i>C. albicans</i> NCTC 885-653	0,64	0,625	15±0,6
Клінічні штами			
<i>S. aureus</i> 155	0,16	-	31±1,8
<i>S. aureus</i> 74	0,16	-	29±1,4
<i>S. epidermidis</i> 85	0,16	-	28±1,8
<i>S. epidermidis</i> 143	0,16	-	24±0,8
<i>E. coli</i> 68	5,12	-	12±0,6
<i>K. pneumoniae</i> 112	5,12	-	12±0,6
<i>P. vulgaris</i> 94	5,12	-	19±0,6
<i>P. aeruginosa</i> 56	5,12	-	0

підвищення її активності, насамперед шляхом введення антибіотиків до складу препаратів на основі олії мануки. З цієї метою нами оцінювалася можливість сумісного використання олії мануки і деяких антибіотиків. Результати дослідження наведені в табл. 2.

По відношенню до *S. aureus* установлено синергізм дії олії мануки з азитроміцином, цефуроксимом та цефоперазоном. Достовірне підвищення активності цефоперазону виявлено щодо всіх досліджених штамів, крім *P. vulgaris* і *P. mirabilis*. Олія мануки потенціює також дію цефотаксиму по відношенню до всіх досліджених грамнегативних мікроорганізмів. Доксидиклін і офлоксацин були ефективнішими в комбінації з олією мануки щодо *E. coli*, *K. pneumoniae* та *P. vulgaris*. Синергізм дії спостерігався при комбінації амікацину з олією мануки щодо *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* та *P. vulgaris*. Ефективною була також комбінація азитроміцину з олією мануки по відношенню до *P. aeruginosa*, *P. vulgaris* та *P. mirabilis*.

Таким чином, одержані результати свідчать про те, що ефірна олія мануки проявляє синергізм дії з низкою антибіотиків по відношенню до грамположитивних і грамнегативних збудників інфекцій верхніх дихальних шляхів, її комбінації з азитроміцином, доксицикліном,

Таблиця 2. Антибактеріальна активність олії мануки в комбінації з антибіотиками по відношенню до стандартних штамів мікроорганізмів за даними методу дифузії в агар (діаметри зон затримки росту, мм).

Вид мікроорганізму	Показники	Препарат									
		Азитроміцин	Амікацин	Доксициклін	Офлоксацин	Цефазолін	Цефуроксим	Цефоперазон	Цефотаксим	Кліндаміциг	Фузидин
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	К	21±1,5	15±1,0	25±1,5	21±1,5	26±0,6	8±1,5	18±0,6	8±1,0	16±1,5	24±1,0
	Д	25±0,6*	17±0,6	29±0,6*	22±0,6	26±0,6	12±0,6*	21±0,6*	10±0,6	20±0,6*	30±1,0*
<i>E. coli</i> ATCC 25922	К	20±0,6	15±1,5	13±0,6	27±1,0	15±0,6	0	20±0,6	15±0,6	0	0
	Д	21±0,6	15±0,6	20±0,6*	30±1,0*	15±0,6	0	25±1,5*	20±0,6*	0	0
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 5055	К	8±1,0	13±1,5	7±0,6	30±0,6	0	6±1,0	6±0,6	11±1,5	0	0
	Д	10±0,6	17±1,5*	10±0,6*	30±0,6	0	7±1,0	12±1,1*	20±0,6*	0	0
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	К	20±0,6	15±1,5	0	18±1,0	0	0	13±1,0	0	0	0
	Д	25±1,0*	17±0,6	0	20±1,0	0	0	16±1,0*	7±1,0*	0	0
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	К	16±1,5	18±1,0	9±0,6	20±0,6	0	0	15±0,6	0	0	0
	Д	20±0,6*	20±0,6	9±1,5	21±0,6	0	0	20±1,0*	0	0	0
<i>P. vulgaris</i> XZ 4636	К	0	11±1,1	0	26±0,6	0	0	11±1,0	16±0,6	0	0
	Д	13±1,0*	14±0,6*	12±1,0*	30±0,6*	0	0	13±1,0	20±0,6*	0	0
<i>P. mirabilis</i> 160208	К	20±0,6	12±0,6	10±0,6	25±0,6	0	7±0,6	16±0,6	15±0,6	0	0
	Д	20±1,1	15±0,6*	10±1,0	26±0,6	0	7±1,1	16±0,6	20±0,6*	0	0

Примітка: К (контроль) - активність антибіотиків; Д (дослід) - активність комбінації антибіотиків з олією мануки; * - $p < 0,05$.

цефоперазоном та цефотаксимом можуть бути рекомендовані для подальшого вивчення в якості компонентів лікарських форм для лікування місцевих інфекційних процесів.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Олія мануки високоактивна щодо грампозитивних бактерій та грибів роду *Candida* і має помірну активність щодо грамнегативних факультативно-анаеробних бактерій.

2. Олія мануки потенціює протимікробні властивості низки антибіотиків, а саме азитроміцину, цефуроксиму, цефоперазону, доксицикліну по відношенню до грампозитивних і грамнегативних збудників інфекцій дихальних шляхів.

У зв'язку з вираженим посиленням дії антибіотиків на умовно-патогенні мікроорганізми олія мануки може бути рекомендована не тільки як самостійний лікарський препарат, а і як базовий компонент для створення нових лікарських засобів, які можуть знайти використання для лікування ряду асоційованих інфекцій.

Список літератури

- Андреева И.В. Инфекции дыхательных путей: новый взгляд на старые проблемы / И.В. Андреева, О.У. Стецюк // Клини. Микробиол. Антимикроб. Химиотер. - 2009. - Т. 11, № 2. - С. 143-151.
- Вовк І.М. Мікробіологічне обґрунтування комбінованого застосування ефірних олій та декаметоксину для лікування запальних процесів слизової оболонки / І.М. Вовк, З.М. Прокочук // Мат. XIII з'їзду товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського, 1-6 жовт. 2013р. Ялта, 2013. - С. 235.
- Гланц С. Медико-біологічна статистика / С. Гланц. - М.: Медицина, 1999. - 363 с.
- Гребова Л.П. Профилактика и комплексная терапия ОРВИ: эффективность ингаляционного воздействия натуральных эфирных масел / Л.П. Гребова, Г.А. Бесараб, Е.И. Лобанова // Болезни органов дыхания. - 2013. - № 1. Режим доступа: <http://com-med.ru/magazines/respiratory/213618/213615/>.
- Дуда А.К. Острый тонзиллофарингит в клинической практике семейного врача / А.К. Дуда, В.А. Бойко // Семейная медицина. - 2012. - № 3. - С. 69-75.
- Изучение антибиотических свойств некоторых лекарственных растений / А.С. Бондаренко, Б.Е. Айзенман, Д.Г. Затула [и др.] // Фитонциды. Экспериментальные исследования, вопросы теории и практики. - К.: Наук. думка, 1975. - С. 85-89.
- Манука (Лептоспермум метельчатый). Режим доступа: <http://www.aroma-journal.com/efir/manuka.htm>.
- Наказ МОЗ України № 167 від 05.04.07. Про затвердження методичних вказівок "Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів". - К., 2007. - 52 с.
- Николаевский В.В. Ароматерапия: Справочник / В.В. Николаевский. - М.: Медицина, 2009. - 197 с.
- Essential oils of aromatic plants with antibacterial, antifungal, antiviral, and cytotoxic properties / J. Reichling, P. Schnitzler, U. Suschke et al. // Forsch Komplementmed. - 2009. - Vol. 16, № 2. - P. 79-90.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twelfth Informational Supplement NCCLS Document M 100. - 54. 2002. - Vol. 22, № 1.
- Tairawhiti manuka oil. Режим доступа:

<http://www.manuka-oil.com/antimicro.html> Wilcox M.H. The tide of antimicrobial resistance and selection / M.H. Wilcox

// Int. J. Antimicrob. Agents. - 2009. - № 34. - P. 6-10.

Минухін В.В., Коваленко Н.И., Ткаченко В.Л., Замазий Т.Н., Гвоздецька А.-В.А., Коваленко Ю.Д.
КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭФИРНОГО МАСЛА МАНУКИ С АНТИБИОТИКАМИ В ОТНОШЕНИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИЙ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ В ОПЫТАХ IN VITRO

Резюме. На основании исследования был обнаружен синергизм противомикробного действия масла мануки и ряда антибиотиков в отношении условно-патогенных микроорганизмов - возбудителей инфекционных заболеваний верхних дыхательных путей. Наиболее эффективными были её комбинации с азитромицином, доксициклином, цефоперазоном и цефотаксимом.

Ключевые слова: эфирное масло мануки, антибиотики, инфекции дыхательных путей.

Minukhin V.V., Kovalenko N.I., Tkachenko V.L., Zamazii T.M., Gvozdetska A.-V.A., Kovalenko Yu.D.
COMBINED ACTION OF MANUKA ESSENTIAL OIL WITH ANTIBIOTICS AGAINST CAUSATIVE AGENTS OF UPPER RESPIRATORY TRACT INFECTIONS IN EXPERIMENTS IN VITRO

Summary. The synergy of antibacterial action of manuka oil and some antibiotics against opportunistic pathogens - causative agents of upper respiratory tract infections was found in the experiment. The most effective was its combination with azithromycin, doxycycline, cefoperazone and cefotaxime.

Key words: manuka essential oil, antibiotics, respiratory tract infections.

Стаття надійшла до редакції 7.10.2013 р.

Минухін Валерій Володимирович - кафедра мікробіології, вірусології та імунології ХНМУ, завідувач кафедри, д.мед.н., професор

Коваленко Наталія Іллівна - кафедра мікробіології, вірусології та імунології ХНМУ, доцент кафедри, к.біол.н., доцент

Ткаченко Вікторія Леонідівна - кафедра мікробіології, вірусології та імунології ХНМУ, доцент кафедри, к.мед.н., доцент

Замазий Тетяна Миколаївна - кафедра мікробіології, вірусології та імунології ХНМУ, доцент кафедри, к.мед.н.

Гвоздецька Анна-Вікторія Андріївна - студентка 2 курсу 6 групи 1 медичного факультету

Коваленко Юлія Дмитрівна - студентка 2 курсу 6 групи 1 медичного факультету

© Богомольний Б.Р., Барзинський В.П., Гридїна Т.Л., Федчук А.С. А., Лозицький В.П., Мудрик Л.М., Шитікова Л.І., Сочесло Л.В.

УДК: 615.8 + 616-03

Богомольний Б.Р.¹, Барзинський В.П.¹, Гридїна Т.Л.², Федчук А.С. А.², Лозицький В.П.², Мудрик Л.М.², Шитікова Л.І.², Сочесло Л.В.²

¹Корпорація "Інформаційна медицина", Київ; ²ДУ "Український науково-дослідний протичумний інститут ім. І.І. Мечнікова" МОЗ України (Одеса, вул. Церковна 2/4, 65003)

ВПЛИВ ЕЛЕКТРОМАГНІТНИМИ ПОЛЯМИ "КСК-БАРС" НА ЗБУДНИКІВ ІНФЕКЦІЙНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

Резюме. Вплив за допомогою "КСК-БАРС" електромагнітними полями надмалої потужності в діапазоні наддовгих хвиль призводив до гальмування росту/репродукції досліджуваних штамів мікроорганізмів і вірусів *in vitro* та в організмі людини. Отримані дані показали перспективність подальших досліджень щодо вивчення цих механізмів, а також в розробці підходів терапії інфекційних захворювань за допомогою описаних методів.

Ключові слова: збудники інфекційних захворювань, "КСК-БАРС", вплив полями надмалої потужності в діапазоні частот наддовгих хвиль.

Вступ

Вплив електромагнітних коливань полів (ЕМП) на живі організми на сьогоднішній день посідає важливе місце серед досліджуваних проблем біології, медицини та суміжних наук. ЕМП в усіх частотних діапазонах тією чи іншою мірою впливають на живі організми. В літературних джерелах описано вплив на різні фізіологічні процеси та властивості мікроорганізмів: клітинне розділення, морфологічні ознаки, швидкість росту, вихід біомаси, ферментативну активність та ін. [Бауер и др., 1989; Баранский и др., 2007; Ковальова, 2009; Ковалева, 2009; Gretz, 1989; Kudo Kozo et al., 1993]. При цьому зазвичай використовували сигнал певної визначеної частоти. Були певні частоти, при яких

ріст мікроорганізмів пригнічувався повністю, включаючи загибель колоній, в інших випадках спостерігалось стимулювання росту. Цей процес погано регулюється у зв'язку з дією ряду факторів (частота сигналу, температурний режим, фаза росту мікроорганізмів і т.ін.).

При цьому використовувався, зазвичай, сигнал певної частоти. При таких частотах ріст мікроорганізмів пригнічується повністю, навіть до загибелі колоній, в інших - стимулюється. Цей процес погано регулюється у зв'язку з впливом множини факторів (частота сигналів, температурний режим, фаза росту мікроорганізмів і т.ін.) [Алавердян и др., 1996; Матрончик и