

ХАРАКТЕРИСТИКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* И *CANDIDA ALBICANS* К ПРОТИВОМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ И КОЛЛОИДНОМУ СЕРЕБРУ

И.А. Афонина, Л.А. Краева, Г.Я. Ценева

ФГУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Роспотребнадзора, Санкт-Петербург

Резюме. Частое использование антибиотических препаратов приводит к увеличению резистентности среди микроорганизмов. Использование нетоксичных концентраций раствора коллоидного серебра в комплексе с противомикробными препаратами может позволить снизить концентрации используемых антибиотиков, сохраняя необходимый противомикробный эффект. По действию на *Staphylococcus aureus* бактерицидная активность комплекса коллоидного серебра с единичной концентрацией неомицина превышает бактерицидный эффект от удвоенной концентрации антибиотика. Фунгицидный эффект от сочетания противогрибковых препаратов с раствором коллоидного серебра на культуру *Candida albicans* равен фунгицидному эффекту от двойной концентрации противогрибковых средств.

Ключевые слова: коллоидное серебро, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, противомикробные препараты.

CHARACTERISTIC OF SENSITIVITY OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AND *CANDIDA ALBICANS* TO ANTIBACTERIAL PREPARATIONS AND COLLOIDAL SILVER

Afonina I.A., Kraeva L.A., Tseneva G.Y.

Abstract. Constant use of antibiotics leads to reliable increasing of resistance among microorganisms. Using non-toxic concentrations of colloidal silver in combination with antimicrobial agents can reduce using concentrations of antibiotics, kept necessary antimicrobial effect. In case of *Staphylococcus aureus* bactericidal activity of the complex of colloidal silver with unit concentration of neomycin is bigger than the bactericidal effect of double concentration of the antibiotic. Fungicidal effect of combination of antifungal agents with a solution of the colloidal silver on *Candida albicans* is equal to fungicidal effect of double concentration of antifungal drugs. (*Infekc. immun.*, 2011, vol. 1, N 2, p. 177–180)

Key words: colloidal silver, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, antimicrobial drugs.

Введение

Несмотря на эффективность применения антибиотиков при лечении инфекционных заболеваний, существует ряд факторов их негативного влияния на организм человека. Известно, что применение антибиотиков способствует повышению резистентности микроорганизмов

к используемым антибактериальным препаратам. В результате этого возрастает риск распространения устойчивых бактерий в популяции, что требует в последующем использования антибиотиков второй линии [8]. Таким образом, возрастает актуальность проблемы резистентности микроорганизмов. В ряде публикаций подчеркивается важность правильного приме-

поступила в редакцию 09.03.2011
отправлена на доработку 10.03.2011
принята к печати 12.03.2011

© Афонина И.А., Краева Л.А.,
Ценева Г.Я., 2011

Адрес для переписки:

Краева Людмила Александровна,
к.м.н., старший научный сотрудник
лаборатории бактериальных каплевых
инфекций ФГУН НИИЭМ имени Пастера
Роспотребнадзора

197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФГУН НИИЭМ имени Пастера
Роспотребнадзора.
Тел.: (812) 498-09-39 (служебн.).
E-mail: tsenevapasteur@yandex.ru

нения антибиотиков при лечении инфекционных заболеваний и снижения их необоснованного использования [3, 6].

По данным ряда авторов альтернативой некоторым антибиотикам и дополнением к ним может служить коллоидное серебро (КС), которое не приводит к развитию резистентности микроорганизмов [9].

В настоящее время КС уже используется для лечения инфекционных заболеваний верхних дыхательных путей, урогенитального тракта, инфекционных заболеваний кожи [7]. Однако, им нельзя полностью заменить антибиотики, поскольку нет описаний в литературе клинических исследований, которые бы доказывали или отрицали эффективность монопрепарата КС при лечении инфекционной патологии.

Ранее нами была показана высокая бактерицидная активность *in vitro* КС по отношению к представителям грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов [2]. Цель настоящего исследования — оценить комплексное влияние противомикробных препаратов (ПМП) и КС на микроорганизмы. В качестве объектов исследования нами были выбраны микроорганизмы *S. aureus* и *C. albicans*.

На протяжении длительного времени *S. aureus* известен как один из основных возбудителей широкого спектра инфекционной патологии у человека — от легких инфекционных поражений кожи до тяжелой бактериемии. В последние годы наблюдается повышение частоты выделения штаммов *S. aureus*, резистентных к современным антимикробным препаратам, что представляет проблему для клинической практики [1].

Другим представителем широко распространенных микроорганизмов, вызывающих хронические заболевания с рецидивным течением, является *C. albicans*. Этот возбудитель наиболее часто вызывает урогенитальные микозы — инфекционные заболевания слизистых оболочек урогенитального тракта [4].

Материалы и методы

В эксперименте использовали препарат КС отечественного производства (ФТИ им. Иоффе РАН) в концентрации 10 мг/л.

Объектами исследования служили четыре штамма *Staphylococcus aureus* и четыре штамма *Candida albicans*, изолированные от больных при этиологической диагностике заболеваний верхних дыхательных путей и урогенитального тракта (соответственно), а также из коллекции живых культур, хранящихся при -80°C в музее НИИЭМ имени Пастера.

Культивирование микроорганизмов проводили по общепринятой методике, используя среду АГВ для выращивания *S. aureus*, среду Сабуро для культивирования *C. albicans*. Для определения чувствительности к ПМП исполь-

зовали среду Мюллера–Хинтона, среду Сабуро и набор дисков ПМП, изготовленных в Санкт-Петербургском научно-исследовательском центре фармакотерапии.

Чувствительность культур к противомикробным препаратам определяли диско-диффузионным методом, к ряду ПМП определяли минимальную подавляющую концентрацию (МПК) методом серийных разведений в бульоне [5].

В дальнейшем в сериях экспериментов использовали суточные культуры *S. aureus* и *C. albicans*. Готовили из них бактериальную суспензию, соответствующую 0,5 по стандарту МакФарланда и содержащую $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл. Методом последовательных десятикратных разведений получали концентрацию клеток 10^6 в 1 мл физиологического раствора (контрольный образец) и раствора коллоидного серебра (опыт).

По 100 мкл полученной суспензии переносили в пробирки, содержащие:

- 900 мкл физиологического раствора (контроль);
- 900 мкл раствора КС;
- 900 мкл раствора КС с МПК ПМП;
- 900 мкл раствора КС с 2МПК ПМП;
- 900 мкл ФР с МПК ПМП;
- 900 мкл ФР с 2МПК ПМП.

Таким образом, в каждой из опытных пробирок получали концентрацию микроорганизмов 10^5 микробных клеток в 1 мл.

Из опытных пробирок производили высеивание через 30, 60, 120, 180 и 240 минут на 5 чашек. Для этого с помощью дозатора и стерильных накопителей отбирали по 10 мкл суспензии и переносили на чашки Петри с соответствующими питательными средами, на которых растирали каплю стерильным шпателем по поверхности. После инкубировали в термостате при 37°C в течение суток. Через сутки производили подсчет выросших колоний. Каждый эксперимент повторяли с соответствующей культурой микроорганизмов 5 раз.

Статистическую обработку проводили на персональном компьютере с использованием критерия Стьюдента.

Результаты

Для экспериментов с культурой *S. aureus* был выбран антибиотик неомицин. При определении чувствительности четырех штаммов *S. aureus* к неомицину и сочетанию неомицина с раствором КС достоверных различий не выявлено ($p > 0,1$), поэтому данные по чувствительности штаммов в каждом варианте опытов объединены в один график (рис. 1).

Из представленного графика видно, что наибольшей бактерицидной активностью обладает раствор КС в сочетании с МПК неомицина: 100% бактерицидный эффект достигается после 3-х часов взаимодействия. При этом у монопре-

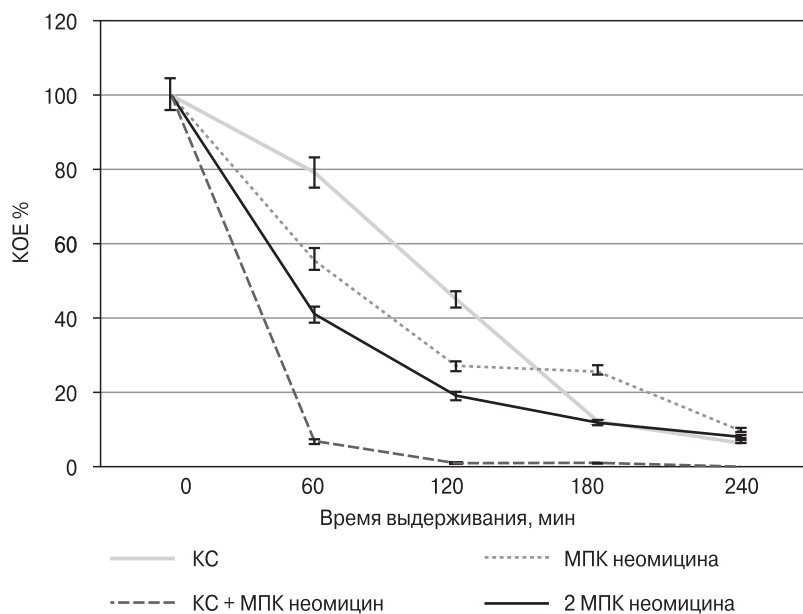


Рисунок 1. Динамика гибели штаммов *S. aureus* в растворах КС и неомидина

парата КС бактерицидная активность наименьшая: 50% бактерий выживает после 2-х часов взаимодействия с препаратом. При увеличении МПК вдвое, скорость гибели микроорганизмов существенно не возрастает. Так, в растворе с МПК неомидина гибель 50% бактерий наступала после 60 минут эксперимента, при увеличении МПК вдвое, 50% бактерий отмирали через 30 минут.

Аналогичные исследования проведены с культурами *C. albicans* при использовании КС в сочетании с противогрибковыми препаратами (ПГП). В качестве ПГП использовали итраконазол и нистатин. Выбор ПГП обусловлен следующими особенностями: 1) после определения

чувствительности выявлено, что к итраконазолу штаммы *C. albicans* умеренно чувствительны; 2) к нистатину штаммы чувствительны, этот препарат наиболее часто назначают для лечения грибковых заболеваний, поскольку он малотоксичен и побочных явлений обычно не вызывает.

При сравнении сочетанного действия КС с нистатином, к которому штаммы чувствительны, и с итраконазолом, к которому штаммы умеренно чувствительны, достоверных различий в чувствительности штаммов к ПГП не выявлено ($p > 0,1$), поэтому данные экспериментов с разными ПГП объединены в один график (рис. 2).

Видно, что в обоих случаях применение комплекса КС совместно с половинной МПК ПГП

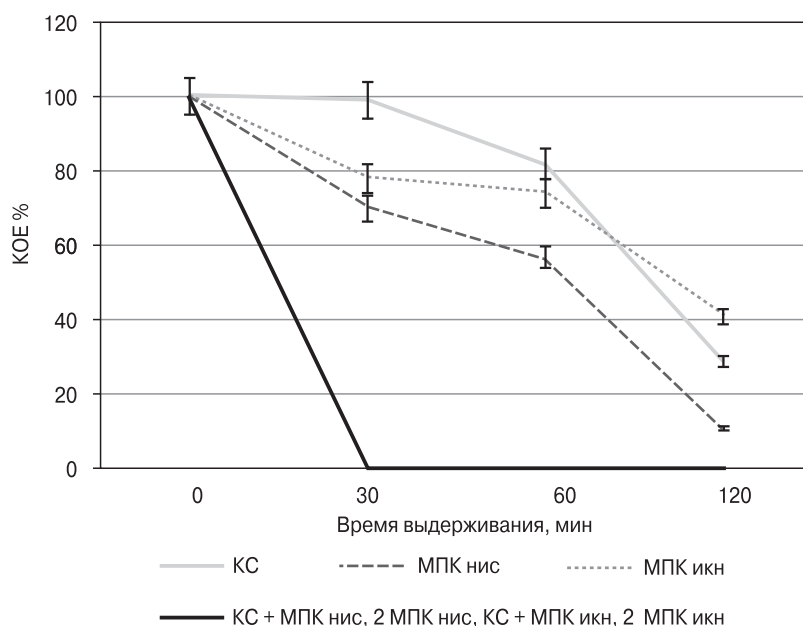


Рисунок 2. Динамика гибели штаммов *C. albicans* в растворах КС и ПМП

оказывает 100% фунгицидный эффект в первые 30 минут. Таким же выраженным фунгицидным эффектом обладает двойная концентрация используемых ППП. При сравнении влияния монопрепаратов установлено, что наибольшую чувствительность культуры *S. albicans* проявляют к нистатину в исходных концентрациях: через час проведения эксперимента остаются жизнеспособными 57% микроорганизмов, через 2 часа — 11%. Показано, что ко второму часу взаимодействия КС со штаммом *S. albicans* фунгицидный эффект увеличивается и достигает 72%. В случае итраконазола к концу второго часа фунгицидный эффект достигает 58%.

Обсуждение

Таким образом, установлено усиление бактерицидного эффекта в результате комплексного воздействия на *S. aureus* раствора КС и неомицина. Препараты на основе неомицина, так же как и препарат КС, назначаются наружно для лечения инфицированных ран, ряда кожных заболеваний, пораженных слизистых поверхностей и при воспалительных процессах верхних дыхательных путей. При выделении полирезистентных штаммов иногда используют антимикробные препараты, к которым штаммы обладают средней или умеренной чувствительностью. Поскольку при сочетанном действии КС с итраконазолом наблюдается высокий фунгицидный эффект, и при этом штаммы *S. albicans* обладают к нему умеренной чувствительностью, то надо полагать, что использование ПМП в сочетании с раствором КС перспективно в отношении полирезистентных штаммов.

Полученные результаты показывают, что от правильного подбора концентрации ПМП зависит его антимикробный эффект. Поскольку при увеличении концентраций ПМП увеличивается их токсическое действие на макроорганизм, то уменьшение терапевтических доз за счет применения нетоксичных концентраций КС открывают новые возможности в лечебной практике.

Выводы

1. Установлено усиление бактерицидного эффекта неомицина в отношении штам-

мов *S. aureus* при сочетанном действии его с раствором КС.

2. Показано, что нистатин и итраконазол в дозе МПК в сочетании с раствором КС обладают фунгицидной активностью по отношению к *S. albicans*, равной двойной МПК ППП.
3. Повышение эффективности ПМП со сниженной концентрацией может быть достигнуто в результате его сочетанного применения с раствором КС.

Список литературы

1. Андреева И.В., Стецюк О.У., Козлов Р.С. Применение меропенема при лечении тяжелых инфекций у детей // Клини. микробиол. и антимикроб. химиотерапия. — 2008. — Т. 10, № 4. — С. 332–334.
2. Афолина И.А., Краева Л.А., Ценева Г.Я. Бактерицидная активность коллоидного серебра в отношении представителей грамположительных и грамотрицательных бактерий // Антибиотики и химиотерапия. — 2010. — № 9–10. — С. 11–13.
3. Власова Н.В., Мултых И.Г., Гречишкин А.И. Опыт создания протоколов антибактериальной терапии в многопрофильном стационаре // Клини. микробиол. и антимикроб. химиотерапия. — 2003. — Т. 5, № 2. — С. 183–191.
4. Геппе Н.А., Белоусова Н.А. Кандидозы // Consilium Medicum. — 2010. — Т. 12, № 4. — С. 34–38.
5. Методические указания по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: МУК 4.12.1890-04. — М., 2004. — 65 с.
6. Страчунский Л.С., Пешере Ж.К., Деллинджер П.Э. Политика применения антибиотиков в хирургии // Клини. микробиол. и антимикроб. химиотерапия. — 2003. — Т. 5, № 4. — С. 302–317.
7. Таранов Л.И. Серебряная вода: метод Таранова. — СПб.: Диля, 2009. — 160 с.
8. Costelloe C. Effect of antibiotic prescribing in primary care on antimicrobial resistance in individual patients: systematic review and meta-analysis // BMJ. — 2010. — Vol. 340. — P. 2096.
9. Davies R.L., Etris S.F. The development and functions of silver in water purification and disease control // Catalysis Today. — 1997. — N 36. — P. 107–114.