

5. Юрковский, А. М. Диагностическое значение морфометрических параметров подвздошно-поясничных связок и изменений костной ткани в зонах энтезов, по данным КТ у пациентов с синдромом боли в нижней части спины / А. М. Юрковский, А. В. Коропо // Журнал ГрГМУ. — 2012. — № 4. — С. 54–57.

6. Юрковский, А. М. Сопоставления сонографических и гистологических данных при дистрофических изменениях подвздошно-поясничной связки / А. М. Юрковский, О. И. Аникеев, С. Л. Ачинович // Журнал ГрГМУ. — 2011. — № 4. — С. 74–77.

7. Юрковский, А. М. Гистопатологические изменения подвздошно-поясничной связки: диагностическая значимость показателя ядерно-цитоплазматического отношения / А. М. Юрковский, С. Л. Ачинович // Проблемы здоровья и экологии. — 2013. — № 3. — С. 39–43.

8. Neumann, F. R. Nuclear size control in fission yeast / F. R. Neumann, P. Nurse // J. Cell Biol. — 2007. — Vol. 179, № 4. — P. 593–600.

9. Юрковский, А. М. Есть ли патологический континуум при повреждениях подвздошно-поясничной связки? / А. М. Юрковский // Проблемы здоровья и экологии. — 2012. — № 4. — С. 27–32.

Поступила 23.12.2013

УДК 615.457:579

БАКТЕРИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ ГЛАЗНЫХ КАПЕЛЬ, СОДЕРЖАЩИХ ФТОРИРОВАННЫЕ ХИНОЛОНЫ

Д. В. Тапальский, Н. Ю. Бойцова, Л. В. Дравица

Гомельский государственный медицинский университет

Цель: определить микробиологическую эффективность лекарственных препаратов фторхинолонов II–III поколений для офтальмологического использования.

Материалы и методы. Для четырех готовых лекарственных форм фторхинолонов определены минимальные ингибирующие концентрации в отношении музейных изолятов золотистого стафилококка и синегнойной палочки. Исследована кинетика роста и отмирания тест-культуры *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 в бульонной питательной среде в присутствии различных концентраций фторхинолонов.

Результаты. Минимальные ингибирующие концентрации для различных препаратов находились в диапазоне 0,125–1,0 мкг/мл. В отношении тест-культур стафилококков большую активность проявляли препараты III поколения (МИК левофлоксацина 0,25–0,5 мкг/мл), в отношении синегнойной палочки наиболее активен ципрофлоксацин (МИК 0,125 мкг/мл). Показано, что для всех препаратов фторхинолонов выраженность бактерицидного эффекта находится в прямой зависимости от концентрации антибиотика в среде.

Заключение. Выявлена сходная микробиологическая эффективность препаратов фторхинолонов II–III поколений различных производителей. Имеющиеся в составе исследованных лекарственных форм концентрации фторхинолонов позволяют достичь бактерицидного эффекта в отношении чувствительных к ним грамотрицательных микроорганизмов даже при кратковременном местном использовании. Для лечения инфекций, вызванных грамположительными возбудителями, предпочтительнее использование препаратов фторхинолонов III поколения.

Ключевые слова: фторхинолоны, минимальная ингибирующая концентрация, конъюнктивит, синегнойная палочка, стафилококк.

BACTERICIDAL PROPERTIES OF FLUOROQUINOLONE-CONTAINING EYE DROPS

D. V. Tapalskiy, N. Yu. Boitsova, L. V. Dravitsa

Gomel State Medical University

Goal: to find out antimicrobial efficacy of ophthalmologic drugs containing fluoroquinolones of II–III generations.

Material and methods. Minimal inhibitory concentrations for isolates of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* were determined for four drugs containing fluoroquinolones of II–III generations. The kinetics of growth and dying off of the test-culture of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 under different fluoroquinolone concentration were performed in nutrient broth medium.

Results. The minimal inhibitory concentrations for various drugs ranged from 0,125 to 1,0 mcg/ml. In relation to the test-cultures of *Staphylococcus aureus*, III generation fluoroquinolones (levofloxacin MIC 0,25–0,5 mcg/ml) were the most active. Ciprofloxacin was the most active against *Pseudomonas aeruginosa* (MIC 0,125 mcg/ml). It was shown that the bacterial effect of all the fluoroquinolones depends directly on the concentration of antibiotic in the medium.

Conclusion. The antimicrobial activity of II–III generation fluoroquinolones from different producers was similar. The concentration of fluoroquinolones in the studied drugs makes it possible to achieve the bactericidal effect for sensitive gram-negative strains, even after short-term exposure. It is preferable to use III generation fluoroquinolones to treat for infections caused by gram-positive microorganisms.

Key words: fluoroquinolones, minimal inhibitory concentration, conjunctivitis, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus*.

Введение

Основными клиническими формами глазных инфекций являются конъюнктивит (66,7 % от общего числа пациентов с воспалительными заболеваниями глаз) и блефарит (23,3 %), реже

встречается кератит (4,2 %). Дакриоцистит, дакриoadенит и эндофтальмит регистрируются еще более редко. Частая встречаемость конъюнктивитов инфекционного происхождения объясняется обилием бактериальной микро-

флоры в конъюнктивальной полости. Наиболее часто выявляются сапрофитные микроорганизмы — дифтероиды и эпидермальные стафилококки, также могут содержаться и патогенные виды. Одной из самых распространенных форм глазных инфекционных заболеваний во всем мире считаются бактериальные конъюнктивиты. Наиболее частыми возбудителями бактериальных конъюнктивитов являются грамположительные бактерии: *S. aureus*, *S. pneumoniae*, а также грамотрицательные *H. influenzae* и *P. aeruginosa* [1].

Для этиотропной терапии инфекционных заболеваний конъюнктивы, век и слезных органов в настоящее время широко используются фторхинолоны. Мишенью фторхинолонов в бактериальной клетке являются ферменты ДНК-гираза и топоизомераза IV, отвечающие за репликацию ДНК. Фторхинолоны блокируют данные ферменты и вызывают гибель микробной клетки [2, 3]. У грамотрицательных бактерий, таких как *P. aeruginosa*, *E. coli* и *N. gonorrhoeae* основной мишенью для фторхинолонов является ДНК-гираза, дополнительной — топоизомераза IV. У грамположительных бактерий, таких как *S. aureus* и *S. pneumoniae*, основной мишенью для фторхинолонов является топоизомераза IV [4]. Фторхинолоны, предшествующие левофлоксацину, имеют низкое сродство к топоизомеразе IV, этим объясняется недостаточная активность цiproфлоксацина и офлоксацина в отношении грамположительных микроорганизмов и относительно быстрый рост резистентности к ним [5, 6]. Антибактериальная активность фторхинолонов второго поколения (ципрофлоксацин и офлоксацин) сравнима с таковой у левофлоксацина. Однако левофлоксацин оказался более эффективен против атипичных возбудителей бактериальных инфекций глаз и некоторых грамположительных бактерий [6–8].

Цель исследования

Определить микробиологическую эффективность лекарственных препаратов фторхинолонов II–III поколений для офтальмологического использования.

Материалы и методы

В исследование были включены препараты фторхинолонов II–III поколения для офтальмологического использования различных производителей: цiproфлоксацин 0,3 % («Белмедпрепарат»), левофлоксацин 0,5 % («Белмедпрепараты»), левофлоксацин 0,5 % (Офтавикс, «Santen»), офлоксацин 0,3 % (Флоксал, «Др. Герхард Манн»).

Определение минимальных ингибирующих концентраций (МИК) фторхинолонов

В качестве тест-культур использовали суточные культуры *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (антибиотикочувствительный, из Американской коллекции типовых культур микроорганизмов), *S. aureus* 775 (антибиотикочувствительный, клинический изолят), *S. aureus* ATCC

35559 (антибиотикорезистентный, метициллинрезистентный — MRSA), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (антибиотикочувствительный), выращенные на плотной питательной среде.

Из указанных препаратов готовили двукратные серийные разведения в бульоне Mueller Hinton (BBL, США) в диапазоне концентраций от 0,06 до 32 мкг/мл. Тестирование проводили в объеме 2 мл в лунках 24-луночных полистироловых планшетов (SARSTEDT, Германия). В качестве контроля использовали бульон Mueller Hinton без антибиотика. Готовили суспензии тест-культур в стерильном изотоническом растворе хлорида натрия с оптической плотностью 0,5 МакФарланд ($1,5 \times 10^8$ клеток/мл). В контрольные и опытные пробирки вносили бактериальную суспензию до конечной концентрации 10^5 клеток/мл. Планшеты инкубировали во влажной камере при температуре 37 °C 18 ч, после инкубации проводили визуальный учет результатов с определением минимальной ингибирующей концентрации.

Определение скорости отмирания бактерий в присутствии фторхинолонов

В качестве тест-культуры использовали *P. aeruginosa* ATCC 27853. Из суточной культуры готовили суспензию с оптической плотностью 0,5 МакФарланд ($1,5 \times 10^8$ клеток/мл). В стеклянных пробирках в 10 мл бульона Mueller Hinton готовили разведения антибактериальных препаратов в 4 концентрациях: 0,5, 2, 8 и 32 мкг/мл, после чего вносили бактериальную суспензию *P. aeruginosa* ATCC 27853 до конечной концентрации 10^6 клеток/мл. Инкубацию проводили при 37 °C с постоянным низкоамплитудным встряхиванием в шейкере-инкубаторе в течение 5 часов. После каждого часа инкубации (контрольные точки — 1, 2, 3, 4 и 5 ч) для определения концентрации жизнеспособных микроорганизмов из пробирок забирали по 0,1 мл бульонной среды и готовили десятикратные серийные разведения в бульоне Mueller Hinton от 10^1 до 10^8 в ячейках 96-луночных плоскодонных полистироловых планшетов. Планшеты инкубировали во влажной камере при температуре 37 °C 24 ч, после чего по наличию или отсутствию роста в отдельных ячейках рассчитывали исходную концентрацию жизнеспособных бактерий в пробирках и строили кинетические кривые роста/отмирания.

Результаты и обсуждение

Минимальные ингибирующие концентрации для различных препаратов находились в диапазоне 0,125–1,0 мкг/мл. Среди включенных в исследование тест-культур отсутствовали микроорганизмы, обладающие устойчивостью к фторированным хинолонам. Результаты определения МИК представлены в таблице 1.

Для референсных тест-культур из коллекции ATCC значения МИК фторхинолонов по-

лученные в эксперименте соответствовали МИК ципрофлоксацина, офлоксацина и левофлоксацина, приведенным в паспортах культур. Таким образом, косвенно можно сделать заклю-

чение о соответствии имеющихся концентраций антибактериальных препаратов в готовых лекарственных формах концентрациям, заявленным производителями.

Таблица 1 — Минимальные ингибирующие концентрации фторированных хинолонов в составе офтальмологических препаратов

Исследуемые микроорганизмы	Ципрофлоксацин, «Белмедпрепараты»	Левофлоксацин, «Белмедпрепараты»	Левофлоксацин (Офтаквикс), «Santen»	Офлоксацин (Флоксал), «Др. Герхард Манн»
	МИК, мкг/мл			
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	0,5	0,5	0,25	0,5
<i>S.aureus</i> 775	1	0,5	0,5	1
<i>S.aureus</i> ATCC 35559	0,25	0,25	0,25	0,5
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	0,125	0,5	0,5	1

В отношении *P.aeruginosa* ATCC 27853 наибольшей активностью обладал ципрофлоксацин (МИК 0,125 мкг/мл), что соответствует литературным данным о спектре и активности фторированных хинолонов в отношении грамотрицательных неферментирующих бактерий [1]. В отношении тест-культур стафилококков большую активность проявляли препараты фторированных хинолонов III поколения (левофлоксацин, БМП и «Офтаквикс»). С учетом большей микробиологической эффективности, а также того, что данные препараты выпускаются с большей концентрацией активного вещества (0,5 % = 5000 мкг/мл), их использовании может быть наиболее эффективным в лечении глазных инфекций, вызванных золотистым стафилококком.

Влияние фторхинолонов на скорость роста-отмирания *Pseudomonas aeruginosa*. Тест-культура *P.aeruginosa* является удобной моделью для изучения дозозависимой бактерицидности антибактериальных препаратов, так как характеризуется высокими скоростями размножения и

гибели в присутствии антибактериальных препаратов, действующих бактерицидно [9, 10].

Кривые роста-отмирания *P.aeruginosa* в присутствии препаратов фторхинолонов в четырех различных концентрациях представлены на рисунках 1–4. Для всех препаратов выявлено, что выраженность бактерицидного эффекта и скорость отмирания микроорганизмов находится в прямой зависимости от концентрации антибиотика в растворе (дозозависимый эффект). Концентрации фторхинолонов 8 и 32 мкг/мл вызвали падение концентрации жизнеспособных клеток в растворе ниже определяемого уровня (10^2 КОЕ/мл) за 2–3 часа. Таким образом, можно предположить, что имеющиеся в составе исследованных лекарственных форм концентрации фторхинолонов (3000 или 5000 мкг/мл) позволят достичь бактерицидного эффекта в отношении чувствительных к фторхинолонам штаммов *P.aeruginosa* и других грамотрицательных микроорганизмов даже при их кратковременном местном использовании.

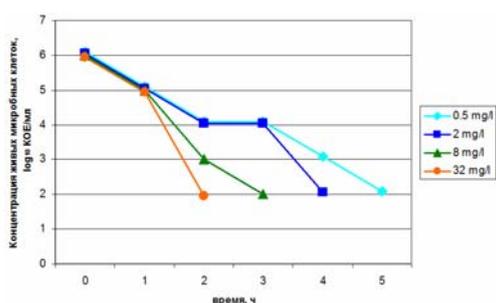


Рисунок 1 — Кривые роста-отмирания *P.aeruginosa* в присутствии ципрофлоксацина 0,3 % («Белмедпрепараты»)

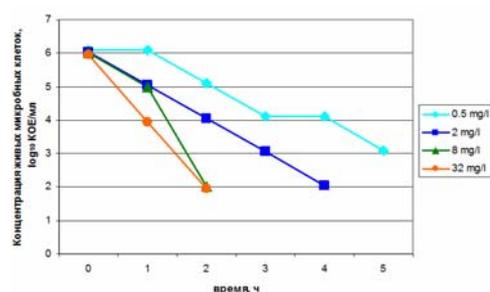


Рисунок 2 — Кривые роста-отмирания *P.aeruginosa* в присутствии левофлоксацина 0,5% («Белмедпрепараты»)

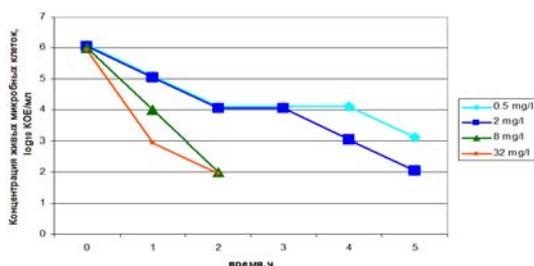


Рисунок 3 — Кривые роста-отмирания *P.aeruginosa* в присутствии левофлоксацина 0,5 % (Офтаквикс, «Santen»)

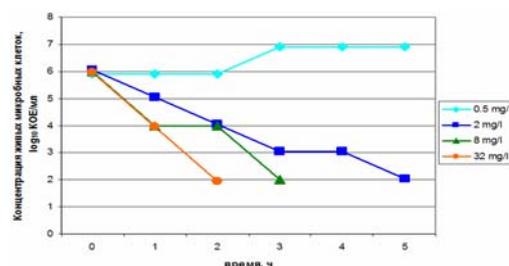


Рисунок 4 — Кривые роста-отмирания *P.aeruginosa* в присутствии офлоксацина 0,3 % (Флоксал, «Др. Герхард Манн»)

При накоплении у микроорганизмов мутаций резистентности к фторхинолонам происходит увеличение МИК, что может стать причиной неэффективности локальной антибактериальной терапии. В случае офлоксацина (Флоксал, «Др. Герхард Манн») выявлено, что концентрация 0,5 мкг/мл не приводит к снижению количества микробных клеток, а происходит увеличение их количества до 10^7 КОЕ/мл уже к четвертому часу инкубации. Это связано с тем, что концентрация 0,5 мкг/мл в

2 раза ниже МИК офлоксацина для исследуемой тест-культуры *P.aeruginosa* ATCC 27853. Концентрация 2 мкг/мл вызывает отмирание тест-культуры до уровня ниже определяемого (10^2 КОЕ/мл) за 5 часов инкубации.

На рисунке 5 объединены данные по кинетике отмирания тест-культуры *P.aeruginosa* ATCC 27853 в присутствии исследуемых фторхинолонов в концентрации, в 4 раза превышающей МИК (4хМИК).

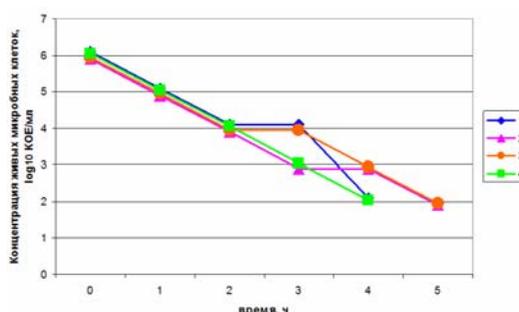


Рисунок 5 — Кривые роста-отмирания *P.aeruginosa* в присутствии препаратов фторхинолонов в концентрации 4хМИК:
 1 — ципрофлоксацин 0,3 % («Белмедпрепараты»), 2 — офлоксацин 0,3 % (Флоксал, «Др. Герхард Манн»), 3 — левофлоксацин 0,5% («Белмедпрепараты»), 4 — левофлоксацин 0,5 % (Офтаквикс, «Santen»)

При стандартизации тестируемых концентраций препаратов фторхинолонов относительно минимальной ингибирующей концентрации определяются близкие кинетические профили отмирания тест-культуры, что может свидетельствовать об однотипности механизма действия фторированных хинолонов II-III поколений. Также не выявлено отличий в динамике отмирания микробных клеток в присутствии однотипных лекарственных препаратов различных производителей.

Заключение

Выявлена сходная микробиологическая эффективность препаратов фторхинолонов II-III поколения различных производителей в отношении чувствительных к ним изолятов *S.aureus* и *P.aeruginosa*. Показан быстрый дозозависимый бактерицидный эффект фторхинолонов в отношении тест-культуры *P.aeruginosa*. При назначении антибактериальной терапии при офтальмологических инфекциях необходимо учитывать более высокую активность фторхинолонов III и IV поколений в отношении стафилококков и внутриклеточных патогенов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Практическое руководство по антимикробной химиотерапии / под ред. Л. С. Страчунского, Ю. Б. Белоусова, С. Н. Козлова. — Смоленск: МАКМАХ, 2007. — 464 с.
2. Drlica, K. Mechanism of fluoroquinolone action / K. Drlica // Current Opinion in Microbiology. — 1999. — Vol 2. — P. 504–508.
3. Ogawa, G. S. The fluoroquinolones: New antibiotics in ophthalmology / G. S. Ogawa, R. A. Hyndiuk // International Ophthalmology Clinics. — 1993. — Vol. 33. — P. 59–68.
4. Pan, X. S. Cloning and characterization of the parC and parE genes of *Streptococcus pneumoniae* encoding DNA topoisomerase IV: role in fluoroquinolone resistance / X. S. Pan, L. M. Fisher // Journal of Bacteriology. — 1996. — Vol. 178. — P. 4060–4069.
5. Goldstein, M. H. Emerging fluoroquinolone resistance in bacterial keratitis: a 5-year review / M. H. Goldstein, R. P. Kowalski, Y. J. Gordon // Ophthalmology. — 1999. — Vol. 106, № 7. — P. 1313–1318.
6. In vitro susceptibilities of bacterial ocular isolates to fluoroquinolones / A. Graves [et al.] // Cornea. — 2001. — Vol. 20, № 3. — P. 301–305.
7. Davis, R. Levofloxacin: a review of its antibacterial activity, pharmacokinetics and therapeutic efficacy / R. Davis, H. M. Bryson // Drugs. — 1994. — Vol. 47. — P. 677–700.
8. North, D. S. Levofloxacin, a second-generation fluoroquinolone / D. S. North, D. N. Fish, J. J. Redington // Pharmacotherapy. — 1998. — Vol. 18. — P. 915–935.
9. Fish, D. N. Synergic activity of cephalosporins plus fluoroquinolones against *Pseudomonas aeruginosa* with resistance to one or both drugs / D. N. Fish, M. K. Choi, R. Jung // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. — 2002. — Vol. 50. — P. 1045–1049.
10. Burgess, D. S. Activity of piperacillin/tazobactam in combination with amikacin, ciprofloxacin, and trovafloxacin against *Pseudomonas aeruginosa* by time-kill / D. S. Burgess, R. W. Hastings // Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. — 2000. — Vol. 38. — P. 37–41.

Поступила 14.02.2014

УДК 543.422:536+541.124 ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЙ И КИНЕТИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ИЗУЧЕНИЮ АДсорбЦИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА РАЗЛИЧНЫХ ЭНТЕРОСОРБЕНТАХ

В. А. Филиппова, А. В. Лысенкова, Л. В. Прищепова

Гомельский государственный медицинский университет

Цель: определение термодинамических и кинетических параметров адсорбции катионов ртути, свинца и никеля на энтеросорбентах различной природы, позволяющих сравнить эффективность энтеросорбентов в