

# ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

УДК 615.28:615.07

DOI: <https://doi.org/10.52540/2074-9457.2022.2.77>

Р. В. Кравченко, С. Э. Ржеусский

## ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ РЯДА АНТИСЕПТИКОВ

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,  
г. Витебск, Республика Беларусь

Целью данной работы было исследование антимикробной активности тетраметилендиэтилентетрамина, полигексаметиленгуанидина гидрохлорида, хлоргексидина биглюконата, фурацилина, диметилсульфоксида, мирасептина и концентрированного коллоида серебра «КНД-С-К» методом двукратных серийных разведений и изучением зон задержки роста. В исследовании использовали музейные штаммы (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Candida albicans* ATCC 10231, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Streptococcus agalactiae* ATCC 13813) с величиной посевной дозы  $10^5$  КОЕ/мл и  $10^9$  КОЕ/мл. Для приготовления мягкой лекарственной формы тетраметилендиэтилентетрамина, полигексаметиленгуанидина гидрохлорида, хлоргексидина биглюконата, фурацилина, диметилсульфоксида, мирасептина и концентрированного коллоида серебра «КНД-С-К» в качестве формообразующего вещества использовали гидроксипропилметилцеллюлозу. Установлено наличие высокой антимикробной активности по отношению к *Pseudomonas aeruginosa* и *Candida albicans* у раствора хлоргексидина биглюконата. Высокую антимикробную активность по отношению к грамположительным микроорганизмам и *Klebsiella pneumoniae* проявил раствор полигексаметиленгуанидина гидрохлорида. В виде мягкой лекарственной формы установлено наличие схожей антимикробной активности по отношению к *Staphylococcus aureus* у опытных гелей хлоргексидина биглюконата, полигексаметиленгуанидина гидрохлорида, тетраметилендиэтилентетрамина и фурацилина. Наибольшей антимикробной активностью среди изученных антисептиков по отношению к *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Streptococcus agalactiae* обладает гель тетраметилендиэтилентетрамина. Высокую антигрибковую активность проявили гели хлоргексидина биглюконата и полигексаметиленгуанидина гидрохлорида.

**Ключевые слова:** антимикробная активность, антигрибковая активность, антисептик, минимальная подавляющая концентрация, зона задержки роста, мягкая лекарственная форма.

### ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия наблюдается тенденция к увеличению темпа развития антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов. Данная проблема находится в центре внимания современных исследований в сфере медицины и фармации. Согласно базе данных PubMed идет непрерывный рост количества ежегодных публикаций по данной тематике, за последние 20 лет это число выросло в 5 раз. В 2015 году Всемирной ассамблеей здравоохранения был утвержден Глобальный план действий по борьбе с устойчивостью к противомикробным

препаратам, направленный на снижение роста антибиотикорезистентности [1, 2].

В конце февраля 2017 г. ВОЗ опубликовала список из 12 наиболее антибиотикоустойчивых «приоритетных патогенов», разделенных на 3 категории (крайне приоритетные, высокоприоритетные и среднеприоритетные) по уровню потребности в создании против них новых антибиотиков, который должен стать для всех стран ориентиром в проведении научно-исследовательских и конструкторских работ. К 1 категории по приоритетности отнесены *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, ко 2 – *Staphylococcus aureus*, к 3 – *Streptococcus pneumoniae* [3].

Вследствие развития антибиотикорезистентности наблюдается рост медицинских расходов, увеличение продолжительности госпитализаций и рост смертности. Одним из путей выхода из сложившейся ситуации является вывод на фармацевтический рынок новых веществ и их комбинаций, обладающих антимикробным действием.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования являлись растворы субстанций тетраметилэтилентетрамина (ТМЭТ), полигексаметиленгуанидина гидрохлорида (ПГМГ), хлоргексидина биглюконата (ХГ), диметилсульфоксида (ДМСО) и концентрированный коллоид серебра «КНД-С-К»; лекарственное средство мирасептин (содержит действующее вещество миритин в концентрации 0,01%). Механизм действия ТМЭТ основан на инактивации ДНК бактерий. ПГМГ и ХГ блокируют действие ферментов внутри клеток, нарушают систему клеточного дыхания и репарацию нуклеиновых кислот. Фурацилин способен вызывать конформационные изменения белков (в том числе рибосомальных) и других макромолекул, что приводит к гибели клеток. КНД-С-К обладает комплексным бактериостатическим и бактериоцидным действием за счет электростатического и химического взаимодействий с белками клеток.

Для исследования антимикробной активности использовали следующие музейные штаммы: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Candida albicans* ATCC 10231, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Streptococcus agalactiae* ATCC 13813.

Определение минимальной подавляющей концентрации (МПК, мкг/мл) проводили методом двукратных разведений в жидких средах Сабуро (*Candida albicans*) и Мюллер-Хинтон (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*) в П-образных культуральных планшетах с крышкой на 96 лунок. В одном планшете изучалась МПК исследуемых веществ по отношению к одному микроорганизму. Для этого во все лунки вносили 100 мкл питательной среды, затем в первую лунку каждого ряда вносили по 100 мкл исследуемого вещества. Последовательно переносили 100 мкл содержи-

мого первой лунки во вторую, из второй – в третью, и так до двенадцатой, из двенадцатой лунки сливали 100 мкл. Затем в каждую лунку вносили 100 мкл взвеси суточной бульонной культуры исследуемого микроорганизма с величиной посевной дозы  $10^5$  колониеобразующих единиц на мл (КОЕ/мл) и  $10^9$  КОЕ/мл. Планшеты инкубировали при температуре 37 °С на протяжении 18–24 часов. Учет результатов проводили визуально по наличию или отсутствию роста микроорганизмов в среде (наличие мути), содержащей различные концентрации исследуемых веществ. МПК исследуемого вещества по отношению к исследуемому штамму определяли как концентрацию вещества в последней ячейке, в которой наблюдалась задержка роста.

Определение МПК проводили в серии из 3 повторений в разные дни. В качестве МПК принимали наибольшую концентрацию, подавляющую рост, из трех повторений (наихудший случай) [4].

Для дальнейшего изучения антимикробной активности в лабораторных условиях были приготовлены гели исследуемых веществ. В качестве гелеобразователя использовали гидроксипропилметилцеллюлозу (ГПМЦ). Для изготовления геля к воде очищенной добавляли 20% раствор ХГ, 1% раствор КНД-С-К, 0,01% мирасептин, порошок фурацилина, порошок ТМЭТ, порошок ПГМГ, затем к полученному раствору по частям при перемешивании добавляли необходимое количество ГПМЦ. Оставляли набухать ГПМЦ, периодически перемешивая до полного растворения. Составы исследуемых гелей представлены в таблице 1.

Для изучения антимикробной активности гелей был использован метод диффузии в агар «колодцами» на двух слоях плотной питательной среды, разлитой в чашки Петри. Чашки Петри делили на 3 сектора. В нижнем слое использовали «голодную» среду, представляющую собой подложку объемом  $10,0 \pm 0,3$  мл, на которой строго горизонтально были установлены 3 тонкостенных цилиндра, по одному в каждый сектор, из нержавеющей стали диаметром 10 мм и высотой 10 мм. Вокруг цилиндров заливали верхний слой объемом  $15 \pm 0,5$  мл, содержащий в себе питательную агаризованную среду с соответствующей взвесью суточной культуры исследуемого микроорганизма. После застывания в цилиндры помещали испы-

Таблица 1. – Составы исследуемых гелей

Состав, №	ХГ, мл	Фурацилин, г	ТМЭТ, г	ПГМГ, г	ДМСО, 100%, мл	Мира-септин, 0,01%, мл	КНД-С-К, 1%, мл	Вода очищенная, мл	ГПМЦ, г
1	0,02	-	-	-	-	-	-	100	1,5
2	-	0,02	-	-	-	-	-	100	1,5
3	-	-	0,1	-	-	-	-	100	1,5
4	-	-	-	0,1	-	-	-	100	1,5
5	-	-	-	-	0,1	-	-	100	1,5
6	-	-	-	-	-	100	-	100	1,5
7	-	-	-	-	-	-	10	90	1,5
Основа	-	-	-	-	-	-	-	100	1,5

туемое вещество объемом  $0,27 \pm 0,02$  мл. Чашки Петри подсушивали при комнатной температуре в течение 30 минут и ставили в термостат на 18–24 часа [5].

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Была изучена антимикробная активность изучаемых антисептиков по отношению к *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae* при величине посевной дозы  $10^5$  КОЕ/мл. Результаты представлены в таблице 2.

Установлено, что наибольшей антимикробной активностью по отношению к *Pseudomonas aeruginosa* и *Candida albicans* обладает раствор ХГ, по отношению к *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae* и *Staphylococcus aureus* – раствор ПГМГ. Получить данные по антимикробной активности фурацилина по отношению к *Pseudomonas aeruginosa* и *Candida albicans* не представляется возможным в связи с максимальной растворимостью фурацилина в воде 1 : 5000. Наименьшей антимикробной активностью при данной величине посевной дозы обладает раствор ДМСО. Растворы ПГМГ и КНД-С-К обладают высокой антимикробной

активностью по отношению к грамположительным и грамотрицательным микроорганизмам, но имеют менее выраженную противогрибковую активность.

Следующим этапом исследования было изучение антимикробной активности исследуемых антисептиков при величине посевной дозы микроорганизмов  $10^9$  КОЕ/мл. Результаты представлены в таблице 3.

Показано увеличение МПК при увеличении концентрации посевной дозы у ХГ, ПГМГ, ТМЭТ, КНД-С-К. Почти не изменилась МПК при разных посевных дозах растворов фурацилина, мирасептина и ДМСО. Таким образом наибольшей антимикробной активностью по отношению к *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus agalactiae* по-прежнему обладает раствор ПГМГ. При увеличении посевной дозы с  $10^5$  КОЕ/мл до  $10^9$  КОЕ/мл наибольшую антигрибковую активность показал раствор мирасептина. ХГ имеет наибольшую антимикробную активность среди изученных веществ по отношению к *Pseudomonas aeruginosa*.

Для оценки антимикробной активности изучаемых веществ в разных лекарственных формах были приготовлены гели. Результаты изучения их антимикробной активности представлены в таблице 4.

Таблица 2. – Результаты определения МПК при величине посевной дозы  $10^5$  КОЕ/мл, мкг/мл (n = 3)

Изучаемое вещество	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Candida albicans</i>
ХГ	3,2	0,78	1,56	3,9	1,6
Фурацилин	50,0	-	25,0	25,0	-
ТМЭТ	62,5	125	62,5	62,5	62,5
ПГМГ	2,0	3,9	1,2	1,0	15,6
ДМСО	62500,0	62500,0	62500,0	250000,0	62500,0
Мирасептин	12,5	12,5	6,3	25,0	6,3
КНД-С-К	5,6	5,6	5,6	2,8	22,4

Таблица 3. – Результаты определения МПК при величине посевной дозы  $10^9$  КОЕ/мл, мкг/мл (n = 3)

Исследуемое вещество	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Candida albicans</i>
ХГ	31,2	3,9	3,9	15,6	7,8
Фурацилин	50,0	-	25,0	25,0	-
ТМЭТ	78,1	156,25	78,1	156,25	625,0
ПГМГ	2,4	19,5	1,2	2,4	156,25
ДМСО	62500,0	62,500	62500,0	250000,0	62500,0
Мирасептин	12,5	25,0	6,3	25,0	6,3
КНД-С-К	9,8	19,5	9,8	4,9	78,1

Таблица 4. – Результаты изучения зон задержки роста опытных гелей, мм (n = 3)

Исследуемый гель	Исследуемый микроорганизм				
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Candida albicans</i>
1	20 ± 1	24 ± 1	20 ± 1	21 ± 1	23 ± 1
2	12 ± 1	0	19 ± 1	12 ± 1	0
3	30 ± 1	30 ± 1	19 ± 1	34 ± 1	15 ± 1
4	19 ± 1	17 ± 1	20 ± 1	18 ± 1	21 ± 1
5	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0
7	13 ± 1	13 ± 1	16 ± 1	16 ± 1	13 ± 1
Основа	0	0	0	0	0

Установлено, что опытные гели ХГ, ПГМГ, ТМЭТ и фурацилина проявили близкую антимикробную активность по отношению к *Staphylococcus aureus*. Наибольшую антимикробную активность среди изученных антисептиков по отношению к *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Streptococcus agalactiae* имеет гель ТМЭТ. Высокую антигрибковую активность проявили гели ХГ и ПГМГ. Гель КНД-С-К обладает умеренной антимикробной активностью по отношению к изученным микроорганизмам. Гели мирасептина и ДМСО не обладают антимикробной активностью в данных концентрациях.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследованием растворов семи антисептических средств (ХГ, фурацилин, ТМЭТ, ПГМГ, ДМСО, мирасептин, КНД-С-К) установлено, что наибольшую антимикробную активность при величине посевной дозы микроорганизмов  $10^5$  КОЕ/мл по отношению к *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus agalactiae* имеет ПГМГ; по отношению к *Pseudomonas aeruginosa* и *Candida albicans* – ХГ. При величине посевной дозы микроорганизмов  $10^9$  КОЕ/мл наи-

большую антимикробную активность по отношению к *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus agalactiae* имеет ПГМГ; по отношению к *Pseudomonas aeruginosa* – ХГ; по отношению к *Candida albicans* – мирасептин.

При изучении антимикробной активности исследуемых веществ в мягкой лекарственной форме (гели на основе ГПМЦ) установлено отсутствие антимикробной активности мирасептина и ДМСО. Показано, что наибольшей антимикробной активностью по отношению к *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Streptococcus agalactiae* обладает гель ТМЭТ; по отношению к *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans* – гель ХГ.

### SUMMARY

R. V. Krauchanka, S. E. Rzhessky  
STUDYING ANTIMICROBIAL ACTIVITY  
OF A SERIES OF ANTISEPTICS

The aim of this work was to explore antimicrobial activity of tetramethylenediethylene tetramine, polyhexamethylene guanidine hydrochloride, chlorhexidine bigluconate, furacilin, dimethyl sulfoxide, miraseptin and concentrated colloid silver "KND-S-K" with double serial dilutions method and studying

growth retardation zones. The study used museum strains (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Candida albicans* ATCC 10231, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Streptococcus agalactiae* ATCC 13813) with a seeding dose of  $10^5$  CFU/ml and  $10^9$  CFU/ml. Hydroxypropylmethylcellulose was used as excipient to prepare a soft dosage form of tetramethylenediethylenetetramine, polyhexamethylene guanidine hydrochloride, chlorhexidine bigluconate, furacilin, dimethylsulfoxide, miraseptin and concentrated colloid silver "KND-S-K". Presence of high antimicrobial activity in relation to *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans* in a solution of chlorhexidine bigluconate was found. Polyhexamethylene guanidine hydrochloride solution showed high antimicrobial activity against gram-positive microorganisms and *Klebsiella pneumoniae*. Presence of similar antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* in experimental gels of chlorhexidine bigluconate, polyhexamethylene guanidine hydrochloride, tetramethylenediethylenetetramine and furacilin was found in the soft form. Tetramethylenediethylenetetramine gel has the greatest antimicrobial activity among the antiseptics studied in relation to *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Streptococcus agalactiae*. Gels of chlorhexidine bigluconate and polyhexamethylene guanidine hydrochloride showed high antifungal activity.

Keywords: antimicrobial activity, antifungal activity, antiseptic, minimal suppressive concentration, growth retardation zone, soft dosage form.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Намазова-Баранова, Л. С. Антибиотикорезистентность в современном мире / Л. С. Намазова-Баранова, А. А. Баранов // Педиатрическая фармакология. – 2017. – Т. 14, № 5. – С. 341–355.
2. Козлов, Р. С. Остановить темпы роста антибиотикорезистентности микроорганизмов сегодня – дать шанс на выживание человечества завтра / Р. С. Козлов, А. В. Голуб // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2019. – Т. 21, № 4. – С. 310–315.
3. ВОЗ публикует список бактерий, для борьбы с которыми срочно требуется создание новых антибиотиков [Электронный ресурс]. –

Режим доступа: <https://www.who.int/ru/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>. – Дата доступа: 02.06.2022.

4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. В. П. Фисенко. – Москва: Ремедиум, 2000. – 399 с.

5. Государственная фармакопея Республики Беларусь: в 2 т. : введ. в действие с 1 янв. 2013 г. приказом М-ва здравоохранения РБ от 25.04.2012 г. № 453. – Т. 1 : Общие методы контроля качества лекарственных средств / М-во здравоохранения Республики Беларусь, Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении ; [под общ. ред. А. А. Шерякова]. – Молодечно: Победа, 2012. – 1220 с.

#### REFERENCES

1. Namazova-Baranova LS, Baranov AA. Antibiotic resistance in the modern world. *Pediatricheskaja farmakologija*. 2017;14(5):341–55. doi: 10.15690/pf.v14i5.1782. (In Russ.)
2. Kozlov RS, Golub AV. Stop the growth of antibiotic resistance in microorganisms today – give humanity a chance for survival tomorrow. *Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja khimioterapija*. 2019;21(4):310–5. doi: 10.36488/cmac.2019.4.310-315. (In Russ.)
3. WHO publishes list of bacteria that urgently require the development of new antibiotics [Elektronnyi resurs]. *Rezhim dostupa*: <https://www.who.int/ru/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>. *Data dostupa*: 02.06.2022
4. Fisenko VP, redaktor. Guidelines for the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances. Moskva, RF: Remedium; 2000. 399 s. (In Russ.)
5. Ministerstvo zdravookhraneniia Respubliki Belarus', Tsentr ekspertiz i ispytanii v zdravookhraneni. State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus: v 2 t. T. 1. General methods of quality control of medicines. Sheriakov AA, redaktor. Molodechno, RB: Pobeda; 2012. 1220 s. (In Russ.)

#### Адрес для корреспонденции:

210009, Республика Беларусь,  
г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,  
УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,  
кафедра менеджмента и маркетинга фармации,  
тел. раб.: +375298154190,  
e-mail: [xolelo2014@gmail.com](mailto:xolelo2014@gmail.com),  
Кравченко Р. В.

Поступила 15.06.2022 г.