

Деквалінію хлорид 10 мг,
вагінальні таблетки
протягом 6 днів
рекомендовано IUSTI
для лікування
бактеріального вагінозу¹

Флуомізин

деквалінію хлорид 10 мг

- доведена ефективність по відношенню до *Atopobium vaginae* та інших збудників бактеріального вагінозу*
- дозволений до застосування у всіх триместрах вагітності**



Деквалінію хлорид: ефективне руйнування біоплівок при бактеріальному вагінозі

Бактеріальний вагіноз є найпоширенішою вагінальною інфекцією у всьому світі, яка зумовлена надмірним ростом анаеробних бактерій, у тому числі *Gardnerella spp.* Ці збудники мають здатність утворювати біоплівки, що значно ускладнює процес лікування інфекції. Сьогодні ведеться активний пошук препаратів, які б могли проникати у біоплівки та ефективно лікувати бактеріальний вагіноз. Пропонуємо вашій увазі огляд результатів новітнього дослідження португальських науковців С. Gaspar, J. Rolo, N. (2021) стосовно ефективності деквалінію хлориду (Флуомізин) у руйнуванні біоплівок, утворених *Gardnerella spp.*

Ключові слова: бактеріальний вагіноз, деквалінію хлорид, біоплівка.

Біоплівка – це сукупність клітин мікроорганізмів, оточених і зв'язаних поверхневими білками та екзополісахаридами (Machado D., 2015). Складна структура біоплівок знижує ефективність антимікробної терапії. Відомо, що багато видів мікробних збудників здатні утворювати біоплівки на слизовій (Dongari-Bagtzoglou A., 2008) та абіотичних структурах (Pelling H., 2019), перешкоджаючи ефективному лікуванню інфекцій.

Gardnerella spp. та інші анаероби, що є збудниками бактеріального вагінозу (БВ) (Rosca A.S., 2020), також здатні утворювати біоплівки й мають підвищену експресію факторів вірулентності, що призводить, наприклад, до вищої цитотоксичності відносно епітеліальних клітин (Castro J., 2020).

Лікування БВ досі залишається складним завданням, зокрема через необхідність руйнування біоплівок (Rosca A.S., 2020). З огляду на те, що не всі існуючі антибактеріальні препарати здатні руйнувати біоплівки, лікування часто буває нерезультативним, внаслідок чого виникають рецидиви інфекції (Tomas M., 2020). Лікувальний процес може додатково ускладнюватися через вплив на вагінальний мікробіом антибіотиків, що призводить до появи стійких до цих препаратів збудників (Mayer B.T., 2015).

У дослідженні E.R. Weissenbacher (2012) було продемонстровано успішне застосування деквалінію хлориду для лікування різних клінічних випадків БВ. Це спонукало авторів даного дослідження розширити знання щодо ефективності деквалінію хлориду, зокрема його ролі у руйнуванні біоплівок *Gardnerella spp.*

Для проведення дослідження було використано п'ять різних штамів *Gardnerella spp.*, які через свої вірулентні характеристики класифікували як штами, пов'язані із БВ (*Gardnerella vaginalis* UM137; *Gardnerella spp.* UM241) та не пов'язані із цим захворюванням (*Gardnerella vaginalis* UM085; *Gardnerella spp.* UM131; *Gardnerella spp.* UM246) (Castro J., 2020). Розчин деквалінію хлориду (Флуомізин) був приготовлений шляхом диспергування таблетки в надчистій воді до концентрації діючої речовини 1024 мкг/мл. Були використані два різних культуральних середовища: агар із додаванням серцево-мозкового екстракту (Brain Heart Infusion Agar, BHI) та середовище New York City III

(NYCIII). Інкубація відбувалася за таких умов: 24 год, 10% CO₂ та 37 °С. Досліджувану речовину (деквалінію хлорид) застосовували у семи симетричних концентраціях (0,26; 0,81; 2,57; 8,11; 25,64; 81,01 та 256 мкг/мл).

Середовище, у якому *in vitro* росте *Gardnerella spp.*, значним чином впливає на формування біоплівки (Machado D., 2015). Тому в дослідженні було використано два середовища, щоб створити умови для формування найбільш стійкої біоплівки й оцінити вплив Флуомізину на її структуру.

Результати показали, що ріст біоплівок *Gardnerella spp.* відбувався в обох культуральних середовищах. Біоплівка, отримана з використанням середовища NYCIII, продемонструвала у 4 рази вищий рівень поглинання, ніж при використанні середовища BHI. У ході дослідження біоплівка, вирощена у середовищі NYCIII, містила більшу кількість клітин, що свідчило про потенційно вищі темпи росту *Gardnerella spp.*, а отже, про формування більш щільної біоплівки. Тому саме

це середовище було вибрано для отримання біоплівки з найміцнішою структурою з метою створення найскладніших умов для тестування антибіоплівкового ефекту Флуомізину.

Вплив деквалінію хлориду на біоплівку *Gardnerella spp.*

У ході даного дослідження було встановлено, що діапазон концентрацій Флуомізину, які ефективні проти БВ-асоційованих *Gardnerella spp.* біоплівок (25,64 мкг/мл), є нижчим, ніж концентрація препарату, який зазвичай призначають (10 мг/добу) у якості вагінальних таблеток. Таким чином, результати дослідження підтверджують, що Флуомізин ефективно руйнує біоплівки *Gardnerella spp. in vivo*.

Вплив Флуомізину на біоплівки *Gardnerella spp.* додатково візуалізували за допомогою скануючої електронної мікроскопії (СЕМ). Один асоційований із БВ штам (*Gardnerella spp.* UM241) та один не асоційований із цим захворюванням (*Gardnerella spp.* UM131) були оброблені препаратом у максимальній досліджуваній концентрації (256 мкг/мл) та концентрації, здатній зменшити біомасу біоплівки штаму UM241 на 50% (ЕК₅₀ 8,11 мкг/мл). Ці два штами були вибрані у якості представників усього спектра штамів, оскільки мали схожу здатність до утворення біоплівок. Результати показали помітне зміння архітектури біоплівки (рис. 2). Було чітко виявлено втрату клітин, про що свідчили великі фрагменти біоплівки, які відривалися, порівняно з позитивним контролем. Відшарування викликало утворення отворів у структурі біоплівки,

Продовження на стор. 16.

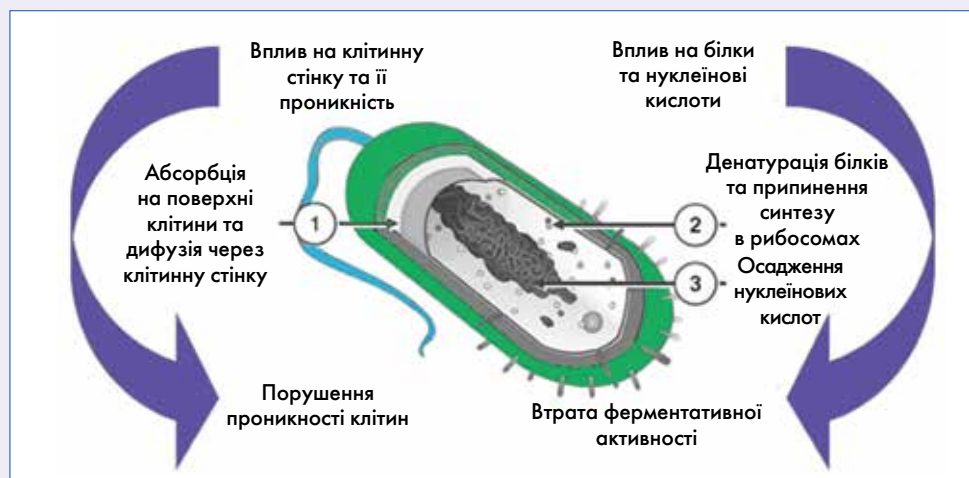


Рис. 1. Механізми впливу Флуомізину на бактеріальну клітину (Mendling W., 2015)

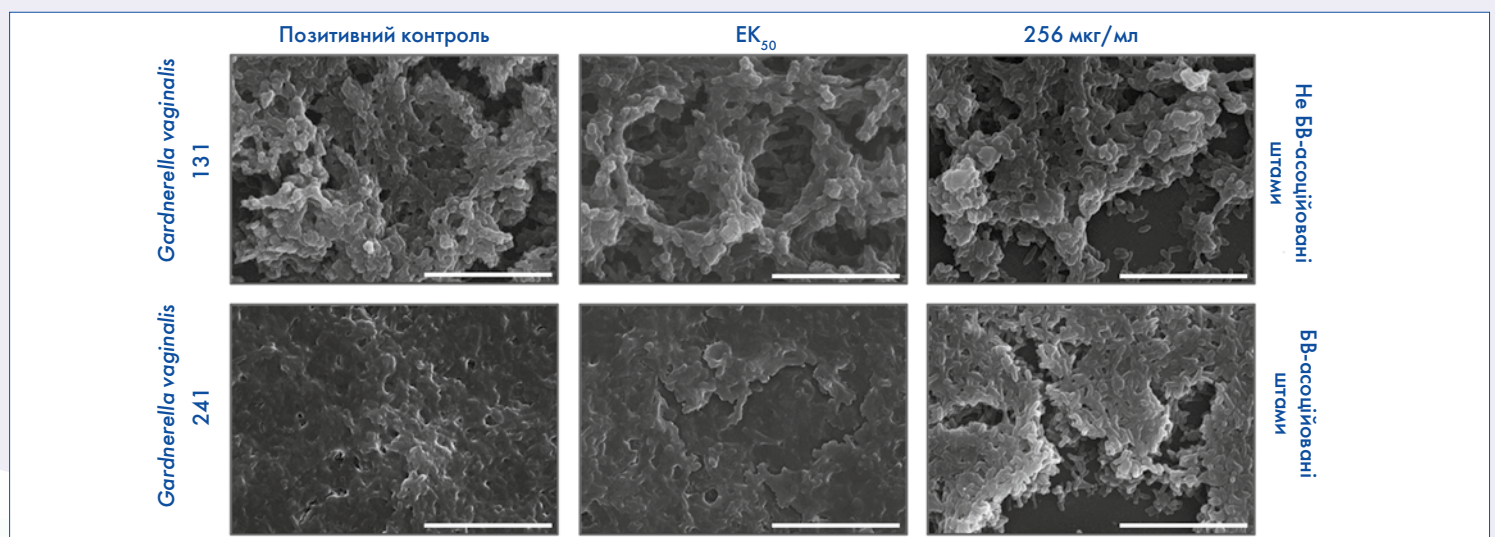


Рис. 2. Візуалізація впливу деквалінію хлориду (Флуомізин) на біомасу біоплівок, утворених асоційованими та не асоційованими із БВ *Gardnerella spp.*, за допомогою СЕМ

Деквалінію хлорид (Флуомізин) – це четвертинна амонієва сполука з широкою антимікробною активністю, яка у клінічній практиці здебільшого використовується як антисептик (McBain A.J., 2004). Деквалінію хлорид також має деякі протизапальні властивості. Раніше було продемонстровано, що ця сполука активна щодо широкого спектра вагінальних патогенів, включаючи *Atopobium vaginae* та *Gardnerella spp.* Деквалінію хлорид впливає на збудників інфекції одразу кількома шляхами – порушує проникність бактеріальних клітин та знижує їхню ферментативну активність (рис. 1). Крім того, підтверджено безпечність застосування Флуомізину у вагітних (Mendling W., 2016).

Деквалінію хлорид: ефективне руйнування біоплівок при бактеріальному вагінозі

Продовження. Початок на стор. 15.

а також було відзначено втрату біомаси біоплівки. Руйнація біоплівки відбулася як серед асоційованих із БВ штамів, так і в не асоційованих із цим захворюванням біотипах. Таким чином, ефективність дії Флуомізіну була доведена не лише проти окремих клітин збудника (Della-Casa V., 2002), а й при утворенні останнім біоплівок.

Здатність досліджуваної речовини проникати через біоплівку *Gardnerella spp.* була з'ясована за допомогою фарбування деквалінію хлориду флуоресцентною сполукою (ФС), а також використання флуорофору (пропідію йодид), який вказував на первинне ураження мембрани. Забарвлена ФС речовина,

використовувана у цьому тесті, була максимальної досліджуваної концентрації (256 мкг/мл). Таким чином, конфокальна мікроскопія також продемонструвала тривимірну деструкцію біоплівки після обробки деквалінію хлоридом (рис. 3).

Результати показали, що комплекс деквалінію хлориду та ФС розташовувався переважно у верхній частині шару біоплівки, оскільки мав більшу молекулярну масу, ніж лише досліджувана речовина. ФС широко використовується для прикріплення флуоресцентної мітки за допомогою групи амінів і має складну структуру, через що може зменшуватися доступність активних молекул деквалінію хлориду. Крім того, дослідженню

механізму дії препарату також заважає складна архітектура біоплівки. Щоб подолати ці обмеження, дослідники провели додатковий експеримент, у якому біоплівку фарбували після обробки деквалінію хлоридом. Після порівняння результатів диференціального фарбування з використанням різних флуорофорів було відзначено, що переважна більшість клітин біоплівки не містять пропідію йодиду. Це свідчить про те, що механізм дії при руйнуванні біоплівки, ймовірно, не пов'язаний із первинним ураженням клітинної мембрани.

Попередні дослідження показали, що деквалінію хлорид впливає на окремі бактеріальні клітини шляхом

дифузії крізь клітинну стінку і зв'язування з цитоплазматичною мембраною. Інші механізми дії включають денатурацію білків (Belosludtsev K.N., 2018). Отже, під впливом деквалінію хлориду може відбуватися лізис цитоплазматичної мембрани, але не у тій концентрації, яка була використана в дослідженні. Автори припускають, що за цієї концентрації деквалінію хлорид зв'язується з цитоплазматичною мембраною і, ймовірно, дифундує у внутрішню частину клітин, викликаючи їх загибель та відрив від структури біоплівки.

Висновки

Ефективність Флуомізіну проти окремих клітин *Gardnerella spp.* давно доведена. У даному дослідженні було показано, що цей препарат також особливо ефективний проти біоплівок, утворених асоційованими із БВ штамми *Gardnerella spp.* Він ефективно зменшує біомасу та метаболічну активність біоплівки при концентраціях нижче 256 мкг/мл. СЕМ показала, що Флуомізин також здатний руйнувати архітектуру матриці біоплівки. Враховуючи високий профіль безпеки, а також низький ризик появи резистентності до цього препарату, Флуомізин є ефективним для лікування БВ, навіть за наявності біоплівок.

Реферативний огляд за матеріалами:
Gaspar C., Rolo J., Cerca N. Dequalinium chloride effectively disrupts bacterial vaginosis (BV) *Gardnerella spp.* biofilms. *Pathogens* 2021, 10(3), 261; <https://doi.org/10.3390/pathogens10030261>

Підготувала **Анастасія Романова**

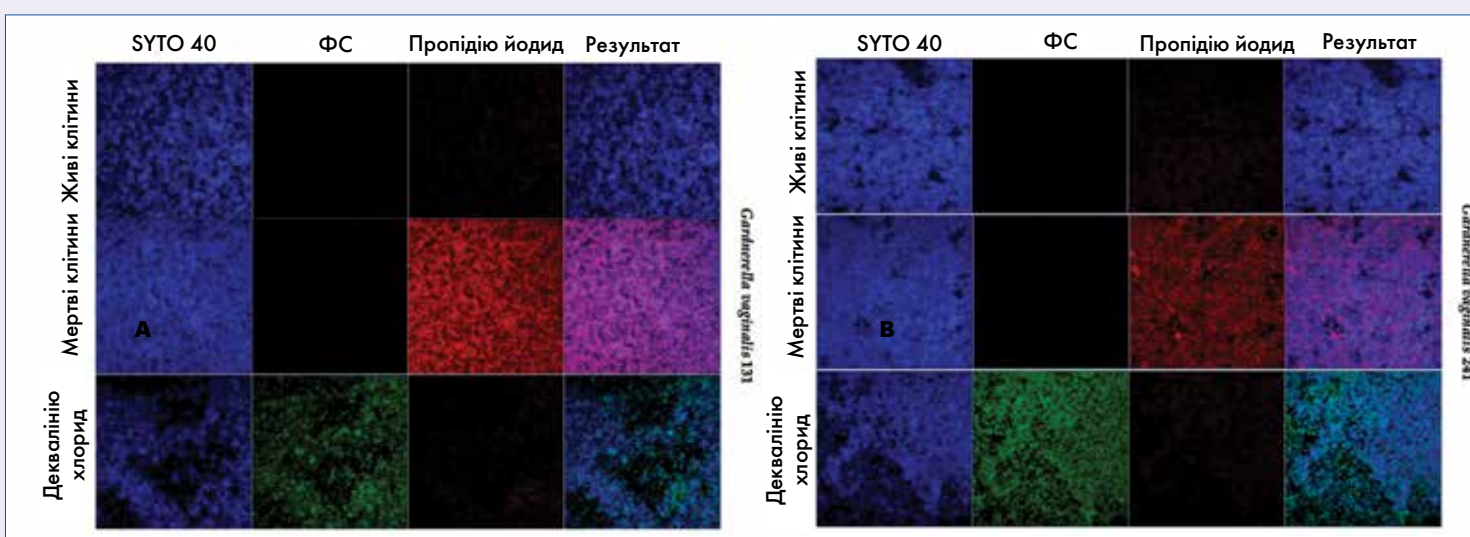


Рис. 3. Візуалізація взаємодії деквалінію хлориду в концентрації 256 мкг/мл із біоплівками, утвореними не асоційованим із БВ штамом *Gardnerella spp.* 131 (А) та асоційованим із БВ штамом 241 (В). Зелений: деквалінію хлорид (ФС), синій: нуклеїнові кислоти (Syto40); червоні: мертві клітини (пропідію йодид). Живі клітини: позитивний контроль, культуральні середовища, що використовувалися для формування біоплівок. Мертві клітини: біоплівки, знищені 70% етанолом. Деквалінію хлорид: біоплівка, оброблена комплексом деквалінію хлориду та ФС



СПЕЦІАЛІЗОВАНИЙ МЕДИЧНИЙ ПОРТАЛ

Електронні версії усіх друкованих видань
Видавничого дому «Здоров'я України»
на одному сайті!

Нам сайт



Наша сторінка Facebook





