

Пригнічення біоплівок умовно-патогенних бактерій на сечових катетерах*

Катетеризація сечовивідних шляхів є досить поширеною у медичній практиці процедурою. Короткочасна катетеризація, як правило, не призводить до ускладнень, однак за більш тривалого перебування катетера в організмі хворого підвищується ризик розвитку інфекційного процесу, так званої катетер-асоційованої інфекції (КАІ). На частку КАІ сечовивідних шляхів припадає до 40% усіх внутрішньолікарняних інфекцій [9].

Проблема інфікування катетерів за їх тривалого використання насамперед пов'язана з розвитком біоплівок власних ендогенних мікроорганізмів пацієнта. Крім того, у разі недотримання правил гігієни високою є ймовірність контамінування катетерів медичним персоналом, що може призводити до розвитку інфекційного процесу, викликаного збудниками внутрішньолікарняних інфекцій. Встановлено, що найбільш часто КАІ спричинені *Escherichia coli* (80%) і *Proteus mirabilis* (45%) [14]. Рідше відзначаються *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter spp.*, *Staphylococcus spp.* У пацієнтів після повторних курсів антибіотикотерапії КАІ найчастіше бувають викликані *Pseudomonas aeruginosa* і *Candida spp.* [10].

У даний час препаратами вибору для лікування й профілактики інфекційних захворювань сечовивідної системи є лікарські засоби із групи нітрофуранів. Клінічно доведено, що перевагами препаратів нітрофуранового ряду є поєднання протимікробного (перешкоджає в першу чергу адгезії мікроорганізмів), проти-запального та діуретичного ефектів, що особливо важливо при хронічних процесах у сечовивідних шляхах.

В останні роки поряд із антимікробними препаратами в урологічній практиці дедалі ширше використовуються препарати рослинного походження, що зумовлено досить низьким ризиком розвитку ускладнень і небажаних побічних ефектів [13]. З огляду на це у пацієнтів із гострими й хронічними інфекційними захворюваннями сечовивідних шляхів рекомендовано одночасне застосування препаратів нітрофуранового ряду та рослинного походження (Семенов Б.В. та співавт., 2008).

Мета роботи — дослідити закономірності розвитку бактеріальних біоплівок умовно-патогенних бактерій на сечових катетерах, а також можливості пригнічення цих біоплівок офіційним препаратом рослинного походження Канефрон® Н і препаратом нітрофуранового ряду фурамаг.

Матеріал та методи

Об'єктами дослідження служили культури мікроорганізмів *E. coli* M17 (промисловий штам) і *S. aureus* 193 (колекція НДЦЕМ ім. М.Ф. Гамалії, Росія). У роботі використовували офіційний препарат рослинного походження у вигляді розчину Канефрон® Н («Біонорика СЕ», Німеччина) та препарат нітрофуранового ряду фурамаг.

На першому етапі експерименту досліджували вплив Канефрону Н і фурамагу на повноцінні, сформовані біоплівки кишкової палички та стафілококів. Для цього бактеріальні біоплівки вирощували на внутрішній поверхні катетерів Фоля, розрізаючи їх упоперек на фрагменти довжиною близько 1 см, з яких потім готували половинки з відкритою внутрішньою порожниною. Всі маніпуляції з катетерами проводили у стерильних умовах. Далі культури *E. coli* M17 і *S. aureus* 193 засівали в колби з рідким поживним середовищем (бульйон із серцево-мозковою витяжкою, HiMedia, Індія), в які попередньо поміщали фрагменти катетерів. Культивування проводили в умовах термостатування (при температурі 37 °С протягом 24 год), у результаті чого на поверхні катетерів відбувалося формування біоплівки. Далі фрагменти катетерів із мікробною біоплівкою на внутрішній поверхні переносили в розчини для інкубації, що містили у першому випадку Канефрон® Н, а у другому — фурамаг. Інкубацію біоплівок проводили в різних рідких субстратах (розчинах): живильний бульйон,

фізіологічний розчин та штучна сеча. Час інкубації становив 5 і 24 год.

На другому етапі експерименту проводили дослідження впливу препаратів Канефрон® Н і фурамаг на формування та розвиток мікробних біоплівок на внутрішніх поверхнях катетерів Фоля. Для цього фрагменти катетера, отримані як описано вище, поміщали у рідке поживне середовище (бульйон із серцево-мозковою витяжкою із вищезазначеними препаратами), потім вводили культури *E. coli* M17 або *S. aureus* 193 у концентрації 10⁸ КУО/мл у кількості 10% від об'єму проби й вирощували у термостаті при температурі 37 °С протягом 24 год. Вирощені бактеріальні біоплівки змивали з поверхні катетерів фізіологічним розчином в об'ємі 1 мл і титрували у фізіологічному розчині за методом Коха з паралельним висіванням на тверде поживне середовище (колумбійський агар) для визначення КУО після 24-годинного культивування.

Електронно-мікроскопічні дослідження ультратонких змін у клітинах та бактеріальних біоплівках *E. coli* M17 і *S. aureus* 193 після впливу препаратів Канефрон® Н і фурамаг проводили з використанням трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ) методом ультратонких зрізів. Матеріал для ТЕМ брали з поверхні катетерів.

Електронно-мікроскопічний аналіз динаміки розвитку мікробних популяцій *E. coli* M17 і *S. aureus* 193 на поверхні катетерів під впливом препаратів Канефрон® Н і фурамаг проводили, використовуючи сканувальний електронний мікроскоп.

Результати

Спочатку визначали мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) Канефрону Н й фурамагу при впливі на суспензійні культури. У ході дослідження дії розчину Канефрону Н було показано, що для суспензійної культури *E. coli* M17 МІК становила 0,2 мл на 1 мл середовища, при цьому МІК для суспензійних клітин *S. aureus* 193 збільшувалася у два рази — 0,4 мл на 1 мл середовища. При визначенні МІК сухого препарату фурамаг щодо суспензійної культури кишкової палички і стафілококів було встановлено, що для обох культур вона виявилася однаковою — 1 мкг/мл.

Потім визначали МІК Канефрону й фурамагу при впливі на клітини в біоплівках *E. coli* M17 і *S. aureus* 193.

Далі автори вивчали вплив Канефрону Н й фурамагу на модельні сформовані біоплівки *E. coli* M17 і *S. aureus* 193 на поверхні сечових катетерів. При інкубації сформованих на поверхні катетерів біоплівок *S. aureus* 193 у розчині Канефрону Н вихідної концентрації через 5 год спостерігали зниження кількості КУО на 6 порядків, через 24 год інкубації — ще на 1 порядок. До 5-ї години інкубації біоплівки *S. aureus* 193 із застосуванням фурамагу в концентрації 10 мкг/мл кількість КУО знижувалася на 7,4 порядку, при цьому через 24 год дослідники спостерігали повне пригнічення життєздатності клітин *S. aureus* 193.

Інкубація біоплівок *E. coli* M17 на внутрішній поверхні катетерів із додаванням нерозведеного розчину Канефрону Н через 5 год призводила до зниження числа життєздатних клітин на 7 порядків, а через 24 год життєздатні клітини не виявлялися.

При впливі препарату фурамаг у концентрації 10 мкг/мл на біоплівки *E. coli* M17, сформовані на внутрішній поверхні катетерів, відбувалося повне пригнічення життєздатності кишкових паличок уже через 5 год інкубації.

Вирощування біоплівок *S. aureus* 193 і *E. coli* M17 протягом 24 год у нерозведеному розчині Канефрону Н в кінцевому підсумку призвело до формування біоплівок, проте кількість КУО була на 6 порядків для *S. aureus* 193 і на 7 порядків для *E. coli* M17 нижчою, ніж у контролі. У розчині фурамагу при концентрації 10 мкг/мл розвитку обох культур умовно-патогенних бактерій у вигляді біоплівок протягом 24 год не спостерігалось. Отримані дані вказують на здатність Канефрону Н і фурамагу пригнічувати формування біоплівок умовно-патогенних мікроорганізмів на стінках сечових катетерів.

СЕМ підтвердила дані, отримані у результаті проведення мікробіологічного аналізу.

На ультратонких зрізах клітин *E. coli* M17 і *S. aureus* 193, узятих із внутрішньої поверхні сечових катетерів Фоля після вирощування в бульйоні із серцево-мозковою витяжкою та обробки Канефроном Н і фурамагом, виявлено велику кількість деструктурованих клітин, фрагментів бактеріальних клітинних стінок та клітинного детриту, що є свідченням активного процесу лізису клітин обох досліджуваних культур.

Обговорення

Аналіз ультратонкої будови клітин умовно-патогенних бактерій при впливі Канефрону Н й фурамагу дає підставу припустити, що загибель клітин відбувається

в результаті їх деструкції внаслідок прямого або опосередкованого впливу на цитоплазматичну мембрану та клітинну стінку зазначених лікарських препаратів.

Дослідження, представлені у цій роботі, показали, що Канефрон® Н і фурамаг — це препарати, які здатні не тільки перешкоджати розвитку біоплівок патогенних мікроорганізмів на поверхні сечових катетерів, а й пригнічувати вже сформовані біоплівки, що істотно знижує ризик виникнення висхідної інфекції за тривалої катетеризації сечового міхура. Важливим фактом є підтверджене одночасно мікробіологічними та електронно-мікроскопічними методами пригнічення розвитку біоплівок *S. aureus* 193 — культури (іса +), який зумовлює агресивність цього штаму відносно організму-господаря.

Обробка сечових катетерів препаратами Канефрон® Н і фурамаг (у вигляді розчину вихідної концентрації 10 мкг/мл) сприяла руйнації сформованих бактеріальних біоплівок, що призводило до зниження обсіменіння мікроорганізмами, а також до зменшення процесу мікробної контамінації всього організму. Використання Канефрону Н й фурамагу доповнює класичну антисептичну обробку або доцільне у тих випадках, коли вона є небажаною. Порівняно із класичними схемами обробки сечових катетерів застосування зазначених препаратів є ефективнішим у пригніченні сформованих бактеріальних біоплівок і прискорює процес одужання пацієнтів.

Список літератури знаходиться в редакції.



Канефрон® Н
Інвестиція в ефективність лікування

Канефрон® Н покращує результати комплексної терапії запальних процесів сечових шляхів та СКХ

Для розміщення в спеціалізованих виданнях, призначених для медичних установ та лікарів, а також для поширення на семінарах, конференціях, симпозіумах з медичної тематики. Матеріал призначений виключно для фахівців у галузі охорони здоров'я. Канефрон® Н. Таблетки, вкриті оболонкою: 1 таблетка містить порошок висушених лікарських рослин: трави золототисячника 18 мг, кореня любистку 18 мг, листя розмарину 18 мг. Краплі оральні: 100 г крапель містить 29 г водно-спиртового екстракту (1:16) з лікарських рослин: трави золототисячника 0,6 г, кореня любистку 0,6 г, листя розмарину 0,6 г. Показання: для комплексного лікування запальних захворювань сечовивідних шляхів. Профілактика утворення сечових каменів, у тому числі і після їх видалення. Протипоказання. Підвищена індивідуальна чутливість до компонентів препарату. Пептична виразка у стадії загоєння. Краплі не слід застосовувати як монотерапію у випадках порушень функцій нирок. Не слід застосовувати Канефрон® Н для діуретичної терапії набряків, спричинених серцевою або нирковою недостатністю. Умови відпуску. Без рецепту. Виробник ТОВ «Біонорика», 02095, Київ, вул. Княжий Затон, 9. Тел.: (044) 521-86-00; факс: (044) 521-86-04; e-mail: info@bionorica.com

* «Мікробіологія», 2017, № 3. Друкується зі скороченнями.