

УДК 615.281'457.015.4:616-092.4'7

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ГЛАЗНЫХ КАПЕЛЬ  
И ГЕЛЯ АЗИТРОМИЦИНА**

Р.М. ГУСОВ, И.К. ЛЕБЕДЕВА, Б.А. ГУСОВА

*Пятигорская государственная фармацевтическая академия*

**Аннотация:** с использованием метода серийных разведений изучена антимикробная активность разработанных офтальмологических лекарственных форм: глазных капель и геля азитромицина против лабораторных и клинических штаммов микроорганизмов.

**Ключевые слова:** азитромицин, глазные капли, глазной гель, антимикробная активность.

**THE DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF EYE DROPS  
AND GEL AZITHROMYCIN**

R.M. GUSOV, I.K. LEBEDEVA, B.A. GUSOVA

*Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy*

**Abstract:** The antimicrobial activity of developed ophthalmic dosage forms: eye drops and gel azithromycin versus laboratory and clinical strains of microorganisms was studied by the method of serial dilutions.

**Key words:** azithromycin eye drops, eye gel, antimicrobial activity.

Инфекционные заболевания глаз являются серьезной медико-социальной проблемой практической офтальмологии. Воспаление является одной из основных причин временной нетрудоспособности больных с заболеваниями глаз (80%) и слепоты (10-30%). Клинико-статистический анализ, проведенный в различных регионах страны, показывает, что больные с глазными инфекциями занимают первое место в числе обратившихся к офтальмологу за помощью [1]. Среди общего числа больных воспалительными заболеваниями глаз 66,7% составляют больные конъюнктивитами, 23,3% – блефаритами, реже встречаются воспалительные поражения роговицы и внутренних оболочек глаза – 4,2%, невриты – 5,8% [4].

В Российской Федерации число больных с инфекционно – воспалительными заболеваниями глаз достигает 16 млн. в год. В связи с широким и фактически бесконтрольным использованием антибиотиков многие больные, страдающие бактериальной инфекцией глаз и занимающиеся самолечением, остаются неучтенными, если у них не развиваются тяжелые осложнения [2].

Причиной бактериальных конъюнктивитов являются аэробные и анаэробные бактерии. Аэробные бактерии, как правило, преобладают, и среди них наиболее часто встречаются грамположительные микроорганизмы: *S.epidermidis* (75,0%), *S.aureus* (14,1%), *Streptococcus spp.* (6,2%), *Micrococcus spp.* (1,6%) и *Enterococcus spp.* (3,1%), а возбудителями бактериальных эндофтальмитов в 75-95% случаев являются грамположительные кокки: *S. aureus*, *S. epidermidis* и другие коагулазанегативные стафилококки [5,6].

В настоящее время наблюдается значительный рост резистентности к наиболее часто применяемым в офтальмологической практике антибактериальным препаратам [7]. Возросла резистентность к аминогликозидам (глазным каплям гентамицина и тобрамицина) со стороны стафилококков, в частности, коагулазанегативных стафилококков [9]. Кроме того, результаты многочисленных клинических и эпидемиологических исследований свидетельствуют о росте резистентности к четвертому поколению фторхинолонов (например, к моксифлоксацину) [10,11].

Рост резистентности вследствие бесконтрольного применения пациентами антибактериальных лекарственных препаратов дополняют мутации природных и, что особенно опасно, госпитальных штаммов, которые постоянно испытывают на себе воздействие новых поколений антибиотиков и вырабатывают генетически передаваемые механизмы невосприимчивости к антибактериальным агентам [3,8].

Приведенные данные свидетельствуют о необходимости использования для создания глазных антибактериальных препаратов высокоэффективных антибиотиков, ранее не применявшихся местно в офтальмологической практике. Одним из таких антибиотиков, процент резистентности к которому низок у многих микроорганизмов, является азитромицин, относящийся к классу макролидов.

**Цель исследования** – определение антимикробной активности разработанных глазных лекарственных форм азитромицина *in vitro* на штаммах микроорганизмов, наиболее часто вызывающих бактериальные поражения глаз.

**Материалы и методы исследования.** В работе использовали глазные капли и гель азитромицина следующих составов:

- состав капель азитромицина:
  - азитромицина дигидрата 1,0 г
  - кислоты хлористоводородной 1М 3,0 мл
  - поливинилового спирта 1,0 г
  - натрия хлорида 0,47 г
  - бензалкония хлорида 0,01 г
  - фосфатного буфера (рН =7,4) до 100 мл
- состав геля азитромицина:
  - азитромицина дигидрата 1,0 г
  - раствора натрия гидроксида 1М 6,0 мл
  - карбопола 934 1,0 г
  - бензалкония хлорида 0,01 г
  - воды для инъекций 94,0 мл

Определение антимикробной активности разработанных лекарственных форм проводили методом серийных разведений. В качестве питательной среды использовали бульон Мюллера-Хилтон.

В семь стерильных пробирок одинакового стекла и диаметра помещали по 0,5 мл стерильной питательной среды. Для приготовления рабочих растворов антибиотика соответствующие навески капель, геля и стандартного образца азитромицина разводили питательной средой до концентрации 10 мг/мл.

Затем проводили двукратное разведение: для этого стерильной пипеткой 0,5 мл рабочего раствора вносили в первую пробирку, тщательно перемешивали и новой стерильной пипеткой переносили 0,5 мл раствора во вторую пробирку. Таким образом, разведение проводили в 7 пробирках. Из седьмой пробирки 0,5 мл раствора удаляли. В результате разведения был получен ряд пробирок, в которых концентрация антибиотика отличалась в 2 раза, то есть концентрация азитромицина в пробирках была равна 5-2,5 -1,25-0,62-0,31-0,15-0,075 мкг/мл.

В эксперименте использовали образцы тест-штаммов микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* 209P, *St. epidermidis* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, а также штаммы клинических изолятов, выделенных при проведении бактериальных посевов отделяемого конъюнктивы пациентов с бактериальными поражениями глаз. Лабораторные штаммы были получены из Государственного научно-исследовательского института стандартизации и контроля медицинских и биологических препаратов им. Л.А. Тарасевича.

При проведении эксперимента использовали 24-часовые культуры, выращенные на скошенном *мясопептонном агаре* (МПА). Микробные культуры с МПА смывали 3 мл стерильного 0,9% раствора натрия хлорида и готовили стандартную микробную взвесь тест-штаммов, эквивалентную 0,5 по стандарту Мак Фарланда, разведенную в 100 раз питательной средой, соответствующую концентрации микроорганизмов примерно  $10^6$  КОЕ/мл.

Взвесь в объеме 0,5 мл вносили в пробирки с разведениями антибиотика сразу после приготовления. Пробирки закрывали стерильными ватно-марлевыми пробками и инкубировали в термостате при температуре  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  в течение 24 часов. В работе использовали три контрольные пробирки: две-содержащие 0,5 мл бульона и 0,5 мл инокулята, в третью – помещали 1 мл чистого бульона.

Пробирку с «отрицательным» контролем помещали в холодильник, где хранили до учета результатов. Образец «положительного» контроля и пробирку с питательной средой помещали в термостат на то же время, что и пробирки с разведением антибиотика.

Для определения наличия роста микроорганизмов пробирки с посевами просматривали в проходящем свете. Рост культур в присутствии азитромицина сравнивали с референтным («отрицательным») контролем.

*Минимальную подавляющую концентрацию* (МПК) определяли по наименьшей концентрации антибиотика, которая подавляла видимый рост тест-штамма микроорганизма, о чем судили по отсутствию помутнения среды. После инкубации *минимальную бактерицидную концентрацию* (МБК) устанавливали путём высева материала из пробирок, где визуально было отмечено отсутствие роста микроорганизмов, на сектор чашки Петри с питательной средой №1. Результат оценивали после инкубации в термостате при температуре  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  в течение 24 часов.

**Результаты и их обсуждение.** Полученные результаты определения минимальной ингибирующей (МИК) и минимальной бактерицидной концентраций представлены в нижеприведенных таблицах.

Результаты эксперимента подтверждают известное положение о том, что клинические изоляты имеют меньшую чувствительность к антибиотику, чем лабораторные. Как следует из представленных

данных, в случае всех четырех штаммов была получена антимикробная активность, сопоставимая с активностью стандартного образца азитромицина, а в случае геля - превосходящая ее.

Таблица 1

**Результаты определения антимикробной активности геля и капель азитромицина против клинических изолятов штаммов**

Штамм	МИК (мкг/мл)			МБК (мкг/мл)		
	Стандартный образец	1% Капли	1% Гель	Стандартный образец	1%Капли	1%Гель
St. aureus	0,31	0,31	0,15	0,62	0,62	0,31
St. epidermidis	0,15	0,15	0,15	0,31	0,31	0,31
E. coli	0,31	0,15	0,31	0,62	0,31	0,52
P. aeruginosa	0,31	0,31	0,15	1,25	0,62	0,62

Таблица 2

**Результаты определения антимикробной активности геля и капель азитромицина против лабораторных штаммов**

Штамм	МИК (мкг/мл)			МБК (мкг/мл)		
	Стандартный образец	1% Капли	1%Гель	Стандартный образец	1%Капли	1%Гель
St. aureus 209P	0,15	0,31	0,15	0,31	0,62	0,31
St. epidermidis ATCC 25923	0,075	0,15	0,075	0,15	0,31	0,15
E. coli ATCC 25922	0,15	0,15	0,15	0,62	0,31	0,31
P. aeruginosa ATCC 27853	0,15	0,31	0,075	0,62	1,25	0,15

Кроме того, полученные более низкие значения МИК для геля азитромицина совпадают с имеющимися в источниках литературы [12]. Сведениями о более выраженной антибактериальной активности раствора азитромицина в карбополе, чем чистого антибиотика, что свидетельствует о правильности выбора 1% гидрогеля карбопола 934 в качестве основы.

Таким образом, проведенные исследования позволяют сделать вывод о достаточной антимикробной активности разработанных глазных лекарственных форм азитромицина *in vitro* на штаммах микроорганизмов, наиболее часто вызывающих бактериальные поражения глаз, и перспективности внедрения разработанных геля и капель азитромицина в офтальмологическую практику.

**Литература**

1. Майчук, Ю.Ф. Оптимизация фармакотерапии воспалительных болезней глазной поверхности / Ю.Ф. Майчук // Рос. офтальмологич. журн.– 2008.– № 3.– С.18–25.
2. Майчук, Ю.Ф. Лекарственная терапия бактериальных конъюнктивитов и кератитов / Ю.Ф. Майчук // Consilium-medicum.– 2005.– Т.4.– № 3.– С. 24–29.
3. Егоров, В.В. Эффективность применения глазных капель «Офтаквикс» в лечении инфекционных конъюнктивитов / В.В. Егоров, Н.В. Савченко, Г.И. Барабанова // Клинич. офтальмология.– 2008.– Т. 9.– № 2.– С. 45–47.
4. Timothy, L. Besifloxacin: a novel anti-infective for the treatment of bacterial conjunctivitis / L. Timothy // Clinical Ophthalmology.– 2010.– Vol. 4.– P. 215–225.
5. Ambroziak, A. Evaluation of effectiveness and tolerance of treatment with azithromycin 1.5% eye drops in bacterial conjunctivitis / A. Ambroziak // Klinika oczna.– 2009.– Vol.111.– № 3.– P. 46–49.
6. Borer, A. Hospital-acquired conjunctivitis in a neonatal intensive care unit: Bacterial etiology and susceptibility patterns / A. Borer // American J. of infection control 2010.– Vol. 12.– P.204–216.
7. Colby, K.A. Ocular TRUST: nationwide antimicrobial susceptibility patterns in ocular isolates / K.A. Colby // American. j. of Ophthalmology.– 2008.– Vol.145.– №6.– P. 951–958.
8. Khan, M.A. Molecular characterisation of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) from keratitis patients: a microbiological analysis / M.A. Khan // The British j. of ophthalmology.– 2010.– Vol. 94.– № 8.– P. 994–998

9. *Wagner, R.S.* Kinetics of kill of bacterial conjunctivitis isolates with moxifloxacin, a fluoroquinolone, compared with the aminoglycosides tobramycin and gentamicin / R.S. Wagner // *Clinical Ophthalmology*.– 2010.– Vol. 2.– № 4.– P.41–45.

10. *Sharma, N.* Fourth-generation fluoroquinolone resistant bacterial keratitis / N. Sharma// *J. Cataract. Refract. Surg.*– 2007.– Vol.33.– P.1488–1490.

11. *Mamalis, N.* From The Editor: The increasing problem of antibiotic resistance / N. Mamalis// *J. Cataract. Refract. Surg.*– 2007.– Vol 33.– P. 1831–1833.

12. *Mitchell, H.F.* Response to correspondence from Lichtenstein and Granet Re: Fluoroquinolones compared to 1% azithromycin in DuraSite for bacterial conjunctivitis / H.F. Mitchell, E. Protzko // *Clinical Ophthalmology*.– 2008.– Vol.2.– № 1.– P. 242–244.