

ISSN 2304-9081

Учредители:
Уральское отделение РАН
Оренбургский научный центр УрО РАН

Бюллетень
Оренбургского научного центра
УрО РАН
(электронный журнал)



2014 * № 3

On-line версия журнала на сайте
<http://www.elmag.uran.ru>

© Коллектив авторов, 2014

УДК 579.0

В.С. Терещенко, А.В. Жестков, А.В. Лямин

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПОДАВЛЕНИЯ КЛАРИТРОМИЦИНОМ И ЕГО ГЕНЕРИКАМИ СПОСОБНОСТИ К БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЮ У *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Самарский государственный медицинский университет, Самара, Россия

Цель. Определение эффективности подавления кларитромицином и его генериками способности к образованию биоплёнок у *Pseudomonas aeruginosa*.

Материалы и методы. Для исследования выбраны пленкообразующие штаммы *P. aeruginosa*. Способность к образованию биопленок определяли на пластиковых планшетах для иммуноферментного анализа. Для выращивания культур использовали пептонный бульон, суточные культуры разводили, затем вносили в лунки. Кларитромицин и его генерики вносили непосредственно после данного этапа, а также через 4 и через 8 часов после начала инкубации. Для изучения концентрации кларитромицина, подавляющей пленкообразование, антибиотик вносился в разных концентрациях. Количественной оценкой степени образования биопленки служили значения оптической плотности.

Результаты. В работе была выявлена зависимость подавления пленкообразующей способности от выбранного препарата и времени его внесения.

Заключение. На основании полученных данных можно сделать вывод, что кларитромицин значительно активнее своего генерика в отношении подавления биопленкообразования.

Ключевые слова: биопленки, кларитромицин, генерики, *Pseudomonas aeruginosa*, ВЕС

V.S. Tereshchenko, A.V. Zhestkov, A.V. Lyamin

DETERMINATION OF THE EFFECTIVENESS OF THE ABILITY TO SUPPRESS BIOFILM FORMATION IN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* BY CLARITHROMYCIN AND ITS GENERICS

Samara State Medical University, Samara, Russia

Purpose. Determination of the effectiveness of the ability to suppress biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* by clarithromycin and its generics.

Materials and methods. Film-forming strains of *P. aeruginosa* were selected for the study. The ability to form biofilms was determined on plastic plates for ELISA. Meat-peptone broth was used, overnight cultures were diluted and then added into the wells. Clarithromycin and generics were added immediately after this stage, and after 4 and 8 hours after the start of incubation. To study the concentration of clarithromycin, suppressing film formation, the antibiotic was applied in different concentrations. Quantitative assessment of the degree of biofilm formation were absorbance values.

Results. In this study we found the dependence of the suppression of the film-forming ability of the selected drug and the time of its publication.

Conclusion. Based on these data we can conclude that clarithromycin is significantly more active than its generic in suppressing the biofilm formation.

Key words: biofilm, clarithromycin, generic, *Pseudomonas aeruginosa*, ВЕС.

Введение

Современные бактериальные инфекции, в том числе, вызванные *Pseudomonas aeruginosa*, требуют поиска новых методов борьбы с ними. Одной из проблем, с которой сегодня сталкиваются врачи, является резистентность патогенных микроорганизмов, ключевым фактором которой является способность микробов формировать биоплёнки [1]. Биопленка – микробное сообщество, характеризующееся клетками, которые прикреплены к поверхности или друг к другу, заключены в матрикс синтезированных ими внеклеточных полимерных веществ и демонстрируют изменение фенотипа, выражающееся в изменении параметров роста и экспрессии специфичных генов [2]. В этом свете особенно интересны препараты, подавляющие пленкообразующую способность микроорганизмов, например кларитромицин. Однако на рынке существует множество генериков данного препарата, эффективность которых не всегда сопоставима с эффективностью оригинала.

Целью нашего исследования явилось определение эффективности подавления кларитромицином и его генериками способности к образованию биоплёнок у *Pseudomonas aeruginosa*.

Материалы и методы

В работе для исследования выбраны пленкообразующие штаммы *P. aeruginosa* (штамм 1 – синегнойная палочка, выделенная от пациентов со стоматологической патологией, штамм 2 – от пациентов с муковисцидозом). Способность к образованию биопленок определяли на пластиковых планшетах для иммуноферментного анализа. Для выращивания культур использовали пептонный бульон, суточные культуры разводили 1 к 100, вносили по 100 мкл в лунки. Кларитромицин и его генерики вносили непосредственно после данного этапа, а также через 4 и через 8 часов после начала инкубации для изучения влияния антибиотика на способность образовывать биопленку на разных стадиях её формирования. Кларитромицин – полусинтетический 14-членный антибиотик-макролид, производное эритромицина, который в терапевтических концентрациях не воздействует на синегнойную палочку, что и позволило нам изучить его влияние непосредственно на формирование биоплёнок у данного микроорганизма [3].

Для изучения способности кларитромицина подавлять пленкообразование антибиотик вносился в разных концентрациях. Мы измеряли Biofilm

Eradication Concentration (BEC) кларитромицина, то есть минимальную концентрацию антибиотика, способную подавить образование бактериями биопленки. В общей сложности *P. aeruginosa* культивировали 24 часа при 37⁰С, затем содержимое лунок удаляли и заполняли 200 мкл 0,1% спиртового раствора фуксина для окрашивания матрикса [4], инкубировали при комнатной температуре 45 минут. После экстракции красителя из лунок и трехкратного промывания буферным раствором, в лунки вносили 96% этиловый спирт и выдерживали при комнатной температуре 45 минут. Интенсивность окрашивания биопленки оценивали на фотоколориметре при длине волны 490 нм. [5]. Длина волны фильтра была выбрана в соответствии с использованным красителем. Количественной оценкой степени образования биопленки служили значения оптической плотности.

Результаты и обсуждение

В результате работы выявлено, что BEC кларитромицина, способная подавить рост биоплёнок *P. aeruginosa*, находится в пределах от 0,04 до 0,60 мкг/мл, а его генерика – в пределах от 0,50 до 500 мкг/мл и более. Оптимальная концентрация кларитромицина и его генерика для подавления биопленкообразующей способности *P. aeruginosa* зависит от штамма и времени внесения. Выяснилось, что при добавлении антибиотика и его генерического препарата в лунки непосредственно после внесения бактерий, BEC кларитромицина составила 0,30 и 0,08 мкг/мл для штаммов 1 и 2 соответственно, а генерика – более 500 мкг/мл в обоих случаях. При внесении антибиотика через 4 часа BEC кларитромицина имели значения 0,60 и 0,04 мкг/мл для 1 и 2 штаммов, а генерик показал более высокие значения – 1 мкг/мл и более 500 мкг/мл соответственно. Через 8 часов после внесения BEC кларитромицина для штамма 1 составила 0,60 мкг/мл, а для штамма 2 – 0,04 мкг/мл, генерика – 0,5 мкг/мл и более 500 мкг/мл соответственно.

Заключение

На основании полученных данных можно сделать вывод, что кларитромицин значительно активнее своего генерика в отношении подавления биопленкообразования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Jensen P.Ø., Tolker-Nielsen T. Report from Eurobiofilms 2011. Future Microbiol. 2011. 6: 1237-1245.
2. Mah T-FC, OToole GA. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. Trends

Microbiol. 2001. 9: 34-39.

3. Whiteley M. Gene expression in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. Nature. 2001. 413: 860-864.
4. Branda S.S. et al. Biofilms: the matrix revisited. Trends in microbiology. 2005. 13(1): 20-26.
5. Coenye T., Nelis H.J. In vitro and in vivo model systems to study microbial biofilm formation. J. Microbiol. Meth. 2010. 83(2): 89-105.

Поступила 1.08.2014

(Контактная информация: Терещенко Василий Сергеевич - аспирант кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии СамГМУ; адрес: 443099, Российская Федерация, г. Самара, ул. Чапаевская, 89; e-mail: basterser@yandex.ru)