

УДК 615.322.07

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ СБОРА «ЛОРПОЛИФИТ» ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

У.Н. Буханова^{1*}, Н.Г. Селезнев¹, Е.А. Сухосырова², Ю.М. Копашева²,
Н.Н. Гирба²

Резюме. Изучена *in vitro* антимикробная активность водных извлечений из сбора «Лорполифит» (настой 1:10), настоев отдельных компонентов сбора (1:10) и модельного настоя, изготовленного из настоев (1:10) отдельных компонентов сбора, взятых пропорционально частям сбора, в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов. Установлено наличие бактерицидного и бактериостатического действия в отношении *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P и *Escherichia coli* ATCC 25922. Не обнаружено антимикробной активности всех исследуемых водных настоев (1:10) в отношении *Candida albicans* ATCC 10231.

Ключевые слова: инфекции верхних дыхательных путей, антимикробная активность, лекарственный растительный сбор «Лорполифит», настой.

STUDY OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF COMBINATION PLANT MEDICINAL PRODUCT «LORPOLIPHYT» FOR THE TREATMENT OF DISEASES OF THE UPPER RESPIRATORY TRACT

U.N. Bukhanova^{1*}, N.G. Seleznev¹, E.A. Sukhosyrova², Y.M. Kopasheva², N.N. Girba²

Abstract. *In vitro* antimicrobial activity of infusion (1:10) from the combination plant medicinal product «Lorpoliphyt», infusions (1:10) the individual components of combination and model infusion, made from infusions (1:10) of the individual components of the combination plant medicinal product, taken in proportion to the parts of the collection, against gram-positive and gram-negative microorganisms were studied. The presence of bactericidal and bacteriostatic action against *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P and *Escherichia coli* ATCC 25922 was revealed. The antimicrobial activity of all tested infusions (1:10) against *Candida albicans* ATCC 10231 was not found.

Keywords: upper respiratory infection, antimicrobial activity, combination plant medicinal product «Lorpoliphyt», infusion.

1 – ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им/ академика И.П. Павлова» Минздрава России, 390026, Россия, г. Рязань, ул. Высоковольная, д. 9

2 – ООО «ОЛФАРМ», 117105, Россия, г. Москва, ул. Нагатинская, д. 3а, стр. 5

1 – Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov, 9, Visocovoltnaya str., Ryazan, 390026, Russia

2 – «OLPHARM», 3A/5, Nagatinskaya str., Moscow, 117105, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: montis-74@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Инфекции верхних дыхательных путей (ВДП) и ЛОР-органов занимают первое место в структуре общей заболеваемости в мире, а удельный вес данной патологии составляет у взрослых 27,6%, у подростков – 39,9% и у детей – 61% [1], что актуализирует проблему расширения спектра лекарственных средств для внедрения в комплексную терапию данных заболеваний, в том числе за счет препаратов растительного происхождения.

По характеру течения инфекционные заболевания ВДП условно делятся на острые и хронические, а также подразделяются в зависимости от локализации воспалительного процесса. В популяции широко распространены такие заболевания, как фарингиты, тонзиллиты, ларингиты, ангины и др. Их возбудителями чаще всего являются стрептококки, стафилококки, пневмококки, кандиды и др. [2–4].

В зависимости от этиологического агента и локализации воспаления симптомы и последствия инфекции ВДП весьма различны и складываются из симптомов общей интоксикации и местных патологических изменений [1]. Имеется тесная зависимость роли возбудителей от варианта течения заболевания: при остром риносинусите и обострении хронического риносинусита основное значение имеют стрептококк *Streptococcus pneumoniae* (25–35%) и гемофильная палочка *Haemophilus influenzae* (нетипизируемые штаммы, 6–26%) [2]. Развитие фолликулярных и лакунарных ангин наиболее часто связано с β-гемолитическим стрептококком группы А (*Streptococcus pyogenes*), а в развитии тонзиллярных осложнений важную роль помимо стрептококков играют также представители семейства Enterobacteriaceae и анаэробные возбудители. В этиологии острого тонзиллофарингита важную роль играет инфекционный фактор, при-

чем вирусы составляют до 15–40% у детей и 30–65% у взрослых, бактерии (в первую очередь стрептококковая и стафилококковая флора и гемофильная палочка) – 30–40% у взрослых и 5–10% у детей [5].

Существенно отличается микрофлора при хронической гнойной патологии ЛОР-органов. Так, основную массу возбудителей составляют различные виды стафилококков (при этом чаще других встречается *S. aureus*), а также различные представители рода *Streptococcus*. Крайне широко представлена группа грамотрицательных микроорганизмов, которая включает различные бактерии семейства Enterobacteriaceae (при хронической гнойной патологии ЛОР-органов наиболее часто определяются *Proteus*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Serratia*). Необходимо отметить возрастание доли грибковой патологии при хронических формах инфекции, что объясняется длительным течением гнойного процесса, длительным местным или системным применением антибиотиков, а также ослаблением иммунного статуса больного. Достаточно часто при хронической гнойной патологии ЛОР-органов высеваются ассоциации микроорганизмов [3, 5, 6, 18].

В развитии хронического воспаления ВДП значение имеет не только видовой, но и количественный состав условно-патогенной микрофлоры. Например, грибы рода *Candida* в количестве 10^{1-4} КОЕ/мл не вызывают воспалительную патологию глоточной миндалины, превышение данного порога способствует развитию воспаления. Встречаемость ассоциаций грибов рода *Candida* и *S. aureus* составляет 23,7% от общего количества выделенных грибов рода *Candida* [6].

Назначение системной антибактериальной терапии традиционно считается обязательным при большинстве инфекционных заболеваний ЛОР-органов [7]. Однако при острых инфекциях ВДП назначение антибактериальных препаратов (АБП) не всегда рационально, так как, во-первых, острые респираторные инфекции могут вызываться не только бактериями, но и различными вирусами, нередко случаи сочетанной и суперинфекции; во-вторых, у условно-патогенных микроорганизмов имеется природная и приобретенная устойчивость к АБП [5, 8–10].

Возникновение устойчивых штаммов при использовании антибиотиков и их высокая токсичность, приводящая к различным осложнениям в клинике, диктует необходимость поиска альтернативных средств борьбы с инфекциями ВДП. Существенное значение для практики имеют препараты растительного происхождения в первую очередь в связи с их хорошей переносимостью, практически полным отсутствием противопоказаний, мягким регулирующим действием на факторы резистентности, возможнос-

тью использовать в домашних условиях, экономичностью [5].

Растения имеют неограниченные возможности синтезировать огромный спектр вторичных метаболитов (алкалоидов, гликозидов, терпеноидов, сапонинов, флавоноидов, кумаринов, хинонов, противомикробных и противогрибковых пептидов), оказывающих повреждающее действие на бактериальную клетку и тормозящих рост и размножение бактерий [8].

На наш взгляд, для воздействия на очаг инфекционного воспаления ВДП наиболее целесообразно назначение препаратов местного действия в комплексе с лекарственными растительными препаратами, в частности сборами, оказывающими многостороннее действие. Сборы воздействуют комплексно, так как содержат сумму биологически активных веществ (БАВ) разных групп (полифенольные соединения, фенолгликозиды, дубильные вещества, органические, фенолкарбоновые и другие кислоты, микроэлементы, витамины и т.д.). Преимущество отдается сборам, обладающим противовоспалительным, иммуностимулирующим свойством [5, 11, 12], что отличает их от искусственных антибиотиков, являющихся иммунодепрессантами [10]. Кроме того, сбор должен иметь выраженную антимикробную активность в отношении микроорганизмов, формирующих микробный пейзаж при патологических состояниях ВДП.

Целью данной работы явилось исследование антимикробной активности водных извлечений из сбора «Лорполифит» (настой 1:10), настоев отдельных компонентов сбора (1:10) и модельного настоя, изготовленного из настоев (1:10) отдельных компонентов сбора, взятых пропорционально частям сбора в объеме 100 мл, в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования – сбор «Лорполифит», состоящий из 7 видов фармакопейного лекарственного растительного сырья (ЛРС): цветков ноготков (*Calendula officinalis* L.) [ООО ПКФ «ФИТОФАРМ», Россия, серия 030916, годен до 09.18]; травы хвоща (*Equisetum arvense* L.) [ООО ПКФ «ФИТОФАРМ», Россия, серия 010616, годен до 06.20]; листьев подорожника большого (*Plantago major* L.) [ООО ПКФ «ФИТОФАРМ», Россия, серия 010616, годен до 06.19]; цветков ромашки (*Chamomilla recutita* L.) [«ФармаЦвет», Россия, серия 261116, годен до 12.19]; травы тысячелистника (*Achillea millefolium* L.) [ООО ПКФ «ФИТОФАРМ», Россия, серия 010116, годен до 01.19]; корневищ и корней девясила (*Inula helenium* L.) [ООО «Лек С+», Россия, серия 010116, годен до 02.19]; травы зверобоя (*Hypericum perforatum* L.) [ООО ПКФ «ФИТОФАРМ», Россия, серия 020616, го-

ден до 06.19], традиционно используемого в качестве средств, обладающих противовоспалительным, иммуномодулирующим и антимикробным свойствами [13]. Сбор готовили в лабораторных условиях в соответствии с ОФС 1.4.1.0020.15 «Сборы» [14].

Водное извлечение из сбора «Лорполифит» (настой 1:10) изготавливали в соответствии с ОФС.1.4.1.0018.15 «Настои и отвары» ГФ XIII [15]. С целью снижения инициальной контаминации образцов настои готовили с использованием стерильной воды очищенной. Большинство компонентов сбора содержит эфирные масла, поэтому сосуд для настаивания был плотно закупорен в течение всего времени настаивания, перемешивание осуществлялось путем покачивания инфундирки.

Настои (1:10) каждого компонента сбора «Лорполифит» готовили из промышленных образцов ЛРС стандартной степени измельчения в соответствии с ОФС.1.4.1.0018.15 «Настои и отвары».

Модельный настой (1:10) сбора «Лорполифит» готовили из настоев (1:10) отдельных компонентов сбора, взятых пропорционально частям сбора в объеме 100 мл.

Для проведения исследования использовали тест-штаммы: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P; *Escherichia coli* ATCC 25922; *Candida albicans* ATCC 10231, полученные из коллекции ЦЭК МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России и ВКПМ ФГБУ ГосНИИгенетика.

Испытание на наличие антимикробного действия водных извлечений из сбора «Лорполифит» (настой 1:10) проводили глубинным чашечным агаровым методом путем сравнения интенсивности роста тест-штаммов микроорганизмов в присутствии и без испытуемого препарата [16].

Накануне испытания тест-штаммы микроорганизмов активировали высевом со среды хранения на питательную среду № 1 (бактерии) и среду № 2 (дрожжи) с последующей инкубацией при температуре $32,5 \pm 2,5$ °C в течение 16–24 ч. Выросшие культуры со скошенного агара суспендировали в стерильном 0,9% растворе натрия хлорида до мутности, эквивалентной 0,5 по стандарту McFarland, что примерно составляет $(1,0-1,5) \times 10^8$ КОЕ/мл для бактерий и $(1,0-5,0) \times 10^6$ КОЕ/мл для дрожжей. Мутность суспензии микроорганизмов устанавливали с использованием денситометра DEN-1. Стандартизованную суспензию тест-штамма микроорганизма разводили методами десятикратных разведений в стерильном 0,9% растворе натрия хлорида до концентрации около 100 КОЕ/мл (разведение 10^{-6} – *S. aureus*, *E. coli*, разведение 10^{-4} – *C. albicans*).

В стерильные чашки Петри диаметром 90 мм вносили 1 мл испытуемого образца, затем прибавляли 1 мл суспензии тест-штамма микроорганизма с концентрацией около 100 КОЕ/мл. Чашки с бактериями заливали 15 мл расплавленной и охлажденной до $42,5 \pm 2,5$ °C среды № 1, чашки с дрожжами – тем же количеством среды № 2. В контрольные чашки вместо испытуемого образца вносили такое же количество стерильной воды очищенной. После застывания агара чашки с посевами переворачивали, помещали в термостат и инкубировали при температуре $35,5 \pm 2,5$ °C для бактерий и $25,5 \pm 2,5$ °C для грибов в течение 48–72 ч. После окончания времени инкубации просматривали посеvy и отмечали появление типичного роста тест-микроорганизмов в контрольных чашках (без препарата) и испытуемых (с препаратом).

Определение фактической концентрации микробных клеток стандартизованной суспензии проводили поверхностным чашечным агаровым методом [17].

Определение инициальной контаминации водных извлечений проводили в соответствии с ОФС 1.2.4.0002.15 «Микробиологическая чистота» [16].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты экспериментального изучения антимикробного действия водных извлечений из сбора «Лорполифит» (настой 1:10), настоев (1:10) отдельных компонентов сбора и модельного настоя (1:10) представлены в таблице 1.

При сравнении интенсивности роста бактериальных тест-штаммов *S. aureus* и *E. coli* в присутствии и без испытуемого препарата возникли трудности, вызванные наличием инициальной контаминации образцов. Общее число аэробных микроорганизмов в испытуемых образцах, кроме образцов настоя травы зверобоя, травы тысячелистника, корневищ и корней девясила, находилось в диапазоне $4,0 \times 10^1 \div 1,7 \times 10^3$ КОЕ/мл. В отношении тест-штамма *C. albicans* подобных проблем не возникло, так как в состав питательной среды № 2 входит антибиотик левомецетин для предотвращения роста бактерий.

Наличие или отсутствие роста тест-штаммов *S. aureus* и *E. coli* на чашках с испытуемыми образцами подтверждали с помощью микроскопического исследования. Во всех мазках, кроме образца настоя корневищ и корней девясила, обнаружены грамположительные споровые и неспоровые палочки.

По результатам микроскопирования установлено отсутствие *S. aureus* в мазках образцов водного извлечения из сбора «Лорполифит», настоя цветков календулы, настоя листьев подорожника, настоя

Таблица 1.

Антимикробная активность водных извлечений из сбора «Лорполифит» (настой 1:10), настоев (1:10) отдельных компонентов сбора и модельного настоя (1:10) сбора «Лорполифит»

Наименование образца	Общее число аэробных микроорганизмов (инициальная контаминация), КОЕ/мл	<i>S. aureus</i> ATCC 6538 P		<i>E. coli</i> ATCC 25922		<i>C. albicans</i> ATCC 10231
		КОЕ/чашку	Микроскопия	КОЕ/чашку	Микроскопия	КОЕ/чашку
Настой (1:10) из сбора «Лорполифит»	2,0x10 ²	164*	грамположительные споровые палочки	173	грамположительные споровые и неспоровые палочки; грамотрицательные палочки	163
Настой (1:10) цветков календулы	1,4x10 ³	сплошной рост*	грамположительные споровые палочки	сплошной рост**	грамположительные споровые и неспоровые палочки	155
Настой (1:10) листьев подорожника	4,0x10 ¹	20*	грамположительные споровые палочки	135	грамположительные споровые и неспоровые палочки; грамотрицательные палочки	155
Настой (1:10) травы хвоща	6,0x10 ¹	68	грамположительные споровые палочки; единичные грамположительные кокки	136	грамположительные споровые и неспоровые палочки; грамотрицательные палочки	173
Настой (1:10) цветков ромашки	1,7x10 ³	сплошной рост*	грамположительные споровые и неспоровые палочки	сплошной рост**	грамположительные споровые и неспоровые палочки	182
Настой (1:10) травы зверобоя	<10	45	грамположительные споровые палочки; грамположительные кокки	135	грамотрицательные палочки	175
Настой (1:10) травы тысячелистника	<10	58	грамположительные споровые палочки; единичные грамположительные кокки	127	грамотрицательные палочки	177
Настой (1:10) корневищ и корней девясила	<10	89	грамположительные кокки	125	грамотрицательные палочки	180
Модельный настой (1:10) сбора «Лорполифит»	7,0x10 ²	сплошной рост*	грамположительные споровые палочки	сплошной рост	грамотрицательные палочки; грамположительные неспоровые палочки	177
Контроль культуры (без испытуемого препарата)	–	93	грамположительные кокки	130	грамотрицательные палочки	160

Примечание: * – отсутствие в мазках *S. aureus*.

** – отсутствие в мазках *E. coli*.

цветков ромашки и модельного настоя. В мазках образцов настоев травы хвоща, травы тысячелистника и травы зверобоя в поле зрения микроскопа наряду с грамположительными споровыми и неспоровыми палочками обнаружены единичные грамположительные кокки.

Установлено отсутствие *E. coli* в мазках образцов настоев цветков календулы и цветков ромашки.

Таким образом, по результатам проведенного исследования можно сделать вывод, что водное извлечение из сбора «Лорполифит» (настой 1:10), настои (1:10) из цветков календулы, листьев подорожника, цветков ромашки и модельный настой, изготовленный из настоев 1:10 отдельных компонентов сбора, взятых пропорционально частям сбора, обладают бактерицидным действием в отношении *S. aureus*

АТСС 6538-Р: отсутствует рост тест-микроорганизма в присутствии испытуемого препарата. Настой (1:10) из травы хвоща, травы зверобоя и травы тысячелистника обладают бактериостатическим действием в отношении *S. aureus* АТСС 6538-Р: наблюдается уменьшение роста тест-микроорганизма в присутствии испытуемого препарата. Настой (1:10) из корневищ и корней девясила не обладает антимикробным действием в отношении *S. aureus* АТСС 6538-Р: рост тест-микроорганизма аналогичен контролю.

Водное извлечение из сбора «Лорполифит» (настой 1:10), модельный настой, изготовленный из настоев (1:10) отдельных компонентов сбора, настой (1:10) цветков календулы, травы хвоща, травы зверобоя, травы тысячелистника, корневищ и корней девясила не обладают антимикробным действием в отношении *E. coli* АТСС 25922 – рост тест-микроорганизма аналогичен контролю. Настой (1:10) из цветков календулы и цветков ромашки обладают бактерицидным действием в отношении *E. coli* АТСС 25922: отсутствует рост тест-микроорганизма в присутствии испытуемого препарата. Данный факт позволяет прогнозировать проявление антимикробного действия в отношении *E. coli* у сбора «Лорполифит» при условии совершенствования технологии получения извлечений из данной фитокомпозиции, например используя промышленные способы экстрагирования, направленные на увеличение выхода из сбора БАВ, обладающих антибактериальной активностью.

Все испытанные образцы водных извлечений (1:10) не обладают антимикробным действием в отношении *C. albicans* АТСС 10231 – рост тест-микроорганизма аналогичен контролю.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Доказана выраженная антибактериальная активность водного извлечения из сбора «Лорполифит» (настой 1:10); модельного настоя объемом 100 мл, изготовленного из настоев (1:10) отдельных компонентов сбора, взятых пропорционально частям сбора, а также подтверждено антимикробное действие настоев (1:10) из цветков календулы, листьев подорожника, цветков ромашки в отношении *S. aureus* АТСС 6538-Р.
2. Выявлена антибактериальная активность в отношении *E. coli* АТСС 25922 у настоев (1:10) из цветков календулы и цветков ромашки.
3. Не обнаружено антибактериальной активности всех исследуемых водных настоев (1:10) в отношении *C. albicans* АТСС 10231.
4. Сбор «Лорполифит» можно рассматривать как дополнение к проводимой системной антибиотикотерапии при заболеваниях ВДП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Н.Л. Кунельская, А.Ю. Ивойлов, М.И. Кулагина. Экспекторанты в комплексной терапии // Медицинский совет. 2015. № 3. С. 75–77.
2. Оториноларингология / Под ред. чл.-кор. РАМН, проф. В.Т. Пальчуна, проф. А.И. Крюкова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 368 с.: ил. (Серия «Клинические рекомендации»).
3. Оториноларингология: национальное руководство / Под ред. В.Т. Пальчуна. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 960 с. (Серия «Национальные руководства»).
4. П.М. Масесе, Т.В. Фатеева, П.Г. Мизина, И.Н. Зилфикаров. Изучение антимикробной активности лекарственной композиции с экстрактами эвкалипта и эхинацеи // Фармация. 2016. Т. 65. № 3. С. 40–42.
5. С.В. Морозова. Возможности применения препаратов растительного происхождения при неспецифических инфекционно-воспалительных заболеваниях глотки // Русский медицинский журнал. 2007. Т. 15. № 7. С. 592
6. О.А. Гизенгер, С.А. Шетина. Мониторинг микрофлоры поверхности глоточной миндалины у детей с хроническим аденоидитом, проживающих на территории города Челябинска // Вестник оториноларингологии. 2016. № 1. С. 33–36.
7. Е.И. Каманин, О.У. Стецюк. Инфекции верхних дыхательных путей и ЛОР-органов // Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / Под ред. Ю.Б. Белоусова, С.Н. Козлова. – Смоленск: МАКМАХ, 2007. С. 248–257.
8. Д.В. Тапальский, Ф.Д. Тапальский. Антибактериальная активность официальных лекарственных растений в отношении экстремально-антибиотикорезистентных грамотрицательных бактерий // Проблемы здоровья и экологии. 2015. С. 69–74.
9. Д.М. Хисямова, В.А. Куркин, А.В. Лямин, А.В. Жестков. Антимикробная активность водных извлечений из подземных органов некоторых видов лапчатки // Фармация. 2016. № 1. С. 32–34.
10. Н.Н. Гаврилова, И.А. Ратникова, Л.П. Треножникова, К. Баякшова, А.Х. Хасенова. Антимикробная активность лекарственных растений в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов // Биотехнология. Теория и практика. 2010. № 4. С. 44–47.
11. Н.В. Иващенко, И.А. Самылина. Антимикробная активность лекарственного сбора «Уросан» // Фармация. 2013. № 2. С. 39–40.
12. Г.Н. Селезнев, Д.М. Попов, Н.Г. Селезнев, В.И. Коноплева. Разработка и исследование лекарственного растительного сбора «УВАУР» // Сеченовский вестник. 2014. № 1(15) С. 138–139.
13. В.Ф. Корсун, Г.В. Лавренова, Е.В. Корсун, Б.А. Султанбеков. Лекарственные растения в ЛОР-практике: руководство по клинической фитотерапии. – СПб: Изд-во Н-Л, 2010. 304 с.
14. ОФС.1.4.1.0020.15. Сборы // Государственная фармакопея. XIII изд. Т. 2.
15. ОФС.1.4.1.0018.15. Настои и отвары // Государственная фармакопея. XIII изд. Т. 2.
16. ОФС.1.2.4.0002.15. Микробиологическая чистота // Государственная фармакопея. XIII изд. Т. 1.
17. ОФС.1.7.2.0008.15. Определение концентрации микробных клеток // Государственная фармакопея. XIII изд. Т. 2.
18. J. Brook, K. Shah. Bacteriology of adenoids of and tonsils in children with recurrent adenotonsillitis // Annals Otol, Rhinol Laryngol. 2001. № 110. P. 844–848.