

developing resistance of pathogens to these drugs. The most rational way to solve this problem is to find new pharmaceutical products, which have a good therapeutic effect on antibiotic-resistant strains of microorganisms.

**Purpose.** Investigation of antimicrobial activity of semi-solid dosage form with silver citrate against multidrug-resistant clinical strains of different types of microorganisms.

**Materials and methods.** Clinical multi-resistant strains of various species of microorganisms and samples of the pharmaceutical preparation with silver in different composition were the objects of microbiological testing.

**Results.** According to the findings of the research, there were revealed zones of growth inhibition of *Staphylococcus aureus* 421, *S. epidermidis* 439, *Escherichia coli* 197, *Pseudomonas aeruginosa* 185 around the disks saturated with silver-containing semi-solid preparation. The diameters of such zones depended on the concentration of active pharmaceutical ingredient and the concentration of bacterial suspension applied to the surface of Mueller-Hinton medium. In case of clinical multi-resistant strains of the *Staphylococcus* genus, growth inhibition zone diameters of 22 mm were observed when applying bacterial suspension in the concentration of  $10^4$  colony-forming units/ml. The developed sample preparation with silver showed high antimicrobial activity against *P. aeruginosa* culture 185 in all tested concentrations.

**Conclusions.** Experimental samples of the semi-solid preparation with silver showed bacteriostatic and bactericidal activity against multi-resistant clinical strains of different species of microorganisms.

**Key words:** microbiological research, semi-solid dosage form, silver drug.

### **Відомості про автора:**

*Полова Жанна Миколаївна* - к.фарм.н., доц. каф. аптечної та промислової технології ліків Національного медичного університету імені О. О. Богомольця. Адреса: Національний медичний університет імені О.О.Богомольця, кафедра аптечної та промислової технології ліків, 01004, м. Київ, вул. Пушкінська, 22, тел.: (044) 235-90-66.

УДК615.451.16:573.6.086.83:616.594.171.2

© М.В.РИБАЛКІН, Л.С.СТРЕЛЬНИКОВ, 2016

*М.В.Рибалкін, Л.С.Стрельников*

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ІНТЕНСИВНОСТІ УЛЬТРАЗВУКУ ДЛЯ РУЙНУВАННЯ КЛІТИН ГРИБІВ *CANDIDA*

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

**Вступ.** Сьогодні у багатьох країнах світу активно ведуться наукові роботи з розробки вакцин для попередження та лікування кандидозної інфекції. Ми вважаємо перспективним розроблення субодичної вакцини на основі білків та полісахаридів вивільнених з дезинтегрованих клітин грибів *C. albicans* та *C. tropicalis*.

**Мета.** Визначити оптимальне значення інтенсивності ультразвукового випромінювання при дезинтеграції клітин грибів *C. albicans* та *C. tropicalis*.

**Матеріали та методи.** Для попередження контамінації усі маніпуляції проводили в ламінарному боксі та підтримували асептичні умови. Одержану біомасу клітин грибів *C. albicans* та *C. tropicalis* з концентрацією  $8 \times 10^8$ - $8 \times 10^9$  у 1 мл окремо, в об'ємі 10 мл стерильного ізотонічного 0,9 % розчину натрію хлориду піддавали дії ультразвуку для руйнування клітин грибів на апараті УЗУУ-21 при частоті 22 кГц, інтенсивності 1, 5 та 10 Вт/см<sup>2</sup> та при температурі  $25 \pm 2$  °С.

**Результати.** При дії ультразвуку з інтенсивністю 5 Вт/см<sup>2</sup> на клітини грибів *S. albicans* та *S. tropicalis* було виявлено вміст білків  $0,33 \pm 0,03$  мг/мл та  $0,31 \pm 0,03$  мг/мл, а при інтенсивності 10 Вт/см<sup>2</sup> –  $0,34 \pm 0,03$  мг/мл та  $0,33 \pm 0,03$  мг/мл при 15 хв експозиції. Тому не раціонально використовувати інтенсивність більше 5 Вт/см<sup>2</sup>.

**Ключові слова:** клітини грибів *Candida*, інтенсивність ультразвуку, експериментальне обґрунтування, руйнування.

**Вступ.** Дослідники з усього світу фіксують зростання захворюваності на кандидозну інфекцію, що пов'язано з нераціональним використанням антибіотиків, гормональних та інших препаратів, а також погіршенням екології та послабленням імунного захисту [1, 4]. У зв'язку з цим, сьогодні у багатьох країнах світу активно ведуться наукові роботи з розробки вакцин для попередження та лікування кандидозної інфекції [5]. Вчені пропонують різні варіанти вакцин, однак єдиної думки з цього приводу немає. Ми вважаємо перспективним розроблення субодиночної комбінованої [6] вакцини на основі білків та полісахаридів вивільнених з дезінтегрованих клітин грибів *S. albicans* та *S. tropicalis*. У попередніх дослідженнях було обґрунтовано метод дезінтеграції клітин грибів *S. albicans* та *S. tropicalis*, який забезпечує максимальний вихід білків та полісахаридів [7], а саме ультразвукова дезінтеграція [3]. Для визначення оптимальних параметрів ультразвукового випромінювання для дезінтеграції клітин грибів були проведені дослідження при різних значеннях інтенсивності.

**Мета досліджень** - визначити оптимальне значення інтенсивності ультразвукового випромінювання при дезінтеграції клітин грибів *S. albicans* та *S. tropicalis*.

**Матеріали та методи.** Для попередження контамінації усі маніпуляції проводили в ламінарному боксі та підтримували асептичні умови. За попередньо розробленим біотехнологічним режимом культивування [2], одержану біомасу клітин грибів *S. albicans* та *S. tropicalis* з концентрацією  $8 \times 10^8$ – $8 \times 10^9$  у 1 мл окремо, в об'ємі 10 мл стерильного ізотонічного 0,9 % розчину натрію хлориду піддавали дії ультразвуку для руйнування клітин грибів на апараті УЗУУ-21 при частоті 22 кГц, інтенсивності 1, 5 та 10 Вт/см<sup>2</sup> та при температурі  $25 \pm 2$  °С. Для визначення часу, який є необхідним для вивільнення діючих речовин з біомаси грибів, при всіх значеннях інтенсивності, через певні проміжки часу (5, 10, 15, 30, 45, 60, 75 та 90 хв.) в одержаних екстрактах проводили визначення вмісту білка згідно ДФУ за методом Лоурі. Згідно з попередніми дослідженнями, вивільнення білка та полісахаридів відбувається синхронно, тому достатньо визначити вміст лише білка. Проводили попереднє фільтрування на мембранних фільтрах з діаметром пор 0,8 мкм та стерилізуюче фільтрування на мембранних фільтрах з діаметром пор 0,22 мкм.

**Результати та їх обговорення.** Одержані дані свідчать про перспективність використання ультразвуку з інтенсивністю 5 Вт/см<sup>2</sup> при експозиції 15 хв. Результати вивчення складу одержаних екстрактів показали, що в екстракті, який одержано при дії ультразвуку з інтенсивністю 1 Вт/см<sup>2</sup> на клітини грибів *S. albicans* та *S. tropicalis* було виявлено найменшу кількість білків  $0,17 \pm 0,02$  мг/мл та  $0,15 \pm 0,02$  мг/мл при 15 хв експозиції. Вміст білків при збільшенні експозиції поступово збільшувався. При дії ультразвуку з інтенсивністю 5 Вт/см<sup>2</sup> на клітини грибів *S. albicans* та *S. tropicalis* було виявлено вміст білків  $0,33 \pm 0,03$  мг/мл та  $0,31 \pm 0,03$  мг/мл, а при інтенсивності 36. наук. праць співробіт. НМАПО

10 Вт/см<sup>2</sup>-0,34 ± 0,03мг/млта 0,33 ± 0,03мг/мл при 15 хв експозиції. Вміст білків при збільшенні експозиції майже не змінювався. Ймовірно, що при дії ультразвуку з інтенсивністю 5 Вт/см<sup>2</sup> при експозиції 15 хв відбувається оптимальне вивільнення виділення діючих речовин з усіх шарів клітин грибів *Candida*. При більшій інтенсивності відбувається дещо швидше вивільнення такої ж кількості білків, що і при інтенсивності 5 Вт/см<sup>2</sup>, але лише на кілька хвилин, а енергетичні затрати стають значно більшими, тому не раціонально використовувати інтенсивність більше 5 Вт/см<sup>2</sup>.

**Висновки.** Таким чином, можна зробити висновок, що в результаті проведених досліджень було визначено оптимальне значення інтенсивності ультразвукового випромінювання 5 Вт/см<sup>2</sup> при дезінтеграції клітин грибів *C. albicans* та *C. tropicalis*. У подальших дослідженнях з розробки лікарського засобу для попередження та лікування кандидозної інфекції перспективно обґрунтувати лікарську форму та її склад.

### **Література**

1. Голубка О.В. Поширення кандидозів, загальна характеристика збудника, особливості лабораторної діагностики / О.В.Голубка //Annals of Mechnikov Institute. – 2011. –Т.2. – С. 51-59.
2. Біотехнологічне обґрунтування режиму культивування грибів роду *Candida* / М. В. Рибалкін, Н. І. Філімонова, О. П. Стрілець, Л. С. Стрельников // Український біофармацевтичний журнал. – 2015. - Т. 36, № 1. – С. 74-76.
3. Рибалкін М. В. Визначення оптимального методу дезінтеграції клітин грибів *Candida albicans* та *Candida tropicalis* / М. В. Рибалкін // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2014.-Т. 15. – С. 71-75.
4. Anaul K. M. *Candida* infections and their prevention / М. K.Anaul, Z. Ahmad // ISRN Preventive Medicine. – 2013. - P. 1-13.
5. Cassone A. Development of vaccines for *Candida albicans*: fight in gas killed transformer / A.Cassone// Nature Reviews Microbiology. – 2013. – Т. 11. – С. 884–891.
6. Combination vaccines / A. G.Skibinski David, C. Barbara Baudner, Singh Manmohan, T. O.'Hagan Derek // Glob Infect Dis. – 2011. – V. 3, № 1. –P. 63–72.
7. Han Y. Comparison of two *Candida* mannan vaccines: the role of complement in protection against disseminated candidiasis / Y. Han, K. Y. Rhew // Arch. Pharm. Res. – 2012. - № 35. – P. 2021–2027.

**Н.В.Рыбалкин, Л.С.Стрельников**

## **Экспериментальное обоснование интенсивности ультразвука для разрушения клеток грибов *Candida***

**Национальный фармацевтический университет, г. Киев**

**Введение.** Сейчас активно во многих странах мира ведутся научные работы по разработке вакцин для предупреждения и лечения кандидозной инфекции. Мы считаем перспективным разработку субединичной вакцины на основе белков и полисахаридов выявленных с дезинтегрированных клеток грибов *C. albicans* и *C. tropicalis*.

**Цель.** Определить оптимальное значение интенсивности ультразвукового излучения при дезінтеграції кліток грибів *C. albicans* и *C. tropicalis*.

**Материалы и методы.** Для предупреждения контаминации все манипуляции проводили в ламинарном боксе и поддерживали асептические условия.

Полученную биомассу клеток грибов *C. albicans* и *C. tropicalis* с концентрацией  $8 \times 10^8$ - $8 \times 10^9$  в 1 мл отдельно в объеме 10 мл стерильного изотонического 0,9% раствора натрия хлорида подвергали воздействию ультразвука для разрушения клеток грибов на аппарате УЗУУ-21 при чистоте 22 кГц, интенсивности 1, 5 и 10 Вт/см<sup>2</sup> и при температуре  $25 \pm 2$  °С.

**Результаты.** При воздействии ультразвука с интенсивность 5 Вт/см<sup>2</sup> на клетки грибов *C. albicans* и *C. tropicalis* было обнаружено содержание белков  $0,33 \pm 0,03$  мг/мл и  $0,31 \pm 0,03$  мг/мл, а при интенсивности 10 Вт/см<sup>2</sup> -  $0,34 \pm 0,03$  мг/мл и  $0,33 \pm 0,03$  мг/мл при 15 мин экспозиции. Поэтому рационально использовать интенсивность более 5 Вт/см<sup>2</sup>.

**Ключевые слова:** клетки грибов *Candida*, интенсивность ультразвука, экспериментальное обоснование, разрушение.

*M.V. Rybalkin, L.S.Strelnikov*

## **An experimental rationale for intensity of ultrasonic cell disruption of *Candida* fungi**

**National University of Pharmacy**

**Introduction.** Now, active research aimed at developing vaccines for prevention and treatment of candidal infections is being conducted in many countries. We believe that development of subunit vaccines based on proteins and polysaccharides released from disintegrated cells of *C. albicans* and *C. tropicalis* to be promising.

**The aim** of the research was to determine the optimum intensity of ultrasonic exposure for cell disintegration of *C. albicans* and *C. tropicalis*.

**Materials and methods.** To prevent contamination, all procedures were carried out in a laminar box and aseptic conditions were maintained. The resulting biomass of cells of *C. albicans* and *C. tropicalis* in the concentration of  $8 \times 10^8$ - $8 \times 10^9$  in 1 ml separately in a volume of 10 ml of sterile isotonic 0.9% sodium chloride was exposed to ultrasound for cell disruption by UZUU-21 (frequency - 22 kHz, intensity - 1, 5 and 10 W/cm<sup>2</sup> and temperature -  $25 \pm 2$  °C).

**Results.** After exposure of cells of fungi *C. albicans* and *C. tropicalis* to ultrasound with intensity of 5W/cm<sup>2</sup>, the found protein content was  $0.33 \pm 0.03$  mg/ml and  $0.31 \pm 0.03$  mg/ml, while with the intensity of 10 W/cm<sup>2</sup> it was  $0.34 \pm 0.03$  mg/ml and  $0.33 \pm 0.03$  mg/ml at 15 min exposure. It is no more rational to use the intensity of 5W/cm<sup>2</sup>.

**Key words:** exposure to ultrasound, disintegrated cells, *C. albicans* and *C. tropicalis*, protein content.

### ***Відомості про авторів:***

***Рибалкін Микола Вікторович*** - к. фарм. н., асистент каф. біотехнології Національного фармацевтичного університету. Адреса: м. Харків, вул. Валентинівська, 4.

***Стрельников Леонід Семенович*** - д. фарм. ф., проф., завідувач каф. біотехнологія. Адреса: м. Харків, вул. Валентинівська, 4.