

ДЕЙСТВИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ПРЕПАРАТА ТЕРЖИНАН® НА МИКРООРГАНИЗМЫ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА ЖЕНЩИН. ОПЫТ *IN VITRO*

© А.М. Савичева, Е.В. Спасибова

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург

Для цитирования: Савичева А.М., Спасибова Е.В. Действие комбинированного препарата Тержинан® на микроорганизмы, выделенные из урогенитального тракта женщин. Опыт *in vitro*. – 2017. – Т. 66. – № 5. – С. 21–26. doi: 10.17816/JOWD66521-26

Поступила в редакцию: 04.07.2017

Принята к печати: 22.09.2017

- **Введение.** Исследование представляет собой опыт *in vitro*, проведенный с целью определения чувствительности микроорганизмов, выделенных из урогенитального тракта женщин, к комбинации препаратов, входящих в состав Тержинана. **Методы.** В исследование были включены 516 штаммов микроорганизмов, выделенных из влагалища женщин репродуктивного возраста: *Candida spp.* ($n = 83$), бактерии семейства *Enterobacteriaceae* ($n = 138$), *Streptococcus agalactiae* ($n = 72$), *Enterococcus spp.* ($n = 147$), *Staphylococcus spp.* ($n = 37$), *Actinomyces urogenitalis* ($n = 7$), *Gardnerella vaginalis* ($n = 27$), *Atopobium vaginae* ($n = 5$). Взвесь каждого штамма микроорганизма в объеме 0,5 мл (0,5 по Мак-Фарланду) наносили на поверхность плотной питательной среды (*Muller-Hinton Agar* или 5 % *Blood Muller-Hinton Agar*). Затем поочередно на три сектора калиброванной петлей наносили разведения препарата Тержинан. Чашки Петри инкубировали 24 ч при температуре 37 °С. Учет результатов проводили визуально, измеряя диаметр зоны задержки роста. **Результаты.** Большинство клинических изолятов *Candida albicans* были чувствительны (S) к препарату, исследуемому как в цельном виде (без разведения), так и в разведениях в 10 и 100 раз. Тержинан без разведения и в разведении 1 : 10 (то есть в концентрации 0,1) оказывал 100 % эффект на все тестируемые бактерии семейства *Enterobacteriaceae*. Чувствительность грамположительных бактерий к антибиотикам, входящим в состав Тержинана, составила 74,1 %. Высокочувствительными (100 %) были стафилококки, в том числе *Staphylococcus aureus*. Чувствительность *Streptococcus agalactiae* и *Enterococcus spp.* составила 70 %. Все выделенные клинические штаммы *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae* были чувствительны к комбинации антибактериальных препаратов, входящих в состав Тержинана, что коррелирует с данными о высокой эффективности лечения им бактериального вагиноза. **Выводы.** В опыте *in vitro* комбинированный препарат Тержинан показал высокую эффективность в отношении основных групп микроорганизмов, выделяемых из влагалища, в том числе при патологических состояниях, таких как бактериальный вагиноз и вульвовагинит различной этиологии.
- **Ключевые слова:** Тержинан; штаммы микроорганизмов; бактериальный вагиноз; вульвовагинит; чувствительность к антибактериальным препаратам.

EFFECT OF THE COMBINED PREPARATION TERZHINAN® ON MICROORGANISMS ISOLATED FROM THE UROGENITAL TRACT OF WOMEN. *IN VITRO* EXPERIMENT

© A.M. Savicheva, E.V. Spasibova

The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia

For citation: Savicheva AM, Spasibova EV. Effect of the combined preparation Terzhinan® on microorganisms isolated from the urogenital tract of women. *In vitro* experiment. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2017;66(5):21-26. doi: 10.17816/JOWD66521-26

Received: 04.07.2017

Accepted: 22.09.2017

- **Introduction.** The study is *in vitro* experiment, aimed to determine antibiotic susceptibility of microorganisms isolated from the urogenital tract of women to the combination of substances included in the preparation Terzhinan. **Methods.** In total, 516 microorganism strains isolated from the vagina of reproductive age women have been tested: *Candida spp.* ($n = 83$), bacteria of the family *Enterobacteriaceae* ($n = 138$), *Streptococcus agalactiae* ($n = 72$), *Enterococcus spp.* ($n = 147$), *Staphylococcus spp.* ($n = 37$), *Actinomyces urogenitalis* ($n = 7$), *Gardnerella vaginalis* ($n = 27$), *Atopobium*

vaginae ($n = 5$). Suspensions of each strain in a volume of 0.5 ml (0.5 according to McFarland) were applied onto culture medium (*Muller-Hinton Agar* or 5% *Blood Muller-Hinton Agar*). Furthermore, serial dilutions of Terzhinan were applied with a calibrated loop onto three sectors. Petri dishes were then incubated at 37 °C for 24 h. The results were evaluated visually, by measuring growth inhibition zones. **Results.** The majority of *Candida albicans* isolates were susceptible (S) to the preparation, using both undiluted and diluted (10 and 100 times) preparation. Terzhinan without dilution and in the dilution 1:10 was 100% effective against all tested bacteria of the family *Enterobacteriaceae*. Susceptibility of gram positive bacteria to the antibiotics included in Terzhinan, was 74.1%. All isolates of staphylococci, including *Staphylococcus aureus*, were susceptible. The frequency of susceptible strains of *Streptococcus agalactiae* and *Enterococcus spp.* was 70%. All clinical isolates of *Gardnerella vaginalis* and *Atopobium vaginae* were susceptible to the combinations of antibiotics included in the preparation Terzhinan, which is in agreement with data on its high efficiency in the treatment of bacterial vaginosis. **Conclusions.** In *in vitro* experiment, the combined preparation Terzhinan showed high activity against major groups of microorganisms isolated from the vagina including pathological conditions, such as bacterial vaginosis and vulvovaginitis of different etiology.

■ **Keywords:** Terzhinan; strains of microorganisms; bacterial vaginosis; vulvovaginitis; susceptibility to antibacterial drugs.

Введение

Вульвовагиниты различной этиологии и бактериальный вагиноз являются наиболее частой причиной обращения женщин к гинекологу. В структуре воспалительных заболеваний женских половых органов суммарная частота бактериального вагиноза, кандидозного вульвовагинита и аэробного вагинита достигает 90 %. Характерными особенностями этих состояний в настоящее время являются полимикробная этиология, стертая клиническая картина и склонность к рецидивированию. Это обусловлено формированием смешанных биопленок, которое способствует ускорению роста, увеличению количества и активности микроорганизмов, входящих в их состав, повышению их выживаемости и снижению эффективности терапии монопрепаратами.

Возбудителями специфических вагинитов являются *Trichomonas vaginalis*, *Candida spp.* При аэробных вагинитах наиболее часто выделяются стафилококки, стрептококки, бактерии семейства *Enterobacteriaceae*. Бактериальный вагиноз (БВ) представляет собой клинический полимикробный синдром, при котором происходит замещение вагинальных лактобацилл большим количеством преимущественно анаэробных микроорганизмов. Доминирующими бактериями, ассоциированными с БВ, являются *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae*.

Препарат Тержинан® (вагинальные таблетки Лаборатории БУШАРА-РЕКОРДАТИ, Франция) существует на российском фармакологическом рынке в течение многих лет и успешно зарекомендовал себя в клинической практике. Каждая вагинальная таблетка содержит: тернидазол 200 мг — производное имидазола для местного применения, активный в отношении облигатных, факультативных анаэробных бактерий

(в том числе *Gardnerella vaginalis*) и трихомонад; неомицина сульфат 100 мг (65 000 МЕ) — аминогликозидный антибиотик широкого спектра действия, эффективный в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий; нистатин 100 000 ЕД — полиеновый противогрибковый антибиотик, подавляющий рост грибов рода *Candida*; преднизолон 3 мг — кортикостероид, оказывающий противовоспалительное и десенсибилизирующее действие.

Проведенные исследования доказывают высокую эффективность Тержинана при лечении вульвовагинитов различной этиологии и бактериального вагиноза [1]. Он рекомендован как препарат выбора для местной терапии кандидозных вульвовагинитов у беременных и небеременных женщин [2]. Исследование Е.В. Липовой и Р.С. Хрзян (2006) показало высокую эффективность монотерапии Тержинаном бактериального вагиноза [3].

Нарушения физиологического микробиоценоза служат кофактором развития цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN) вследствие изменения восприимчивости клеток влажалищного эпителия к вирусу папилломы человека (ВПЧ) [4, 5].

Комплексный подход к терапии пациенток с предраковыми заболеваниями шейки матки включает в себя, наряду с хирургическим лечением, применение антибактериальных препаратов местного действия. Предоперационное назначение Тержинана пациенткам с неопухолевыми заболеваниями шейки матки позволяет дифференцированно подходить к их ведению и снижает частоту необоснованного хирургического лечения на 20 % [6]. Применение Тержинана в сочетании с деструкцией у пациенток с ВПЧ-ассоциированными CIN I на фоне дисбиоза влажалища обеспечивает статистиче-

ски значимое сокращение сроков эпителизации шейки матки [7].

Целью нашего исследования стало определение чувствительности микроорганизмов, выделенных из урогенитального тракта женщин, к комбинации препаратов, входящих в состав Тержинана.

Материалы и методы

В исследовании изучались 516 штаммов микроорганизмов: *Candida albicans* ($n = 63$), *Candida krusei* ($n = 11$), *Candida glabrata* ($n = 9$), *Escherichia coli* ($n = 85$), *Citrobacter* spp. ($n = 17$), *Klebsiella pneumoniae* ($n = 36$), *Streptococcus agalactiae* ($n = 72$), *Enterococcus* spp. ($n = 147$), *Staphylococcus aureus* ($n = 23$), *Staphylococcus epidermidis* ($n = 7$), *Staphylococcus hominis* ($n = 4$), *Staphylococcus haemolyticus* ($n = 3$), *Actinomyces urogenitalis* ($n = 7$), *Gardnerella vaginalis* ($n = 27$), *Atopobium vaginae* ($n = 5$). Все микроорганизмы были выделены из влагалища женщин репродуктивного возраста.

В опыте *in vitro* использовали суточные культуры бактерий, выращенные на плотных питательных средах: агаре Сабуро для дрожжеподобных грибов, 5 % кровяном агаре для факультативных анаэробных бактерий, агаре Шедлера с 5 % бараньей крови для анаэробов. Идентификацию микроорганизмов проводили методом MALDI-TOF на масспектрометре Microflex (Bruker, Германия).

Таблетки Тержинана растворяли в 10 мл изотонического раствора натрия хлорида (0,9 % NaCl). Исследовали следующие разведения Тержинана: концентрированный раствор (содержимое 1 таблетки) и разведения этого препарата — 1 : 10 и 1 : 100.

Для определения чувствительности микроорганизмов к препарату использовали следующие питательные среды: *Muller-Hinton Agar* и *Blood Muller-Hinton Agar* (Oxoid, Великобритания) с добавлением 3 % донорской эритроцитарной

массы и 2 % сыворотки крупного рогатого скота. Питательную среду выбирали в зависимости от потребности микроорганизмов в дополнительных питательных веществах и условий культивирования.

При проведении исследования 0,5 мл взвеси каждого штамма микроорганизма в изотоническом растворе (мутность доводили до 0,5 по Мак-Фарланду) наносили на поверхность плотной питательной среды (*Muller-Hinton Agar* или 5 % *Blood Muller-Hinton Agar*) и равномерно с помощью шпателя распределяли по поверхности. Затем поочередно на три сектора калиброванной петлей наносили препарат Тержинан в концентрированном виде и в разведениях (1 : 10, 1 : 100). Чашки Петри с нанесенными культурами и разведениями препарата инкубировали 24 ч при температуре термостата 37 °C. Культуры лактобацилл, гарднерелл и *Atopobium vaginae* инкубировали в анаэроостате с газогенерирующими пакетами (Oxoid, Великобритания) при температуре 37 °C в течение 24 ч.

Учет результатов чувствительности микроорганизмов к препарату в разных разведениях проводили визуально, измеряя диаметр зоны задержки роста. Чувствительной к данному препарату считали культуру микроорганизма с диаметром задержки роста для дрожжеподобных грибов более 18 мм (по нистатину), для других микроорганизмов — более 17 мм (по неомицину).

Результаты и обсуждение

В табл. 1 приведены данные по чувствительности 83 штаммов *Candida* spp., выделенных из влагалища женщин репродуктивного возраста, к Тержинану. Большинство клинических изолятов *Candida albicans* были чувствительны (S) к препарату, исследуемому как в цельном виде (без разведения), так и в разведениях в 10 и 100 раз.

Эти данные свидетельствуют о том, что нистатин, входящий в состав Тержинана, является

Таблица 1

Чувствительность дрожжеподобных грибов рода *Candida* к Тержинану

Table 1

Susceptibility of yeasts of the genus *Candida* to Terzhinan

Вид дрожжеподобных грибов	Препарат без разведения	Концентрация препарата	
		0,1	0,01
	S, % (n)	S, % (n)	S, % (n)
<i>Candida albicans</i> ($n = 63$)	90,5 ($n = 57$)	85,7 (54)	77,8 (49)
<i>Candida krusei</i> ($n = 11$)	0 ($n = 11$)	0	0
<i>Candida glabrata</i> ($n = 9$)	0 ($n = 9$)	0	0

Таблица 2

Чувствительность микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae* к Тержинану

Table 2

Susceptibility of microorganisms of the family *Enterobacteriaceae* to Terzhinan

Микроорганизм	Препарат без разведения	Концентрация препарата	
		0,1	0,01
	S, % (n)	S, % (n)	S, % (n)
Энтеробактерии (n = 138)	100 (138)	100 (138)	92,0 (127)
<i>Escherichia coli</i> (n = 85)	100 (85)	100 (85)	92,9 (79)
<i>Citrobacter</i> spp. (n = 17)	100 (17)	100 (17)	94,1 (16)
<i>Klebsiella</i> spp. (n = 36)	100 (36)	100 (36)	88,9 (32)

Таблица 3

Чувствительность грамположительных микроорганизмов к Тержинану

Table 3

Susceptibility of gram positive microorganisms to Terzhinan

Микроорганизм	Препарат без разведения	Концентрация препарата	
		0,1	0,01
	S, % (n)	S, % (n)	S, % (n)
Грамположительные микроорганизмы (n = 263)	74,1 (195)	63,9 (168)	12,2 (32)
<i>Streptococcus agalactiae</i> (gr. B) (n = 72)	68,1 (49)	56,9 (41)	0
<i>Enterococcus</i> spp. (n = 147)	70,1 (103)	60,5 (89)	0
<i>Staphylococcus aureus</i> (n = 23)	100 (23)	91,3 (21)	73,9 (17)
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (n = 7)	85,71 (6)	85,71 (6)	85,71 (6)
<i>Staphylococcus hominis</i> (n = 4)	100 (4)	100 (4)	50 (2)
<i>Staphylococcus haemolyticus</i> (n = 3)	100 (3)	66,7 (2)	66,7 (2)
<i>Actinomyces urogenitalis</i> (n = 7)	100 (7)	71,4 (5)	71,4 (5)

ся эффективным препаратом в лечении кандидозных вульвовагинитов, вызванных *Candida albicans* (наиболее частая причина этого заболевания). Что касается других кандид, то все выделенные штаммы — *Candida krusei* и *Candida glabrata* — были устойчивы к нистатину.

Результаты исследования чувствительности энтеробактерий к Тержинану приведены в табл. 2.

Бактерии семейства *Enterobacteriaceae* — частые возбудители аэробных вагинитов. В настоящее время описаны случаи выявления резистентности грамотрицательных бактерий к наиболее часто используемым антибактериальным препаратам, поэтому изучение действия Тержинана на эту группу микроорганизмов представлялось нам актуальным.

Тержинан без разведения и в разведении 1 : 10 (то есть в концентрации 0,1) оказывал 100 % эффект на все тестируемые нами грамотрицательные микроорганизмы. Это имеет существенное клиническое значение, так как таблетка вводится во влагалище и препарат по-

ступает в просвет влагалища в концентрированном виде. Что касается чувствительности грамотрицательных микроорганизмов к большим разведениям (в 100 раз), только незначительная часть изолятов была резистентной к этой концентрации препарата. В клинической практике вряд ли следует ожидать большого разведения препарата вагинальными выделениями.

Чувствительность грамположительных бактерий к антибиотикам, входящим в состав Тержинана в неразведенном состоянии, составила 74,1 % (табл. 3). В разведении 1 : 10 доля чувствительных штаммов грамположительных микроорганизмов оставалась 63,9 %, а в разведении 1 : 100 — лишь 12,2 %. Что касается каждого вида микроорганизмов в отдельности, следует отметить высокую чувствительность стафилококков к компонентам препарата Тержинан, в том числе и *Staphylococcus aureus*, а также *Actinomyces urogenitalis*. Энтерококки и *Streptococcus agalactiae* (стрептококки группы В) оказались менее чувствительны к этому

Таблица 4

Чувствительность БВ-ассоциированных микроорганизмов к Тержинану

Table 4

Susceptibility of BV-associated microorganisms to Terzhinan

Микроорганизм	Препарат без разведения	Концентрация препарата	
		0,1	0,01
	S, % (n)	S, % (n)	S, % (n)
БВ-ассоциированные м/о (n = 32)	100 (32)	93,8 (30)	0
<i>Gardnerella vaginalis</i> (n = 27)	100 (27)	92,6 (25)	0
<i>Atopobium vaginae</i> (n = 5)	100 (5)	100 (5)	0

препарату (порядка 70 % при исследовании препарата в концентрированном виде).

Результаты оценки действия препарата Тержинан на бактерии, ассоциированные с БВ, представлены в табл. 4. Большинство изученных нами клинических изолятов гарднерелл и *A. vaginae* оказались чувствительны к комбинации антибактериальных препаратов, входящих в состав Тержинана, что коррелирует с данными о высокой эффективности лечения им БВ.

Таким образом, в опыте *in vitro* комбинированный препарат Тержинан показал высокую эффективность в отношении основных групп микроорганизмов, выделяемых из влагалища, в том числе при патологических состояниях, таких как бактериальный вагиноз и вульвовагинит различной этиологии. Большая часть исследуемых штаммов микроорганизмов, таких как бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, стафилококки, в том числе золотистый стафилококк, *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, *Candida albicans*, были чувствительны к исследуемому препарату. Недостаточная эффективность Тержинана в отношении *Streptococcus agalactiae* ограничивает его использование для назначения при выявлении во влагалище стрептококков группы В.

В целом препарат Тержинан, на основании исследования чувствительности микроорганизмов *in vitro*, может быть рекомендован для лечения бактериального вагиноза (чувствительность *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae* 100 %), аэробного вагинита, кандидозного вульвовагинита, вызванного *Candida albicans*.

Литература

1. Прилепская В.Н., Межевитинова Е.А., Абакарова П.Р., и др. Лечение вульвовагинитов и вагинозов: клинико-лабораторная эффективность // Гинекология. – 2013. – Т. 15. – № 4. – С. 24–29. [Prilepskaya VN, Mezhevitinova EA, Abakarova PR.

Vulvovaginitis and vaginosis treatment: clinical and laboratory efficiency. *Gynecology*. 2013;15(4):24-29. (In Russ.)]

2. Савичева А.М., Захаревич Н.Н., Михнина Е.А. Применение препарата тержинан при вагинальном кандидозе. 1997. [Savicheva AM, Zaharevich NN, Mihnina EA. Primenenie preparata terzhinan pri vaginal'nom kandidoze. 1997 g. (In Russ.)]. Доступен по: <https://medi.ru/info/2247>. Ссылка активна на 07.05.17.
3. Липова Е.В., Хрзаян Р.С. Эффективность монотерапии бактериального вагиноза и урогенитального кандидоза Тержином — комбинированным местнодействующим препаратом // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2006. – Т. 6. – № 5. – С. 66–68. [Lipova EV, Khrzayan RS. Efficiency of monotherapy for bacterial vaginosis and urogenital candidiasis with the combined topical agent Terginan. *Rossiiskij vestnik akushera-ginekologa*. 2006;6(5):66-68. (In Russ.)]
4. Boyle DC, Barton SE, Uthayakumar S, et al. Is bacterial vaginosis associated with cervical intraepithelial neoplasia? *Int J Gynec Cancer*. 2003;13(2):159-63. doi: 10.1046/j.1525-1438.2003.13007.x.
5. Vetrano G, Pacchiarotti A, Lombardi G, et al. Correlation between squamous intraepithelial lesions (SILs) and bacterial vaginosis. *Eur J Gynaec Oncol*. 2007;28(4):310-2.
6. Леваков С.А., Боровкова Е.И., Дабагян Л., Шешукова Н.А. Комплексный подход к лечению пациенток с предраковыми заболеваниями шейки матки в репродуктивном возрасте // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2015. – № 3. – С. 13–17. [Levakov SA, Borovkova EI, Sheshukova NA, Dabagyan L. A complex approach to treatment of female patients of reproductive age with precancerous diseases of the cervix. *Voprosy ginekologii, akusherstva i perinatologii*. 2015;(3):13-17. (In Russ.)]
7. Каратюк Т.И. Эффективность применения комбинированного препарата неомицина, нистатина, преднизолона, тернидазола при проведении

деструктивного лечения шейки матки // Клиническая дерматология и венерология. – 2011. – № 5. – С. 78–80. [Karatiuk TI. The efficacy of the application of a composite neomycin-nistatinum-prednisolone-

ternidazole preparation for the destructive treatment of uterine cervix. *Klinicheskaja dermatologija i venerologija: nauchno-prakticheskij zhurnal*. 2011;(5):78-80. (In Russ.)]

■ Адреса авторов для переписки (*Information about the authors*)

Алевтина Михайловна Савичева — заслуженный деятель науки РФ, д-р мед. наук, профессор, заведующая лабораторией микробиологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** savitcheva@mail.ru.

Елена Владимировна Спасибова — врач-бактериолог лаборатории микробиологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** elena.rybina@gmail.com.

Alevtina M. Savicheva — Honoured Worker of Science of Russia, Professor, MD, Head of the Laboratory of Microbiology. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** savitcheva@mail.ru.

Elena V. Spasibova — Bacteriologist of the Laboratory of Microbiology. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** elena.rybina@gmail.com.