

DOI: 10.15690/pf.v14i5.1791

Н.И. Аверьянова¹, Н.Ю. Коломеец¹, В.В. Козлова², Т.И. Рудавина¹¹ Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера, Пермь, Российская Федерация² Детская клиническая больница им. П.И. Пичугина, Пермь, Российская Федерация

Исследование антимикробных эффектов фитотерапии при лечении пиелонефрита у детей

Контактная информация:

Аверьянова Наталья Ивановна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой пропедевтики детских болезней ФГБОУ ВО «ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера» Минздрава России

Адрес: 614000, Пермь, ул. Петропавловская, д. 26, тел.: +7 (342) 210-17-96, e-mail: pdb-averyanova@rambler.ru

Статья поступила: 17.02.2017 г., принята к печати: 26.10.2017 г.

Обоснование. Совершенствование методов лечения и профилактики рецидивов пиелонефрита у детей является актуальной задачей педиатрии. Особый интерес вызывает изучение антибактериальных возможностей растительных лекарственных препаратов (РЛП). **Цель исследования** — изучение антимикробных свойств комбинированной фитотерапии *in vitro*. **Методы.** *In vitro* было выполнено два микробиологических исследования. Одно из них проведено микрометодом тестирования серийных разведений 62 урокультур, относящихся к родам *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus* и *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, изолированных из мочи детей в острой фазе пиелонефрита в диагностически значимой концентрации. Антибактериальное действие РЛП определяли микрометодом серийных разведений. Для исключения антибактериального действия присутствующего в фитопрепарате спирта ставили ряд аналогичных разведений с 19,5% раствором этилового спирта. Одновременно проводили контроль стерильности компонентов реакции. Во втором исследовании было изучено изменение концентрации микробной суспензии *Escherichia coli*, выделенной также до начала лечения из мочи детей, при инкубации вместе с различными концентрациями фитопрепарата и разной длительности экспозиции. **Результаты.** Исследования антимикробной активности РЛП *in vitro* показали антимикробный эффект РЛП в отношении 58% исследуемых урокультур. Наибольшая чувствительность к препарату выявлена у родов *Klebsiella* (80%), *Staphylococcus* (77%) и *E. coli* (51,5%). Исследования изменений концентрации микробной суспензии *E. coli* показали 100% активность неразведенного РЛП при 24-часовой экспозиции (проба D). Достоверное снижение роста возбудителя получено и при 24-часовой экспозиции с РЛП в его разведении 1:1. **Заключение.** Микробиологические исследования продемонстрировали и подтвердили антибактериальные свойства РЛП.

Ключевые слова: пиелонефрит, комбинированная фитотерапия, растительный лекарственный препарат, Канефрон Н, антимикробный эффект, дети.

(Для цитирования: Аверьянова Н.И., Коломеец Н.Ю., Козлова В.В., Рудавина Т.И. Исследование антимикробных эффектов фитотерапии при лечении пиелонефрита у детей. *Педиатрическая фармакология*. 2017; 14 (5): 408–410. doi: 10.15690/pf.v14i5.1791)

Natal'ya I. Averyanova¹, Nadezhda Yu. Kolomeets¹, Vladislava V. Kozlova², Tat'yana I. Rudavina¹¹ Perm State Medical University named after academician E.A. Wagner, Perm, Russian Federation² Children's Clinical Hospital. P.I. Pichugina, Perm, Russian Federation

Study on Antimicrobial Effects of Phytotherapy in the Treatment of Children with Pyelonephritis

Background. Improvement of treatment methods and relapse prevention of pyelonephritis in children is relevant to pediatrics. The study of the antibacterial possibilities of herbal medicines (HM) provoke great interest for researchers. **The aim** of the survey was to investigate the antimicrobial properties of combined phytotherapy *in vitro*. **Methods.** Two microbiological researches were performed *in vitro*. One of them was conducted using the microtechnique for serial dilution-antibiotic sensitivity testing of 62 cultures (genera *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus* and *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*) isolated in significantly diagnostic concentration from the urine of children in the acute phase of pyelonephritis. The antibacterial effect of RLP was detected using the microtechnique for serial dilution. To exclude the antibacterial effect of the alcohol present in the phytopreparations, a number of analogous dilutions were placed in 19.5% solution of ethyl alcohol. At the same time, the sterility of the reaction components was monitored. The second research studied the concentration changes of the microbial suspension of *Escherichia coli* isolated from the urine of children before the treatment onset with incubation of different concentrations of phytopreparations and at a different exposure periods. **Results.** Studies on the antimicrobial activity of HM *in vitro* demonstrated the antimicrobial effect of HM on 58% of the examined cultures. The highest drug sensitivity was revealed in the genera *Klebsiella* (80%), *Staphylococcus* (77%), and *E. coli* (51.5%). Studies on the concentration changes of microbial suspension of *E. coli* detected 100% activity of undiluted HM at a 24-hour exposure period (sample D). A significant decrease in the pathogen growth was also obtained with HM with the dilution ratio 1:1 at a 24-hour exposure period. **Conclusion.** The microbiological analyses demonstrated and confirmed the antibacterial characteristics of HM.

Key words: pyelonephritis, combined phytotherapy, herbal medicine, Kanefron H, antimicrobial effect, children.

(For citation: Natal'ya I. Averyanova, Nadezhda Yu. Kolomeets, Vladislava V. Kozlova, Tat'yana I. Rudavina. Study on Antimicrobial Effects of Phytotherapy in the Treatment of Children with Pyelonephritis. *Pediatricheskaya farmakologiya — Pediatric pharmacology*. 2017; 14 (5): 408–410. doi: 10.15690/pf.v14i5.1791)

ОБОСНОВАНИЕ

Микробно-воспалительные заболевания мочевой системы — одни из наиболее распространенных патологий детского возраста, а склонность воспалительно-го процесса к рецидивированию и прогрессированию с формированием нефросклероза свидетельствует об актуальности этой проблемы [1–3]. Известно, что во всем мире наблюдается рост антибиотикорезистентности уропатогенной микрофлоры: нередко назначение антибактериальных химиопрепаратов, которым принадлежит ведущая роль в терапии пиелонефрита, оказывается недостаточным или неподходящим для полной ликвидации инфекционно-воспалительного процесса и предотвращения рецидивов [4–7]. В связи с этим все большее внимание исследователей и практических врачей привлекает использование препаратов растительного происхождения [8, 9]. Не вызывает сомнений тот факт, что при болезнях мочевыводящих путей врачу-педиатру необходимо помнить о состоянии функции почек, которая может страдать у ребенка не только при гломерулярной патологии, но и при инфекционно-воспалительных заболеваниях [10].

Существует ряд публикаций, свидетельствующих об эффективности комбинированного фитопрепарата Канефрон Н (Bionorica SE, Германия) при лечении инфекций мочевыводящих путей. В состав этого растительного лекарственного препарата (РЛП) входят экстракты травы золототысячника, корней любистока и листьев розмарина. Многочисленными исследованиями доказаны диуретическое, противовоспалительное, спазмолитическое, снижающее кристаллизацию мочи действие фитопрепарата [11–14].

Цель данной работы — исследование антимикробных свойств растительного лекарственного препарата при лечении пиелонефрита у детей.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

С целью изучения антимикробных свойств РЛП проведено два микробиологических исследования в опытах *in vitro*. Первое исследование проведено микрометодом тестирования серийных разведений 62 урокультур, относящихся к родам *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus* и *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, изолированных из мочи детей в острой фазе пиелонефрита в диагностически значимой концентрации [15]. Суточные бульонные культуры микроорганизмов в концентрации 1×10^6 колониеобразующих единиц в 1,0 мл (КОЕ/мл) исследованы согласно руководству Национального комитета по клиническим стандартам 1993 г. (National Committee for Clinical Standards¹, США).

Стандартизация культур проводилась по оптической плотности. Предварительно в эксперименте было определено, что концентрации 1×10^6 КОЕ/мл соответствует оптическая плотность 0,010–0,012 для грамотрицательных и 0,012–0,014 для грамположительных микроорганизмов.

Антибактериальное действие РЛП в отношении штаммов, выделенных от больных, определяли микрометодом серийных разведений [15]. Готовили серии двойных разведений комбинированного фитопрепарата (объем 100 мкл) в лунках планшета для иммунологических реакций, используя для разведения 100 мкл мясопептонного бульона. Культуру вносили в лунки планшета в объеме 10 мкл и инкубировали в термостате в течение 18–24 ч

при температуре 37°C. По истечении срока инкубации осуществляли регистрацию результатов. Отсутствие роста в лунках планшета расценивали как проявление антибактериального действия РЛП в отношении тестируемой культуры в соответствующем разведении препарата. Для исключения антибактериального действия присутствующего в фитопрепарате спирта ставили ряд аналогичных разведений с 19,5% раствором этилового спирта. Одновременно проводили контроль стерильности компонентов реакции.

Во втором исследовании было изучено изменение концентрации микробной суспензии *Escherichia coli*, выделенной также до начала лечения из мочи детей, при инкубации вместе с различными концентрациями РЛП и разной длительности экспозиции. С этой целью из суточной агаровой культуры *E. coli* готовили взвесь в концентрации 1×10^6 КОЕ/мл на мясопептонном бульоне, затем использовали следующие соотношения разведений РЛП и культуры:

- A — 0,33 мл РЛП доводили до объема 3 мл изотоническим раствором натрия хлорида и добавляли 0,33 мл взвеси *E. coli* в концентрации 1×10^6 КОЕ/мл;
- B — 1,0 мл РЛП + 2,0 мл изотонического раствора натрия хлорида и 0,33 мл взвеси культуры в концентрации 1×10^6 КОЕ/мл;
- C — 1,5 мл РЛП + 1,5 мл изотонического раствора натрия хлорида и 0,33 мл взвеси культуры в концентрации 1×10^6 КОЕ/мл;
- D — 3,0 мл РЛП + 0,33 мл взвеси культуры в концентрации 1×10^6 КОЕ/мл.

Контролем служила смесь изотонического раствора натрия хлорида 3 мл и 0,33 мл взвеси культуры в концентрации 1×10^6 КОЕ/мл.

Суспензии тщательно перемешивали и инкубировали при температуре 37°C. Посев содержимого из опытной и контрольной пробирок проводили по 0,01 мл на чашку Петри с кровяным агаром. Первый посев осуществляли сразу после добавления бактериальной взвеси в пробирки с РЛП, второй — через 4 ч, третий — через 24 ч. Чашки инкубировали в термостате в течение суток, после чего производили подсчет выросших на поверхности агара колоний.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования антимикробной активности РЛП в опытах *in vitro* в отношении 62 культур уропатогенных микроорганизмов, относящихся к родам *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus* и *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, выделенных до начала лечения в диагностически значимых концентрациях из мочи находящихся под наблюдением детей с острой фазой пиелонефрита, показали, что антимикробный эффект РЛП выявлен в отношении 36 (58%) урокультур. Наибольшая чувствительность к препарату отмечена у представителей родов *Klebsiella* (80%), далее следуют *Staphylococcus* (77%) и *E. coli* (51,5%).

Исследование изменения концентрации микробной суспензии *E. coli*, выделенной также до начала лечения из мочи больных детей, при инкубации с разными разведениями фитопрепарата при разной экспозиции продемонстрировало полное отсутствие роста *E. coli* при совместной инкубации с неразведенным РЛП в течение 24 ч. Другими словами, полученные результаты свидетельствуют о стопроцентной активности неразведенного РЛП при 24-часовой экспозиции (проба D).

Достоверное снижение роста возбудителя получено и при 24-часовой экспозиции с РЛП в его разведении 1:1

¹ В настоящее время известен как Институт клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI).

изотоническим раствором натрия хлорида (проба С). При экспозиции в течение 4 ч достоверное снижение роста *E. coli* наблюдалось только в пробе D (неразведенный фитопрепарат). Проведенное исследование свидетельствует об эффективном дозо- и времязависимом действии препарата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные микробиологические исследования показали наличие антибактериальных свойств у РЛП. Растительный лекарственный препарат продемонстрировал антимикробную активность не только в отношении основного возбудителя инфекции мочевыводящих путей — *E. coli*, но и в отношении ряда других микроорганизмов, высеянных из мочи пациентов в диагностических титрах. Выявленная микробиологическая активность позволяет рекомендовать РЛП с целью профилактики рецидивов в период между обострениями пиелонефрита.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование проведено на собственные средства авторов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Коровина Н.А., Захарова И.И., Мумладзе Э.Б., и др. *Диагностика пиелонефрита у детей*. — М.; 2011. — 44 с. [Korovina NA, Zakharova II, Mumladze EB, et al. *Diagnostika pielonefrita u detei*. Moscow; 2011. 44 p. (In Russ).]
2. Игнатова М.А. *Детская нефрология*. Руководство для врачей. 3-е изд., перераб. и допол. — М.: МИА; 2011. — 696 с. [Ignatova MA. *Detskaya nefrologiya*. Rukovodstvo dlya vrachei. 3rd ed. Moscow: MIA; 2011. 696 p. (In Russ).]
3. Папаян А.В., Савенкова Н.Д. *Клиническая нефрология детского возраста*. — СПб.; 2008. — 600 с. [Papayan AV, Savenkova ND. *Klinicheskaya nefrologiya detskogo vozrasta*. St. Petersburg; 2008. 600 p. (In Russ).]
4. Мальцев С.М., Михайлова Т.В., Мустакимова Д.Р., Винокурова С.С. Состояние парциальных функций почек при хроническом пиелонефрите у детей и новые возможности противорецидивной терапии // *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. — 2011. — Т.56. — №4 — С. 72–76. [Maltsev SM, Mikhailova TV, Mustakimova DR, Vinokurova SS. Renal partial functions in children with chronic pyelonephritis and new possibilities of antirecurrent therapy. *Rossiiskii vestnik perinatologii i pediatrii*. 2011;56(4):72–76. (In Russ).]
5. Кириллов В.И., Богданова Н.А. Инфекция мочевой системы у детей: патогенетические сдвиги и их коррекция с целью профилактики обострений // *Вопросы современной педиатрии*. — 2011. — Т.10. — №4 — С. 100–104. [Kirillov VI, Bogdanova NA. Urinary infection in children: pathogenetical disorders and their correction for the prophylaxis of exacerbation. *Current pediatrics*. 2011;10(4):100–104. (In Russ).]
6. Эрман М.В. Лечение инфекции мочевой системы у детей (клиническая лекция) // *Клиническая нефрология*. — 2011. — №4 — С. 16–19. [Erman MB. Lechenie infektsii mochevoi sistemy u detei (klinicheskaya lektsiya). *Klinicheskaya nefrologiya*. 2011;(4):16–19. (In Russ).]
7. Honderlick P, Callen P, Gravisse J, Vignon D. [Uncomplicated urinary tract infections, what about fosfomycin and nitrofurantoin in 2006? (In French).] *Pathol Biol (Paris)*. 2006;54(8–9):462–466. doi: 10.1016/j.patbio.2006.07.016.
8. Косарева П.В. *Экспериментальное обоснование новых способов патогенетической коррекции пиелонефрита у детей*: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. — Челябинск; 2010. — 37 с. [Kosareva PV. *Ekspерimental'noe obosnovanie novykh sposobov patogeneticheskoi korrektsii pielonefrita u detei*. [dissertation abstract] Chelyabinsk; 2010. 37 p. (In Russ).]
9. Козлова В.В. Клинико-этиопатогенетические особенности пиелонефрита у детей и пути повышения эффективности лечения: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Пермь; 2007. — 26 с. [Kozlova V.V. *Kliniko-etiotopatogeneticheskie osobennosti pielonefrita u*

Статья опубликована при поддержке компании «Бионорика»

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ВЫРАЖЕНИЕ ПРИЗНАТЕЛЬНОСТИ

Авторы благодарят всех сотрудников микробиологической лаборатории и нефрологического отделения Детской клинической больницы имени П.И. Пичугина (Пермь) за всестороннюю помощь и поддержку в проведении данного исследования.

ORCID

Н.И. Аверьянова

<http://orcid.org/0000-0001-7738-9876>

Н.Ю. Коломеец

<http://orcid.org/0000-0003-2636-9191>

В.В. Козлова

<http://orcid.org/0000-0003-0847-211X>

Т.И. Рудавина

<http://orcid.org/0000-0003-9699-7623>

detei i puti povysheniya effektivnosti lecheniya. [dissertation abstract] Perm; 2007. 26 p. (In Russ).]

10. Бобкова И.Н., Чеботарева Н.В., Козловская Л.В., Непринцева Н.В. Система самозащиты почки: современный взгляд на механизмы, определяющие течение и исход гломерулонефрита (обзор литературы) // *Нефрология и диализ*. — 2013. — Т.15. — №3 — С. 174–183. [Bobkova IN, Chebotareva NV, Kozlovskaya LV, Neprintseva NV. Kidney self-defense system: modern view on the mechanisms defining a current and an outcome of glomerulonephritis: Review. *Nephrology and dialysis*. 2013;15(3):174–183. (In Russ).]

11. Неймарк А.И., Сульдина А.П., Батанина И.А. Применение препарата Канефрон®Н в комплексном лечении хронического пиелонефрита // *Российский медицинский журнал*. — 2014. — №6 — С. 23–26. [Neimark AI, Sul'dina AP, Batanina IA. The application of Canephron in complex treatment of chronic pyelonephritis. *Russian medical journal*. 2014;(6):23–26. (In Russ).]

12. Фомин В.В. Инфекции мочевых путей при сахарном диабете и метаболическом синдроме: возможности терапии комбинированным фитопрепаратом // *Клиническая нефрология*. — 2013. — №4 — С. 53–56. [Fomin VV. Urinary tract infections in diabetes mellitus and metabolic syndrome: role of combined phytotherapy. *Klinicheskaya nefrologiya*. 2013;(4):53–56. (In Russ).]

13. Борисов В.В., Гордовская Н.Б., Шилов Е.М. Фитотерапия Канефроном в нефрологической практике: настоящее и перспективы (клиническая лекция) // *Клиническая нефрология*. — 2010. — №6 — С. 39–42. [Borisov VV, Gordovskaya NB, Shilov EM. Fitoterapiya Kanefronom v nefrologicheskoi praktike: nastoyashchee i perspektivy (klinicheskaya lektsiya). *Klinicheskaya nefrologiya*. 2010;(6):39–42. (In Russ).]

14. Симантовская Т.П., Соболев М.Н., Степанченко И.П. Опыт применения Канефрона®Н в реабилитации и лечении детей с заболеваниями мочевыводящей системы. Материалы II Российского конгресса «Современные методы диагностики и лечения в детской нефрологии и урологии». Москва, 21–23 октября 2002 г. [Simantovskaya TP, Sobol' MN, Stepanchenko IP. *Opyt primeneniya Kanefrona®N v reabilitatsii i lechenii detei s zabolevaniyami mochevyvodyashchei sistemy*. Materialy II Rossiiskogo kongressa «Sovremennyye metody diagnostiki i lecheniya v detskoj nefrologii i urologii». Moscow; 2002 Oct 21–23. (In Russ).]

15. Аверьянова Н.И., Косарева П.В., Иванова Н.В. Изучение антимикробной активности препарата Канефрон®Н в отношении культур микроорганизмов in vitro. Сборник тезисов V Российского конгресса по детской нефрологии. Воронеж, 19–21 сентября 2006 г. [Aver'yanova NI, Kosareva PV, Ivanova NV. *Izuchenie antimikrobnou aktivnosti preparata Kanefron®N v otnoshenii kul'tur mikroorganizmov in vitro*. Sbornik tezisov V Rossiiskogo kongressa po detskoj nefrologii. Voronezh; 2006 Sep 19–21. (In Russ).]