
ВРАЧ- АСПИРАНТ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Основан в 2004 г.

**2012
№ 4.1(53)**

Издательство «Научная книга»



2012

Маматкулов И.Х., Баженов Л.Г., Алматов Б.И.
СПЕКТР АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА
«ФАРГАЛС» И ВОЗМОЖНОСТЬ ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДЛЯ
КОНТРОЛЯ НОЗОКОМИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ

*НИИ микробиологии, эпидемиологии и инфекционных заболеваний МЗ РУз, г.Ташкент,
Узбекистан*

*Республиканский специализированный центр хирургии им. ак. В.Вахидова, г.Ташкент,
Узбекистан*

Ташкентский областной центр санэпиднадзора МЗ РУз, Узбекистан

Одна из наиболее важных проблем современной медицинской науки и практического здравоохранения – контроль внутрибольничных инфекций. Их возбудителями являются в основном условно-патогенные микроорганизмы, полирезистентные ко многим антибиотикам, антисептикам и дезинфектантам [1,4,6,7,8].

Широко распространенные в настоящее время антимикробные препараты, в том числе антибиотики, являются, как правило, неэффективными при лечении вирусных инфекций. Это, прежде всего, связано с отсутствием у вирусов собственных метаболических путей, ведущих к получению энергии и синтезу строительного материала. Поэтому химиопрепараты, блокирующие определенные жизненно важные для того или другого микроорганизма метаболические реакции, ферменты, катализирующие эти реакции, не оказывают ингибирующего действия на внеклеточные вирионы. В то же время различные вещества, являющиеся ингибиторами репликации ДНК или процессов транскрипции и трансляции информации на рибосомы, могут оказывать ингибирующее действие при репродукции вирусных частиц в клетке хозяина. Вследствие того, что многие из этих веществ подавляют жизнедеятельность самой клетки, их нельзя использовать в качестве химиотерапевтических средств [5,6,10,11]. Поэтому поиск новых противовирусных препаратов представляется весьма актуальным.

В связи с вышеизложенным, мы обратили внимание на ФарГАЛС, это новый биотехнологический препарат, который характеризуется антимикробной активностью. Однако в литературе имеются лишь ограниченные сведения о его антибактериальном и противогрибковом действии, но нет совсем сведений о противовирусной активности [3].

Целью настоящего исследования явилось изучение антимикробной активности нового биотехнологического препарата ФарГАЛС в отношении

широкого ряда бактерий, грибов, а также вирусов гепатита В и С и определение перспектив его применения для профилактики и лечения нозокомиальных инфекций.

Материал и методы исследования

Препарат ФарГАЛС (FarGALS) входит в фармакотерапевтическую группу: «антисептические и ранозаживляющие средства», зарегистрирован Фармкомитетом Минздрава Республики Узбекистан и разрешен к клиническому применению. Он представляет собой стерильную водную вытяжку из среды культивирования автотрофных железокисляющих бактерий и имеет вид красноватой жидкости с кислой реакцией (рН 3,0). Препарат не оказывает раздражающего действия на ткани и предназначен для наружного применения. Однако в настоящее время изучается возможность его использования внутрь (per os) [3].

Антимикробную активность препарата определяли методом диффузии в агар [1]. В качестве тест-культур использовали широкий спектр представителей гноеродной микрофлоры (табл. 1), штаммы возбудителя гастроудоденальных заболеваний *Helicobacter pylori*, а также грибы рода *Candida*. При тестировании микроорганизмов применяли соответствующие питательные среды: для бактерий – агар Мюллера-Хинтона, для грибов рода *Candida* – среду Сабуро, для *H. pylori* – кровяной сердечно-мозговой агар (производство “HiMedia”, Индия) [1, 2]. При этом чашки Петри с питательной средой засеивали микробной взвесью суточной тест-культуры в физиологическом растворе с концентрацией 10^8 микробных тел/мл, подсушивали и вырезали в агаре лунки диаметром 7 мм и помещали в них по 0,01 мл препарата ФарГАЛС в 5 повторностях. Затем чашки инкубировали при 37°C в течение 24-48 ч. (*H. pylori* – 96 ч.). Учет полученных результатов заключался в измерении диаметров зон ингибиции роста тест-культур вокруг лунок. При зонах до 10 мм включительно культуры считали устойчивыми, при зонах 11-14 мм – умеренно-устойчивыми, при зонах 15 мм и выше – чувствительными [1].

В качестве объекта для исследования при изучении противовирусной активности ФарГАЛСа использовали образцы плазмы периферической крови. Забор крови проводили с помощью вакуумных пробирок, содержащих 3% раствор ЭДТА из расчета 1:20. Для получения плазмы пробирки с кровью центрифугировали в течение 20 мин при 1500 об/мин. Полученную плазму в объеме 1 мл переливали в пробирки объемом 1,5 мл и хранили при -20°C .

Всего изучено 20 образцов плазмы крови. Из них 8 образцов содержали вирусы гепатита В, 8 – вирусы гепатита С, 4 образца не содержали маркеров вирусных гепатитов. Соотношение плазмы и препарата ФарГАЛС составляло 4:1, т.е. к 800 мкл образца добавляли по 200 мкл препарата. В качестве контроля использовали стерильный физиологический раствор, добавляемый к плазме в том же соотношении. Наличие РНК вируса гепатита С и ДНК вируса гепатита В в клиническом материале, проводили с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» (Real Time PCR) [9,10]. При тестирова-

нии образцов использовали наборы реагентов «АмплиСенс HCV-Монитор-FRT», «АмплиСенс HBV-Монитор-FRT» (ФГУН Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии, Москва, Россия) до обработки ФарГАЛСом и через 30 минут после обработки.

Клиническую эффективность ФарГАЛСа изучали при лечении взрослых пациентов (30 чел.) с послеоперационными гнойно-воспалительными процессами. В качестве контроля использовали больных с аналогичной патологией, леченных традиционными методами. Препарат применяли в виде аппликаций (в нативном или разведенном дистиллированной водой в соотношении 1:1 виде), 1-2 раза в сутки. Продолжительность лечения составляла от 3 до 10 суток (в зависимости от площади поражения).

Результаты и обсуждение

Результаты тестирования антимикробной активности ФарГАЛСа в отношении бактерий и грибов представлены в табл. 1.

Из таблицы следует, что препарат ФарГАЛС оказывал антимикробное действие на все испытанные микроорганизмы, однако выраженность этого действия была различной. В отношении большинства культур препарат демонстрировал высокую активность (зона ингибиции микробного роста больше 15 мм) и лишь в отношении *S. marcescens* и *C. tropicalis* активность оказалась умеренной (зона ингибиции меньше 15 мм). Необходимо отметить высокую чувствительность к препарату полирезистентных штаммов *K. pneumoniae* и *Ps. aeruginosa*, являющихся наиболее проблемными возбудителями раневых инфекций в хирургической клинике. Обращает также на себя внимание высокая чувствительность к ФарГАЛСу *H. pylori* (возбудитель гастритов и язвенной болезни желудка и 12-перстной кишки), превышающая таковую других испытанных культур.

Таблица 1

Антимикробная активность препарата ФарГАЛС

| № пп. | Тест-культура | Кол-во штаммов | Зона ингибиции роста, мм ($M \pm m$) |
|-------|---------------------------------|----------------|--|
| 1. | <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 | 20,1±1,5 |
| 2. | <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 8 | 21,0±1,2 |
| 3. | <i>Haemophilus influenzae</i> | 6 | 18,6±1,3 |
| 4. | <i>Serratia marcescens</i> | 6 | 13,3±1,1 |
| 5. | <i>Escherichia coli</i> | 8 | 18,1±1,4 |
| 6. | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 16 | 19,2±1,7 |
| 7. | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 24 | 18,1±1,5 |
| 8. | <i>Acinetobacter spp.</i> | 6 | 22,7±1,9 |
| 9. | <i>Candida albicans</i> | 5 | 16,6±1,4 |
| 10. | <i>Candida tropicalis</i> | 5 | 12,5±1,1 |
| 11. | <i>Helicobacter pylori</i> | 8 | 23,4±2,1 |

Результаты изучения противовирусной активности представлены в табл. 2. Из 8 проб с HCV в 5 (62,5%) вирусы отсутствовали, а в оставшихся 3 (37,5%) пробах вирусная нагрузка оказалась существенно (на 2-3 порядка) снижена по сравнению с исходным уровнем. Из 8 образцов с HBV в 6 (75,0%) вирусы не были обнаружены, а в остальных 2 (25,0%) пробах вирус-

ная нагрузка была ниже исходного уровня на 2 порядка.

Действие препарата на плазму, не содержащую вирусные частицы, не отразилось в виде неспецифических проявлений и не ингибировало внутренний контроль, используемый с каждым образцом, в качестве «контроля качества» выделения нуклеиновых кислот (внутренний контроль входит в набор реагентов для ПЦР).

После контакта образцов плазмы с физиологическим раствором (контроль) вирусная нагрузка практически не изменялась.

Таблица 2

Результаты определения вирусной нагрузки в образцах плазмы крови до и после 30 минут контакта с препаратом ФарГАЛС

| № образца | Наименование инфекции | Вирусная нагрузка в плазме крови до обработки препаратом | Вирусная нагрузка в плазме крови после обработки препаратом |
|-----------|-----------------------|--|---|
| 514 | НСV | 5,5x10*4 | Отрицательный |
| 522 | НСV | 4,5x10*4 | Отрицательный |
| 575 | НСV | 8,7x10*6 | 3,5x10*3 |
| 577 | НСV | 4,3x10*5 | Отрицательный |
| 620 | НСV | 1,6x10*5 | Отрицательный |
| 623 | НСV | 6,4x10*5 | 2,3x10*3 |
| 628 | НСV | 2,4x10*6 | 5,3x10*4 |
| 629 | НСV | 4,2x10*4 | Отрицательный |
| 125 | HBV | 3,1x10*4 | Отрицательный |
| 205 | HBV | 6,9x10*6 | 1,3x10*4 |
| 296 | HBV | 4,9x10*4 | Отрицательный |
| 411 | HBV | 2,1x10*4 | Отрицательный |
| 426 | HBV | 3,8x10*4 | Отрицательный |
| 431 | HBV | 9,9x10*7 | 1,0x10*5 |
| 430 | HBV | 2,1x10*4 | Отрицательный |
| 455 | HBV | 4,2x10*3 | Отрицательный |
| 622 | Нет вирусов | Отрицательный | Отрицательный |
| 630 | Нет вирусов | Отрицательный | Отрицательный |
| 508 | Нет вирусов | Отрицательный | Отрицательный |
| 533 | Нет вирусов | Отрицательный | Отрицательный |

Указанные предварительные результаты свидетельствуют о наличии определенной противовирусной активности у ФарГАЛСа в отношении вирусов гепатита В и С, что обуславливает целесообразность продолжения исследований в этом направлении.

Использование ФарГАЛСа у больных при лечении раневых инфекций оказалось весьма эффективным. Улучшение в виде уменьшения отделяемого и очищения раны, отмечалось уже на 2-3 сутки применения препарата, тогда как при традиционной терапии аналогичные изменения наблюдались в основном на 3-5 сутки. Положительный результат зарегистрирован в отношении всех пролеченных больных. При этом данный препарат использовался в качестве монотерапии.

Наряду с клинической эффективностью важно отметить и высокую экономичность применения ФарГАЛСа по сравнению с традиционной терапией

(снижение расходов в среднем на 30%).

Таким образом, препарат ФарГАЛС обладает выраженной антимикробной активностью против широкого спектра болезнетворных микроорганизмов, включая полирезистентные штаммы ведущих возбудителей нозокомиальных инфекций *K.pneumoniae* и *Ps.aeruginosa*, а также *H.pylori* и грибы рода *Candida*. Представленные предварительные результаты свидетельствуют о достаточно высокой вирулоцидной активности ФарГАЛСа в отношении вирусов гепатита В и С, что обуславливает целесообразность продолжения исследований в этом направлении.

Антимикробная активность препарата коррелировала с его клинической эффективностью при лечении послеоперационных гнойных ран. Поэтому данный препарат может найти широкое применение в качестве антимикробного агента при лечении и профилактике различных гнойно-воспалительных процессов, микотических поражений и других инфекционных заболеваний. Высокая активность препарата против *H. pylori* обуславливает целесообразность его дальнейшего изучения для определения возможности использования при гастродуоденальных заболеваниях, ассоциированным с этим возбудителем.

Выводы

1. Установлена высокая антимикробная активность нового биотехнологического препарат ФарГАЛС против широкого спектра болезнетворных микроорганизмов, включая полирезистентные штаммы *K.pneumoniae* и *Ps.aeruginosa*, а также *H. pylori* и грибы рода *Candida*.

2. Предварительные результаты свидетельствуют о достаточно высокой вирулоцидной активности ФарГАЛСа в отношении вирусов гепатита В и С, что обуславливает целесообразность продолжения исследований в этом направлении.

3. Антимикробная активность препарата ФарГАЛС коррелирует с его клинической эффективностью при лечении послеоперационных гнойных ран.

4. ФарГАЛС может найти применение при лечении и профилактике различных гнойно-воспалительных процессов, микотических поражений и других инфекционных заболеваний. Высокая активность препарата против *H. pylori* обуславливает целесообразность его дальнейшего изучения для использования при гастродуоденальных заболеваниях, ассоциированным с этим возбудителем.

Список использованных источников

1. Адарченко А.А., Красильников А.П., Николаев Н.Е. и др. Сравнительная активность антибиотиков и антисептиков на выборке *Enterobacteriaceae spp.*// Здравоохранение Белоруссии. - 1992. - № 6. - С.35-40.

2. Баженов Л.Г., Артемова Е.В., Ризаева Е.В. Микробиологическая диагностика хеликобактериоза: Методические рекомендации. – Ташкент, 2005. – 18 с.

3. Баженов Л.Г., Мустанов А.Н., Екубжонов Ф.Т. с соавт. Антимикробная активность нового биотехнологического препарата «Фаргалс» и перспективы его клинического применения// Intern.Scientific Surgical Association, 2008. - № 1. – С.23-25.

4. Глобальная стратегия ВОЗ по сдерживанию резистентности к антимикробным препаратам. World Health Organization. - Женева, 2001. - 20 с.

5. Маматкулов И.Х., Эрмаматов А.Э., Симонова Е.А. ИФА – как метод определения эффективности действия дезинфектантов на HBsAg// Инфекция, иммунитет и фармакология, 2000. - №3. – С.35-36.

6. Страчунский Л. С., Белоусов Ю.Б., Козлов С.Н. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии. - Смоленск: МАКМАХ, 2007. – 380 с.

7. Alberti C., Brun-Buisson Ch., Burchardi H. et al. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study// Intensive Care Med. - 2002. - Vol.28, №2 – P. 108-121.

8. Bergogne-Berezin E. Current guidelines for the treatment and prevention of nosocomial infections// Drugs 1999; 58 Suppl 1: 51-67.

9. Higuchi R. Kinetic PCR analysis: real-time monitoring of DNA amplification reactions// Biotechnology, 1993 - No.11. - P.1026-1030.

10. Papageorgiou G., Mocé-Llivina L., Jofre J. New Method for Evaluation of Virucidal Activity of Antiseptics and Disinfectants// Appl Environ Microbiol., 2001. - V.67, No.12. – P.5844–5848.

11. Roberts G., Chan-Myers H., Favero M. Virucidal activity of ortho-phthalaldehyde solutions against hepatitis B and C viruses// Am J Infect Control., 2008. V.36, No.3. – P.223-226.