

ИССЛЕДОВАНИЕ ИНТЕГРАЛЬНОЙ ПРОТИВОМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ РОТОГЛОТКИ

Бойко Н. Н., Зайцев А. И., Осолодченко Т. П.* , Мельник А. Л.* ,
Волков Т. О.* , Казмирчук В. В.*

Национальный фармацевтический университет, кафедра процессов и аппаратов химико-фармацевтических производств, г. Харьков, Украина;
** «ГУ Институт микробиологии и иммунологии им. И. И. Мечникова НАМН Украины», г. Харьков, Украина*

Ключевые слова: *противомикробная активность, препараты для ротоглотки.*

Резюме: *в статье приведены результаты исследований противомикробной активности восьми препаратов применяемых для лечения инфекционных заболеваний ротоглотки на территории Украины. Данные результаты свидетельствуют об относительно низких показателях противомикробной активности препаратов (кроме препаратов йода) и значительной актуальности разработки и создания отечественных высокоактивных препаратов.*

Resume: *This paper presents data on the study of antimicrobial activity of eight medications used for treatment of infectious diseases of the throat. These results indicate to relatively low antimicrobial activity of medicines used for treatment of throat infections, as well as to the urgency of development and creation of domestic medicines having high-level activity.*

Актуальность. Согласно статистическим данным, в Украине острые респираторные инфекционные заболевания широко распространены, при этом регистрируют до 13 млн. заболевших людей основной причиной у которых были патогены вирусной природы (грипп, аденовирусы, риновирусы пр.). Однако после вирусной инфекции приблизительно у 30 % пациентов присоединяются патогены бактериальной природы с осложнениями поражающими уши, нос, ротоглотку, верхние дыхательные пути [9]. У 52-70 % детей, часто болеющих ОРВИ в школьном возрасте, могут развиваться хронические заболевания ЛОР-органов и бронхолегочной системы [10].

В настоящее время противомикробные препараты являются одними из основных медикаментозных средств в лечении инфекционных заболеваний ротоглотки в виде острых или хронических фарингитов, тонзиллитов, глосситов. В работе [7], авторы приводят данные относительно микробной флоры ротоглотки среди заболевших гриппом и ОРВИ. Так, например стрептококки и энтерококки выделялись у 97,9 % больных, стафилококки у 76 %, микрококки у 21,9 %, коринебактерии у 22,6 %, нейсерии и моракселии у 26,7 %, гемофильные бактерии у 7,5 %, энтеробактерии и псевдомонады у 8,2 %, кандиды у 8,2 %.

Для оптимального выбора противомикробного препарата среди подобных, а также для создания новых более эффективных препаратов, необходимо знать

уровень противомикробной активности уже существующих и применяемых в медицинской практике средств.

Цель данной работы изучение противомикробной активности промышленно выпускаемых препаратов применяемых в медицинской практике для лечения инфекционных заболеваний ротоглотки и сравнение их интегральных показателей с показателями спиртоводных извлечений из растительного сырья.

Материалы и методы. Противомикробную активность препаратов определяли диффузионным методом «колодцев» с определением диаметра зон задержки роста микроорганизмов. Для оценки противомикробной активности препаратов использовали следующие тест-штаммы микроорганизмов: *P. vulgaris* ATCC 4636, *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 25922, *C. albicans* ATCC 885-653, *B. subtilis* ATCC 6633.

Микробная нагрузка среды составляла 10^7 КОЕ/мл и устанавливалась согласно стандарта McFarland. Для исследований брали 18-24-х часовую культуру микроорганизмов. При культивировании бактерий применяли агар Мюллера-Хинтона, а для *C. albicans* агар Сабуро.

Определение активности препаратов проводили на двух слоях плотной питательной среды, разлитой в чашки Петри.

В качестве оценки противомикробной активности препаратов, руководствовались следующими критериями: отсутствие зон или зоны задержки роста до 10 мм, оценивали как не чувствительность микроорганизма к препарату; диаметр зоны задержки роста 10-15 мм, оценивали как низкую чувствительность микроорганизма к препарату; диаметр зоны задержки роста 15-25 мм оценивали как удовлетворительную чувствительность микроорганизма к препарату, а в случае, когда диаметр зоны задержки роста был более 25 мм, оценивали как высокую чувствительность микроорганизма к препарату.

Для выбора наиболее активного препарата среди подобных и сравнения противомикробной активности препаратов между собой, авторы использовали векторную теорию, которая представляет противомикробную активность препарата по единичным тест-штаммам микроорганизмов как единый вектор в n -мерном пространстве [4]. При этом вектор характеризуется такими показателями как: интегральный показатель противомикробной активности (A), и квадрат коэффициента корреляции (r^2).

Статистические расчеты проводили согласно Государственной фармакопеи Украины (ГФУ) при числе повторов $n=6$ и доверительной вероятности $P=0.95$ [5].

Расчет интегральных показателей противомикробной активности препарата проводили с помощью формул (1), (2), (3) информационного письма [6].

Расчет интегрального показателя противомикробной активности препарата A и его ошибки δ_A проводили по формулам:

$$A = \sqrt{\left(\frac{a_1 \cdot D_1}{25}\right)^2 + \dots + \left(\frac{a_n \cdot D_n}{25}\right)^2} \quad (1) \quad \text{и} \quad \delta_A = \frac{1}{A} \cdot \sqrt{\left(\frac{a_1^2 \cdot D_1 \cdot \delta_{D1}}{25^2}\right)^2 + \dots + \left(\frac{a_n^2 \cdot D_n \cdot \delta_{Dn}}{25^2}\right)^2} \quad (2)$$

где A – интегральный показатель противомикробной активности препарата, градационная величина, диапазоны эффективности показателя составляют: 1.0-1.5

препарат проявляет слабую противомикробную активность; 1.5-2.5 препарат проявляет среднюю противомикробную активность; более 2.5 препарат проявляет сильную противомикробную активность;

a_1, \dots, a_n – относительные нормированные весовые коэффициенты значимости штаммов, видов, подвигов, типов микроорганизмов в заболеваниях против которых используют препарат т.е. – это частота встречаемости микроорганизма среди больных людей (находится в диапазоне от 0 до 1, в наших расчетах значения коэффициентов приняты за единицу);

$D_1 \dots D_n$ – средняя величина диаметра зон задержки роста исследуемых тест-штаммов микроорганизмов. Например, D_1 – значение противомикробной активности для *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, мм; D_n – значение противомикробной активности для *Candida albicans* ATCC 885/653, мм;

$\delta_{D1} \dots \delta_{Dn}$ – погрешность определения диаметра зоны задержки роста исследуемых тест-штаммов микроорганизмов, мм;

25 – нормирующая константа, которая позволяет в случае использования в качестве критерия диаметра зоны задержки роста микроорганизма, привести величины интегрального показателя (A) к градационным диапазонам эффективности этого показателя.

Для сравнения препаратов, например исследуемого (X) и стандарта (St) между собой, кроме их абсолютной величины интегрального показателя A (величины), можно использовать косинус угла между ними ($\cos \gamma$) или как его еще называют коэффициент корреляции (r), который выражает силу связи между параметрами. Однако на практике лучше использовать не коэффициент корреляции, а его квадрат (r^2) – который показывает степень сходства в долях от единицы сравниваемые препараты (вектора) или спектр действия препарата на микроорганизмы, то есть это доля тест-штаммов микроорганизмов, на которые действует препарат из общего их количества в опыте.

Коэффициент корреляции ($\cos \gamma = r$) между векторами (ГЛФ) можно рассчитать по формуле:

$$\cos \gamma = r = \frac{\sum [a_i^X \cdot D_i^X \cdot a_i^{St} \cdot D_i^{St}]}{\sqrt{\sum [a_i^X \cdot D_i^X]^2} \cdot \sqrt{\sum [a_i^{St} \cdot D_i^{St}]^2}} \quad (3)$$

Для расчетов можно препарат «стандарт», который бы отражал реальное вещество (антибиотик, антисептик и т.д.). При использовании стандартного препарата позволяет нивелировать стохастическое влияние многих факторов, связанных с проведением микробиологических исследований (свойств конкретных разновидностей микроорганизмов, времени и температуры инкубирования, количества микробных клеток, состава питательных сред, и т.д.). Также можно использовать и «виртуальный» вектор, координаты которого для всех тест-штаммов микроорганизмов принимают равным $D_i^{St} = 25,0$ мм (этот вариант использован в наших расчетах).

Для исследований были выбраны следующие препараты доступные на фармацевтическом рынке Украины [8]: «Ангилекс-Здоровье», «Гексорал», «Йодиксол», «Люголя раствор», «Люгс. Эвкалиптовый Люголь», «Орасепт», «Хепилор», «Хлорофиллипт».

Результаты и их обсуждение. Данные результатов исследования противомикробных средств для лечения инфекционных заболеваний ротоглотки, представлены ниже в табл. 1.

Таблица 1. Противомикробная активность исследуемых препаратов для лечения инфекционных заболеваний ротоглотки, определенная с помощью диффузионного метода «колодцев»

Название препарата	Среднее значение и ошибка диаметра зоны задержки роста микроорганизма в мм*					
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>P. vulgaris</i> ATCC 4636	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>C. albicans</i> ATCC 885- 653
1. «Ангилекс-Здоровье»	20.2±0.5	14.4±0.7	рост	рост	19.9±0.8	рост
2. «Гексорал»	15.7±0.8	15.3±0.5	рост	рост	17.5±0.9	рост
3. «Йодиксол»	27.8±0.5	20.0±0.9	20.5±0.8	18.4±0.7	29.7±0.6	16.7±0.9
4. «Люголя роаствор»	21.0±0.6	22.3±0.4	22.6±0.7	23.3±0.5	24.5±0.8	14.7±0.6
5. «Люгс. Эвкалиптовый Люголь»	20.7±0.8	22.8±0.5	24.0±0.6	24.3±0.7	26.2±0.6	15.6±0.5
6. «Орасепт»	15.8±0.5	14.6±0.6	рост	рост	16.7±0.4	рост
7. «Хепилор»	20.2±0.8	15.3±0.7	рост	рост	21.6±0.7	рост
8. «Хлорофиллипт спрей»	18.9±0.9	13.3±0.6	рост	рост	14.4±0.7	рост

*Число повторов, n=6, P=0.95.

Используя данные противомикробной активности препаратов из табл.1 и векторную теорию, можно рассчитать интегральный показатель противомикробной активности и квадрат коэффициента корреляции, которые приведены в табл.2.

Таблица 2. Интегральные показатели противомикробной активности исследуемых препаратов для лечения инфекционных заболеваний ротоглотки, вычисленные с помощью теории векторной алгебры

Название препарата	Интегральный показатель противомикробной активности, $A \pm \delta_A$	Квадрат коэффициента корреляции*, r^2
1. «Ангилекс-Здоровье»	1.27±0.03	0.49
2. «Гексорал»	1.12±0.02	0.50
3. «Йодиксол»	2.22±0.03	0.95
4. «Люголя раствор»	2.12±0.03	0.98
5. «Люгс. Эвкалиптовый Люголь»	2.21±0.02	0.98
6. «Орасепт»	1.09±0.02	0.50
7. «Хепилор»	1.33±0.03	0.49
8. «Хлорофиллипт спрей»	1.09±0.03	0.49

Среднее значение	1.56	0.67
------------------	------	------

* результаты коэффициента корреляции показаны с учетом формулы (3), в которой, вместо реальных показателей зон задержки роста для препарата сравнения приведены виртуальные значения, принятые по всем штаммам 25 мм.

Как видно из данных табл.2, среднее значение интегрального показателя противомикробной активности препаратов для лечения ротоглотки равно $A=1.56$, $r^2=0.67$, что находится возле нижней границы среднего уровня активности. При этом наиболее активными оказались препараты йода, а наименее активными препараты фенола, гексетидина, хлорофиллипта.

Приведенные выше групповые интегральные показатели противомикробной активности исследуемых препаратов для лечения заболеваний ротоглотки уступают групповым показателям спиртоводных извлечений из растительного сырья, содержащего гидрохинон-, нафтохинон-, антрахинон- производные $A=1.77$, $r^2=0.87$; алкалоиды $A=1.61$, $r^2=0.79$; и дубильные вещества $A=1.56$, $r^2=0.79$, опубликованные авторами ранее в других работах [1-3]. Это говорит о хорошей альтернативе разработки и внедрения в медицинскую практику, вместо малоактивных синтетических противомикробных средств, препаратов на основе спиртоводных извлечений, из растительного сырья.

Выводы:

1. Результаты проведенных исследований противомикробной активности восьми препаратов отечественного и зарубежного производства, применяемых для лечения инфекционных заболеваний ротоглотки показывают, что их групповое среднее значение интегральных показателей противомикробной активности находится на нижней границе.

2. В результате сравнения групповых средних значений противомикробной активности исследуемых препаратов с таковыми для спиртоводных вытяжек из растительного сырья содержащего алкалоиды, дубильные вещества, гидрохиноны, нафтохиноны и антрахиноны показана перспективность использования последних для разработки отечественных медицинских средств.

Литература

1. Boyko Nikolay N., Zaytsev Alexander I., Osolodchenko Tatiana P. Screening of Antimicrobial Activity of Ethanolic Extracts from Raw Materials Containing Alkaloids // Journal of Chemical and Pharmaceutical Research.- 2015. – Vol.7, Issue 5.- P. 160-166.

2. Бойко Н. Н., Зайцев А. И., Осолодченко, Т. П. Определение антимикробной активности спиртоводных вытяжек из некоторых видов растительного сырья содержащего дубильные вещества // Анналы Мечниковского Института. – 2015. – №1. – С. 49-54.

3. Бойко Н. Н., Зайцев А. И., Осолодченко, Т. П. Скрининг антимикробных свойств спиртоводных вытяжек из некоторых видов растительного сырья содержащего хинонпроизводные // Анналы Мечниковского Института. – 2014. – №4. – С. 64-72.

4. Бойко Н. Н., Зайцев А. И., Осолодченко, Т. П. Теория векторной алгебры в анализе свойств противомикробных препаратов // Анналы Мечниковского Института. – 2014. - №1, С. 20-26.

5. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науко-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: РІРЕГ, 2001. – Доповнення 1. – 2004. – 520 с.
6. Зайцев О. І., Яковлева Л. В., Бойко М. М. та ін. Метод інтегрального оцінювання протимікробної активності препаратів // Інформаційний лист про нововведення в сфері охорони здоров'я № 65-2015. Міністерство охорони здоров'я України; Український центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи. – Київ : Укрмедпатентінформ, 2015. – 4 с.
7. Климнюк С. І., Покришко О. В., Савчук М. М та ін. Мікробна флора ротоглотки при захворюваннях на грип та ГРВІ // Аналі Мечниковського Інституту. – 2013. - № 4. – С. 41-48.
8. Компендиум лекарственных препараты on-line URL: <http://compendium.com.ua> (дата обращения: 01.02.2015).
9. Макаренко К. К., Елоева З. В., Казмирчук В. В., Мекаренко В. Д. Патогенетические основы диагностики и лечения острых респираторных заболеваний у детей. – Харьков : ЧПИ «Новое слово», 2010. - 142 с.
10. Муквіч О. М., Омельченко Л. І. Профілактика рекурентних гострих респіраторних інфекцій у дітей шкільного віку // Дитячий лікар. – 2013. - №6(27). – С. 65-70.