

ГЛАВА 3

НОВЫЕ ПРОТИВОГРИБКОВЫЕ СРЕДСТВА И МЕТОДЫ ТЕРАПИИ

ЭФФЕКТИВНОСТЬ КАПРОФЕРА ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ВАГИНИТАМИ ГРИБКОВОЙ ЭТИОЛОГИИ

**Амбарцумян А. Дз., Сукиасян С. М., Габриелян Э. С.,
Лалаян К. В., Погосян Г. К., Енремян Г. А.**

*Ереванский государственный медицинский университет имени М. Гераци,
кафедры эпидемиологии и акушерства и гинекологии
Ереван, Армения*

Известно, что химические соединения антибактериального назначения обладают более выраженной активностью, чем биологические, но в то же время их использование чревато возможностью появления побочных явлений и осложнений. Результатом является ограничение их применения среди беременных и родильниц. В связи с изложенным, нами предложено средство, представляющее собой модификацию известного препарата «Капрофер». Изначально капрофер был предложен в качестве гемостатика, но его выраженные антибактериальные свойства заставили нас несколько изменить сферу применения и использовать его для профилактики внутрибольничных гнойно-воспалительных заболеваний. Для этого возникла необходимость в проведении серии экспериментов на животных, а также исследований антибактериальной активности препарата *in vitro*, направленных на определение его оптимальной концентрации, безвредной для тканей макроорганизма. Результаты этих исследований позволили нам перейти к клинической апробации капрофера.

Нашей целью явилось изучение эпидемиологии гнойно-воспалительных заболеваний влагалища у родильниц, определение взаимосвязи указанной патологии с обсемененностью кожных покровов новорожденных условно-патогенной микрофлорой и разработка этиологически обоснованного способа профилактики.

Обследованию подверглась 71 пара мать-ребенок. У детей мазок брали с поверхности кожи в области плечевого сустава; у матерей — со стенок влагалища.

Анализ данных по высеваемости микроорганизмов показал, что и у родильниц, и у новорожденных наиболее часто выделялись стафилококки — 75,7% и 82,4% соответственно ($P < 0, 5$). Родильницы, у которых выделялись грибы рода Кандида, составили 29,7%, а с кожных покровов новорожденных этот микроорганизм выделялся в 17,5% случаев ($P < 0, 2$). Обсемененность грамотрицательными микроорганизмами наблюдалась реже. Кишечная палочка высевалась у 12,1% родильниц, а у новорожденных она встречалась в 6,7% случаев ($P < 0, 05$). Таким образом, обсемененность кожных покровов новорожденных в первые часы жизни находится в прямой зависимости от обсемененности родовых путей матери. Следовательно элиминация условно-патогенных микроорганизмов из влагалища беспорно приведет к снижению колонизованности кожных покровов новорожденных, а также создаст условия для восстановления индигенной микрофлоры.

ры матери или формирования у нее искусственных биоценозов с участием полезной флоры.

В возникновении гнойно-воспалительного процесса грибы рода *Candida* имеют не менее важное значение, чем микроорганизмы других видов. Разработку этиологически обоснованного метода профилактики мы видим в двунаправленности (противогрибковой и антибактериальной активности одновременно) действия предлагаемого препарата.

Для того, чтобы доказать принципиальную возможность снижения колонизованности влагалища условно-патогенной микрофлорой при помощи препарата «Капрофер» было обследовано 363 гинекологических больных, которых разделили на 4 группы: 1-ая — контрольная группа (112 больных), где больным проводили антибиотикотерапию, а санация влагалища проводилась раствором фурациллина, бутадионом совместно с противогрибковыми препаратами (нистатин, низорал, дифлюкан, клотримазол). Во 2-ой группе (57 больных) санация влагалища проводилась раствором капрофера 1/1024. В 3-ей группе (87 больных) санацию влагалища проводили тем же препаратом в разведении 1/512. В 4-ой группе (107 больных) использовался раствор капрофера в разведении 1/256.

Был использован также раствор капрофера в разведении 1/128, которым была проведена санация влагалища у 3-х гинекологических больных. Однако использование данного разведения было приостановлено, т. к. последние отмечали незначительное чувство жжения.

Сравнение динамики результатов лечения вагинитов во всех группах выявило наиболее выраженные антибактериальные свойства капрофера по отношению к стафилококку, грамотрицательным микроорганизмам и грибам рода *Candida* в четвертой группе больных, у которых применялся указанный препарат в разведении 1/256.

При изучении высеваемости ассоциаций различных микроорганизмов у больных (I) контрольной группы на всех этапах обследования наглядно видно равномерное снижение числа больных с высеваемостью стафилококка и грамотрицательных микроорганизмов, однако при выписке их количество оставалось довольно высоким, что может стать причиной рецидивов воспалительных заболеваний половых органов. Большие цифры высеваемости указанных условно-патогенных микроорганизмов при выписке несомненно говорят о их высокой резистентности к применяемым антибиотикам, а возможно, и о селекции устойчивых форм в процессе лечения. Уровень высеваемости грибов рода *Candida* у больных этой группы повышался, и при выписке наблюдались новые случаи больных кандидозом влагалища. Это лишний раз доказывает тот факт, что при антибиотикотерапии создаются оптимальные условия для развития грибов рода *Candida* и говорит о том, что противогрибковое лечение недостаточно эффективно. В общей сложности высеваемость условно-патогенных микроорганизмов в контрольной группе при выписке составила 38,2%. В четвертой группе уровень высеваемости микроорганизмов резко снизился, причем снижение наблюдалось и при высеваемости грибов рода *Candida*. При выписке количество колоний стафилококка и грибов рода *Candida* было единичным, а кишечная палочка

не высевалась вовсе. В общей сложности высеваемость микроорганизмов составила 7, 4%, что меньше, чем в контрольной группе больных в 5, 1 раза ($P < 0, 001$); при сравнении со второй группой высеваемость снизилась в 4, 9 раза ($P < 0, 001$); при сравнении с третьей группой, в 2, 6 раза ($P < 0, 01$). 92, 6% больных четвертой группы выписались свободными от носительства каких-либо условно-патогенных микроорганизмов, что создает оптимальные условия для восстановления облигатных микроорганизмов или для формирования временных искусственных биоценозов при помощи безвредных микробов-антагонистов.

Важно отметить, что число койко-дней при общепринятом лечении составило 12, 4 дня, во второй группе — 12, 3 дня, в третьей — 9, 5 дней и в четвертой — 7, 8 дней. Следовательно, наиболее эффективно лечение в четвертой группе, где количество койко-дней по сравнению с контрольной группой снизилось в 1, 6 раза, а высеваемость разных видов микроорганизмов достоверно ниже. Побочных явлений, связанных с использованием препарата, не наблюдалось.

На «Способ лечения вагинитов» с использованием препарата «Капрофер» получено авторское свидетельство РА № 600, 1999 г.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРИРОДНЫХ ПРОТИВОГРИБКОВЫХ СРЕДСТВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Бадалян С. М., Топчян А. В.

Ереванский государственный университет

*Ереванский государственный медицинский университет имени М. Гераци
Ереван, Армения*

Грибковые заболевания (микозы) широко распространены в современном мире. Причинами являются не только источники инфекций (патогенные для человека и животных грибки), но и пониженная активность иммунной системы и повседневный стресс. Профилактика и лечение микозов не только медицинская, но и социальная и косметологическая проблема.

Эффективные противогрибковые или антимикотические препараты, предлагаемые современной фармацией в основном являются продуктами химического и природного синтеза (дифлюкан, орунгал, гризеофульвин, нистатин и др.). Однако, они дорогостоящие и обладают различными побочными действиями (аллергия, индивидуальная непереносимость, гепатотоксичность и др.). Наилучшая тактика лечения микозов это сочетание современных антифунгальных препаратов с народными средствами. Растительные экстракты и эфирные масла с асептической целью применялись в народной медицине многих стран. Сообщается об антимикотических свойствах более 1000 видов растений (эвкалипт, черемуха, тополь, горчица и др.), в частности об использовании некоторых из них для профилактики и лече-

ния дерматомикозов и других грибковых поражений. Фитотерапия особенно эффективна при местном применении. Биопрепараты растительного происхождения, высушивая и усиливая кислую реакцию кожи, создают неблагоприятные условия для роста и развития грибного мицелия. При этом немаловажно практическое отсутствие побочных эффектов. Недавно полученный антидерматомикозный препарат цербиден (мазь 2. 5%) из лекарственного растения сем. Asteraceae оказался эффективным при монотерапии микроспории гладкой кожи, эпидермотофитии стоп и кандидозе.

Таким образом, поиск и разработка природных антифунгальных и фунгицидных средств, в частности растительного происхождения, является актуальной задачей.

Флора Армении богата лекарственными и эфирномасличными растениями. Среди описанных в республике 1500 видов, фармакопейную ценность представляют около 80. В настоящее время выпускаются некоторые препараты растительного происхождения (настойки валерианы, пустырника, мазь переступня и др.). Однако, разработки по получению эффективных антифунгальных и фунгицидных препаратов из растительного сырья не были до сих пор проведены в республике.

Объектами наших исследований послужили тысячелистник обыкновенный (*Achillea millefolium*) флоры Армении и культивируемая в условиях открытой гидропоники мята перечная (*Menthae piperitae*). Антифунгальную и фунгицидную активность (АФА, ФЦА) исследованных растительных образцов — экстракт тысячелистника (ЭТ) и масло мяты перечной (ММП) определяли в отношении пяти тест-микроспорителей — потенциально патогенных для человека и животных: *Microsporium gypseum*, *Trichophyton ajelloi*, *Chrysosporium keratinophilum*, *Stachybotrys chartarum* и *Aspergillus candidus*. Систематически они являются представителями класса несовершенных грибов (Deuteromycetes). Чистые культуры микроспорителей были выделены из почв Армении. Виды *M. gypseum*, *T. ajelloi* и *Ch. keratinophilum* относятся к экологической группе кератинофильных грибов. Они вызывают дерматомикозы и онихомикозы у человека и животных.

Антифунгальную и фунгицидную активность ЭТ и ММП определяли в чашках Петри на среде Сабуро. Растительное сырье добавляли в питательную среду после ее стерилизации. Лиофилизированный этиловый ЭТ разбавляли дистиллированной водой и использовали в следующих концентрациях 0. 5, 1, 1. 5, 2 и 2. 5%. ММП, полученный из листьев растения методом перегонки с водяным паром, вводили в среду в различных количествах: 250, 750, 1000, 1500 и 2000 мкг/мл. После инокуляции тест-микроспорителей чашки инкубировались при 25С. Результаты фиксировались на 3, 5, 7, 9 и 12 сутки. При этом описывали изменения в характере и скорости роста колоний, степень ингибиции конидиогенеза и др. Процентную ингибицию роста грибов вычисляли по сравнению с контролем.

Результаты установили, что все тестируемые растительные образцы в зависимости от количества обладали выраженной АФА и ФЦА. Так, ЭТ был наиболее эффективен в отношении *T. ajelloi* и *M. gypseum*. При этом АФА (соответственно 68% и 37. 5%) была отмечена на среде с 1% раствором

экстракта, тогда как высокие его концентрации (1. 5-2. 5%) полностью ингибировали рост грибов. Все тестируемые концентрации ЭТ (0. 5-2. 5%) обладали только выраженной АФА в отношении *Ch. keratinophilum* (95%), *S. chartarum* (81%) и *A. candidus* (56%). Полное отсутствие роста наблюдалось только у *Ch. keratinophilum* при концентрации 2. 5%.

Таким образом, ЭТ был эффективен в отношении *T. ajelloi* и *M. gypseum* в концентрации выше 1. 5%. Для его фунгицидного эффекта в отношении трех остальных видов следует применять концентрации выше 2. 5%.

Наибольшая чувствительность ММП также проявилась в отношении *T. ajelloi*. Сильная АФА (79%) отмечалась при дозе 750 мкг/мк, а фунгицидный эффект — начиная с 1000 мкг/мл. АФА мятного масла по отношению *Ch. keratinophilum* (64%) и *M. gypseum* (54%) проявилась при 1000 мкг/мл, а ФЦА — начиная с 1500 мкг/мл. Сильным антифунгальным эффектом с подавлением мицелиального роста и конидиогенеза ММП обладал в отношении *S. chartarum* (86%) при 1500 мкг/мл. Увеличение количества масла в среде до 2000 мкг/мл привело полной остановки мицелиального роста грибка.

Тестируемые концентрации растительных образцов оказались менее эффективными в отношении *A. candidus*. ЭТ и ММП не обладали фунгицидным действием, а АФА при концентрации 2. 5% и 2000 мкг/мл составила соответственно 56% и 10%.

Итак, ЭТ и ММП наряду с сильнодействующими антимикотическими химиопрепаратами можно рекомендовать в качестве альтернативных средств при профилактики и лечении некоторых грибковых инфекций. В качестве антимикотического компонента в определенных дозах их также можно использовать в формуляции различных лекарств (мази, настойки и др.).

АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА ВОДЫ, ОБРАБОТАННОЙ ИМПУЛЬСНЫМ ЭЛЕКТРИЧЕСКИМ РАЗРЯДОМ

**Богомолова Е. В., Горячев В. Л., Коликов В. А.,
Кулишевич А. И., Курочкин В. Е., Панина Л. К.,
Рутберг Ф. Г., Юлаев Ф. Г.**

*Институт Проблем Электрофизики РАН
Санкт-Петербургский государственный университет
Институт аналитического приборостроения РАН
Санкт-Петербурге*

При обработке воды импульсным периодическим электрическим разрядом с малой энергией образуется термодинамически устойчивая, гетерогенная ультрадисперсная (коллоидная) система (рабочее название — БАВ), обладающая высокой антибактериальной активностью в отношении ряда патогенных микроорганизмов (бактерий, дрожжевых грибов).

Методами динамического светорассеяния, ИСР, электронной микроскопии нами охарактеризована дисперсная фаза системы, которая представляет собой совокупность ультрамалых заряженных металлических частиц — кластеров. Распределение кластеров по размерам имеет бимодальный характер, с максимумами 10 нм и 200 нм. Их состав определяется материалом и степенью химической чистоты электродов. В эксперименте исследовались антимикробные свойства воды, дисперсная фаза в которой была представлена преимущественно либо серебром (БАВ-Ag), либо титаном (БАВ-Ti), либо железом (БАВ-Fe). При увеличении удельной энергии обработки воды концентрация металла в дисперсионной среде (обработанной воде) линейно возрастала, что позволяло получать БАВ с разной концентрацией кластеров.

С целью расширения возможностей применения новых эффективных и нетоксичных противогрибных препаратов и учитывая высокую антибактериальную активность БАВ, в опытах *in vitro* было изучено действие трех типов обработанной воды — (БАВ-Ag), (БАВ-Ti) и (БАВ-Fe) на рост и развитие грибов *Ulocladium chartarum* и диморфных грибов *Phaeococcomyces chersonesos* (штамм Ch 49).

Культивирование проводили непосредственно в водной среде в ячейках микротитрационных планшетов, либо на стандартных агаризованных питательных средах после экспозиции спор в БАВ.

Показано, что фунгистатический эффект является функцией от удельной энергии обработки воды, материалов электродов, концентрации спор и длительности их пребывания под действием БАВ. Наиболее выраженным фунгистатическим эффектом обладает система (БАВ-Ag), полученная при обработке деионизированной воды с удельной энергией 10 Дж/мл при использовании в качестве острейного электрода серебряного сплава марки ПСр72. Общее содержание серебра в дисперсионной среде при этом составляло 4, 5 мг/л. Минимальная удельная энергия обработки воды, вызывающая стабильный фунгистатический эффект в водной среде для *U. chartarum* соответствовала 5 Дж/мл.

Проведено сравнение кинетики роста и минимальных ингибирующих концентраций при культивировании грибов в водной среде в присутствии серебра в ионной и кластерной формах, при одинаковых концентрациях рассчитанных по ионам серебра.

Обнаружено влияние БАВ на меланиногенез грибов *U. chartarum*. Колонии, выращенные из спор грибов, выдержанных 2 суток в воде, обработанной с удельными энергиями 5 и 10 Дж/мл, на плотной питательной среде в течение первых 7-10 дней роста имели нехарактерную форму и окраску. Колонии были абсолютно бесцветными, выпуклыми, блестящими. Через 10 дней роста они, однако, плавно восстанавливали нормальные для данного вида грибов характеристики (темноокрашенный мицелий, бархатистость поверхности колонии, и пр.). Это свидетельствует о том, что воздействие БАВ не затрагивало генетический аппарат клеток, а имело временный характер. Можно предполагать воздействие БАВ на ферментативный аппарат грибов, вовлеченный в синтез меланина — основного пигмента клеточной стенки. Следует отметить, что присутствие меланина в клеточных стенках —

один из важнейших факторов вирулентности многих патогенных для человека грибов.

Обсуждается возможный механизм неспецифического биологического действия БАВ и некоторые перспективы применения обработанной воды как антисептика в практической медицине.

Работа частично поддержана грантом РФФИ № 01-02-17177а.

АНТИМИКОТИКИ В ПРАКТИКЕ ПЕДИАТРА

Буслаева Г. Н.

*Российский государственный медицинский университет
Москва*

Пристальный интерес врачей к изучению грибковых заболеваний в последние годы обусловлен значительным ростом их частоты. Это связано с резким увеличением числа факторов риска развития микозов (активная антибиотикотерапия, проведение реанимационных мероприятий, использование глюкокортикоидных и иммуносупрессивных препаратов и др.).

При назначении любого антимикотика необходимо иметь информацию о его спектре действия, биодоступности, распределении в организме, эффективности, возможных побочных действиях и формах применения.

Существует несколько групп противогрибковых препаратов. К ним относятся полиеновые антибиотики (нистатин, амфотерицин В, натамицин), азолы (имидазолы и триазолы) и прочие препараты, но не все из них широко используются в педиатрической практике.

Полиеновые антибиотики обладают широким спектром действия. Нистатин нерастворим в воде, плохо всасывается из желудочно-кишечного тракта, выводится почти целиком с калом в неизменном виде. При приеме внутрь нистатин оказывает лишь местное действие. Нистатин малотоксичен, но иногда возможны тошнота, рвота, учащение стула и даже озноб, повышение температуры тела. В настоящее время нистатин может применяться для лечения и профилактики кандидоза только желудочно-кишечного тракта, причем преимущественно в поликлинических условиях, поскольку к нему выявлена низкая чувствительность госпитальных штаммов грибов *Candida*.

Амфотерицин В применяется внутривенно и поэтому эффективно используется при системных поражениях. Метаболизируется амфотерицин В в печени, а выводится почками, практически не проходит гематоэнцефалический барьер. Амфотерицин В применяют при тяжелом течении микозов, вызванных чувствительной флорой. Амфотерицин В отличается высокой токсичностью, у 50-80% больных отмечаются озноб, лихорадка, головная боль, тошнота, рвота. Помимо общих и желудочно-кишечных расстройств регистрируется токсическое действие: гепатотоксичность, миелотоксичность, нефротоксичность. Следующими нежелательными эффектами при назначении амфотерицина В являются метаболические нарушения, представленные снижением уровня калия и магния в сыворотке крови. При интрате-

кальном введении возможны нейротоксические реакции в виде парезов, тремора и судорог.

Назначают амфотерицин В по строгим показаниям. Лечение проводится под постоянным контролем функции печени и почек, уровня калия и магния в сыворотке крови и общего анализа крови. Амфотерицин В может вызвать усиление эффектов сердечных гликозидов (особенно на фоне гипокалиемии) и курареподобных миорелаксантов.

Амбизом представляет собой липосомальную форму амфотерицина В и обладает меньшими побочными эффектами.

Натамицин практически не абсорбируется и оказывает местное действие при кандидозе желудочно-кишечного тракта. К нему чувствительны большинство патогенных дрожжевых грибов, особенно *Candida albicans*, менее чувствительны дерматофиты. Таблетки для приема внутрь покрыты оболочкой, которая защищает препарат от воздействия желудочного сока и позволяет растворяться только в кишечнике. Препарат применяют у детей старшего возраста, которые могут свободно глотать таблетки целиком. При заболеваниях, сопровождающихся повышением кислотности желудочного сока, активность препарата может снижаться. Побочные действия редки и немногочисленны: тошнота, диарея.

К имидазолам относят кетоконазол, а к триазолам — флуконазол и итраконазол.

Кетоконазол характеризуется высокой биодоступностью, эффективен в отношении возбудителей кандидоза, некоторых дерматомикозов, но при приеме возможны многочисленные побочные эффекты: желудочно-кишечные расстройства, нарушения функции печени, эндокринные изменения, и отклонения со стороны ЦНС. Учитывая все вышесказанное, терапию кетоконазолом детям следует проводить в крайних случаях, при избирательной чувствительности грибов к данному препарату или по индивидуальным показаниям, нежелательно использовать с целью профилактики развития микозов у детей из группы высокого риска.

Флуконазол обладает высокой биодоступностью, проникает через гематоэнцефалический барьер, выводится из организма преимущественно почками. Обладает активностью против большинства видов грибов рода *Candida* (за исключением *C. glabrata* и *C. krusei*), также *Cryptococcus neoformans*, *Microsporium spp.*, *Trichophyton spp.*, а, кроме того, эффективен и в отношении *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis* и *Histoplasma capsulatum*. Показанием к назначению флуконазола служат все формы и локализации кандидоза (включая и поражение ЦНС). Флуконазол хорошо переносится. Назначается в любом возрасте, начиная с периода новорожденности, для лечения и профилактики развития микозов.

Итраконазол всасывается, распределяется в различных органах и тканях, но не проникает через гематоэнцефалический барьер. Эффективен в отношении дерматофитов (*Trichophyton spp.*, *Microsporium spp.*, *Epidermophyton floccosum*), дрожжевых грибов (в частности *Candida spp.*, включая *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*), плесневых грибов (*Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus spp.*, и др.). В настоящее время, учитывая высокую концентрацию препарата в коже, итраконазол в основном применяется для лечения онихомикозов,

хотя его используют и для лечения аспергиллеза, кандидоза и др. Побочные реакции при терапии: желудочно-кишечные расстройства, гепатотоксичность, изменения ЦНС, аллергические и дерматологические реакции, биохимические сдвиги, отеки.

Тербинафин относится к группе аллиламинов, хорошо всасывается из желудочно-кишечного тракта, обладает высокой липофильностью и распределяется во многих тканях. К нему чувствительны преимущественно дерматомицеты, но также некоторые *Candida spp.*, *Aspergillus spp.*, возбудители гистоплазмоза, бластомикоза и хромомикоза. Показаниями к назначению препарата являются микозы кожи и ее придатков, обусловленные чувствительной флорой. Побочные реакции: нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта, ЦНС, гематологические нарушения, гепатотоксичность, аллергические реакции.

ВОЗДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ДЕРМАТОФИТ *MICROSPORUM CANIS* IN VITRO И IN VIVO

Кравец Е. В., Демченко С. И.

Городской кожно-венерологический диспансер № 1 г. Донецка
Донецкий национальный университет
Донецк, Украина

Микроспория, обусловленная *Microsporum canis*, является одной из самых распространенных дерматофитий, особенно в детском возрасте. Изучение динамики заболеваемости в г. Донецке за последние 20 лет позволило отметить, что на фоне снижения общего числа больных дерматофитиями, микроспория остается на довольно высоком уровне, составляя до 82% этих больных.

Основным методом лечения больных микроспорией (Мс) волосистой части головы является применение системных антимикотиков в сочетании с наружной терапией. Однако длительность системного лечения нередко приводит к развитию побочных эффектов и осложнений, описаны случаи резистентности к гризеофульвину. Этим объясняется поиск новых методов и средств, повышающих эффективность противомикотической терапии и уменьшающих ее продолжительность.

В последние годы для лечения дерматологических больных широко используются немедикаментозные методы лечения, в частности низкоинтенсивное гелий-неоновое лазерное излучение (НИЛИ) с длиной волны 632,8 нм, которое обладает противовоспалительным, притивомикробным эффектом, а также оказывает иммуномодулирующее действие, нормализует клеточный и гуморальный ответ организма, повышает фагоцитарную активность клеток и улучшает микроциркуляцию крови в зоне его воздействия. В связи с этим нами было исследовано действие гелий-неонового лазера на особенности роста *M. canis in vitro* и прослежена эффективность лечения больных Мс путем применения лазеротерапии.

При изучении влияния НИЛИ ($\lambda = 632,8 \text{ нм}$) на рост *M. canis* на стадии анаморфы *in vitro* установлено, что оба режима лазерного облучения (I — непрерывное однократное лазерное облучение пятисуточного вегетативного мицелия, II — прерывистое периодическое освещение культур низкоинтенсивным излучением гелий-неонового лазера в течение всех 10 суток роста гриба) не вызывали видимых изменений макроморфологических признаков гифальной системы дерматофита. Однако выявлено отчетливое антифунгальное действие прерывистого лазерного излучения с экспозицией 5 мин в отношении *M. canis* (скорость роста мицелия уменьшилась на 25-32%).

Результаты микробиологических исследований послужили обоснованием разработки новых подходов к терапии Мс с применением как традиционных (антимикотических средств), так и немедикаментозных методов, воздействующих как на возбудителя Мс, так и на иммунологическую реактивность и неспецифическую резистентность организма.

В зависимости от методов лечения больные были распределены на четыре группы: первая группа — контрольная (20 человек), получавших традиционное лечение, вторая группа (30 человек) — традиционную терапию сочетали с чрезкожным лазерным облучением крови (ЧЛОК), третья группа (35 человек) — традиционную терапию сочетали с лазерным облучением поражений на коже (ЛОПК), четвертая группа (35 человек) — традиционную терапию сочетали с ЧЛОК и ЛОПК.

Сравнительный анализ эффективности различных методов лечения Мс показал, что наиболее выраженный регресс элементов сыпи, более быстрое наступление микологической излеченности отмечено у пациентов, получавших наряду с традиционной лазеротерапией. Так, полное клинико-микробиологическое выздоровление наступило на 27, 2 ± 0 , 21 день лечения у больных IV группы, в то время как у больных I группы лишь на 32, 4 ± 0 , 32 день.

Отдаленные результаты прослежены в течение 3-х месяцев. Рецидив заболевания наблюдался лишь у двух человек I группы и ни у одного из 100 больных II-IV групп.

АНТИМИКОТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ НА ДРОЖЖЕПОДОБНЫЕ И ПЛЕСНЕВЫЕ ГРИБЫ

Ермакова Т. С., Титов Л. П.

*ГУ НИИ эпидемиологии и микробиологии
Минск, Беларусь*

Известно, что в лекарственной терапии микозов, вызванных патогенными и условно-патогенными грибами доминирующее значение отводится противогрибковым антибиотикам. Однако их применение ограничено высокой токсичностью и появлением в клинической практике устойчивых к антимикотическим антибиотикам штаммов дрожжеподобных и плесневых грибов.

Цель работы: изучить противогрибковую активность эфирных масел: мяты Ройля, розового, полыни болхан, полыни сантонинной, чабера горного.

Материалы и методы. В качестве тест-микроорганизмов использовали атланонные и полученные из клинического материала штаммы дрожжеподобных грибов (*Candida albicans*, *Candida tropicalis*), плесневых грибов (*Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium spp.*). Всего было использовано в экспериментах 24 изолята.

Испытания на активность проводили в агаризованной среде Сабуро методом серийных разведений. Эфирные масла растворяли в диметилсульфоксиде, получали 1% раствор и асептически вносили в соответствующих количествах в колбы с расплавленным агаром Сабуро (50°C). Среды, содержащие определенную концентрацию эфирного масла, разливали в чашки Петри, засеивали на них культуры тест-грибов. В качестве контроля использовали агар Сабуро с растворителем, не содержащим эфирного масла. После инкубации (24 ч, для плесневых грибов 6 суток, 25°C) производили учет результатов и определяли минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) эфирного масла.

Результаты. Все исследованные эфирные масла проявили антимикотическую активность. Эфирные масла розы, полыни болхан, полыни сантонинной ингибировали рост грибов в концентрациях от 0, 6% до 0, 25%. Наибольшую активность проявили эфирные масла мяты Ройля и чабера горного. Их МИК составила 0, 25-0, 12%. Более чувствительными к действию этих эфирных масел были дрожжеподобные грибы — МИК 0, 12%.

Таким образом, различные по составу эфирные масла способны в разной степени подавлять рост тех или иных видов грибов. Проведенные нами исследования позволяют предложить эфирные масла в качестве альтернативных антимикотических препаратов. Дальнейшее расширение спектра этого класса природных соединений может быть перспективно при создании новых антимикотических препаратов.

Авторы выражают благодарность В. И. Присакарь, М. В. Бодруг (Молдавский государственный медицинский университет, Национальная Академия Наук, Молдова) за предоставленные эфирные масла.

ВЛИЯНИЕ *SPIRULINA PLATENSIS* НА РОСТ *CANDIDA ALBICANS*

Горобец О. Б., Блинкова Л. П., Батура А. П.

НИИ вакцин и сывороток имени И. И. Мечникова РАМН
Москва

Эффект ингибирующего воздействия *Spirulina platensis* (Sp) на *Candida albicans* в желудочно-кишечном тракте человека был описан как выявленный факт без конкретных количественных результатов [Kozlenko R., Henson R. H. 1997]. Поскольку Sp широко используется в качестве пищевой добавки, экспериментальная оценка ингибирующей активности Sp в отношении

C. albicans позволяет накопить информацию, полезную при изучении механизма антимикотического действия добавки и определения оптимальных терапевтических доз микроводоросли.

Для изучения влияния Sp на *C. albicans* были выбраны концентрации 0, 01, 0, 1, 1 и 10 мг/мл, которые в виде добавки вносили в 1, 5% питательный агар. Последние две концентрации приближаются к одноразовой и суточной дозам приема коммерческого препарата Sp (3, 5 — 10, 5 мг/мл, соответственно, в пересчете на 1 кг веса), т. е. в таких количествах Sp воздействовала на *C. albicans* в кишечнике. Более высокие концентрации использовать в опыте было нецелесообразно, т. к. они могли существенно изменить некоторые физико-химические показатели среды, например, величину pH, прозрачность среды, прочность агара.

В зависимости от задач эксперимента раствор сухой биомассы Sp, предназначенной для изготовления биодобавки, стерилизовали в дистиллированной воде кипячением (100°C, 25±5 мин.). Кроме того, использовали биомассу лиофильно высушенной Sp с комплексом ее метаболитов через 30 дней культивирования в жидкой солевой среде. Рост *C. albicans* оценивали по КОЕ/мл.

Контролем в экспериментах служил питательный агар, не содержащий Sp. Эксперименты показали, что рост *C. albicans* NCTC 885-653 достоверно подавлялся при высеве на среду, содержащую Sp. Так, по сравнению с контролем (4, 4 ± 0, 66) г 10 КОЕ/мл количество клеток *C. albicans* для изученных доз снижалось, соответственно до (0, 84±0, 13) г 10 КОЕ/мл; (0, 73±0, 12) г 10 КОЕ/мл; (0, 45±0, 07) г 10 КОЕ/мл; (0, 50±0, 075) г 10 КОЕ/мл. Для дозы 1 мг/мл и 10 мг/мл отмечено 75-100% гибели клеток.

С целью изучения стимулирующего воздействия Sp на рост *C. albicans* были проведены опыты с добавлением растворов указанных концентраций биомассы микроводоросли в «голодный» 1, 5% агар. «Голодные» среды, приготовленные на дистиллированной воде, с включением в рецептуру 5 г/л NaCl и агар-агара, различались концентрациями добавленной Sp. Величины pH сред находились в пределах pH 7, 25 — 7, 45. На чашки с «голодными» агарам и Sp вносили суспензию *C. albicans* в исходной концентрации 1 млрд по ОСО мутности, в объеме 0, 1 мл. В качестве контроля использовали «голодный» агар без спироулины, а также 1, 5% питательный агар для определения жизнеспособности засеянного штамма *C. albicans* NCTC 885-663. Оказалось, что в концентрации 0, 01 и 0, 1 мг/мл появлялся едва видимый рост. При концентрации 1 мг/мл рост усиливался вначале до единичных мелких колоний (диаметр 0, 2 — 0, 3 мм), а затем при концентрации 10 мг/мл превращался в слабый газон. Такой рост можно объяснить наличием стимулирующего фактора, который проявляется только в условиях, когда ингибитор под действием термообработки в безбелковой среде инактивируется. Возможно также, что ингибитор действует только на физиологически активные клетки в условиях полноценной среды. Кроме того, концентрация Sp 10 мг/мл могла служить богатым питательным субстратом для *C. albicans*, содержащим белок, полисахариды, незаменимые кислоты, витамины. Однако мало вероятно, что в кишечнике существуют условия, подобные «голод-

ным» средам. По-видимому, в этом случае в отношении *C. albicans* у *Sp* проявляется только ингибирующий эффект.

ФУНГИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ МЕТАЦИДА

Каштанов А. В.

*Всероссийский научно-исследовательский институт
ветеринарной санитарии, гигиены и экологии
Москва*

В микробиоценозе животноводческих помещений значительное место занимают грибковые микроорганизмы, в основном — плесени.

Подобно дрожжам и бактериям плесени и их споры распространены повсеместно. Однако большинство плесеней способно развиваться в таких условиях, при которых ни дрожжи, ни бактерии жить не могут из-за слишком высокого осмотического давления, кислотности, или недостатка влаги.

Биохимический аппарат плесеней отличается высокой активностью — плесени способны очень быстро окислять и расщеплять углеводы, жиры и белки, вызывать другие биохимические изменения самых различных субстратов. Плесени расщепляют целлюлозу, тем самым, вызывая порчу бумажных и деревянных изделий, если последние не подвергались специальной обработке. Иногда плесени появляются на стенах, как в слое краске, так и под ним, в результате чего краска начинает отпадать. В тропических странах они иногда развиваются на поверхности линз биноклей, что ухудшает ясность изображения. Плесени порой появляются на поверхности электрических изоляторов, что приводит к коротким замыканиям. Некоторые плесени хорошо растут на резине, разрушая ее.

Некоторые плесени патогенны. *Aspergillus fumigatus* — возбудитель довольно часто встречающихся инфекций легких у птиц; не так уж редки аспергиллезы у человека.

Учитывая вышесказанное, актуальной задачей является изыскание и разработка препаратов, обладающих фунгицидным и фунгистатическим действием, с целью применения их для дезинфекции животноводческих помещений.

Эффективным антисептиком, применяющимся для дезинфекции, является метацид. По сообщениям ряда авторов он также представляет собой перспективное фунгицидное средство.

В лаборатории аэрозольных форм ветпрепаратов ВНИИВСГЭ была изучена фунгицидная активность метацида.

Фунгицидную активность препарата метацид определяли по общепринятой методике на бязевых тестобъектах. В качестве тест-культур был взят *Aspergillus fumigatus* Fres. Стерильные бязевые тестобъекты контаминировали смывами агаровой тест-культуры (40 млн. спор в 1 мл). Для смыва конидий *A. fumigatus* использовали стерильный 0, 9% раствор натрия хлорида, содержащий 0, 05% Твина-80. Затем тестобъекты подсушивали и помещали

в пробирки с различными концентрациями испытуемого препарата. На каждый бязевый тестобъект использовали не менее 0, 5 мл испытуемых растворов метацида. После заданной экспозиции, тестобъекты вынимали петлей из испытуемого раствора и погружали в нейтрализатор (дистиллированная вода).

После двукратной промывки в нейтрализаторе, тестобъекты переносили на агар Чапека и инкубировали в течение 5 суток при температуре 37°C. Результаты учитывали ежедневно. Температура испытуемых растворов во время проведения опыта составляла 16-18°C. Опыты были поставлены в пятикратной повторности.

Установлено, что препарат метацид обладает высокой фунгицидной активностью в концентрации 0, 5% при экспозиции 45 минут, в концентрации 0, 75% при экспозиции 30 минут, в 1%-ной концентрации при экспозиции 15 минут. В концентрации 0, 25% метацид не обладает фунгицидной активностью против спор *A. fumigatus*.

Затем мы изучили дезинфекционную активность 1%-ного раствора метацида. Эксперименты осуществляли по общепринятой методике. В опытах использовали тестобъекты из дерева, бетона, кафеля и металла размером 100 см², в качестве тест-культуры применяли *Aspergillus fumigatus* Fres.

На тестобъекты наносили 40-миллионную взвесь спор агаровой культуры из расчета 1 мл на 100 см² поверхности. Культуру равномерно распределяли по поверхности тестобъекта, подсушивали при комнатной температуре в течение 1 часа. В качестве органической защиты использовали стерильный навоз КРС из расчета 0, 2 г на тестобъект.

После подсыхания на тестобъект распыляли испытуемые растворы метацида из беспропеллентного баллона из расчета 100 мл на 1 м² поверхности. Экспозиция составляла: 15, 30, 45, 60 минут.

Контрольные тестобъекты орошали дистиллированной водой из беспропеллентного баллона из расчета 100 мл на 1 м².

Контроль качества дезинфекции осуществляли следующим образом: по окончании заданной экспозиции брали смывы с контрольных и опытных тестобъектов путем тщательного протирания их стерильными, слегка увлажненными тампонами, которые затем помещали в пробирки с 10 мл физиологического раствора. Смывы дважды центрифугировали и по 0, 5 мл осадка высеивали на агар Чапека.

Результаты учитывали в течение 5 суток инкубирования посевов в термостате при 37°C.

Качество дезинфекции оценивали по наличию или отсутствию роста тест-культур на питательной среде. Окончательно результаты обеззараживания поверхностей оценивали на основании трех повторных опытов с совпадающими показателями.

Установлено, что обеззараживание тестобъектов, загрязненных культурой *Aspergillus fumigatus* Fres. после обработки 1%-ным раствором метацида из беспропеллентного баллона из расчета 100 мл/м², наступает:

тестобъектов из дерева и бетона через 60 минут;

тестобъектов из кафеля и металла через 45 минут.

ВЫВОДЫ. Растворы метацида проявляют фунгицидную активность, обеззараживая бязевые тестобъекты, контаминированные тест-культурой *Aspergillus fumigatus* Fres.:

в концентрации 0, 5% — за 45 минут;

в концентрации 0, 75% — за 30 минут;

в концентрации 1% — за 15 минут.

1%-ный раствор метацида при расходе 100 мл из беспропеллентного баллона обеззараживает тестобъекты контаминированные тест-культурой *Aspergillus fumigatus* Fres. :

из дерева и бетона через 60 минут;

из кафеля и металла через 45 минут.

АНТИКАНДИДОЗНЫЕ СВОЙСТВА САПОНИНОВ ИЗ КРЫМСКОГО ПЛЮЩА

*Криворутченко Ю. Л., Кирсанова М. А.,
Мельниченко Е. Г., Гришковец В. И., Чирва В. Я.*
Крымский государственный медицинский университет,
кафедра микробиологии
Симферополь

Кандидамикозы играют главную роль в патологии людей, вызываемой грибами. Основным возбудителем кандидамикозов считают *C. albicans*. Наиболее опасная форма заболевания — диссеминированный кандидоз. На его долю приходится 10-15% всех внутрибольничных кровяных инфекций, причем удельный вес гематогенного кандидоза среди таких заболеваний постоянно растет.

Для профилактики и лечения кандидамикозов используют азолы, аллиламины, морфолины, тиокарбаматы, 5-флуцитозин и другие препараты. У части больных из-за наличия резистентных к указанным препаратам форм кандид рекомендуется применять амфотерицин В [2, 6]. Этот полиеновый антибиотик высоко эффективен, но токсичен, что ограничивает возможности его применения. Менее токсичные липид-ассоциированные формы амфотерицина дороги и их применение в ряде случаев нецелесообразно.

Сегодня большое внимание уделяется изучению новых антифунгальных веществ. Среди них заметное место занимают сапонины.

Целью настоящей работы было изучение воздействия некоторых сапонинов из крымского плюща *Hedera taurica* Савг. (таурозидов) на развитие клинических изолятов кандид *in vitro*. Изучали 11 тритерпеновых гликозидов: таурозиды Н₂ и I, Sx1-3, Ax1-2, Gx1-4. Вещества были получены на кафедре органической химии Таврического национального университета, Симферополь.

Антифунгальное действие сапонинов изучали на референс-штамме *C. albicans* ССМ 885 (получен из НИИ ЭИЗ, Киев) и на культурах, выделенных

у здоровых людей и больных: *C. albicans*-13 штаммов, *C. tropicalis*-4 штамма, *C. krusei*-2 штамма, *C. guilliermondii*-1 штамм. Культуры от больных были выделены у детей с диагнозами: недоношенность (кожа, слизистая носа); гипотрофия (фекалии); флегмона бедра (кровь); поддиафрагмальный абсцесс (фекалии); пневмония, энцефалит, сепсис (трупный материал); ангина (слизистая зева); гастрит (фекалии). Изоляты кандид, полученные от здоровых людей, были выделены со слизистой зева студентов крымского медицинского университета. Идентификацию грибов проводили по стандартной методике, ориентируясь на ферментацию сахаров, тип филаментации и способность образовывать ростовые трубки в разведенной 1:5 плазме крови человека. Антимикробную активность исследуемых веществ определяли методом серийных разведений на жидкой питательной среде Сабуро.

Было изучено влияние 11 сапонинов на развитие *C. albicans* изолята, выделенного от здорового человека (штамма №5). Эти грибы обладали максимальной чувствительностью в отношении таурозида Sx1. Для них минимальная концентрация таурозида Sx1, ингибирующая рост грибов (МИК), составила 75 мкг/мл. МИК для таурозидов Sx2 и Sx3 составляла 150 мкг/мл, для таурозидов Ax1 и Ax2, — 600-1200 мкг/мл. Для таурозидов H₂ и I, а также сапонинов Gx1-4 МИК превышала 2000 мкг/мл. МИК для референтного штамма *C. albicans* ССМ 885 в отношении Sx1 составила 500 мкг/мл.

В дальнейшем сопоставляли действие Sx1 на штаммы кандид, выделенные от здоровых и больных людей (таблица). Таурозид Sx1 проявил относительно высокую активность в отношении всех 6 изолятов *C. albicans*, полученных от здоровых людей (МИК 75-150 мкг/мл). У 4 из 7 изолятов от больных чувствительность к Sx1 была значительно ниже (МИК 500-1000 мкг/мл). У трех изолятов от больных она была такой же как у кандид, выделенных от здоровых (МИК 150 мкг/мл). Разница в чувствительности к Sx1 штаммов, выделенных от здоровых и, по крайней мере, половины изолятов от больных, может быть связана с наличием факторов патогенности у *C. albicans* и это требует дополнительного изучения.

Чувствительность клинических изолятов кандид к таурозиду Sx1

Виды грибов	Количество штаммов, полученных от здоровых/больных людей						
	Общее	МИК Sx1 (мкг/мл) для выделенных штаммов					
		75	150	300	500	1000	>2000
<i>C. albicans</i>	14 (6/8*)	1/0	5/3	—	0/3*	0/2	—
<i>C. tropicalis</i>	4 (2/2)	—	0/2	—	2/0	—	—
<i>C. krusei</i>	2 (0/2)	—	—	0/2	—	—	—
<i>C. guilliermondii</i>	1 (0/1)	—	—	—	—	—	0/1

* — один из штаммов — референтный штамм *C. albicans* ССМ 885;

«-» — отсутствие штаммов

Изоляты *C. tropicalis*, полученные от здоровых и больных людей также отличались по чувствительности к Sx1, но зависимость имела обратный характер. *C. tropicalis* от больных были более чувствительны к Sx1, чем полу-

ченные от здоровых людей. Оба штамма *C. krusei* от больных имели промежуточную чувствительность к Sx1. Единственный изученный изолят *C. guilliermondii* был устойчив к Sx1 (МИК > 2000 мкг/мл).

Таким образом, среди исследованных тритерпеновых гликозидов из *Hedera taurica* Савт. наибольшим антикандидозным эффектом обладал таурозид Sx1. Изоляты *C. albicans* и *C. tropicalis*, полученные от больных и здоровых людей, различались по чувствительности к Sx1. *C. albicans*, полученные от здоровых были более чувствительны к сапониу, а от больных — менее чувствительны. Изоляты *C. tropicalis* демонстрировали обратную зависимость. Полагаем, что таурозид Sx1 перспективен в плане создания на его основе антифунгальных препаратов.

ПОИСК ПРОТИВОГРИБКОВЫХ СРЕДСТВ СРЕДИ ПРЕПАРАТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Молочко В. А., Горбунов В. А.

*Белорусский государственный медицинский университет
Минск, Беларусь*

В настоящее время грибковые заболевания играют существенную роль в патологии человека. Спектр применяемых лечебно-профилактических противогрибковых препаратов достаточно узкий. Очевидно, что оптимальными препаратами являются малотоксичные соединения, например, растительного происхождения, в связи с чем поиск таковых является целесообразным.

Нами изучена противогрибковая активность 54-х растительных экстрактов (РЭ) и эфиров, полученных из овощей, ягод, а также корней, листьев, травы и коры различных растений.

В качестве тест-микроорганизмов использовали эталонные и больничные штаммы дрожжеподобных грибов (*Candida albicans*, *C. tropicalis*), дерматомицетов (*T. interdigitale*, *T. rubrum*, *M. canis*) и плесневых грибов (*Aspergillus awamori*, *A. niger*, *Penicillium spp.*).

Исследования противогрибковой активности проведены стандартным методом разведений препаратов в плотной питательной среде с определением минимальной ингибирующей рост концентрации препарата (МИК), выраженной в % сухого остатка (с. о.) РЭ.

54 РЭ испытывали в плане противокандидозной активности и 20 — против дерматомицетов и плесневых грибов. Исследования показали, что все культуры дрожжеподобных грибов малочувствительны к большинству РЭ (МИК > 16% с. о.). Наиболее активными (МИК < 1% с. о.) оказались РЭ монарды, кукумарии японской, корнеплодов редьки черной, корней и листьев хрена, сосновое и лавандовое эфирные масла. Определенной активностью (МИК в пределах 2–8% с. о.) обладают также РЭ лука репчатого, плодов черники, травы шалфея, мелиссы, лаванды. По отношению к дерма-

томицетам наиболее высокую активность (МИК 1% с. о.) проявили РЭ кумарии японской, монарды, мелиссы, травы кареопсиса, лаванды. К этим же РЭ были чувствительны плесневые грибы рода *Penicillium* (МИК 1–4% с. о.), МИК для аспергилл составляла 78% с. о.

Проведенные нами исследования позволяют провести дальнейшую апробацию фитопрепаратов, эффективных против специфических микроорганизмов, в составе лечебно-профилактических и косметических рецептов.

АМВИЛОН — ЛЕЧЕБНЫЙ ПРЕПАРАТ С ПРОТИВОПАЗИТАРНЫМ, АНТИМИКРОБНЫМ И ПРОТИВОВИРУСНЫМ ДЕЙСТВИЕМ

**Мысак А. Е., Айзенберг В. Л., Величко С. В.,
Мисяк С. А., Коломиец С. П., Твердохлеб И. А.**

Государственная клиника ветеринарной медицины
Печерского района г. Киева
Киев, Украина

Установлена высокая противопаразитарная, антимикробная и противовирусная активность Амвилона, который в разведении 1:16000 (0, 006%) полностью подавляет рост микоплазм — паразитов мочеполовой сферы и органов дыхания человека и животных — *Mycoplasma pneumoniae*, *Acholeplasma laidlawii*, а также золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*) и грибка *Candida albicans*; в разведении 1:8000 (0, 013%) — *Echerichia coli* и *Streptococcus phعالis*.

Препарат можно рекомендовать для лечения токого заболевания как пиодермия, основным симптомом которого является нагноение, использовать в асептических повязках для предупреждения вторичных инфекций, при послерадиационных ожогах, при лечении вирусных заболеваний — СПИДа, протекающего с развитием тяжелых сопутствующих инфекций.

Препарат проявил высокую эффективность при лечении афтозного стоматита. Специфическое и селективное действие препарата на микрофлору афт даёт возможность использовать его как фармакотерапевтическое средство широкого спектра действия при лечении пузырчатки, герпеса, ящура.

Клиническая апробация препарата в концентрации 1:8000 была проведена на 19-ти больных женщинах, которые страдали разными венерическими заболеваниями: трихомонозом, хламидиозом, гонореей, герпесом. Стойкий позитивный эффект зафиксирован у 86% больных. Повторный курс понадобился трём больным, страдавшим застарелыми трихомонадными кольпитами. Проведенные клиничко-лабораторные наблюдения свидетельствуют о высокой эффективности Амвилона при лечении заболеваний, вызванных микоплазмами, грибами, вирусами, а также паразитическими формами бактерий и простейших.

ШТАММЫ *BACILLUS*, ОБЛАДАЮЩИЕ АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ В ОТНОШЕНИИ ДРОЖЖЕПОДОБНЫХ ГРИБОВ *CANDIDA ALBICANS*

Орлова М. В., Смирнова Т. А., Азизбекян Р. Р.

ФГУП ГосНИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов
Москва

Дрожжеподобные грибы рода *Candida* относятся к оппортунистическим патогенам — они часто обнаруживаются в составе нормальной микрофлоры различных отделов желудочно-кишечного тракта наряду с представителями семейства Enterobacteriaceae (клебсиеллы, эшерихии, энтеробактерии и др.), стафилококками, стрептококками, бациллами (*B. subtilis*, *B. cereus*). Однако, при дисбиотических нарушениях нередко наблюдается чрезмерное размножение дрожжеподобных грибов, а также других микроорганизмов, колонизирующих кишечник человека, и реализации их патогенных свойств. Это приводит к тяжелому поражению слизистых оболочек, развитию эндогенных инфекций, в том числе смешанных (бактериально-грибковых). В последнее время случаи микозов, обусловленные дрожжеподобными грибами *Candida species*, увеличились. Однако, выбор антифунгальных средств между флуконазолом, некоторыми другими азолами и полиеновым амфотерицином В невелик. Кроме того, отмечены случаи появления резистентности представителей *Candida* к основным противогрибковым препаратам, применяющимся при инвазивных микозах. В связи с этим необходимо проводить поиск новых микробных штаммов, активных в отношении представителей *Candida* и характеризовать их антагонистические факторы с целью выявления антибиотика с новыми свойствами.

Нами проведен поиск штаммов, активных в отношении дрожжеподобных грибов *Candida albicans*, среди представителей различных видов спорообразующих бактерий, полученных из различных коллекций или выделенных из различных природных источников. Антагонистическую активность исследуемых штаммов изучали методом отсроченного антагонизма. В результате первичного скрининга среди 20 тестированных штаммов спорообразующих бактерий обнаружены шесть штаммов, обладающие антагонистической активностью против *C. albicans*. Исследованные штаммы, относящиеся к *Bacillus spp.*, при росте на питательном агаре Хоттингера образуют зоны лизиса культуры *C. albicans*. При выращивании штаммов-антагонистов в жидких средах (бульон Хоттингер, *NBY*, сукцинатно-глицериновая среда) в течение 72 ч при 30 °C антагонистическая активность против *C. albicans*, тестированная методом диффузии из лунок в агаре, обнаруживается во фракциях нативной культуральной жидкости и осадка, содержащего клетки и споры бактерий. В настоящее время проводится работа по изучению условий образования штаммами бацилл антагонистической активности против *C. albicans* (подбор питательной среды и условий культивирования штам-

мов, изучение динамики роста и накопления активности). В дальнейшем планируется выделить антигрибковые метаболиты, продуцируемые исследуемыми штаммами бацилл и изучить их свойства. Антагонистическая активность в отношении грибов *C. albicans* является основанием для практического использования живых культур и препаратов на основе исследованных штаммов аэробных спорообразующих бактерий для профилактики и лечения микозов животных и человека. Установлено, что исследованные штаммы бацилл также обладают активностью в отношении ряда условно-патогенных микроорганизмов, в частности *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *Klebsiella spp.*, и не обладают гемолитической активностью в отношении эритроцитов человека (5%). Эти свойства расширяют возможность использования биологических препаратов на основе исследованных штаммов бацилл в качестве эффективных средств коррекции микрофлоры в целом при дисбиозах, для лечения дисбиотических нарушений, острых кишечных инфекций и других патологических процессов, вызванных у людей грибами, а также патогенными и условно патогенными бактериями.

ВОЗДЕЙСТВИЕ СОВРЕМЕННЫХ ПРОТИВОГРИБКОВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ЛЕЙКОЦИТЫ

Перламутров Ю. Н., Царев В. Н., Терещенко А. В.

*Кафедра кожных и венерических болезней МГМСУ
Москва*

Распространение микозов и необходимость широкого использования противогрибковых препаратов заставляет предъявлять жёсткие требования к современным фунгицидным средствам не только с точки зрения их фунгицидной активности, но также особенностей фармакокинетики и токсичности.

В связи с этим, целью нашей работы явилось сравнительное изучение токсичности в отношении лейкоцитов крови человека двух современных противогрибковых средств разных групп — ламизила (тербинафина) и орунгала (итраконазола).

Для того, чтобы оценить токсическое действие препаратов на лейкоциты крови человека, препараты разводили в демитилсульфоксоне (ДМСО). Через 60 мин инкубации при окраске трипановым синим оценивали число погибших клеток. Установлено, что ламизил и орунгал — дозозависимо оказывали токсическое действие на лейкоциты (особенно, в концентрации 50 мкг/мл). Минимальное проявление токсического действия отмечено у орунгала в дозе 5 мкг/мл (6, 81%, 51% погибших клеток), в то время как у ламизила в той же дозе оно было более выраженным (12, 62%, 51%, P=0,05).

При оценке респираторно-метаболической активности гранулоцитов, методом люминол-зависимой хемилюминисценции (ХЛ) по В. М. Земскову (1987) установлено, что ламизил и орунгал, также как и ДМСО, практически не меняют показатели спонтанной ХЛ по сравнению с контролем. Выраженные изменения респираторной активности гранулоцитов отмечены при индуцированной ХЛ в процессе фагоцитоза зимозана. Если ДМСО практически не влиял на интенсивность респираторного метаболизма клеток в процессе фагоцитоза, то противогрибковые препараты, напротив, достоверно снижали фагоцитарную активность. Орунгал снижал показатель индуцированной ХЛ примерно в 2, 2 раза по сравнению с ДМСО (27, 92[±]4, 26 мВт/0, 5млн. кл. против 63, 19[±]10, 36; Р[?]0, 05). Ламизил снижал этот показатель в 9 раз, практически блокируя фагоцитоз (7, 08[±]1, 31 мВт/0, 5 млн. кл. против 63, 19[±]10, 36; Р[?]0, 05).

Таким образом, при использовании дозы 5 мкг/мл ламизил был приблизительно в 2 раза токсичнее орунгала. Кроме того, наблюдали выраженное снижение фагоцитарной активности под действием ламизила — почти в 4 раза сильнее, чем под действием орунгала.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНГИЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ

Пячюлите Д. Ю., Мотеюнайте О.

*Институт Ботаники
Вильнюс, Литва*

В каждом году производят и используют большое количество токсических химикатов для повышения урожайности сельскохозяйственных культур и лесов. Успехи в области технологии производства и применения пестицидов позволили химическому методу занять ведущее место в общем комплексе мероприятий по защите растений. Однако широкое применение химического метода вскрыло ряд отрицательных сторон. Волна беспокойств поднимается среди населения в связи с повышенными остаточными концентрациями пестицидов в пищевых продуктах и питьевой воде. Некоторые из них могут остаться в круговороте веществ до ста и больше лет. Вредные соединения разрушают ферменты, блокируют процесс оксидации, ингибируют функции отдельных органов, приводит к изменению и мутациям клеток. Новая проблема этого века — повышение загрязнения микроорганизмами (продуцентами токсинов и возбудителями аллергических заболеваний) помещений, в которых плохая вентиляция и повышение влаги стимулирует развитие микромицетов.

Многие отрасли промышленности производят и исследуют альтернативные, более натуральные средства для повышения урожайности сельскохозяйственных культур, а также противомикробные и антиоксидантные химикаты. Уже исследована способность летучих эфирных масел, экстрактиро-

ванных из растений, нарушать активность микроорганизмов (Deams et al., 1992; Piccaglia et al., 1993). Эти качества летучих соединений используют для ингибирования роста фитопатогенных мик-роорганизмов (Rice, 1995), патогенных микроорганизмов, приносящих большой экономический ущерб при складывании зерна, овощей и фруктов (Mishra & Dubey, 1994; Bartynska & Budzik-Ramza, 2001). Эфирное масло это комплекс соединений. Продукты окисляции эфирных масел — алкогья, альдегиды, эфиры, кетоны, фенол и оксиды. Уже выделили и исследовали более 1000 структур монотерпенов и 3000 сесквитерпенов (Svoboda & Deans, 1995), основных углеводов эфирных масел. Большинство из них токсичны для микроорганизмов. Микромицеты — экологическая группа микроорганизмов, заселяющих ниши, зачастую недоступные для других организмов. Все более широкое распространение приобретает исследование по моделированию отдельных экологических факторов в лабораторных условиях на основе реакций именно микромицетов. Работы такого плана связаны и с необходимостью изучения отношения микроорганизмов к одному или другому изолированному химическому соединению.

Задача настоящего исследования состояла в сравнении способности пяти эфирных масел (эвкалипта, кедра, сосны, розмарина и дерева чая) ингибировать развитие микромицетов. Эти эфирные масла обладают качествами, которые их привели в область фармакологии. Возникал вопрос, какой предел между стимулирующими развитие грибов и фунгицидными концентрациями исследуемых эфирных масел. Некоторые органические соединения в структуре эфирного масла могут служить питательным субстратом для роста микромицетов. Мы хотели установить можно ли использовать эти эфирные масла для ингибирования роста развивающихся на поверхности материалов и распространяющихся с потоками воздуха микромицетов.

Эффективность эфирных масел розмарина, кедра, сосны, эвкалипта и дерева чая на выживаемость конидий и рост мицелия некоторых микромицетов исследовали *in vitro* эксперименте. Микромицеты высевали на питательную среду (пивное сусло), содержащую соответствующие концентрации эфирных масел. Эфирные масла вносили в среду перед распределении ее в чашках Петри и инокуляции грибом. После инокуляции чашки заклеивали лентой, чтобы избежать улетучивания эфира. Агаризованные чашки инокулировали мицелием грибов (в центре чашки) или 1 мл суспензии конидий (концентрация 10 / мл) по всей поверхности среды. Повторность — 5 чашек для каждой комбинации эксперимента, включая контроль. Выживаемость конидий определяли после двух, а рост колоний — после 6 суток культивирования. МИКс (минимальные ингибирующие концентрации) изучаемых эфирных масел для тест-микромицетов были установлены. Чтобы установить минимальные фунгицидные концентрации (МФК), агаровый блок гриба, после 72 часов культивирования на эфирное масло содержащей среде, переносили на свежую среду без эфирного масла и продолжали культивировать еще 72 часа. Если после этого периода микроми-

цет не развивался, концентрацию считали фунгицидной. (Bidu et al., 1998). Для исследования влияние летучих фракций эфирных масел на развитие грибов использовали спаренные чашки: одна чашка была инокулирована грибом, а в другую чашку вносили эфирное масло в соответственной концентрации. Край чашек после инокуляции заклеивали лентой.

Микромицеты для исследования отбирали среди представителей из 14 родов по методу диффузии эфирного масла в агаре. Исследовали влияние эфирных масел на развитие 75 штаммов микромицетов родов — *Acremonium* Link ex Fr., *Alternaria* Nees ex Fr., *Aspergillus* Mich. ex Fr., *Botrytis* Mich. ex Fr., *Cladosporium* Link ex Fr., *Chaetomium* Kunze ex Fr., *Fusarium* Link ex Fr., *Gliocladium* Corda, *Mucor* Mich. ex St., *Paecilomyces* Bain, *Penicillium* Link ex Fr., *Phoma* Sacc., *Trichoderma* Pers. ex Fr. и *Ulocladium* Preuss. Некоторые из них принадлежат группе микроорганизмов-продуцентов вторичных метаболитов, в том числе, химических соединений опасных для человека.

Наши результаты показали, что эфирные масла различаются по степени ингибирования развития микромицетов, но все из них в соответствующей концентрации являются барьером для инфекции микромицетами. Летучие фракции эфирных масел, в зависимости от их концентрации, оказали фунгистатическое или фунгицидное влияние. МИКс для исследованных эфирных масел были от 150 ppm (растение чая), 200 ppm (эвкалипт и сосна) до 300 ppm (розмарин и кедр), что указывает на высокую активность масел. Все пять эфирных масел ингибировали рост исследуемых микромицетов при довольно низких концентрациях, но полное разрушение развития микромицетов требовало повышения концентрации эфирного масла в два-три раза. Низкие концентрации (100 ppm) эфирного масла сосны и кедра в питательной среде стимулировали развитие некоторых микромицетов. Как уже отмечалось, некоторые органические соединения этих двух эфирных масел могут служить питательным субстратом для роста грибов. Некоторые штаммы грибов (из родов *Acremonium*, *Alternaria* and *Paecilomyces*) при росте на средах с эфирными маслами выделяли пигмент в среду. По мнению Ю. С. Фрисвальда (Frisvald, 1988) выделение пигментов в среду может подтверждать синтез вторичных метаболитов микромицетами. Требуется дальнейшее исследование интенсивности синтеза вторичных метаболитов микромицетами в средах, где возможен их контакт с летучими соединениями эфирных масел.

Самую большую активность в ингибировании роста грибов показало эфирное масло дерева чая. Концентрация 150 ppm этого масла была достаточной, чтобы остановить рост всех исследованных грибов. Интенсивно спорующие микромицеты, такие как *Aspergillus* и *Penicillium* были более устойчивыми к эфирному маслу дерева чая, как в эксперименте прямого действия масла, так и действия летучих фракций. Развитие этих грибов эфирное масло дерева чая ингибировало только при концентрации 450 ppm. В наших исследованиях МФК эфира розмарина была 500-750 ppm. Мицелий микромицетов был устойчив к действию эфирного масла розмарина, но его летучие фракции снизило прорастание конидий микромицетов даже при

низких концентраций. Эфирное масло эвкалипта ингибировало рост фитопатогенных грибов.

ДЕЙСТВИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА ЛИЗОАМИДАЗА НА КЛЕТКИ ГРИБОВ

**Рязанова Л. П., Ледова Л. А.,
Степная О. А.**

*Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН
Пушино, Московской обл.*

Лекарственный ферментный препарат лизоамидаза является эффективным средством для лечения заболеваний, вызванных бактериальной микрофлорой в том числе множественно устойчивой к антибиотикам. Высокая способность данного лекарственного средства разрушать клеточные стенки грамположительных и некоторых грамотрицательных бактерий обусловлена наличием в его составе бактериолитических ферментов (эндопептидазы, мурамидазы и амидазы). Кроме вышеназванных бактериолитических ферментов в состав лизоамидазы входят металлопротеаза и хитиназа. Бактериолитическая активность лизоамидазы составляла 200 ед/мг препарата, протеиназная — 1, 65 ед/мг, хитиназная — 0, 27 ед/мг. Как известно, в состав клеточной стенки грибов кроме других полисахаридов (целлюлоза, глюкан, хитозан, маннан,) входят белки и хитин. В связи с этим мы предположили, что лизоамидаза может оказать эффект в отношении дрожжевых и мицелиальных грибов.

Таким образом, цель проведенной работы заключалась в изучении воздействия лизоамидазы на клетки и споры грибов в связи с полным отсутствием данных по этому вопросу. Предпосылкой для такого исследования явилось наличие в лизоамидазе кроме вышеназванных бактериолитических ферментов металлопротеиназы и хитиназы.

Влияние лизоамидазы на дрожжевые грибы. Для выяснения этого вопроса нами были выбраны несколько видов дрожжевых грибов: *S. cerevisiae*, как представитель непатогенных и наиболее изученных дрожжей, дрожжи рода *Candida* (*C. guilliermondii*, *C. azyma*, *C. catenulata*, *C. boidinii*, *C. lambica*), среди которых много представителей патогенных для человека видов, вызывающих различные кандидозы, а также *Torulaspora delbrueckii*, *Cryptococcus terreus*, и патогенные для растений дрожжи *Pseudozyma fuziformiata*. 5-Часовые клетки дрожжей инкубировали с препаратом в концентрации 0, 2 мг/мл течение 14-17 час при 37° С. О влиянии препарата судили по уменьшению оптической плотности суспензии клеток дрожжей при 540 нм и по выходу в среду инкубации внутриклеточного фермента б-глюкозидазы (табл. 1). Все клетки подвергались лизису, но наибольший% лизиса клеток лизоамидазой наблюдался у дрожжей рода *Candida*, а также у *P. fuziformiata*.

Влияние лизоамидазы на мицелиальные грибы. В экспериментах использовали грибы рода *Aspergillus* (*A. niger*, *A. terreus*, *A. japonicus*, *A. heteromorphus*). Методом световой микроскопии показано, что обработка лизоамидазой приводила к деформации и образованию вздутий на клеточных стенках мицелия, а в среде инкубации содержалось значительное количество клеточного дебриса и пустых гиф.

Влияние лизоамидазы на споры грибов. Наиболее подверженными литическому действию лизоамидазы в концентрации 0, 2 мг на мл среды инкубации оказались споры *A. heteromorphus* и *A. japonicus*. Из обработанных лизоамидазой спор (17 час. при 37° в трис-НСl буфере pH 8, 0) при пересеве на жидкую свежую среду в колбах прорастало 24-26% по сравнению с контрольным вариантом. В значительно меньшей степени лизису подвергались споры *A. niger* и нечувствительными для данной концентрации лизоамидазы оказались споры *A. terreus*.

Световая микроскопия показала, что лизоамидаза лизировала начавшие прорастать споры гриба *A. heteromorphus*; это приводило к нарушению апикальных участков прорастающих гиф и выходу внутреннего содержимого спор в среду инкубации.

Показано также, что на твердой сусло-агаровой среде споры *A. heteromorphus* не прорастали в зонах, обработанных лизоамидазой.

Таблица 1.

**Действие лизоамидазы (0, 2 мг/мл)
на 5-часовую культуру клеток дрожжей**

* OD — оптическая плотность контрольной суспензии клеток дрожжей без лизоамидазы;

** OD — оптическая плотность суспензии клеток дрожжей инкубированной с лизоамидазой; *** Δ — $OD_k - OD_o$

Таким образом эксперименты, проведенные на дрожжевых клетках, спорах и мицелии грибов с применением различных методов (биохимического, микробиологического и световой микроскопии) показали, что обработка лизоамидазой приводила к значительному лизису дрожжевых клеток и спор некоторых видов грибов, к нарушению целостности грибных гиф и выходу из них части внутриклеточного содержимого.

ЭВОЛЮЦИЯ АНТИМИКОТИКОВ И РЕВОЛЮЦИИ В ТЕРАПИИ МИКОЗОВ

Сергеев А. Ю.

*Национальная академия микологии, ММА имени И. М. Сеченова
Москва*

Число противогрибковых средств, состоящих «на вооружении» врачей, постоянно пополняется. Сейчас оно включает около 10 системных и десятки местных препаратов.

Однако в начале прошлого века для лечения грибковых инфекций можно было воспользоваться только йодидом калия, который изредка применяется и в наши дни, а из местных средств — только антисептиками, многие из которых (жидкость Кастеллани и др.) были созданы лишь впоследствии. Ситуация не менялась до середины XX века, когда появился гризеофульвин для лечения дерматофитии. Его внедрение в практику дерматологов повлияло на изменение взглядов на характер терапии дерматомикозов и онихомикозов. Акцент в их лечении стал постепенно смещаться в сторону системной терапии, но местная терапия оставалась все же основным методом лечения. Часть методов наружной терапии, в наши дни представляющиеся несостоятельными (эпиляция, удаление ногтей и др.) стали медленно уступать комбинированной терапии с использованием гризеофульвина.

Создание и внедрение амфотерицина В — первого системного антимикотика для лечения глубоких микозов совпало с накоплением знаний о глубокой грибковой инфекции и ее актуализации на фоне развивающихся методов иммуносупрессивной терапии. Амфотерицин В стал и остается основой системной терапии большинства глубоких микозов. Попытки создать пероральные абсорбируемые формы амфотерицина (амфоглюкамин и др.) успехом не увенчались. Практически одновременно был разработан нистатин, один из наиболее широко применяемых антимикотиков для лечения поверхностных форм кандидоза, особенно врачами-терапевтами после антибиотикотерапии. Однако эти препараты отличались существенными недостатками: первый токсичностью, а второй — практически ничтожной абсорбцией в кишечнике. Незнание последнего факта многими врачами привело к повсеместному необоснованному применению нистатина, бытовавшему вплоть до последнего времени.

Следующим достижением в терапии микозов стало создание целого класса системных и местных антимикотиков — производных имидазола, которых мы относим к препаратам 2 поколения. Миконазол для парентерального введения, а затем — таблетки кетоконазола внесли значительный вклад в терапию ряда глубоких микозов, кандидозов и дерматофитий. Однако, если внедрение антимикотиков 3 поколения привело к выходу системных имидазолов из употребления, то местные имидазолы в самых разных лекарственных формах успешно используются и в настоящее время.

Внедрение противогрибковых средств 3 поколения — триазолов (итраконазол, флуконазол) и тербинафино можно справедливо назвать причиной настоящей революции в терапии микозов. Впервые стало возможно

безопасное лечение и профилактика ряда глубоких микозов и, что не менее важно, — излечение дерматомикозов и онихомикозов в короткие сроки. Разработка прогрессивных схем системной терапии препаратами 3 поколения сделало лечение инфекций кожи широко доступным. Только теперь основой лечения дерматофитии стала системная терапия. Параллельно внедрению этих средств в клиническое обращение поступили новые лекарственные формы местных антимикотиков: аэрозоли, шампуни и лаки для ногтей.

Четвертое (или 3+) поколение антимикотиков включает в себя новые триазолы, поступившие в клиническую практику (вориконазол) или ждущие внедрения (позаконазол, равуконазол), а также липидные формы полиеновых антибиотиков («амбизом», «ниотран»). К 5 поколению можно условно отнести препараты принципиально новых классов и механизмов действия, в частности — эхинокандины, из которых каспофунгин уже применяется за рубежом. Однако эти средства, по-видимому, станут очередным этапом совершенствования, но не революцией в терапии микозов, особенно на фоне успеха первых триазолов. Кроме того, дороговизна этих средств ограничивает их применение как «терапии спасения», доступной лишь для лечения крайне тяжелых форм оппортунистических микозов.

В настоящее время средства разных поколений сосуществуют в практике лечащих врачей. Почти каждое из-них по-прежнему может найти применение, в зависимости от тяжести и особенностей инфекции, возможностей врача, медицинского учреждения или пациента.

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ АНТИМИКОТИКИ БЛИЖАЙШЕГО БУДУЩЕГО

*Сергеев Ю. В., Сергеев А. Ю.
Национальная академия микологии
Москва*

В настоящее время в разработке находится сразу несколько классов перспективных противогрибковых препаратов, имеющими принципиально новыми механизмами действия и мишенями в грибной клетке. К ним можно отнести:

1) Препараты, нарушающие синтез сфинголипидов мембраны. Мишенью действия служит специфичная для грибов синтаза инозитол-фосфоцерамида. Представителями данного класса веществ являются антибиотики ауреобазидин А, гальбонолиды, хафрефунгин.

2) Препараты, нарушающие строение клеточной стенки за счет взаимодействия с ее компонентами. Специфическими компонентами клеточной стенки грибов являются глюкан и хитин. Сегодня известны вещества — противогрибковые антибиотики, подавляющие синтез глюкана и хитина. Соответственно конечной мишени, выделяют:

2-а) Препараты, нарушающие синтез хитина. К ним относят полиоксинны и никкомицины, противогрибковые антибиотики. Эти вещества подав-

ляют активность хитин-синтазы, что приводит к снижению содержания хитина, идущего на построение новой клеточной стенки. Оказываемый эффект является фунгистатическим, поскольку хитин-синтаза работает только в фазу роста, вырабатывая материал для новых клеток. Кроме полиоксидов и никкомицинов, подавлять активность хитин-синтазы могут и ингибиторы синтеза эргостерина, так как этот фермент связан с клеточной мембраной гриба.

2-б) Препараты, нарушающие синтез глюкана. К ним относят противогрибковые антибиотики эхинокандины и папулакандины, подавляющие активность β — 1, 3 — глюкан-синтазы. Все эти средства, как правило, обладают довольно узким спектром действия, поскольку глюкан формирует клеточные стенки преимущественно у дрожжевых грибов, в частности — у *Candida spp.* Оказываемое действие является фунгистатическим.

3) Препараты, нарушающие синтез белков. К ним, в частности, относятся перспективные препараты класса сордаринов: антибиотики, метаболиты грибов *Sordaria*, *Penicillium* и *Graphium*. Сордарины подавляют биосинтез белков, стабилизируя комплекс между фактором удлинения (элонгации, EF2) 2 и рибосомой. Специфическое действие объясняется особенностями не транспорта, но самой мишени.

Другим ингибитором белкового синтеза является антибиотик цис-пентацин, циклическая бета-аминокислота. Одним из механизмов действия производных данного класса является угнетение изолейцин-тРНК синтазы. Кроме того, цис-пентацин и его аналоги нарушают транспорт аминокислот. К перспективным препаратам с родственным механизмом действия относятся также азоксибациллин.

Перечень мишеней для действия антимикотиков и список потенциальных противогрибковых средств постоянно пополняется. К ним в настоящее время причисляют ингибиторы транспорта электронов, топоизомеразы и другие соединения.

Сегодня в клиническую практику за рубежом внедрен каспофунгин (эхинокандины), проходят доклинические или уже клинические испытания препараты этого класса микафунгин (FK463) и анидулафунгин.

АНТИМИКРОБНАЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ: ОСНОВЫ И ВОЗМОЖНЫЕ ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ

Страховская М. Г., Жуховицкий В. Г., Рубин А. Б.

*Кафедра биофизики биологического ф-та МГУ имени М. В. Ломоносова
Отделение клинической и экспериментальной микробиологии ГKB
имени С. П. Боткина
Москва*

Антимикробная фотодинамическая терапия (ФДТ) заключается в избирательной окислительной деструкции патогенных микроорганизмов при

комбинированном воздействии красителя — фотосенсибилизатора и оптического излучения соответствующего спектрального состава. К объектам антимикробной ФДТ принято относить вирусы, бактерии, грибы и простейшие. Принцип метода состоит в том, что, находясь в фотовозбужденном состоянии, молекулы фотосенсибилизаторов генерируют активные формы кислорода, индуцирующие повреждение различных клеточных мишеней и инактивацию клеток. Природа клеточных мишеней при фотодинамических воздействиях преимущественно определяется локализацией фотосенсибилизаторов, которая в свою очередь зависит от их физико-химических свойств. Селективность метода обусловлена локальным облучением инфицированных участков и большей (в 20-200 раз в зависимости от видовой принадлежности) чувствительностью к фотодинамическим воздействиям микроорганизмов по сравнению с животными клетками.

Несмотря на то, что фотодинамические летальные эффекты впервые были показаны около 100 лет назад на простейших, бактериях и грибах, антимикробное направление ФДТ оказалось «забытым» до конца 80-х годов XX века, что можно объяснить бурным развитием химиотерапии, а также недостаточной антимикробной эффективностью фотосенсибилизаторов первого поколения. В последние годы отмечается все ускоряющийся процесс развития лекарственной устойчивости патогенных микроорганизмов. В этой связи антимикробной ФДТ уделяется большое внимание, и этот метод рассматривается как альтернативный способ борьбы со штаммами возбудителей заболеваний, устойчивыми к действию традиционных лекарственных препаратов. К настоящему времени наиболее полно исследована антибактериальная активность фотосенсибилизаторов, которая подтверждена для азиновых красителей (фенотиазины, акридины), макроциклических фотосенсибилизаторов (порфирины, фталоцианины, хлорины) и ряда других соединений. Фунгицидная активность фотосенсибилизаторов изучена в меньшей степени для ограниченного круга красителей.

В докладе будут приведены данные о современном состоянии исследований в области антимикробной ФДТ в приложении к медицинской микологии, в том числе результаты собственных исследований по скринингу фотосенсибилизаторов с фунгицидной активностью, чувствительности дрожжевых грибов рода *Candida* к фотодинамической инаktivации с использованием различных типов фотосенсибилизаторов, схем воздействия и источников облучения. Будут также описаны методы исследования молекулярных основ фотодинамической инаktivации, включая определение таких параметров жизнедеятельности клеток как митохондриальное дыхание, целостность плазматической мембраны и генетического аппарата.

Работа поддержана совместным грантом РФФИ (02-04-08043) и Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (3634).

ФУНГИЦИДНЫЕ СВОЙСТВА ВЕЩЕСТВА V-253

Тец В. В., Вазкуз Дж., Бойков Д.,
Артеменко Н. К., Тец Г. В.

Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет
имени И. П. Павлова
Санкт-Петербург
Вейнский Университет
Детройт, США

Число заболеваний, вызванных патогенными грибами, неуклонно возрастает во всем мире. В последние 10 лет микозы превратились в особенно серьезную проблему в связи с распространением вирусного иммунодефицита. Имеющиеся лекарственные препараты, являются, в основном, фунгистатиками и мало эффективны при лечении таких больных. В связи с этим, остро стоит проблема разработки и внедрения новых фунгицидных препаратов с оригинальным механизмом действия, не имеющих перекрестной устойчивости с существующими лекарственными средствами.

Новое вещество, обладающее широким спектром действия на различные грибы, было синтезировано на основе производных арилиденимнопиримидинов. В настоящем исследовании соединение V-253 было протестировано по отношению к одно- и многоклеточным грибам (всего 60 штаммов) представителям различных, неродственных групп: *Candida spp.* (5 штаммов); *Saccharomyces cerevisiae* (5 штаммов); *Geotrichum candidum* (5); *Aspergillus spp.*, (5 штаммов); *Trichophyton spp.*, *Mucor spp* и др. Искользованные микроорганизмы включали штаммы, устойчивые к азолам. Изучение антигрибкового действия производили методами серийных разведений и методом микроразведений М-27А согласно стандарту NCCLS. В качестве контроля использовали флуконазол и амфотерицин-В. В экспериментах были определены минимальная ингибирующая и минимальная летальная концентрации.

Установлено, что испытываемое вещество оказывает фунгицидное действие на все штаммы различных грибов, взятых для исследований. Спектр активности V-253 шире, чем у азолов и полиенов. Величина минимальной ингибирующей концентрации для разных микроорганизмов находилась в диапазоне 0, 5-64 мг/кг. Наибольшая активность V-253 показана по отношению к дрожжеподобным грибам *C. glabrata*, *C. stellatoidea*, а также *S. cerevisiae*, *Trichophyton spp* и *Mucor spp*. Ингибирующие концентрации V-253 для многих грибов были ниже, чем у флуконазола. При этом V-253 действовал и на штаммы устойчивые к данному антибиотику. Механизм действия V-253 связан, предположительно, с влиянием на синтез ДНК и РНК. Испытуемое вещество обладает сравнительно низкой токсичностью, что было определено в тестах на мышцах при пероральном и внутрибрюшинном заражении. В сравнительно больших концентрациях V-253 действует также

на некоторые бактерии, что может играть положительную роль при местном применении лекарственного средства, приготовленного на основе данного препарата.

Полученные результаты свидетельствуют о выраженном антигрибковом действии изученного препарата V-253. Спектр фунгицидного действия V-253, включающий различные одно и многоклеточные грибы, эффективность не уступающая, а порой даже превосходящая таковую у флуконазола, а также действие на азолустойчивые штаммы, указывают на перспективность разработки на основе вещества нового ряда антигрибковых препаратов.

In-vitro Susceptibility Studies: Fresh 24-hr old cultures of the various species to be evaluated were subcultured in YEPD broth. In-vitro susceptibility studies (MICs & MLCs) to V-253, amphotericin B, and fluconazole determined in accordance with the NCCLS microbroth dilution method M27-A and read at 48 hrs. A standard inoculum was diluted to a final inoculum of 10 cells per well in microtiter plates. All assays were done in duplicate to verify the results. The MIC was defined as the drug concentration in the first tube with a $\geq 80\%$ reduction in turbidity compared to that of the drug-free control.

Mean Lethal Concentrations: MLCs were determined by streaking of 100 μ l of broth from tubes with concentrations above the MIC and incubation at 35°C. The MLC was defined as the lowest concentration of an antifungal compound allowing the growth of five or fewer colonies.

Methodology: In-vitro evaluation was performed, and compared to fluconazole and amphotericin B using NCCLS microbroth dilution and read at 48 hrs. Results: The minimal inhibitory concentration (MIC₅₀/MLC) of V-253 for *C. albicans* was 64/64 mg/ml, *C. glabrata* 32/32 mg/ml, *C. tropicalis* 32/64 mg/ml, *C. parapsilosis* 2/32 mg/ml, *C. lusitaniae* 8/8 mg/ml, *C. dubliniensis* 32/64 mg/ml, *C. stellatoidea* 2/4 mg/ml, *C. krusei* 16/16 mg/ml, *S. cerevisiae* 4/8 mg/ml, *G. candidum* 8/8 mg/ml, *Mucor* spp. 4/8 mg/ml, *Aspergillus* spp. 64/64 mg/ml. Conclusions: The results indicate that V-253 demonstrated the best activity with the lowest MICs against *C. parapsilosis*, *C. stellatoidea*, *S. cerevisiae*, and *Mucor* spp., less activity against *C. lusitaniae*, *G. candidum*, *C. krusei*, and *C. dubliniensis*, and the least activity against *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. albicans* and *Aspergillus* spp. In addition, V-253 demonstrated fungicidal activity as demonstrated by MLC for many of the isolates evaluated except for *C. glabrata*. Overall, V-253 demonstrated a broad spectrum of activity with good activity against numerous *Candida* spp. and *Mucor* spp.

For *Candida* species, V-253 demonstrates the lowest MICs and appears to be the most active against *C. glabrata*, *C. stellatoidea* with MIC_{50s} of 2.0 mg/ml; followed by *C. lusitaniae* and *C. krusei* with MIC_{50s} of 8 and 16 mg/ml, respectively; and is the least effective against *C. albicans*, *C. dubliniensis*, and *C. parapsilosis* with an MIC₅₀ of 32, and *C. tropicalis* with an MIC of 64 mg/ml.

For other fungal organisms, V-253 shows low MICs against the yeast, *S. cerevisiae* and against *Mucor*, with an MIC₅₀ of 4 mg/ml; while *Aspergillus* spp. are less susceptible with an MIC₅₀ of 32 mg/ml.

In addition, V-253 also demonstrates fungicidal activity agents many of the organisms including, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. lusitaniae*, *C. albicans*, *S. cerevisiae*, and *Mucor*. The exception was *C. glabrata*, where although the MIC₅₀ was low at 2 µg/ml, but the MLC was 64 µg/ml.

V-253 — new Anti-fungal compound

New class of chemical compounds (derivatives of arylidenimino-1, 3-pyrimidines). possessing a wide spectrum of biological activities that was evaluated against 40 strains of *Candida*, (5) *Saccharomyces cerevisiae*, (5) *Geotrichum candidum*, (5) *Aspergillus* spp., and (5) *Mucor* spp., including strains with known azole resistance (were tested together with Wayne State University USA).

V-253 demonstrates the best activity with the lowest MICs against *C. parapsilosis*, *C. stellatoidea*, *S. cerevisiae*, and *Mucor* spp., less activity against *C. lusitaniae*, *G. candidum*, *C. krusei*, and *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, and the least activity against *C. tropicalis*, *C. albicans* and *Aspergillus* spp. In addition, V-253 has fungicidal activity as demonstrated by MLC for many of the isolates evaluated overall, V-253 demonstrated a broad spectrum of activity with good activity against numerous *Candida* spp. and *Mucor* spp.

Patents are filed in the US, European Comm., Canada and some other countries. It is already received in Russia.

Mechanism of action is connected with interaction of compound with DNA or mRNA. (According to NCI data compound is active against malignant cells). Compound is under the testing according to project of NIH grant to evaluate the impact of new antifungal compound on the human and yeast genome (The University of Mississippi Medical Center, USA).

Toxicity of compound was tested on mice and did not show any toxic effects during two weeks (time of control) after administration of 500mg/kg orally or 200 mg/kg intraperitoneally. The biggest doses are under the testing.

The liniment that was prepared from V-253 (2%) and lanolin was used for the treatment hard form of dermatomycosis of several volunteers. Treatment was very successful and was finished during two weeks. Fluconazole was used as control for the treatment of other group. Using of Fluconazole does not give similar results to the end of forth week.

Minimal inhibitory concentrations of compounds vary from 0. 2 to 32 mg/l.

Treatment of animals infected by *Candida* (after hormones administration) will be realized at nearest future.

Several lines of derivatives with similar structure have been created and their biological activity including anti-fungal one was tested.

Complexes of V-253 with polyvinylpyrrolidones of different structure were created and tested for improving of V-253 dissolution in water.

New derivative of V-253 having changed structure that may be dissolved in water and is more effective than V-253 was created recently and is now on the testing in Russia and in the US.

НОВЫЙ АНТИБИОТИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС ФУНГИЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ

Воейкова Т. А., Звенигородский В. И.,
Азизбеян Р. Р., Федорова Г. Б.,
Курбатова И. В., Бурова С. А.

ФГУП ГосНИИгенетика

НИИ по изысканию новых антибиотиков РАМН

Центр глубоких микозов Комитета здравоохранения г. Москвы
Москва

Генофонд природных микроорганизмов может служить источником новых химических структур, на основе которых возможно получение эффективных лекарственных препаратов для человека.

Цель настоящей работы состояла в изучении спектра действия и структуры нового антибиотического фунгицидного комплекса, полученного в ГосНИИгенетика из штамма *Streptomyces griseinus*, выделенного из почвенных образцов.

Исследования структуры комплекса, проводимые в НИИ по изысканию новых антибиотиков РАМН, показали наличие в его составе трех биологически активных веществ, принадлежащих к классу полиеновых и ароматических антибиотиков, обладающих фунгицидной и антибактериальной активностью

В Центре глубоких микозов г. Москвы проведена работа по определению чувствительности различных клинических изолятов, выделенных от больных микозами, к новому антибиотическому комплексу. Обнаружено, что ряд возбудителей грибковых заболеваний человека, таких как *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium purpurogenum*, *Alternaria alternata*, *Trichoderma viridae*, *Rhizopus archizus*, *Onychcola sp.*, *Aspergillus candidus*, *Beauveria sp.*, *Aspergillus flavus*, *Exophiala sp.*, чувствительны к действию нового фунгицидного комплекса.

Антибиотический комплекс оказывал также биоцидное действие на микроорганизмы, принадлежащие к различным систематическим группам:

— бактериальные штаммы: *Staphylococcus aureus* 209P, *Bacillus mycoides* R-537, *Bacillus subtilis* ATCC 6533, *Bacillus mycoides*, *Bacillus coagulans*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli* K-13, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Comamonas terrigena*.

— фитопатогенные грибы: *Fusarium graminearum*, *Fusarium solani*, *Fusarium nivale*, *Rhizoctonia solani*, *Phomopsis*, *Sclerotinia sclerotonium*, *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Verticillium*.

Результаты работы могут быть использованы в медицине для создания нового лекарственного препарата широкого спектра действия против грибковых заболеваний и сопутствующих им бактериальных инфекций.

STUDY OF FUNGICIDAL EFFECTS OF DISINFECTANTS ON OPPORTUNISTIC FUNGI

Najafpoor A.A., Dehgani M.H., Hagi F.M.

*Department of Environmental Health Engineering, Faculty of Aburairhan,
Tehran University of Medical Sciences
Тегеран, Иран*

Nosocomial infection or the infection which are acquired during the hospitalization, are always regarded as an important issue in treatment. Those infections do not respond to treatment strategies easily and sometime will result in death.

Prevalence of nosocomial infections has direct correlation with the health condition.

Of the hospitals and the best policy for the control of these infection is prevention.

For this reason, applying the antiseptics and disinfection techniques is the most appropriate way for the control of hospital infection.

The purpose of this study was determination of fungicidal effects of savlon, betadin and dettol, which belong to three chemical groups of aminoumquaterner, iodine and phenolics.

The test organism of this was three fungi including aspergilus nijer, candida albicans and mucour.

The study was carried out according to the standard method no.2842 issued by the institute of Standards and Industrial research of Iran (ISIRI) and recommended methods by AOAC for the evaluation of the fungicidal effects of antiseptics and disinfectants.

After the preparation of fungal suspensions from spores of test organisms. Suitable neutralizer of each chemical was determined.

According to the results of the first step, suitable neutralizer of the savlon, dettol and betadin for three above-mentioned test organism were:» mixture e of the polyglycole ether in the ratio of 3% m/v and lecithin in the ratio of 2% m/v «
«mixture yolk of egg in the ratio of 5% v/v and tween 80 in the ratio of 4% v/v
«and «sodium thiosulphate in the ratio of 5% m/v» respectively.

At the second step, in order to determine the minimum effective concentration of savlon and dettol against each of the three fungi, five dilutions were prepared and tested within five minutes contact time. Betadin was used directly at the original concentration undiluted.

None of dilutions of savlon was effective against Aspergilus and mucour, thus another three dilution (6.5-7.5-8.5percent) were also tested. Based on the obtained on this test, 7.54% savlon, 4.5% dettol and 10% betadin were found the minimum effective concentration for killing three test organisms of this survey.

Although the above mentioned chemicals are fungicidal in recommended concentrations, but the most reasonable and appropriate way is prevention of the entering of fungi or other microorganisms hospital environments .As a result, it is necessary to prevent the introduction of infective agents into hospital environments by applying health measurement.