

5. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004 // *Am. J. Infect. Control.* – 2004. – Vol. 32. – P. 470-485.
6. Эпидемиология резистентности штаммов *S. aureus*, выделенных от пациентов в ОРИТ российских стационаров: результаты многоцентрового исследования / А.В. Дехнич, А. А. Никулин, Е. Л. Рябкова и др. // *Клин. микробиол. и антимикроб. химиотер.* – 2008. – Т. 10, № 4. – С. 333–344.
7. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: epidemiologic observations during a community-acquired outbreak / L.D. Saravolatz, N. Markowitz, L. Arking [et al.] // *Ann. Intern. Med.* – 1982. – Vol. 96. – P.11-16.
8. Цветков Д.С., Проценко Д.Н. Антибактериальная терапия грамположительной инфекции в ОРИТ: возможности и ограничения // *Интенсивная терапия.* – 2009. – 8 с.
9. Антибиотикорезистентность штаммов *S. aureus*, выделенных у детей раннего возраста с инфекциями кожи и мягких тканей / Г.К. Решедько, Т.Г. Авдеева, О.С. Стунжас, Н.В. Иванчик // *Клин. микробиол. антимикроб. химиотер.* – 2009. – Т. 11, № 4. – С. 356-361.
10. Walsh E.E. Sustained reduction in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* wound infections after cardiothoracic surgery / E.E. Walsh, L. Greene, R. Kirshner // *Arch. Intern. Med.* – 2011. – Vol. 171, № 1. – P. 68-73.
11. Дослідження оксациліно- і ванкоміцинорезистентних позагоспітальних ізолятів стафілококів / Р.Г. Шикун, В.В. Данилейченко, О.П. Корнійчук та ін. // *Інфекційні хвороби.* – 2010. – № 4 (62). – С. 55-58.
12. Макушенко О.С., Авдеева Л.В., Мачерет Я.Ю. Видовий склад та чутливість до антибіотиків оксацилінрезистентних штамів стафілококів // *AML XIV.* – 2008. – № 1-2. – С. 50-54.
13. Методические указания по применению унифицированных микробиологических (бактериологических) методов исследования в клинико-диагностических лабораториях / Приложение № 1 к приказу МЗ СССР № 535 от 22 апреля 1985 г. – 45 с.
14. Наказ МОЗ України № 167 Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів»: – [Чинний від 2007-04-05].
15. Від антибіотикограми до рецепта / Ф. Жель, М. Шома-ра, М. Уебер та ін. – К. : Логос, 2007. – 139 с.
16. Метициллинорезистентные стафилококки: распространность, лечение / А.А. Самсон, Л.П. Титов, Т.С. Ермакова и др. // *Клин. микробиол. и антимикроб. химиотер.* – 2010. – Т. 12, № 2. – С. 47.

ANTIBIOTIC RESISTANCE OF COMMUNITY-ACQUIRED *S. AUREUS* STRAINS ISOLATED FROM INTESTINAL TRACTS

I.A. Voronkina, S.A. Derkach, I.A. Krylova, L.S. Habysheva, M.I. Krasnov, T.L. Piddubna

*SUMMARY. Antibiotic resistance of community-acquired *S.aureus* isolates circulating in the Kharkiv region was determined. It was established that 50% of total amount of *S.aureus* isolated from intestinal tracts were MRSA. MRSA and MSSA strains antibiotic susceptibility tests showed the greater number of strains resistant to different groups of antibiotics among MRSA in comparison with MSSA. Genetically determined oxacillin-resistance due to a methicillin-resistant gene (*mecA*) was supposed in one-third of community-acquired MRSA isolates. Oxacillin-resistance of the rest of the strains was due to *β*-lactamases hyperproduction.*

Key words: *S. aureus, methicillin-resistance, antibiotic susceptibility.*

Отримано 11.07.2011 р.

© Бобрицька Л.А., Кучма І.Ю., 2011
УДК 615.014.21:615.281

Л.А. Бобрицька, І.Ю. Кучма

ВИВЧЕННЯ СПЕЦИФІЧНОЇ ПРОТИГЕРПЕТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПРЕПАРАТУ ГЕРПЕВАЛ-500

Національний фармацевтичний університет,
ДЗ «Інститут мікробіології і імунології ім. І.І. Мечникова АМН України

Представлені матеріали вивчення специфічної протигерпетичної активності препарату «Герпевал-500». Встановлена цитопатична і противірусна дія препарату відносно штамів герпесу типів 1 і 2 у куль-

турах клітин, що перевиваються, і на курячих ембріонах. Середня цитопатична доза для культур клітин Нер-2 і Тг, а також фібробластів курячого ембріона перебуває на рівні 0,1-0,2 мг/мл. Протигерпетична

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

активність по МІК виявляється в мінімальній дозі 100,0 мкг/мл і не перевищує 500,0 мкг/мл. Випробований препарат «Герпевал-500» і препарат порівняння «Вальтрекс™» володіють приблизно рівною специфічною активністю відносно вірусів простого герпесу (типи 1 і 2).

Ключові слова: Герпевал-500, протигерпетична активність.

Нині в багатьох країнах, у тому числі і в Україні, герпесвірусні інфекції (ГВІ) мають епідемічний характер без тенденції до зниження. Актуальність і велике медико-соціальне значення герпесвірусної патології визначається її багатогранністю у зв'язку із залученням до інфекційного процесу багатьох органів і систем з широким діапазоном клінічних проявів – від легких уражень слизових оболонок і шкіри до загрозливих життю генералізованих форм [1, 2].

Першим препаратом, що має антивірусну активність, вважається ацикловір. Це ефективний відносно вірусів простого герпесу ВПГ-1 і ВПГ-2 і достатньо безпечний препарат, проте він має відносно низьку біодоступність, що обмежує можливості його перорального застосування. Ця проблема була вирішена синтезом валацикловіру, що є валіновим ефіром ацикловіру і призначений для перорального застосування. За механізмом дії останній схожий з ацикловіром, добре всмоктується при вживанні, метаболізується з утворенням ацикловіру і валіну. Проявляє значнішу вибірку проти вірусну дію, перш за все відносно збудника оперізувального герпесу [3, 4].

Метою роботи є вивчення специфічної проти-герпетичної активності вітчизняного лікарського препарату «Герпевал-500», основною діючою речовиною якого є валацикловір.

Матеріали і методи

Об'єктом дослідження були таблетки «Герпевал-500» («Фітофарм»). Як препарат порівняння використовували «Вальтрекс™» виробництва фірми «Glaxo SmithKline», Іспанія.

У роботі використовували тест-штами вірусів: ВПГ-1 – штам Л-2; ВПГ-1 – дикий штам, виділений від хворого на лабіальний герпес у стадії загострення; ВПГ-2 – штам В-314; ВПГ-2 – дикий штам, виділений від хворого на генітальний герпес у стадії загострення. Охарактеризовані стандартні штами, депоновані в музеї живих культур мікроорганізмів Інституту мікробіології і імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України.

Результати досліджень та їх обговорення

Метою дослідження ступеня цитотоксичності противірусних засобів відносно культур клітин, що перевиваються, і фібробластів курячих ембріонів у дослідах *in vitro* і *in ovo* було визначення максимально переносної дози препарату, що не викликає незворотних морфологічних змін клітин і не призводить до їх загибелі. Цитотоксичність противірусних засобів вивчена в параметрі доз від 200 до 2000 мкг/мл в різних варіантах дослідів [4].

Заздалегідь визначений ступінь впливу валацикловіру і вальтрексу на культури клітин Нер, що перевиваються, – 2 і Тг, а також фібробласти курячих ембріонів (табл. 1).

Таблиця 1

Ступінь цитотоксичної дії противірусних препаратів на культури клітин, що перевиваються, і фібробласти КЕ

Препарат	Доза, мкг/мл	Ступінь цитотоксичної дії, бали, $M \pm m$		
		Нер-2	Тг	КЕ
Контроль без препарату	-	0	0	0
Валацикловір	100,0	0,67±0,05	0,48±0,02	0,36±0,04
	200,0	1,39±0,09	1,06±0,13	0,67±0,07
	500,0	1,84±0,07	1,39±0,09	1,06±0,05
	1000,0	2,67±0,19	1,86±0,15	1,28±0,09
	2000,0	3,96±0,20	3,48±0,18	1,86±0,21
Вальтрекс виробництва фірми Glaxo Smithkline	100,0	0,52±0,06	0,66±0,07	0,41±0,03
	200,0	1,46±0,09	1,12±0,12	0,71±0,11
	500,0	1,87±0,12	1,47±0,17	1,04±0,14
	1000,0	3,14±0,22	1,94±0,11	1,27±0,09
	2000,0	3,87±0,16	3,62±0,22	1,80±0,16

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Як впливає з даних таблиці 1, у випробуваних дозах досліджувані препарати не проявляють вираженої дії на узяті в дослід культури клітин, що перевиваються. Достовірно менш чутливими до цитопатичної дії противірусних засобів виявилися фібробласти курячих ембріонів. Виходячи з останнього, додатково досліджений ступінь токсичності препаратів при їх введенні в алантоїсну порожнину неінфікованих курячих ембріонів. Противірусні засоби переводили в рідку фазу з використанням ізотонічного розчину хлориду натрію (рН 7,2) з подальшим перерахунком на активну речовину. У дослід узяті 5- і 10-добові курячі ембріони. Отримані результати свідчать про приблизно рівнозначну ($p > 0,5$) ембріотоксичну дію валацикловіру і вальтрексу у використовуваних дозах. Більш схильними до цитопатичного впливу були 5-добові ембріони, тому в подальших експериментах *in ovo* використані саме вони.

Противірусну активність валацикловіру і вальтрексу визначали на моделі інфікованого вірусом герпесу моношару клітин культур Her-2 і Tg, що перевивалися. Використані дози препаратів на 2-3 порядки вищі передбачуваних терапевтичних. Отримані результати свідчать про порівняно низьку токсичність противірусних засобів, що дозволяє в подальших експериментах враховувати їх як незначну погрішність.

У всіх варіантах дослід у дозі 500 мкг/мл випробовувані препарати пригнічували розвиток

бляшок більш ніж в 50 % випадків. Порівняно менш чутливим до валацикловіру і вальтрексу в усіх дозах був стандартний штам Л-2 ВПГ-1. У дозі 0,05 мг/мл використані противірусні засоби редукували бляшки обох штамів ВПГ-2 і дикого штаму ВПГ-1 у межах від 60 до 72 %, у дозі 0,1 мг/мл – від 80 до 93 %. Тому за OD_{50} , тобто дозу препарату, що зменшує на 50 % кількість бляшок, ми вважаємо цілком правомірним, із запасом на рівні 20 %, прийняти дозу 0,05 мг/мл.

Оцінюючи ступінь протигерпетичної активності випробовуваних ліків за основним показником – індексом ефективності, слід вважати, що всі препарати в дозі до 2000 мкг/мл показали рівнозначну і високу активність (ІЕ 79,4-83,9), а в дозі 500 мкг/мл – достатньо високу (ІЕ 60,2-63,4).

Цитоморфологічно був вивчений процес зниження кількості клітин з внутрішньоядерними включеннями вірусного характеру під впливом противірусних препаратів у різних дозах. Використовувана методика дозволяє оцінити інтенсивність процесу власне репродукції вірусів. Вона досить доступна, кількісна, візуальна і досить специфічна. Адсорбцію ВПГ-1 і ВПГ-2 проводили протягом 1 год при кімнатній температурі, відмивали розчином Хенкса від позаклітинного (неадсорбованого) вірусу і додавали випробовуваний препарат у певній концентрації на середовищі 199. Отримані результати наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Ступінь зниження кількості клітин з герпесвірусними внутрішньоядерними включеннями під впливом різних доз валацикловіру і вальтрексу

Препарат	Доза, мкг/мл	ВПГ-1		ВПГ-2	
		% клітин, що містять внутрішньоядерні включення	Коефіцієнт редукції	% клітин, що містять внутрішньоядерні включення	Коефіцієнт редукції
Контроль без препарату	–	100		100	
Валацикловір	100,0	69,7	19,27	62,4	17,22
	200,0	36,4	58,12	26,8	64,07
	500,0	7,8	90,41	3,2	93,12
	1000,0	–	–	–	–
	2000,0	–	–	–	–
Вальтрекс (виробництва фірми Glaxo Smithkline)	100,0	71,2	17,46	66,8	16,08
	200,0	29,8	60,04	23,5	64,13
	500,0	8,2	90,72	4,3	92,11
	1000,0	–	–	–	–
	2000,0	–	–	–	–

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Як впливає з даних таблиці 2, у параметрі доз 0,05-0,1 мг/мл всі випробовувані противірусні препарати істотно знижували кількість клітин із специфічними внутрішньоядерними включеннями (різниця з контролем високодостовірна, між аналогічними групами – недостовірна ($p < 0,5$). Результати досліджень підтверджують, що мінімальна пригнічувальна концентрація валацикловіру і вальтрексу відповідає 0,05 мг/мл [5].

Висновки

1. Середня цитопатична доза препарату «Герпевал-500» для культур клітин Hep-2 і Tr, а також фібробластів курячого ембріона перебуває на рівні 0,1-0,2 мг/мл. Протигерпетична активність за МІК виявляється в мінімальній дозі 100,0 мкг/мл і не перевищує 500,0 мкг/мл.

2. Випробовуваний препарат «Герпевал-500» і препарат порівняння «Вальтрекс™» володіють приблизно однаковою специфічною активністю до вірусів простого герпесу (типи 1 і 2).

Література

1. Синдром хронической усталости и иммунной дисфункции у жителей города Харькова и Харьковской области / Панченко Л.А., Брусник С.В., Торяник И.И. и др. // Аналі Мечниковського інституту. – 2002. – № 2-3. – С. 89-92.

2. Спосіб лікування та профілактики герпетичних інфекцій: інформ. лист / Д.І. Дмитрієвський, Л.О. Бобрицька, О.М. Нікітенко. – Х., 2010. – Вип. 29.3 – Проблеми «Фармації». – 4 с.

3. Дмитриевский Д.И., Бобрицкая Л.А. Технологические аспекты к разработке лекарственного препарата противовирусного действия // Зб. наук. праць співр. НМАПО ім. П.Л. Шупика. – 2009. – Вип. 18, кн. 3. – С. 335-340.

4. Книженко О.В. Східча противірусна терапія герпесвірусних енцефалітів // Клінічна фармація. – 2004. – Т. 8, № 1. – С. 22-25.

5. Отчет о результатах экспериментального исследования специфической активности валацикловира (таблетки по 500 мг) производства ОАО «Фитофарм» / Ин-т микробиол. и иммунол. им. И.И. Мечникова АМН Украины. – Х., 2007. – 24 с.

INVESTIGATION OF SPECIFIC ANTIHERPETIC ACTIVITY OF THE DRUG «HERPEVAL-500»

L.A. Bobrytska, I.Yu. Kuchma

SUMMARY. Materials of studying of specific antiherpetic activity of the drug «HERPEVAL-500» are presented. Cytopathic and antiviral effects of the drug «HERPEVAL-500» in relation to herpes strains of types 1 and 2 in intertwined cells cultures and in chicken embryos were determined. Average cytopathic dose for Hep-2 and Tr cells cultures and chicken embryos fibroblasts was at level 0,1-0,2 mg/ml. Antiherpetic activity in the minimum dose of 100,0 mkg/ml was shown. It wasn't exceeded 500,0 mkg/ml. The drug «HERPEVAL-500» and compared preparation «Valtrex™» have approximately equal specific activity in relation to herpes simplex viruses (types 1 and 2).

Key words: Herpeval-500, antiherpetic activity.

Отримано 20.08.2011 р.