

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНСТВО ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ
И СОЦИАЛЬНОМУ РАЗВИТИЮ**

**ФГУ Центральный научно-исследовательский кожно-венерологический
институт**

«УТВЕРЖДАЮ»

**Директор ФГУ «ЦНИКВИ Росздрава»
Академии РАМН, профессор**

А.А.Кубанова



« 20 » мая 2007 года

О Т Ч Е Т

по договору № 059/ИВ на тему:

**ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОТИВОГРИБКОВОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА
«СТЕЛЛАНИН®-ПЭГ МАЗИ ДЛЯ НАРУЖНОГО ПРИМЕНЕНИЯ 3%»**

Москва

2007 г.

Актуальность. В настоящее время актуальной является проблема обеспечения населения лекарственными препаратами отечественного производства. В связи с широким распространением среди населения Российской Федерации грибковых заболеваний кожи, ее придатков и мягких тканей это в значительной степени касается препаратов, обладающих антифунгальной активностью. Недостатком известных лекарственных средств является снижение терапевтической эффективности в результате появления резистентности возбудителей к антимикотическим препаратам, частое развитие токсических и аллергических проявлений, что вызывает необходимость поиска новых препаратов, лишенных этих отрицательных свойств.

ООО «Фармпрепарат» разработан оригинальный препарат на основе органического соединения, содержащего в своем составе биологически активный йод, обладающего незначительной токсичностью, с широким антимикробным спектром, выраженным противовоспалительным и регенерационным действием. Важным фармако-экономическим преимуществом препарата является относительная простота технологического процесса его производства и наличие отечественного сырья.

Имеющиеся экспериментальные данные свидетельствуют об антибактериальной и противогрибковой активности лекарственной формы препарата, применяемой per os, с 1,3-диэтилбензимидазолия трийодидом (ФСП 42-0609-6576-05) в качестве активного начала. Эти данные позволяют с большой уверенностью предполагать наличие высокой антифунгальной активности и у мазевой формы, произведенной на основе 1,3-диэтилбензимидазолия трийодида.

В соответствии с обращением ООО «Фармпрепарат» за № 1322 от 04.12.2006 г. в Федеральном государственном учреждении «Центральный научно-исследовательский кожно-венерологический институт Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» (ФГУ «ЦНИКВИ Росздрава») проведены исследования по выявлению противогрибковой активности препарата «Стелланин[®]-ПЭГ мази для наружного применения 3%», разработанного ООО «Фармпрепарат», а также проведено определение величин минимальной подавляющей концентрации (МПК) и минимальной ингибирующей концентрации (МИК) препарата в отношении 4-х видов грибов

Trichophyton rubrum, *Microsporum canis*, *Candida albicans* *Malassezia furfur*. Схема проведения исследования согласована с ООО «Фармпрепарат» 23.03.07г.

Использованные штаммы культур грибов

В исследовании использовали следующие тест-штаммы культур грибов, полученные из научно-исследовательского института медицинской микологии им. П.Н.Кашкина Санкт-Петербургской медицинской Академии последипломного образования:

1. *Trichophyton rubrum* – клинический штамм № 2902;
2. *Microsporum canis* – штамм № 2293 ВГНКИ;
3. *Candida albicans* – клинический штамм № 2307;
4. *Malassezia furfur* – клинический штамм № 15007.

Кроме того, в исследовании использовали следующие питательные среды:
- агар Сабуро, бульон Сабуро (для штаммов 1-3);
- агар Барфатини, бульон Барфатини (для штамма 4).

Приготовление разведений препарата Стелланин ПЭГ мазь 3% в физиологическом растворе хлорида натрия

Непосредственно перед исследованием готовили разведения препарата с различной концентрацией действующего вещества:

Раствор А (0,3 %) – конечное разведение препарата «Стелланин ПЭГ мазь 3%» 1:10 в физиологическом растворе натрия хлорида, что соответствует конечной концентрации активного вещества – 3 мг/мл после добавления взвеси микроорганизмов;

Раствор Б (0,15 %) – конечное разведение препарата «Стелланин ПЭГ мазь 3%» 1:20 в физиологическом растворе натрия хлорида, что соответствует конечной концентрации активного вещества – 1,5 мг/мл после добавления взвеси микроорганизмов;

Раствор В (0,06 %) - конечное разведение препарата «Стелланин ПЭГ мазь 3%» 1:50 в физиологическом растворе натрия хлорида, что соответствует конечной концентрации активного вещества -0,6 мг/мл после добавления взвеси микроорганизмов;

Раствор Г (0,03 %) - конечное разведение препарата «Стелланин ПЭГ мазь 3%» 1:100 в физиологическом растворе натрия хлорида, что соответствует конечной концентрации активного вещества -0,3 мг/мл после добавления взвеси микроорганизмов;

Раствор Д (0,0 %) – чистый физиологический раствор натрия хлорида, в который препарат «Стелланин ПЭГ мазь 3%» не добавлялась – контрольный раствор.

Подготовка взвеси тест-культур штаммов грибов к исследованию и методика проведения исследования

Для проведения исследования готовили взвеси тест-культур штаммов грибов в физиологическом растворе. Концентрация грибных клеток во взвесах всех тест культур определялась подсчетом в камере Горяева, после чего доводилась физиологическим раствором натрия хлорида до одинакового значения -100 млн клеток/см³.

К 9 мл приготовленных растворов с различной концентрацией действующего вещества препарата «Стелланин ПЭГ мазь 3%» добавляли по 1 мл взвеси каждой из тест-культур до конечной концентрации грибных клеток 10 млн/см³.

Первичная инкубация смесей тест-культур грибов и растворов с различной концентрацией действующего вещества препарата «Стелланин ПЭГ мазь 3%» проводилась в течение 30 мин при температуре 28°C (для тест-штаммов 1,2) и при 36°C (для тест-штаммов 3,4).

После окончания первичной инкубации смесей производили посевы проинкубированных тест-штаммов грибов на питательные среды. Для этого взвеси тест-штаммов грибов в одинаковом объеме (по 2 мл) вносили в пробирки с жидкой питательной средой (по 8 мл), после чего вторично инкубировали до появления роста культур в контроле при температуре 28°C (для тест-штаммов 1,2), 36°C (для тест-штаммов 3,4). Концентрацию препарата в первой пробирке, где не отмечали рост культуры гриба, учитывали как минимальную подавляющую концентрацию - МПК.

Для определения минимальной ингибирующей концентрации – МИК - проводили высевы из всех пробирок после первичной инкубации на плотные питательные среды, после чего вторично инкубировали до появления роста культур в контроле при температуре 28°C (для тест-штаммов 1,2), 36°C (для тест-штаммов 3,4). Концентрацию препарата в первой пробирке, где не отмечали рост культуры гриба, учитывали как МИК.

Все исследования проводились в трех повторностях.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования противогрибковой активности препарата «Стелланин®-ПЭГ мази для наружного применения 3%» представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1.

Определение минимальной подавляющей концентрации (МПК) Стелланина, мази 3%

Тест-штамм	Контроль Раствор Д	Раствор (%) / Разведение препарата / Концентрация активного вещества			
		Раствор А (0,3 %) 1 : 10 3 мг/мл	Раствор Б (0,15 %) 1 : 20 1,5 мг/мл	Раствор В (0,06 %) 1 : 50 0,6 мг/мл	Раствор Г (0,03 %) 1 : 100 0,3 мг/мл
<i>Trichophyton rubrum</i>	+	-	-	-	-
<i>Microsporum canis</i>	+	-	-	-	-
<i>Gandida aibicans</i>	+	-	-	-	+
<i>Malassezia furfur</i>	+	-	-	-	+

Условные обозначения:

- + наличие роста тест-штамма гриба;
- отсутствие роста тест-штамма гриба.

Таблица 2.

**Определение минимальной ингибирующей концентрации (МИК)
Стелланина, мази 3%**

Тест-штамм	Контроль Раствор Д	Раствор (%) / Разведение препарата / Концентрация активного вещества			
		Раствор А (0,3 %) 1 : 10 3 мг/мл	Раствор Б (0,15 %) 1 : 20 1,5 мг/мл	Раствор В (0,06 %) 1 : 50 0,6 мг/мл	Раствор Г (0,03 %) 1 : 100 0,3 мг/мл
<i>Trichophyton rubrum</i>	+	-	-	-	-
<i>Microsporum canis</i>	+	-	-	-	-
<i>Gandida aibicans</i>	+	-	-	-	+
<i>Malassezia furfur</i>	+	-	-	-	+

Условные обозначения:

- + наличие роста тест-штамма гриба;
- отсутствие роста тест-штамма гриба.

Как следует из таблицы 1, при определении величин минимальной подавляющей концентрации препарата в отношении 4-х видов грибов было установлено, что в отношении *Trichophyton rubrum* МПК активного вещества препарата (1,3-диэтилбензимидазолия трийодида) составила менее 0,3 мг/мл, т.к. ни в одной из пробирок с концентрациями препарата от 0,3 до 3,0 мг/мл не был отмечен рост культуры гриба на жидкой среде. Таким образом, единственной пробиркой, в которой был получен рост гриба, явилась пробирка с контрольным раствором (раствор Д), не содержащим активного вещества препарата Стелланин. Аналогичные данные были получены при определении МПК изучаемого препарата в отношении тест-штамма гриба *Microsporum canis*. Таким образом, в отношении *Microsporum canis* МПК активного вещества препарата

(1,3-диэтилбензимидазолия трийодида) составила менее 0,3 мг/мл. При исследовании величин минимальной подавляющей концентрации препарата Стелланин в отношении в отношении тест-культур грибов *Candida albicans* и *Malassezia furfur* рост грибов после их инкубации с растворами препарата отмечался в пробирках, где концентрация препарата составляла 0,3 мг/мл (Раствор Г (0,03 %)); в остальных пробирках с концентрациями препарата от 0,6 до 3,0 мг/мл не был отмечен рост культуры гриба на жидкой среде. Таким образом, в отношении *Candida albicans* и *Malassezia furfur* МПК активного вещества препарата (1,3-диэтилбензимидазолия трийодида) составила 0,6 мг/мл.

Как следует из таблицы 2, при определении величин минимальной ингибирующей концентрации препарата в отношении 4-х видов грибов было установлено, что в отношении грибов *Trichophyton rubrum* и *Microsporum canis* МИК активного вещества препарата (1,3-диэтилбензимидазолия трийодида) составила менее 0,3 мг/мл, т.к. ни в одной из пробирок с концентрациями препарата от 0,3 до 3,0 мг/мл не было отмечено рост культур этих грибов на твердой питательной среде. Единственными пробирками, в которых был получен рост этих грибов, были пробирки с контрольным раствором (раствор Д), не содержащим активного вещества препарата Стелланин.

Исследование величин минимальной ингибирующей концентрации препарата Стелланин в отношении в отношении тест-культур грибов *Candida albicans* и *Malassezia furfur* рост грибов после их инкубации с растворами препарата показало, что рост культур грибов наблюдался в пробирках, где концентрация препарата составляла 0,3 мг/мл (Раствор Г (0,03 %)); в остальных же пробирках, в которых концентрации препарата варьировали от 0,6 до 3,0 мг/мл, не отмечалось роста культур грибов на твердой среде. Таким образом, в отношении *Candida albicans* и *Malassezia furfur* МИК активного вещества препарата Стелланин (1,3-диэтилбензимидазолия трийодида) составила 0,6 мг/мл.

Таким образом, необходимо отметить, что препарат «Стелланин®-ПЭГ мазь для наружного применения 3%» обладает широким спектром

противогрибковой активности и подавляет рост всех изученных культур грибов. Величины минимальной подавляющей концентрации (МПК) и минимальной ингибирующей концентрации (МИК) активного вещества препарата составляют в отношении грибов *Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis* 0,3 мг/мл.

Препарат «Стелланин®-ПЭГ мазь для наружного применения 3%» обладает сходной активностью в отношении *Candida albicans* и *Malassezia furfur*. Величины минимальной подавляющей концентрации (МПК) и минимальной ингибирующей концентрации (МИК) активного вещества препарата составляют в отношении грибов *Candida albicans* и *Malassezia furfur* 0,6 мг/мл.

Значения минимальной подавляющей концентрации (МПК) и минимальной ингибирующей концентрации (МИК) активного вещества препарата в отношении грибов *Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis*, *Candida albicans* и *Malassezia furfur* значительно ниже реальной терапевтической концентрации активного вещества в лекарственной форме – 30 мг/мл, что свидетельствует о высокой концентрации действующего вещества в препарате и и его высокой антифунгальной активности.

Таким образом, проведенные исследования показали, что при применении «Стелланина®-ПЭГ мази для наружного применения 3%» в медицинской практике для лечения инфекционных заболеваний кожи и мягких тканей можно ожидать от препарата высокой антифунгальной активности в отношении изученной патогенной грибковой микрофлоры.

ВЫВОДЫ

1. Минимальная подавляющая концентрация (МПК) и минимальная ингибирующая концентрация (МИК) действующего вещества препарата «Стелланин®-ПЭГ мазь для наружного применения 3%» в отношении *Trichophyton rubrum* и *Microsporum canis* составляют менее 0,3 мг/мл.

2. Минимальная подавляющая концентрация (МПК) и минимальная ингибирующая концентрация (МИК) действующего вещества препарата «Стелланин®-ПЭГ мазь для наружного применения 3%» в отношении *Candida albicans* и *Malassezia furfur* составляют 0,6 мг/мл.

3. Концентрация действующего вещества - 1,3-диэтилбензимидазолия трийодида (ФСП 42-0609-6576-05) в препарате «Стелланин®-ПЭГ мазь для

наружного применения 3%» в 50-100 раз превосходит значения МИК и МПК по отношению к изученным штаммам грибов.

Зав. отделом микробиологии
доктор медицинских наук



Н.В.Фриго