

# **Исследование антибиотической активности препаратов в интеграции с интерфероном.**

**Автор**

**Кривоногова Марина 10 класс**

**МОУ “Щегловская СОШ”**

**п. Щеглово Всеволожский р-н.**

**Научный руководитель**

**Зяблов Алексей Михайлович**

**Преподаватель центра ГБОУ ДО «Интеллект»**

Ленинградская область 2021 г.

## Содержание.

Введение.....	3 с.
Глава 1. Литературный обзор.....	4 с.
1.1 Интерферон.....	4 с.
1.1.2 Механизм работы интерферона .....	6 с.
1.1.3 Препараты на основе интерферона.....	7 с.
1.1.4 Применение препаратов интерферона при COVID-19 .....	8 с.
1.1.5 Лечение раневых инфекций, послеоперационная терапия.....	9 с.
1.2 Антибиотики.....	10 с.
1.2.1 Механизм работы антибиотиков.....	11 с.
1.2.2 Функциональные группы антибиотиков. ....	12 с.
Глава 2. Практическая часть.....	22 с.
2.1 сенная палочка.....	22 с.
2.2 Ход работы.....	22 с.
2.3 Анализ клинических данных применения комплексной терапии антибиотика Сульфаметоксазола + интерферона альфа.....	24 с.
2.4 Физико-химический анализ ассоциативного эффекта в смешанных водных растворах интерферона и антибиотика сульфаметоксазола.....	25 с.
Выводы.....	27 с.
Заключение .....	27 с.

## **Введение.**

На сегодняшний день клиническое применение интерферонов является актуальной темой для врачей практического здравоохранения. Изучается возможность применения интерферона в комплексе с антибиотиками при раневых инфекциях, послеоперационных осложнений, при лечении вирусных инфекций, отягощенных бактериальными инфекциями, для профилактики и лечения COVID-19. При лечении COVID-19 тяжелой этиологии применяется антибиотико терапия, которая в случае "пневмонии тяжелого течения" является и клиническим методом и предупреждающим.

Существует и практика применения интерферонов при лечении заболеваний, передающихся половым путем. Интерфероны в классе цитокинов ранее рассматривались как противовирусные факторы, но сейчас у них также обнаружены противоопухолевая и иммуномодулирующая активность. Через 10 минут после контакта интерферона с культурой микробов наблюдается антибактериальное действие, обусловленное повышением фагоцитарной активности, образованием иммуноглобулинов, усилением цитотоксичности естественных киллеров.

В современном мире есть проблема поиска новых методов лечения бактериальных инфекций. Раневые инфекции, послеоперационные заболевания - это комплекс вирусов и бактерий, в связи с этим применение антибиотиков необходимо и усиление их действия в комплексе с интерфероном, выработкой собственного иммунитета. Таким образом, является актуальным исследовать возможность применения интерферонов в составе комплексной антибактериальной терапии.

Цель работы: исследование антибиотической активности препаратов в интеграции с интерфероном.

Задачи:

1. Исследовать механизм работы интерферона и его применение.
2. Исследовать принципы работы антибиотиков.

3. На посевах сенной палочки исследовать действия антибиотиков в интеграции с интерфероном.

4. Сделать вывод о комплексной терапии и лечении вирусных и бактериальных инфекций.

Гипотеза: При применении интерферонов в комплексной терапии с антибиотиками происходит образование ассоциативных взаимодействий препаратов с образованием химических связей, а также отдельное воздействие на мишень – патоген, что усиливает действие антибиотика.

## **Глава 1. Обзор литературы.**

### **1.1 Интерферон.**

Интерфероны (сокр. IFN) — общее название ряда белков со сходными свойствами, выделяемых клетками организма в ответ на вторжение вируса, на некоторые бактериальные вещества и на низкомолекулярные химические соединения. Универсальный защитник организма начинает свою работу еще до того, как в работу включаются остальные звенья иммунитета. Интерфероны активируют определённые клеточные белки, блокирующие удвоение клеток РНК вируса. Даже в терапии онкологии применяются препараты интерферона, они подавляют опухолевый рост. Клетки вырабатывают интерферон в ответ на действие вирусов и бактерий или продукты метаболизма опухолевых клеток.

В 1957 году вирусологи Алик Айзекс из Англии и Жан Линдеман, сотрудники Лондонского национального института медицинских исследований, проводили опыты на мышах и случайно открыли интерферон. Клинические испытания на людях были разочаровывающими вплоть до 1970-х годов, пока не научились очищать человеческий интерферон, после чего в больших дозировках он начал показывать эффективность против некоторых болезней. Только в 1980-х годах произошёл прорыв в производстве интерферона, компании Biogen в Швейцарии и Genentech в США научились производить рекомбинантный интерферон с помощью кишечной палочки. Был клонирован в нее ген интерферона, это позволило увеличить объем выработки и производить интерфероны любого типа. По состоянию на 2016 год среди рекомбинантных человеческих интерферонов были обнаружены дюжина подвидов интерферона-альфа, один интерферон-бета.

Индукторы-интерферона- лекарственные препараты, которые стимулируют их выработку. Молекулы индукторов, попадая в кровь и межклеточную жидкость, связываются с рецепторами зараженных или поврежденных клеток. Далее запускается сложная цепь реакций, приводящая к образованию специальных белков. В конечном итоге клетка перестает воспроизводить вирусные частицы и расщепляет их генетическую структуру. Поверхность клетки перестает быть проницаемой для внутриклеточных паразитов.

Дополнительные действия интерферона :

- Стимуляция активности звеньев иммунитета.
- Контроль воспалительной реакции.
- По возможности, защита организма от опухолей.

Виды интерферона.

Молекулы интерферона отличаются между собой по:

- Генетической структуре
- Типу клеточных рецепторов, на которые они действуют
- По участкам ДНК, которые кодируют их состав.

**Все интерфероны делят на 3 типа.**

1.Альфа-интерферон, у которого 13 различных структурных вариантов, а также бета-, каппа-, эpsilon- и омега-.

Интерферон альфа-2b—иммуномодулятор, который используется при лечении гепатита С, хронического гепатита В, хронического миелоидного лейкоза. Гигроскопичный порошок белого цвета входит в состав ряда комбинированных лекарственных средств.

В лечении ОРВИ бесполезен, но эффективен в профилактике при начале приема до проявления симптомов заболевания. Интерферон альфа-2b в инъекции приводит к серьезным побочным эффектам, таким как депрессия, инфекция или даже аутоимунные расстройства.

В ряде экспериментов итог показал, что интерферон этого типа не эффективен в лечении простуды и даже является токсичным. Он увеличивает шансы на развитие вторичной инфекции.

Таким образом, препараты интерферона предназначены для лечения вирусных гепатитов и онкологических заболеваний.

Возможно внутривенное, внутримышечное или подкожное введение. На основе этого вещества некоторые производители изготавливают наружные и местные средства.

- Интерферон в виде лиофилизата- для интраназального введения. Сухая лекарственная форма, разведенная водой изготавливаются для проведения ингаляции.
- Интерферон альфа в виде свечей- для лечения урогенитальных инфекций.
- Интерферон альфа в виде раствора- для внутримышечного или внутривенного введения.
- Интерферон альфа в виде мази- лекарственная форма для обработки кожи и слизистых оболочек. Назначается при герпетической инфекции и ОРВИ.

2. Гамма-интерфероном.

3. Лямбда-интерферон. Открыт относительно недавно, и отличается от всех генетическим строением и типом рецепторов, с которыми они взаимодействуют. Однако по биологической активности лямбда-интерферон похож на альфа-интерферон.

Выделяют три класса интерферона

1. Лейкоцитарный или  $\beta$ -IFN-получают в культуре лейкоцитов выделенных из крови доноров. Существует 20 рекомбинантных вариантов, которые отличаются последовательность аминокислот в полипептидной цепи и биологической активностью.
2. Фибробластный или  $\nu$ -IFN-для получения используют культуру фибробластов.
3. Иммунный или  $\gamma$ -IFN - его синтезируют сенсебилизованные Т-лимфоциты при повторном контакте с митогенами, а также с бактериальными и вирусными антигенами.

### 1.1.2 Механизм работы интерферона.

Вирус с клеткой может взаимодействовать по продуктивному типу. В процессе взаимодействия в зараженной клетке образуется новое поколение вирусов, т.е репродукция вируса. Стадии репродукции вируса:

- адсорбция вирионов (полноценная вирусная частица, состоящая из нуклеиновой кислоты и капсида) на клетке;
- проникновение вирусов в клетку;
- депротенинизация или `раздевание' вирусов и высвобождение вирусного генома;
- биосинтез компонентов вируса;
- формирование вирусной частицы;
- выход вирионов из клетки.

Интерферон не активирует вирусы и их нуклеиновые кислоты, не препятствует адсорбции и проникновению вируса в клетку и его депротенинизации. Интерферон начинает свою работу на внутриклеточном этапе репродукции вируса. Механизм взаимодействия интерферона с клетками, в которых он индуцирует противовирусное состояние, остается неясным. Также не решен вопрос о том, как происходят противовирусные действия в молекулярном механизме.

На данный момент считается, что интерферон действует на уровне трансляции, потому что он не влияет на синтез вирусспецифических РНК и ингибирует синтез вирусных белков.

Также интерферон выполняет действия на уровне транскрипции. Сторонники этой версии опираются на данные об ингибиторном действии на транскрипцию ранней вирусной РНК. Это связано с подавлением вирусиндуцированного синтеза.

Механизм действия интерферона:

1. Интерферон связывается со специфическими интерфероновыми рецепторами клетки.
2. Образовавшийся комплекс погружается в клетку, где интерферон высвобождается, а рецептор возвращается на поверхность.
3. Интерферон активирует гены, кодирующие синтез эффекторных белков.
4. Эффекторные белки фрагментируют вирусную или клеточную РНК и инактивируют рибосомальные ферменты.

### **1.1.3 Препараты на основе интерферона.**

На данный момент существует множество противовирусных препаратов, но многим из них нужны еще годы, чтобы доказать свое право применяться людьми в сезон простуд.

Сегодня широко применяются и активно рекламируются некоторые конкретные препараты. В основу этих препаратов входит интерферон, особые вещества организма человека.

Препарат виферон- средство комплексного воздействия против вирусной инфекции. Назначается при гриппе, ОРВИ, при наличии герпесной инфекции и гепатитов. Чаще всего препарат применяется в качестве комбинированной терапии с другими препаратами. Комплексных исследований побочных эффектов данного препарата не проводилось.

Препарат гриппферон.

Отличием от предыдущего препарата является только то, что в его составе имеется рекомбинантный человеческий интерферон. Гриппферон выпускается в форме спрея, капель в нос и мази для назального применения. Как изолированное средство малоэффективно.

Интерферон лейкоцитарный человеческий – комплекс белков, которых синтезируют лейкоциты донорской крови под влиянием вируса-индуктора интерферона. Средство применяется в комплексе с другими. Препарат отпускается без рецепта врача.

Свойства этого интерферона:

1. Усиливает иммунный ответ, нормализует иммунный статус.
2. Борется со смешанными инфекциями, воспалениями и опухолью.
3. Помогает организму противостоять герпесу и гриппу.

### **1.1.4 Применение препаратов интерферона при COVID-19**

Коронавирусная инфекция – острое вирусное заболевание с преимущественным поражением верхних дыхательных путей в виде ринита/ринофарингита.

Семейство Coronaviridae разделяют на основе анализа филогенетических связей на четыре рода:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  и  $\delta$ . Первые 2 распространяются на млекопитающих, остальные на птиц.



Причины болезни у человека и определенный механизм повреждения легких пока полностью не изучен.

Вирус SARS-CoV, появившийся в 2002-2003 году, вызвал вспышку тяжелого острого респираторного синдрома. Вирус 2020 года- SARSCoV-2 более вирулентен, т.е его способность вызывать заболевание или гибель организма выше предыдущего.

Уже не первый год изучаются возможность применения препаратов интерферона при коронавирусной инфекции. Их активность была продемонстрирована еще в отношении коронавирусов – предшественников SARS-CoV-2. [1]

Согласно требованиям ВОЗ, основываясь на опыте клинической практике, китайский врачи из больницы Ухани, включили в китайские рекомендации по лечению пневмонии интерферон- $\alpha$ . [2]

Аналогичная схема рекомендована для лечения респираторной инфекции, ассоциированной с SARS-CoV-2 у детей.[3]

Антибактериальная терапия также применяется при лечении COVID-19. Она назначается пациентам, поступившим с диагнозом «пневмония тяжелого течения». В режиме упреждающей терапии должна быть назначена антимикробная терапия одним из следующих препаратов: амоксициллин/клавулановая кислота, цефалоспорин, респираторный фторхинолон (левофлоксацин, моксифлоксацин), 3 поколения (цефотаксим, цефтриаксон), цефтаролин фосамил. Последующее принятие решения об изменении или отмене антибактериальной терапии должно быть основано на данных микробиологического исследования и ПЦР.

### **1.1.5 Лечение раневых инфекций, послеоперационная терапия**

На основании научно технической базы современной медицинской науки, сформирована комплексная теория заживления ран. Даже сейчас продолжается поиск лекарственных средств и медицинских технологий, позволяющих оказывать позитивное влияние на динамику раневого процесса. Цитокины, и в частности интерфероны, являются ключевыми элементами локального иммунного статуса, обладающими многофакторным действием на активность регенеративных процессов. Местное применение рекомбинантного лейкоцитарного интерферона  $\alpha 2\beta$  при моделировании острой раны в эксперименте создает

условия для возможной активации фагоцитоза путем активации макрофагального звена иммунитета.[4]

Вследствие операции, инвазивных вмешательств возникает инфекция, для ее предупреждения назначаются антибиотики. Антибиотикопрофилактика состоит в том, чтобы достичь концентрацию антибиотика в операционной зоне во время ее микробного загрязнения и поддержания бактерицидного уровня препарата в течение всей операции и первых 3-4 часов после оперативного вмешательства, поскольку этот отрезок времени является решающим для размножения и адгезии на клетках хозяина попавших в рану микробов, что служит пусковым механизмом для начала инфекционно-воспалительного процесса в ране.

Достаточный спектр бактерицидной активности против наиболее распространенных возбудителей имеют цефалоспорины 1-го и 2-го поколения, используются для профилактики раневой инфекции. При парентеральном введении создаются высокие концентрации в операционной зоне. Цефалоспорины отличаются малой токсичностью и частотой побочных действий. [5]

## **1.2 Антибиотики.**

Для лечения бактериальных инфекций применяются антибиотики. Они не действуют против вирусных инфекций, но могут убивать микроорганизмы и останавливать их размножение. Бактериальная микрофлора вызывает воспалительные процессы, а антибиотики применяются для их предотвращения и лечения.

Принимать антибиотики можно только после полного обследования и сдачи всех анализов, так как антибиотики имеют узкий спектр действия. Нужно сначала понять, что является возбудителем.

### **Антибиотики подразделяются на:**

- Бактерицидные - убивают болезнетворные бактерии.
- Бактериостатические - останавливают размножение бактерий.

### 1.2.1 Механизм работы антибиотиков.

Мишенью многих антибиотиков являются бактериальная рибосома. Определенные типы антибиотиков ингибируют аппарат биосинтеза белка и центральную его часть. Препараты связываются с рибосомой и замедляют или предотвращают определенные реакции, которые катализируются рибосомой.

- 1) аминокислота + АТФ аминокил-аденилат + пирофосфат,
- 2) аминокил-аденилат + тРНК' аминокил-тРНК' + АМФ,
- 3) пептидил( n)-тРНК + аминокил-тРНК' тРНК + пептидил(n + 1) -тРНК'.

По механизму действия на микроорганизмы антибактериальные химиопрепараты делятся на:

1. Ингибирующие синтез клеточной стенки. (соединения, препятствующие биосинтезу клеточной стенки на различных этапах.)

Основные 3 группы:

- а) ингибиторы образования компонентов, из которых строится клеточная стенка;
- б) ингибиторы реакций переноса структурных блоков клеточной стенки из цитоплазмы наружу;
- в) ингибиторы образования связей (сшивок) между элементами пептидогликана.

2. Подавляющие белковый синтез.

Ингибиторы подавляют синтез белка за счет различных механизмов и на различных уровнях. Условно их можно разделить на четыре группы:

- а) Ингибиторы активации аминокислот и реакций переноса.
- б) Ингибиторы функций малых субъединиц (30S) рибосомы.
- в) Ингибиторы функций больших субъединиц (50S) рибосомы.
- г) Ингибиторы внерибосомных функций.

3. Защищающие синтез нуклеиновых кислот.

Мы знаем, что антибиотики на вирусы не действуют. Антибиотики нацелены на клетку – бактериальную, грибную или, скажем, раковую; в ней они портят важные молекулярные процессы, без которых клетка жить не может. Но вирусы – не клетки, это просто комплекс белков и нуклеиновых кислот. Понятно, почему к антибиотикам они нечувствительны.

### 1.2.2 Функциональные группы антибиотиков.

У антибиотиков существуют функциональные группы.

Функциональная группа – это структурный фрагмент молекулы, характерный для данного класса органических соединений. Этот элемент определяет его химические свойства.

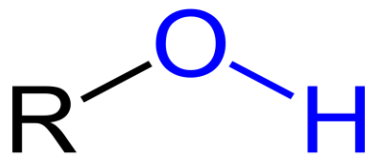
Иногда в качестве функциональных групп рассматривают одиночные атомы металлов и неметаллов, а также заместители, содержащие двойные связи алкенов, тройные связи алкинов, р-электронные системы сопряженных диенов и ароматич. углеводородов и др.

Примеры функциональных групп: азидная, гидроксильная, карбонильная, карбоксильная, азогруппа, аминогруппа. В антибиотиках, которые использовались в работе: ванкомицин, эритромицин, гентамицин, цефтриаксон, пенициллин, сульфаметоксазол присутствуют :

1. гидроксогруппа,
2. карбонильная,
3. карбоксильная,
4. аминогруппа,
5. амидная,
6. сульфагруппа,

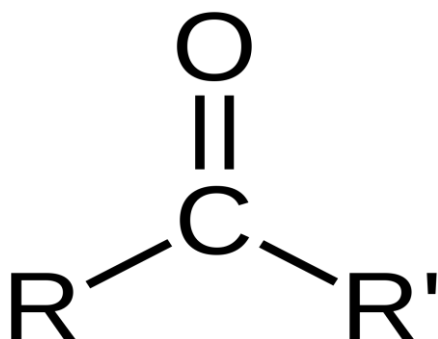
Это основные функциональные группы.

*Гидроксогруппа*



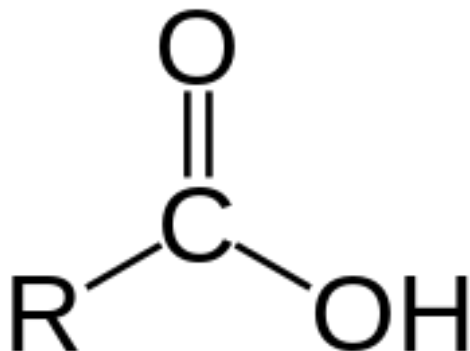
В органической химии группа носит название «спиртовая группа». Атом кислорода обуславливает поляризацию молекулы спиртов. Относительная подвижность атома водорода приводит к тому, что низшие спирты вступают в реакции замещения с щелочными металлами. [6]

*Карбонильная группа*



Входит в состав альдегидов, кетонов, карбоновых кислот, хлорангидридов карбоновых кислот, их ангидридов и амидов. Атом углерода в этой группе  $sp^2$ -гибридизован, чем обусловлена химическая активность группы. [7]

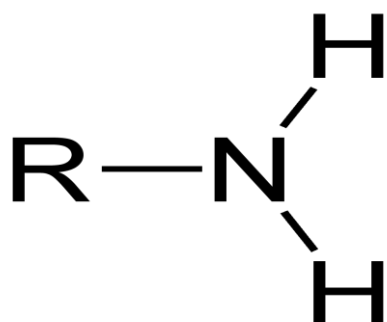
*Карбоксидная группа*



Карбоксильная группа сочетает в себе 2 функциональные группы- карбонил и гидроксил, взаимно влияющие друг на друга. Это влияние передается по системе сопряжения  $sp^2$ -атомов O-C-O.

Группа  $-COOH$  за счет положительного заряда на атоме углерода снижает электронную плотность на связанном с ней углеводородном радикале, т.е. является по отношению к нему электроноакцепторным заместителем. [8]

*Аминная группа*



Наличие в молекуле аминокислоты функциональной аминной группы, обуславливает специфические реакции протекающие по этой группе. Это:

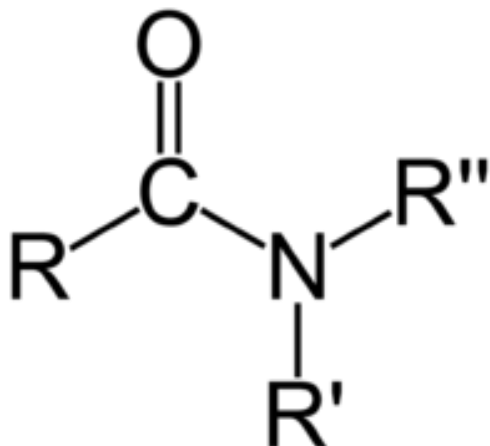
Реакция ацилирования

2. Алкилирование аминокислоты по аминногруппе

Дезаминирование под действием азотной кислоты

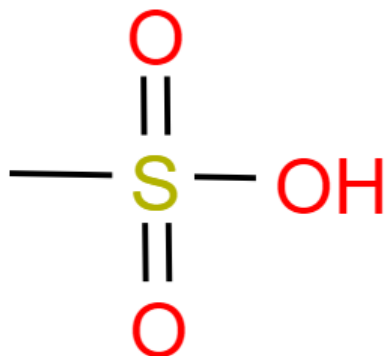
Взаимодействие с альдегидами

### Амидная группа



Амиды представляют собой производные карбоновых кислот функционального характера, в молекулах которых произошло замещение аминогруппой гидроксильную группу карбоксила. Амиды образуются при ацилировании аммиака и аминов ангидридами или сложными эфирами. Также амиды обладают самой низкой ацилирующей способностью и гидролизуются намного труднее, чем другие производные кислот. Гидролиз амидов производится в присутствии кислот или оснований.

### Сульфогруппа



*Метильный радикал*

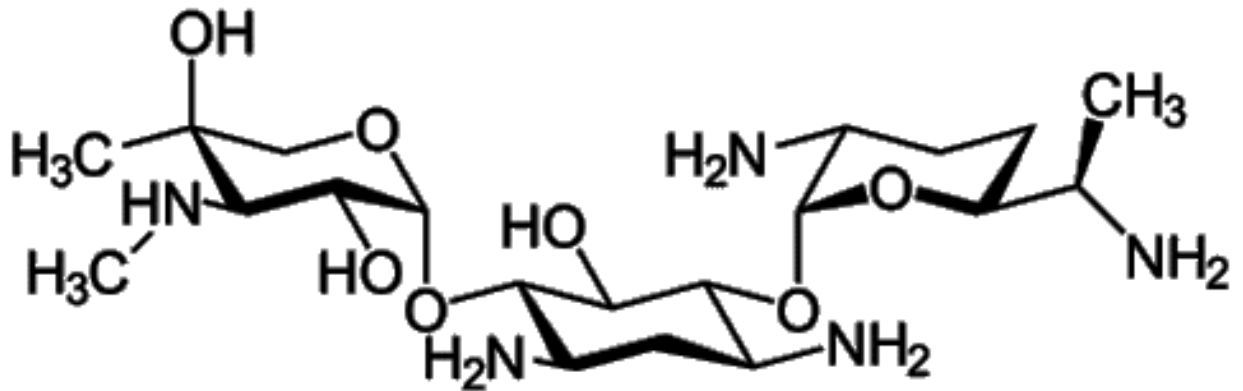


*Галоген-радикал -Cl, -Br, -I.*

Биологическую активность галогенидов связывают, с одной стороны, с их высокой растворимостью в жировых тканях и липидах и, с другой стороны, с высокой химической активностью.

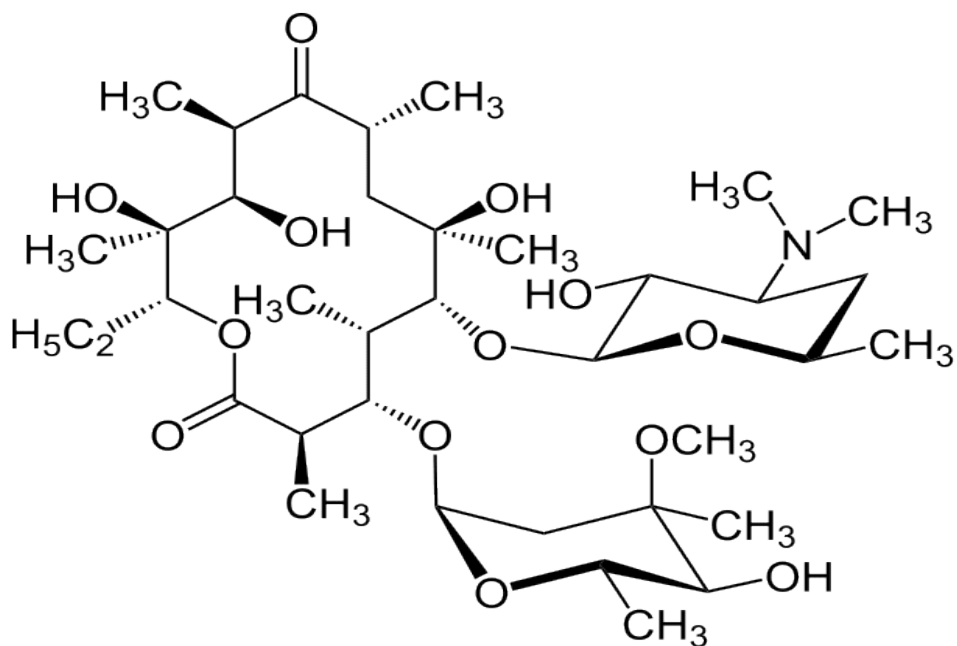


### *Гентамицин*



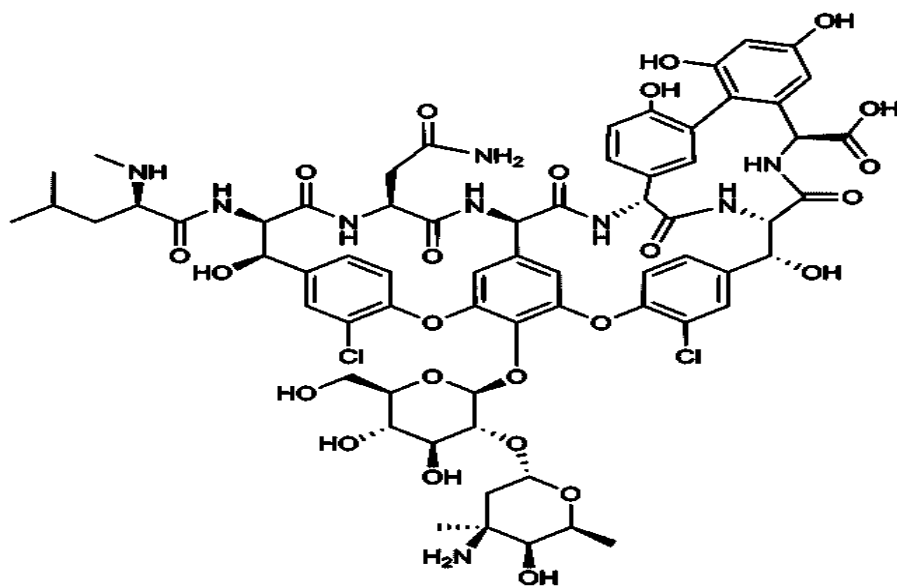
Гентамицин мешает жизнедеятельности бактерии. Мешает ей синтезировать белок, за счет того, что образует комплекс с рибосомой, таким образом, нарушается синтез РНК, и бактерия начинает производить нефункциональные белки, в больших концентрация разрушает оболочку бактерии. Антибиотик эффективен в отношении многих грамположительных и грамотрицательных бактерии. Резистентность микроорганизмов к гентамицину развивается медленно, однако штаммы, устойчивые к неомицину и канамицину, могут проявлять устойчивость также и к гентамицину. Не действует на анаэробы, грибы, вирусы и простейшие. 9] .

## Эритромицин



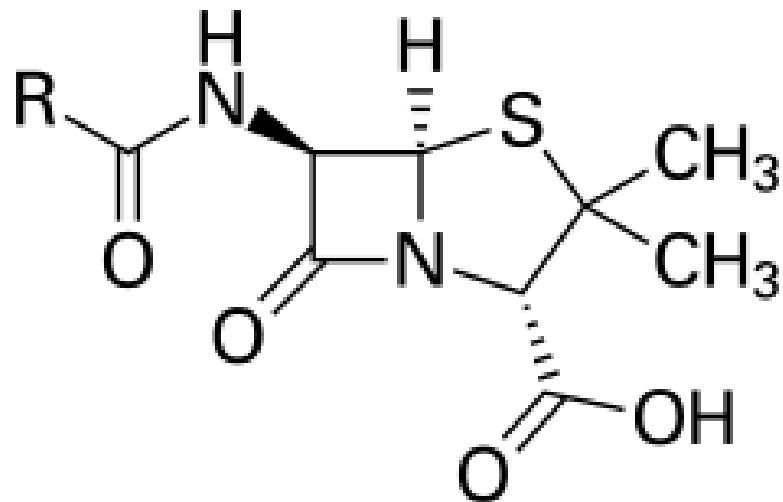
Антибиотик блокирует синтез белков чувствительных микробных клеток, т.к нарушает процесс транслокации и образование пептидных связей между молекулами аминокислот. Эритромицин применяется при заболеваниях верхних и нижних дыхательных путей, атипичной пневмонии. Данный антибиотик может быть назначен при коронавирусной инфекции. Эритромицин- кристаллический порошок белого цвета без запаха, горько вкуса. Растворим в спирте. [9] .

## *Ванкомицин*



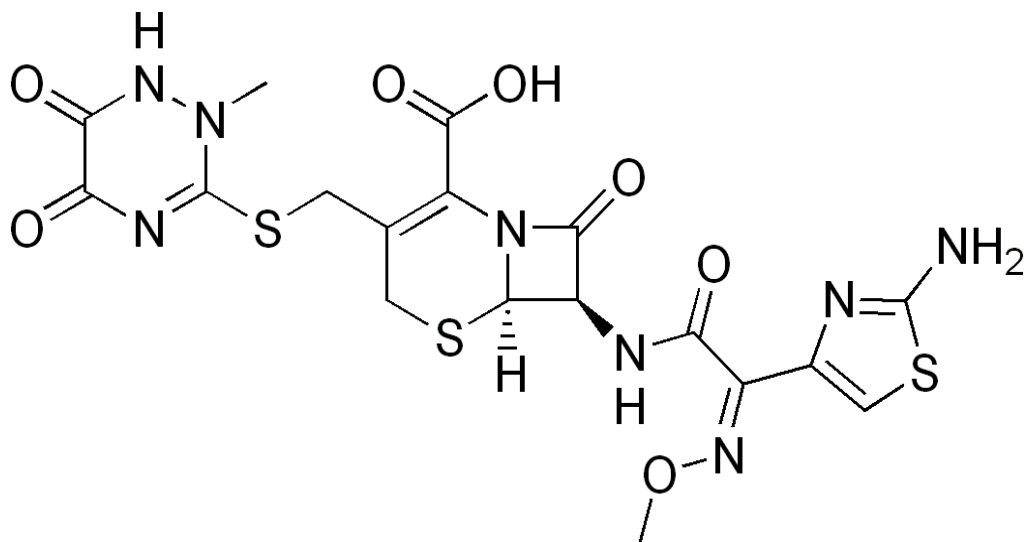
Ванкомицин ингибирует формирование и повышает проницаемость у клеточной стенки бактерии, нарушает синтез РНК. Активен в отношении аэробных грамположительный микроорганизмов. Данный антибиотик назначается при инфекционно-воспалительных заболеваниях, вызванных чувствительными к ванкомицину возбудителями. Ванкомицин растворим в воде, слабо- в высших спиртах, ацетоне и эфире.[9]

## *Пенициллин*



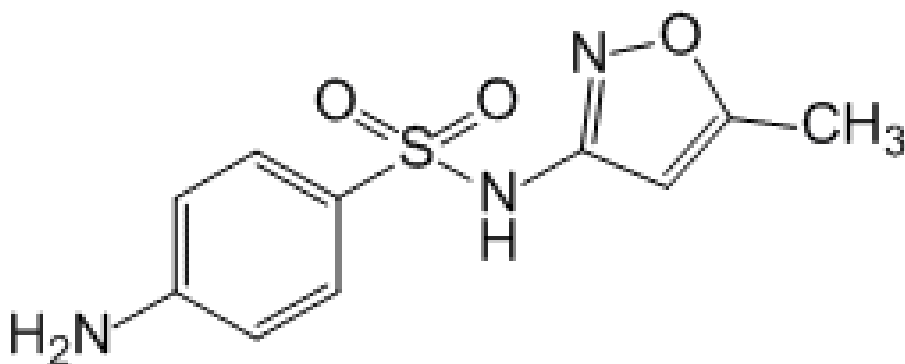
Группа антибиотиков, продуцируемых многими видами плесеней рода *Penicillium*, активных в отношении большинства грамположительных, а также некоторых грамотрицательных микроорганизмов. Пенициллины относятся к бета-лактамым антибиотикам. Пенициллины применяют при инфекциях, вызванных чувствительными к ним возбудителями. Преимущественно они используются при инфекциях верхних дыхательных путей, при лечении ангины, скарлатины, отита, сепсиса, сифилиса, гонореи, инфекций ЖКТ, инфекций мочевыводящих путей и др. [9]

### *Цефтриаксон*



Обладает активностью в отношении большинства штаммов микроорганизмов, однако, безопасность и эффективность цефтриаксона при лечении заболеваний, вызванных этими микроорганизмами, в адекватных и хорошо контролируемых клинических испытаниях не установлена. Может действовать на мультирезистентные штаммы, толерантные к пеницилинам и цефалоспорином первых поколений и аминогликозидам. [9]

### *Сульфаметоксазол*



Механизм действия обусловлен двойным блокирующим влиянием на метаболизм бактерий. Сульфаметоксазол, сходный по строению с ПАБК, захватывается микробной клеткой и препятствует включению ПАБК в молекулу дигидрофолиевой кислоты. [9]

## **Глава 2. Практическая часть.**

Практическая часть работы выполнялась диско диффузионным методом. В качестве питательной среды был взят мясопептонный агар. Это простая питательная среда для культивирования большинства микроорганизмов. После заполнения чашки Петри питательной средой, ее оставили при комнатной температуре для застывания. Для работы в питательную среду поместили сенную палочку.

### **2.1 Сенная палочка**

Сенная палочка одна из самых изученных прокариот с точки зрения клеточной биологии. Бактерия является представителем грамположительных, и каталазо-положительных бацилл, встречается обычно в земле. Она способна проникать внутрь растения и жить там как симбиотические бактерии. То есть, не нанося урона растению, она населяет его внутри тканей, и дальше она способствует росту вегетативной, и в большей степени, корневой массы, одновременно отбивая атаки болезнетворных организмов.

Сенная палочка выделяет в растворы природные антибиотические вещества, поэтому все препараты очень хорошо использовать для опрыскивания. [10]

### **2.2 Ход работы**

Для определения чувствительности ДДМ следует использовать только стандартизированные качественные диски с антибиотиками. Для получения правильных результатов определения чувствительности ДДМ необходимо строго соблюдать правила хранения и использования коммерческих дисков, в противном случае содержание в них антибиотиков может снизиться ниже допустимого уровня еще до истечения срока годности.

Так как нам необходимо было сравнить действие антибиотика и его комплекса с интерфероном, на левую сторону чашки Петри перед помещением тех же трех антибиотиков был нанесен интерферон 2b человеческий рекомбинантный.

Интерферон представляет собой высокоочищенный рекомбинантный протеин с молекулярной массой 19 300 дальтон. Получен из клона *Escherichia coli* путем гибридизации плазмид бактерий с геном человеческих лейкоцитов, кодирующим синтез интерферона [11] .

По методическим указаниям посев сенной палочки с антибиотиками и интерфероном поместили в термостат. При температуре 35 градусов чашка Петри со всем содержимым находилась 29 часов.

После того, как посев достали из термостата были проведены измерения зон подавления микроорганизмов антибиотиками. По результатам действия антибиотиков и его комплекса с интерфероном были сделаны выводы.

Гентамицин – разница D зон подавления составила 1 мм. Учитывая то, что D зоны без интерферона составил 29 мм и 30 мм в комплексе, то микроорганизмы чувствительны к антибиотику, но интерферон не дал должного результата.

Ванкомицин - микроорганизмы умеренно резистентны к антибиотику. D зоны подавления составил 14 мм. Интерферон также не усилил действие антибиотика.

Эритромицин - комплекс дал отличный результат разница зон подавления микроорганизмов антибиотик с интерфероном и без составила 8мм.

Сульфаметоксазол- D зон подавления, с интерфероном и без, составила 28мм и 25 соответственно. Интерферон усилил действие антибиотика.

Такой же результат показал и цефтриаксон. D с интерфероном 22мм, без 19мм.

На сенную палочку никакого влияния не оказал пенициллин. Даже в комплексе с интерфероном зона подавления микроорганизмов антибиотиком была равна 0.

#### **Диско-диффузионный метод с молочнокислыми бактериями.**

Мы также провели опыт по воздействию этих же антибиотиков и комплексов на молочнокислые бактерии. Я предположила, что кислотность посевов молочнокислых бактерий выше, чем сенной палочки, поэтому синергетический эффект комплекса интерферон+ антибиотик будет ярче выражен. Мое предположение подтвердилось.

Активность антибиотиков, зоны подавления микроорганизмов остались практически неизменными  $\pm 1,5$  мм, но была выражена зона дальнейшей диффузии интерферона. Это позволило предположить, что между антибиотиком и интерфероном образуются не прочные связи.

### **2.3 Анализ клинических данных применения комплексной терапии антибиотика Сульфаметоксазола + интерферона альфа.**

Для анализа и статистики гематологических показателей применения комплекса антибиотик+интерферон мне были представлены данные кафедрой факультетной терапии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова (СПб). Наблюдения и диагностика военными медиками проводились при лечении больных с отягощенными хроническими формами гепатита С и раневыми инфекциями. Пациентами являлись граждане Сирийской арабской республики, поступившие на лечение в рамках оказания гуманитарной помощи пострадавшим в результате военных действий. Лечение проводилось с августа 2017 по апрель май 2018 года.

Так как пострадавшие долгое время находились в условиях чрезвычайной гуманитарной ситуации, в отсутствии приемлемой медицинской помощи, при дефиците медикаментозных средств, то естественно развились отягощенные состояния организма.

Для иллюстрации приведу пример диагноза истории болезни: Больная А. №4, возраст 43года. Диагноз: вирусный гепатит С, хронический эзофагит – воспалительное поражение внутреннего слоя пищевода, хронический холецистит, хронический пиелонефрит, посттравматическая энцефалопатия, инфицированный свищ на месте удаления осколка из мягких тканей брюшной стенки.

Другие больные, данные диагностики которых я выбрала, были со сходными диагнозами. У всех из наблюдаемой группы был хронический гепатит С, осложнённый воспалительными процессами бактериальной природы и все имели в диагнозе инфицированные раны без проникновения в полости.

Критериями статистической выборки являлись состояние пациентов и проводимое лечение.

А именно: 1. Применение в лечении только терапевтических методов, без кардинального хирургического вмешательства, 2. Показания к применению интерферона альфа в



комплексе с антибиотиком сульфаметоксазол. Такими критериями я руководствовалась для того, чтобы исключить присутствие и влияние других препаратов в организме на действие комплекса альфа-интерферон +антибиотик и их действие на вирус и бактерии.

Для анализа были взяты гематологические данные в динамике.

Были выбраны истории болезни 9 человек: 6 мужчин и 3-х женщин, возраст от 42 до 48 лет. По показаниям больные получили следующее лечение:

**Альфаинтерферон** – 6млн.ед. 3 раза в неделю, +рибавирин 15мг/кг/сут. Длительность лечения 24 недели, с контролем гематологических показателей через 12 месяцев от начала лечения.

**Сульфаметоксазол/Триметоприм** – в/м 120 мг/кг/сут с интервалом 6 ч в течение 14 дней.

Результаты лечения. В процессе лечения альфафероном у 7больных через месяц вирус гепатита С в крови не определялся, через две недели тестирование еще двух больных также дало отрицательный результат на наличие вируса гепатита С в крови. С 6-8 й недели лечения у всех пациентов статистической группы наблюдалась ремиссия( заживление) инфицированных ран и поражений. В дальнейшем у 100% наблюдаемых происходили восстановительные процессы и улучшение состояния здоровья. Это иллюстрируют данные гематологического анализа ( таб.№3) вышеуказанной больной А №4.

#### **2.4 Физико-химический анализ ассоциативного эффекта в смешанных водных растворах интерферона и антибиотика сульфаметоксазола.**

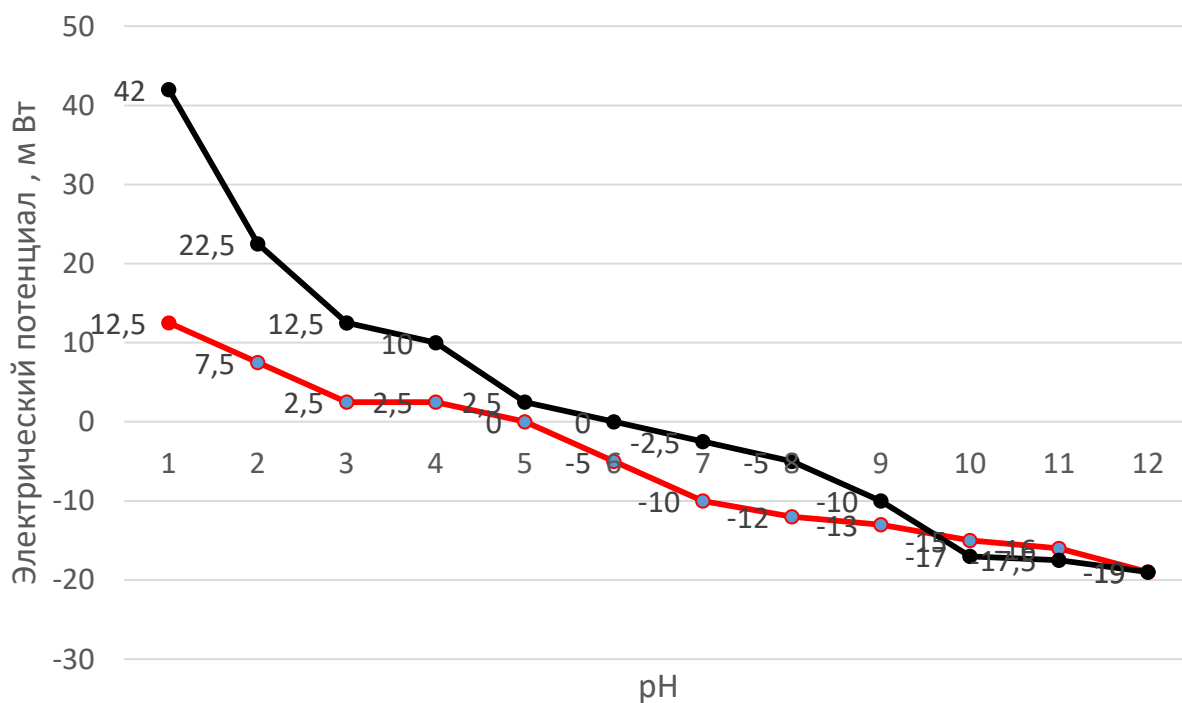
В результате наших экспериментов мы выдвинули гипотезу, что в растворе между молекулами антибиотика и интерферона образуются ассоциативные гидрофобные связи, на которые влияет рН среды. В посеве молочнокислых бактерий диффузия пары- интерферон +антибиотик была ярче выражена, т.к кислотность среды была выше, чем в колониях сенной палочки. Анализ смесей, содержащих интерферон и другой лекарственные препараты, позволяет прогнозировать механизм протекания некоторых биохимических процессов, разрабатывать новые рецептуры лечения.

1. Необходимо было выяснить наличие межмолекулярного воздействия в растворах индивидуальных соединений и их смесей. Для изучения взаимодействия молекул

смешанных растворов был выбран метод кондуктометрии (Кондуктометрический детектор CDD-10Avp , Shimadzu)

2. Знание поведения белковых молекул в разнополярных средах позволяет моделировать биологические и биохимические процессы, протекающие в живых организмах. Образование ассоциативного комплекса сульфаметоксазол + интерферон подтверждается изменением изоэлектрической точки интерферона. Это подтверждает кондуктометрические график. Физикохимический анализ проводился в лаборатории центра «Аналит» СПб.

### Зависимость электрического потенциала молекул интерферона от рН.



Скорее всего активность антибиотика усиливается за счет действия интерферона на поверхности мембраны клетки бактерии. В этом случае интерферон выступает как поверхностно активное вещество и далее позволяет антибиотику лучше проникать в клетку бактерии.

Однако в живом организме действие интерферона разнонаправлено. Интерферон оказывает влияние на лейкоциты, программирует Т-киллеры, вызывает иммунную реакцию на клеточном уровне. Соответственно, практика применения интерферонов совместно с антибиотиками должна быть подробно изучена, исследована в биохимическом аспекте. В

медицинской литературе имеются данные о токсической иммунной реакции при применении интерферонов. По этой и другим причинам исследование интерферонов проводилось непостоянно, периодически. В настоящее время рецептуры комплексного применения интерферонов совместно с другими препаратами находятся в стадии разработок. Клинических данных крайне мало.

В тоже время глобальная современная эпидемиологическая обстановка подталкивает нас к изучению терапии интерферонами, т.к препараты интерферона программируют противовирусный клеточный иммунитет и являются перспективным средством в лечении вирусных инфекций.

### **Выводы.**

Исходя из нашего опыта, воздействия на посев бактерий комплексом антибиотик+интерферон можно сделать некоторые выводы:

1. Антибиотическая активность комплекса интерферон + антибиотик может быть связана с образованием химических связей, так как в опыте исключена была культура клеток фагоцитов и наличие вируса, на которые бы воздействовал интерферон по известным механизмам.
2. Работа комплекса связана с активными центрами молекул антибиотика.
3. Не все антибиотики входят в сопряженное взаимодействие с интерфероном.
4. Анализ клинических данных наглядно показывает, что интерферон не теряет своей иммуномодулирующей активности в ассоциации с антибиотиком.
5. Применение интерферона у больных с вирусной и бактериальной нагрузкой, а также больных КОВИД -19 перспективно, так как в короткие сроки снижает вирусную нагрузку на организм и усиливает терапевтический эффект противобактериального лечения.

В связи с данными выводами составила дальнейший план исследования:

1. Провести спектральный анализ препаратов по отдельности и в комплексе.
2. По возможности( из за пандемических ограничений) получить для анализа статистические клинические данные о применении интерферона и антибиотиков.
3. Провести опыты с воздействием комплекса на различные виды бактерий, а именно на молочнокислые бактерии, так как в их посеве можно наблюдать разные формы и лактобациллы и стрептококки.

### **Заключение.**

В своей работе я использовала различные методы исследования, комплексный подход.

Исходя из того, что интерферон является противовирусным препаратом, он работает вне клетки. В то время как антибиотик воздействует на мембрану клетки либо нарушает биохимические процессы внутри самой клетки. Мы исключили возможность работы

интерферона в опытах с посевами, но активность антибиотиков усилилась. Соответственно был сделан вывод, что интерферон и некоторые антибиотики образуют ассоциативные комплексы в смешанных водных растворах - это доказывает усиление воздействия на колонии бактерии.

В дальнейших исследованиях была подтверждена наша гипотеза о наличии ассоциативных связей. Нами запланирован еще ряд анализов по исследованию комплексов взаимодействия интерферона и антибиотиков. Считаю, что интерферонотерапия имеет большой потенциал как средство лечения и профилактики вирусных инфекций, в том числе и при COVID-19.

### Литературные источники

1. П. О. Шатунова, А. С. Быков, О. А. Свитич «Ангиотензинпревращающий фермент»
2. Подходы к патогенетической терапии COVID-19", Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии №4, 2020г.
- 3..Chen Z.M. et al. /// Diagnosis and treatment recommendations for pediatric respiratory infection caused by the 2019 novel coronavirus // World Journal of Pediatrics. – 2020 – 1–7.
4. Жмайлик Р.Р. "Патоморфологические особенности регенерации ран при местном применении рекомбинантного интерферона  $\alpha 2\beta$  в эксперименте", журнал Смоленский медицинский альманах, 2017
5. Зубков М.Н, д.м.н, профессор, «Антибиотики в операционной зоне», журнал Медицина для всех № 5 (11), 1998
6. Химическая энциклопедия на XuMuk.ru <https://xumuk.ru/encyklopedia/>
- 7 . Фримантл М. Химия в действии в 2-х ч. Пер. с англ. — М.: Мир, 1998 - 620 с.
8. Дерябина Г.И., Кантария Г.В., Грошев Д.И. Органическая химия: веб-учебник, 1998—2021
9. Машковский М.Д « Лекарственные средства» (16-е изд.) 2020г.
10. Русских И.И «Сенная палочка: особенности применения» 2016 г.
11. Электронный Справочник лекарственных средств «Видаль»

<https://www.vidal.ru/>

12. Арзамасцев А. П. Фармацевтическая химия, М: ГЭОТАР-МЕД, 2004. — 640 с.
13. Носков Я. А. «Клинико-лабораторная особенности течения миелопролиферативных неоплазий на фоне различных видов интерферонотерапии.» , Санкт-Петербург 2016 год.
14. Замчук Л. А. «Питательные среды», Большая медицинская энциклопедия, 3-е изд. — Москва, Советская энциклопедия.
15. Киенская К.И. к.х.н., Е.В. Ильюшенко к.х.н. химико-фармацевтических и косметических средств РХТУ  
им. Д.И. Менделеева, Белова И.А. к. х. н. доцент кафедры коллоидной химии РХТУ  
им. Д.И. Менделеева «"Синергетические эффекты в смешанных водных растворах рибаверин- интерферон." Сеченовский вестник № 3(29) 2017 г.
16. Вестник Российской Военно-Медицинской Академии 2017г

## Приложения.

**Таблица №1.**

<b>Антибиотик</b>	<b>Ванкомицин</b>	<b>Эритромицин</b>	<b>Гентамицин</b>
<b>D диска антиб.</b>	<b>5мм</b>	<b>5мм</b>	<b>5мм</b>
<b>D зоны п.м с интерфероном</b>	<b>14мм</b>	<b>28мм</b>	<b>32мм</b>
<b>D зоны п.м без интерферона</b>	<b>14мм</b>	<b>21мм</b>	<b>30мм</b>

**Таблица №2.**

<b>Антибиотик</b>	<b>Цефтриаксон</b>	<b>Сульфаметоксазол</b>	<b>Пенициллин</b>
<b>D диска антиб.</b>	<b>5мм</b>	<b>5мм</b>	<b>5мм</b>
<b>D зоны п.м с интерфероном</b>	<b>22мм</b>	<b>28мм</b>	<b>0мм</b>
<b>D зоны п.м без интерферона</b>	<b>19мм</b>	<b>25мм</b>	<b>0мм</b>

**Таблица №3. Динамика лабораторных показателей.**

<b>Показатель</b>	<b>Даты</b>					
	<b>18.08.2017г.</b>	<b>20.09</b>	<b>23.11</b>	<b>18.01.2018г.</b>	<b>21.04.</b>	<b>Контроль 22.08.2018</b>
<b>Эритроциты, <math>\times 10^{12}/л</math></b>	<b>4,12</b>	<b>4,1</b>	<b>3,8</b>	<b>4,06</b>	<b>4,3</b>	<b>4,67</b>
<b>Гемоглобин, г/л</b>	<b>123</b>	<b>115</b>	<b>107</b>	<b>118</b>	<b>121</b>	<b>122</b>
<b>Тромбоциты, <math>\times 10^9/л</math></b>	<b>320</b>	<b>323</b>	<b>333</b>	<b>359</b>	<b>345</b>	<b>335</b>
<b>Лейкоциты, <math>\times 10^9 /л</math></b>	<b>4,3</b>	<b>2,6</b>	<b>3,2</b>	<b>3,6</b>	<b>4,1</b>	<b>4,7</b>
<b>Нейтрофилы с\я %</b>	<b>49</b>	<b>40</b>	<b>48</b>	<b>53</b>	<b>65</b>	<b>64</b>
<b>Лимфоциты %</b>	<b>48</b>	<b>48</b>	<b>38</b>	<b>40</b>	<b>26,4</b>	<b>29</b>

ПЦР, HCV RNA генотип 3ab, вирусная нагрузка	8,9 x 10 <sup>5</sup> копий/мл	Отрицат.	Отрицат.	Отрицат.	Отрицат.	Отрицат.
--	-----------------------------------	----------	----------	----------	----------	----------

**Таблица №4.**

Антибиотики	Группа антибиотика	Влияние интерферона	
		Усиливает	Не влияет
Гентамицин	Аминогликозид		✓
Эритромицин	Макролид	✓	
Ванкомицин	Трициклический гликопептид		✓
Цефсон	Цефалоспориновые	✓	
Пенициллин	Бета-лактамы		✓
Сульфаметоксазол	Сульфаниламид	✓	