РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** (11) **2 665 950** (13) **C2**

(51) МПК
A61P 7/04 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
A61K 31/7036 (2006.01)
A61K 38/04 (2006.01)
A61K 47/38 (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

Статус: действует (последнее изменение статуса: 05.09.2018)

(21)(22) Заявка: **2016131840, 02.08.2016**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
02.08.2016

Дата регистрации:
05.09.2018

Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: **02.08.2016**

(43) Дата публикации заявки: **05.02.2018** Бюл. № 4

(45) Опубликовано: **05.09.2018** Бюл. № 25

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **Kanko M. et al. Low-Cost and Simple Method to Stop Intraoperative Leakage-Type Bleeding: Use of the Vancomycin-Oxidized Regenerated Cellulose (ORC) Sandwich / Journal of Investigative Surgery, 2006, Vol.19, N.5, pp.323-327. Азаров В.И., Буров А.В., Оболенская А.В. Химия древесины и синтетических полимеров - СПб.: СПбЛТА, 1999, - 628 с.**

Адрес для переписки:
630055, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, 15, ФГБУ "НМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина" Минздрава России

(72) Автор(ы):
Черняк Елена Ильинична (RU),
Таркова Александра Романовна (RU),
Ткачёва Наталья Ивановна (RU),
Родионов Владимир Иванович (RU),
Карпова Елена Викторовна (RU),
Морозов Сергей Владимирович (RU),
Григорьев Игорь Алексеевич (RU),
Чернявский Александр Михайлович (RU)

(73) Патентообладатель(и):
федеральное государственное бюджетное учреждение "Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ "НМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина" Минздрава России) (RU),
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН) (RU)

(54) **Гемостатическое антибактериальное средство, способ его получения, медицинское изделие на основе гемостатического антибактериального средства**

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к гемостатическому антибактериальному средству, его применению, способу получения, к медицинскому изделию на основе антибактериального средства и его применению, причем гемостатическое антибактериальное средство представляет собой супрамолекулярный комплекс в виде порошка, содержащий окисленную порошковую целлюлозу и ванкомицин, связанные посредством нековалентных межмолекулярных водородных связей, в котором содержание ванкомицина составляет от 20 до 40 мас. %. Изобретение обеспечивает получение устойчивого супрамолекулярного комплекса. 5 н. и 8 з.п. ф-лы, 2 ил., 2 табл., 3 пр.

Изобретение относится к медицине, а именно к гемостатической антибактериальному средству, содержащему полисахарид, связанный с антибиотическим средством, способу его получения, а также относится к изделиям медицинского назначения, использующим полисахариды, связанные с антибиотическими средствами. Предназначено для остановки кровотечений в

хирургии, в том числе абдоминальной хирургии, сердечно-сосудистой хирургии, урологии, травматологии, кардиохирургии, торакальная хирургии, нейрохирургии. Может использоваться для остановки диффузных кровотечений из паренхиматозных органов, сосудистых анастомозов и из губчатых, плоских, смешанных костей, а также для оказания местного антисептического действия и регенерации поврежденных тканей.

Диффузное кровотечение во время операции и присоединение внутрибольничной инфекции в послеоперационном периоде - одни из самых актуальных проблем в хирургии. По данным мировой литературы кровотечение увеличивает сроки госпитализации в среднем на 4 дня, а стоимость лечения - на 20%. Быстрая остановка кровотечения приводит к сокращению времени проведения операции, улучшению ее результатов, снижению риска возникновения осложнений и значительному уменьшению расходов. Существующие на сегодняшний день методы борьбы с кровотечением имеют ряд существенных недостатков: диатермоэлектрокоагуляция приводит к ожогу тканей, системное переливание компонентов крови может сопровождаться инфекционными и иммунными осложнениями, а местные кровоостанавливающие средства не в полном объеме удовлетворяют требованиям хирургов. Гемостатические материалы на основе фибрина, ввиду своего животного происхождения, могут привести к возникновению анафилактической реакции на их использование [Beierlein W, Scheule AM, Dietrich W, Ziemer G. Forty years of clinical aprotinin use: a review of 124n hypersensitivity reactions. Ann Thorac Surg 2005; 79: 741-748.]. Также в литературе описаны случаи эмболии альбумин-содержащих гемостатических материалов при их использовании, что в итоге приводило к обширным инфарктам миокарда [Mahmood Z, Cook DS, Luckraz H, O'Keefe P. Fatal right ventricular infarction caused by Bioglue coronary embolism. J Thorac Cardiovascr Surg 2004; 128: 770-771.], острой ишемии нижних конечностей [Bernabeu E, Castella M, Barriuso C, Mulet J. Acute limb ischemia due to embolization of biological glue after repair of type A aortic dissection. Interact Cardiovasc Thorac Surg 2005; 4: 329-331.] Побочные эффекты от воздействия гемостатических материалов на основе коллагена встречаются редко и чаще всего включают в себя аллергические реакции, образование спаек и ингибирование заживления послеоперационных ран. Костный воск представляет собой материал, который трудно абсорбируется организмом. В экспериментах, различными авторами было выявлено, что костный воск является одним факторов риска возникновения стернальной инфекции, и его использование ингибирует регенерацию костной ткани, тем самым препятствуя заживлению грудины [Wellisz T, Armstrong J.K, Cambridge J, et al. The effects of a soluble polymer and bone wax on sternal healing in an animal model. Ann Thorac Surg 2008; 85:1776-80.].

Не менее остро стоит проблема профилактики внутрибольничных инфекций. Увеличение числа гнойных осложнений в послеоперационном периоде у больных после плановых хирургических вмешательств. Риск присоединения инфекции значительно повышается при использовании имплантируемых устройств медицинского назначения, таких как внутривенные и артериальные катетеры, материалы для остеосинтеза, протезы и другие изделия, которые создают входные ворота для патогенов во время контакта с тканями и жидкостями организма. Не менее актуальной является проблема реинфицирования раневых поверхностей госпитальными штаммами с рук медицинского персонала, постельного белья, шовного и перевязочного материала в группах больных в отделениях интенсивной терапии и др. В условиях строгого контроля за внутрибольничной инфекцией гнойные осложнения в области хирургического разреза регистрируются в 33-38%.

Потенциальное решение проблемы диффузных кровотечений и присоединения внутрибольничной инфекции в послеоперационном периоде состоит в том, чтобы одновременно во время операции применять комбинацию антибиотиков и кровоостанавливающих средств.

В патенте РФ №2034572 предложена гемостатическая губка на основе коллагена и гидроксиапатита и может дополнительно содержать гентамицин или линкомицин. Недостатком данной композиции является использование антибиотиков гентамицина или линкомицина, которые не эффективны в отношении частых возбудителей внутрибольничных инфекций, таких как MRSA (Staphylococcus aureus, устойчивые к

метициллину), MRSE (Staphylococcus epidermidis, устойчивые к метициллину), энтерококки, резистентными к ампициллину и аминогликозидам (гентамицину), антибиотикорезистентный пневмококк (S. pneumoniae).

В патенте РФ №2188018 описано лекарственное средство, которое включает азитромицин стеарат магния микрокристаллическ целлюлозу. Недостатком данного средства является использование антибиотика азитромицина, который не эффективен в отношении частого возбудителя внутрибольничной инфекции - MRSA (Staphylococcus aureus, устойчивые к метициллину), микрокристаллическая целлюлоза обладает слабыми гемостатическими свойствами.

Известно применение пасты из антибиотика ванкомицина и физиологического раствора на грудине у кардиохирургических больных: статья Arruda M.V.F. et al. «The use of the vancomycin paste for sternal hemostasis and mediastinitis prophylaxis» [Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular. - 2008. - Т. 23. - №. 1. - С. 35-39] и статья Lazar H.L. et al. «Topical vancomycin in combination with perioperative antibiotics and tight glycemic control helps to eliminate sternal wound infections» [The Journal of thoracic and cardiovascular surgery. - 2014. - Т. 148. - №. 3. - С. 1035-1040] Недостатком данного метода является отсутствие в составе пасты гемостатического компонента, что не позволяет в должной мере остановить кровотечение из губчатого вещества грудины после ее продольного рассечения.

Описано (Kanko M., Liman T., Topcu S. «A Low-Cost and Simple Method to Stop Intraoperative Leakage-Type Bleeding: Use of the Vancomycin-Oxidized Regenerated Cellulose (ORC) Sandwich» [Journal of Investigative Surgery. - 2006. - Т. 19. - №. 5. - С. 323-327]) использование гемостатической марли на основе окисленной целлюлозы и антибиотика ванкомицина в виде «Сэндвича» (порошок ванкомицина помещают между двумя слоями окисленной целлюлозы в виде марли). Недостатком данного метода является неравномерность распределения антибиотика ванкомицина по поверхности гемостатической марли, что повышается риск развития инфекции и воспаления, а также длительность остановки кровотечения.

Известно биодеградируемое гемостатическое лекарственное средство для остановки капиллярных и паренхиматозных кровотечений в форме микроволокна, состоящего из диальдегидцеллюлозы с химически иммобилизованными на ней фактором свертывания крови эпсилонаминокапроновой кислотой и бактериолитическим ферментом лизоцимом (патент РФ №2522879). Недостатком данного средства является использование бактериолитического фермента лизоцима, который не эффективен в отношении частого возбудителя внутрибольничной инфекции - MRSA (Staphylococcus aureus, устойчивые к метициллину).

Наиболее близким техническим решением заявляемого изобретения является противомикробная композиция, содержащая комплекс окисленной регенерированной целлюлозы, ковалентно связанной с гентамицином (патент РФ №2465917). Недостатком данной композиции является использование антибиотика гентамицина, который обладает потенциальной нефротоксичностью, ототоксичностью и может вызывать нервно-мышечную блокаду. Данный антибиотик не эффективен против частых возбудителей внутрибольничных инфекций, таких как MRSA (Staphylococcus aureus, устойчивые к метициллину), MRSE (Staphylococcus epidermidis, устойчивые к метициллину), энтерококки, резистентными к ампициллину и аминогликозидам (гентамицину), антибиотикорезистентный пневмококк (S. pneumoniae).

Задачей изобретения является получение эффективного кровоостанавливающего средства, обладающего бактерицидными свойствами, включающего ванкомицин и окисленную целлюлозу, создание гемостатического антибактериального средства, которое может применяться отдельно и в виде медицинского изделия на основе этого средства.

Техническим результатом заявляемого изобретения является получение устойчивого супрамолекулярного комплекса способом иммобилизации ванкомицина на окисленной целлюлозе. Таким образом получено эффективное местное гемостатическое антибактериальное средство и медицинское изделие на его основе, обладающие эффективным гемостатическим и бактерицидным действием, исключающие инфекционные осложнения в послеоперационный период, вызванные грамположительной флорой, обладающие такими свойствами, как нетоксичность и

биосовместимость.

Гемостатическое антибактериальное средство может применяться отдельно и в виде медицинского изделия на основе композиции, например, пасты.

Задача решается иммобилизацией ванкомицина на окисленной порошковой целлюлозе. Для улучшения иммобилизации и образования более устойчивых и стабильных супрамолекулярных комплексов добавлена стадия набухания окисленной целлюлозы в воде. Мягкие условия иммобилизации (pH ~3, температура 20-25°C) позволяют сохранить активность ванкомицина. Сначала готовят механическую смесь окисленной порошковой целлюлозы и ванкомицина на ножевом измельчителе роторного типа. Подготовленную механическую смесь добавляют в воду при перемешивании на магнитной мешалке, затем перемешивают в течение 16-20 часов при температуре 20-25°C. За время перемешивания происходит набухание окисленной целлюлозы и повышение доступности ее функциональных групп, что способствует иммобилизации ванкомицина на окисленной целлюлозе. Полученную суспензию центрифугируют в течение 15-20 минут при скорости 5500-6000 об/мин, затем осадок и центрифугат разделяют и высушивают при температуре 50-70°C в течение 6-8 часов, при этом центрифугат высушивают при перемешивании на магнитной мешалке с поддувом воздуха. Высушенные центрифугат и осадок, смешивают в ножевом измельчителе роторного типа и получают порошок, являющийся заявляемым гемостатическим антибактериальным средством - супрамолекулярным комплексом, содержащим окисленную целлюлозу, связанную с ванкомицином за счет нековалентных межмолекулярных водородных связей. Содержание ванкомицина в данном супрамолекулярном комплексе составляет от 20 до 40 мас. %. Показатель pH составляет 2.7-3.2. Средство обладает гемостатическими и антибактериальными свойствами и может применяться для остановки диффузных кровотечений из паренхиматозных органов, сосудистых анастомозов. Медицинское изделие на основе заявленного гемостатического антибактериального средства, содержащего окисленную целлюлозу, связанную с ванкомицином, и включающее стерильный растворитель представляет собой пасту. Стерильным растворителем является физиологический раствор или дистиллированная вода, содержание которых в медицинском изделии составляет от 44,4 до 66,6 мас. %. Паста (медицинское изделие) содержит от 33,3 до 55,5 мас. % гемостатического антибактериального средства. Данное медицинское изделие применяется для остановки диффузных кровотечений из губчатых, плоских, смешанных костей.

Гемостатическое антибактериальное средство, полученное предложенным способом, представляет собой однородные глобулы и представлено на фиг. 1а.: микрофотография окисленной целлюлозы, иммобилизованной ванкомицином (данные сканирующей электронной микроскопии, увеличение в 250 раз);

Для сравнительной характеристики на фиг. 1б. представлена микрофотография механической смеси окисленной целлюлозы и ванкомицина (данные сканирующей электронной микроскопии, увеличение в 250 раз);

Фиг. 2. Микрофотография комплекса окисленной целлюлозы с ванкомицином при смешивании с водой в соотношении 1:1. (данные сканирующей электронной микроскопии, увеличение в 500 раз)

Сущность изобретения иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1.

В ножевом измельчителе роторного типа в течение 2 мин готовят механическую смесь из 22,1 г окисленной порошковой целлюлозы и 7,3 г ванкомицина. В реакционный сосуд емкостью 250 мл наливают 130 мл воды и в течение ~ 5 минут при перемешивании на магнитной мешалке при температуре 20-25°C добавляют механическую смесь окисленной целлюлозы и ванкомицина. Полученную смесь перемешивают ~ 16 часов при температуре 20-25°C. За время перемешивания происходит набухание окисленной целлюлозы и происходит повышение доступности ее функциональных групп, что способствует иммобилизации ванкомицина на окисленной целлюлозе. Полученную суспензию центрифугируют 15 мин. при скорости 6000 об/мин. Осадок и центрифугат разделяют. Осадок высушивают до постоянного веса в фарфоровой чашке при температуре ~ 60°C в течение 6-8 часов. Надосадочный раствор (pH 2,9) высушивают в фарфоровой чашке при температуре ~

60°С в течение 6-8 часов и перемешивании на магнитной мешалке с поддувом воздуха. Высушенные центрифугат и осадок объединяют, перемешивают в ножевом измельчителе роторного типа. Получают порошок бледно-бежевого цвета, являющийся супрамолекулярным комплексом окисленной целлюлозы с иммобилизованным ванкомицином. Содержание ванкомицина в полученном гемостатическим антибактериальном средстве составляет 30% и является предпочтительным.

Методом гель-проникающей хроматографии определен молекулярный вес полученного комплекса, который составляет M_w 25±5 kDa.

В УФ-спектре комплекса присутствует полоса поглощения с λ_{max} 280 нм, что соответствует полосе поглощения фенольных фрагментов ванкомицина.

Данные элементного анализа комплекса, %: найдено C, 39.25; H, 4.72; N, 2.01; рассчитано C, 41.82; H, 5.10; N, 2.17. Полученные данные соответствуют комплексу окисленная целлюлоза: ванкомицин в соотношении 3:1.

По данным сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) (микроскоп ТМ-1000, Hitachi, Japan) комплекс представляет собой однородные глобулы размером до 150 мкм (Фиг. 1а). В отличие от этого на микрофотографии механической смеси окисленной целлюлозы и ванкомицина (Фиг. 1б) отчетливо наблюдаются ванкомицин в виде пластинчатых кристаллов и окисленная целлюлоза в виде глобул (диаметр от 40 до 150 мкм) и волокон (длина 70-100 мкм, диаметр 16-30 мкм). Таким образом, данные СЭМ однозначно свидетельствуют об образовании супрамолекулярного комплекса.

Поданным ИК-спектроскопии молекулы ванкомицина в комплексе связаны с ОЦ посредством нековалентных межмолекулярных водородных связей, на что указывает отсутствие явных полос поглощения карбоксилат-ионов ОЦ. Образование комплекса происходит, по-видимому, за счет водородных связей между карбоксильными и гидроксильными группами макромолекул окисленной целлюлозы и амидными, аминными, гидроксильными и карбоксильными группами ванкомицина. Образованию комплекса способствует разрыхление структуры ОЦ за счет набухания, что приводит к ослаблению межмолекулярных водородных связей и повышению доступности ее функциональных групп.

Полученный комплекс достаточно устойчив. При длительном перемешивании его с 20-ти кратным избытком воды не происходит высвобождение ванкомицина. При смешивании комплекса с водой в соотношении 1:1 образуется однородная пластичная масса (Фиг. 2).

Для биологических испытаний полученное средство стерилизуют радиационным облучением при следующих условиях: доза 10 kGy, E 2.45 Mev, f 15 Hz, I 200 mA.

Пример 2.

Для приготовления медицинского изделия 1 грамм гемостатического антибактериального средства, представляющего собой супрамолекулярный комплекс в виде порошка, помещают в стерильную емкость для смешивания. Далее добавляют 1 мл стерильного растворителя: воду или физиологический раствор и перемешивают с помощью стерильного инструмента до гомогенного состояния смеси. Соотношение сухого гемостатического антибактериального средства и растворителя составляет 1:1 (грамм : мл) и является предпочтительным. Состав перемешивают до тех пор, пока средство и растворитель не станут гомогенными. Показатель pH составляет 2.9.

Полученное медицинское изделие имеет густую консистенцию пасты. Присутствие остаточного порошкообразного средства не препятствует эффективности настоящего изобретения. Данное изделие готово к применению сразу после приготовления.

Пример 3.

В альтернативных вариантах осуществления настоящего изобретения объем растворителя может изменяться в пределах ±20% для корректировки консистенции пасты. При содержании в медицинском изделии гемостатического антибактериального средства 33,3 мас. % (1 грамм сухой композиции : 2 мл. растворителя) продолжительность времени набухания пасты длится до 15 минут. Показатель pH составляет 3.2.

Заявляемое гемостатическое антибактериальное средство применяется для остановки диффузных кровотечений из паренхиматозных органов, сосудистых анастомозов (абдоминальная хирургия, сердечно-сосудистая хирургия, урология и

др.). Изучение гемостатических свойств предлагаемого средства (далее «Композиция») проводили путем моделирования кровотечения из паренхиматозного органа и сравнения полученных результатов с показателями гемостатических материалов на основе окисленной целлюлозы в виде марли или порошка без добавления антибиотика. Животные были разделены на три группы: «Марля», «Порошок» и «Композиция» по 9 животных в каждой группе. В качестве хирургической модели использовали печень крысы линии WAG. Выполняли резаную рану длиной 10 мм, глубиной 3 мм. На раневую поверхность наносили гемостатический материал в соответствии с группой животных («Марля», «Порошок», «Композиция») и засекали время кровотечения. Время кровотечения определяли по прекращению истечения крови после очередного снятия гемостатического материала с поверхности раны. По окончании эксперимента операционная рана послойно ушивалась. Полученные результаты представлены в таблице №1.

Время кровотечения с использованием гемостатической марли на основе окисленной целлюлозы, гемостатического порошка на основе окисленной целлюлозы и заявленного гемостатического антибактериального средства («композиция»). Данные представлены как медиана (25; 75 процентиль).

Таблица 1.

	«МАРЛЯ» n=9	«ПОРОШОК» n=9	«КОМПОЗИЦИЯ» n=9
Время кровотечения (сек)	132 (90; 195)	36 (26; 39)	39 (28,5; 50)

Установлено, что в группе «Композиция» время кровотечения было достоверно ниже в 3,6 раз, чем в группе «Марля». Полученные данные свидетельствуют о выраженной гемостатической активности заявляемой композиции в отношении остановки диффузного кровотечения из паренхиматозного органа. Отсутствие воспаления в группе «Композиция» говорит о наличии антибактериальных свойств.

Заявляемое медицинское изделие на основе гемостатического антибактериального средства - супрамолекулярного комплекса применяется для остановки диффузных кровотечений из губчатых, плоских, смешанных костей (травматология, кардиохирургия, торакальная хирургия, нейрохирургия и др.). Изучение гемостатических свойств медицинского изделия на основе гемостатического антибактериального средства (далее «Медицинское изделие») проводили путем моделирования кровотечения из плоской кости и сравнения полученных результатов с показателями костного воска. В качестве хирургического модели использовали губчатое вещество грудины мини-свиньи. Животные были разделены на две группы: «Медицинское изделие», «Костный воск» по 10 животных в каждой группе. После выполнения срединной стернотомии на губчатое вещество грудины наносили гемостатический материал в количестве 1 грамма в соответствии с группой животных. Сверху накладывали марлевые салфетки и оставляли рану открытой в течение 60 минут. По прошествии указанного времени салфетки взвешивали на электронных настольных весах. Оценивали объем интраоперационной кровопотери (мг). По окончании эксперимента операционная рана послойно ушивалась. Полученные результаты представлены в таблице №2.

Таблица 2.

	«МЕДИЦИНСКОЕ ИЗДЕЛИЕ» n=10	«КОСТНЫЙ ВОСК» n=10
Объем кровопотери (мг)	6,95	12,79

Установлено, что в группе «Медицинское изделие» объем кровопотери был достоверно ниже в 1,8 раз, чем в группе «Костный воск». Полученные данные свидетельствуют о выраженной гемостатической активности медицинского изделия в отношении остановки кровотечения из губчатого вещества кости. При гистологическом исследовании срезов грудины через 3 недели после операции в группе «Костный воск» были обнаружены признаки воспаления: эпителиоидные клетки, фибробласты, фиброциты, большое количество плазматических клеток. В группе «Медицинское изделие» гистологических признаков воспаления не обнаружено. Элементы грануляционной ткани (фибробласты, макрофаги, нейтрофильные и эозинофильные лейкоциты, клетки лимфоидного ряда, тучные клетки, капилляры) также чаще обнаруживались в группе «Костный воск».

Отсутствие воспаления и элементов грануляционной ткани в группе «Медицинское изделие» говорит о наличии антибактериальных свойств медицинского изделия.

Антибактериальные свойства гемостатического антибактериального средства и медицинского изделия на основе этого средста подтверждаются проведенными исследованиями. Результаты сравнительной характеристики антибактериальной активности аптечного препарата Ванкомицин (V) и заявляемой композиции (далее «Ванкомицин содержащее средство» - VM) подтверждают антибактериальные свойства изобретения.

В качестве патогенных тест-штаммов использовали грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы, относящиеся к IV группе патогенности, из состава «Коллекции бактерий, бактериофагов и грибов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»» Роспотребнадзора. Для культивирования штаммов бактерий, применяемых в работе, использовали рыбный питательный агар (РПА, Оболенск, Россия), сердечно-мозговой агар (СМА, Difco, США), жидкую среду LB (бульон Миллера, Difco, США) и жидкую среду LB с добавлением 10% сердечно-мозгового бульона. Инкубирование клеток в жидкой среде проводили с использованием термостатированной качалки (КТ-4, Россия), при температуре 37°С и скорости вращения 160 об/мин. Титрование культуральных жидкостей и их десятикратных разведений в физиологическом растворе выполняли микрометодом с использованием 96-луночных стерильных планшетов. Резистентность тест-штаммов микроорганизмов к антибиотическим препаратам определяли с помощью аппликации на поверхность питательного агара, засеянного испытуемым микроорганизмом, дисков, пропитанных растворами антибиотиков, диффузионным метом исследования бактериостатического, бактерицидного действия препаратов при высеве тест-штаммов на агаризованные среды методом «колодцев», при культивировании в жидкой питательной среде.

Результаты:

1. Показано, что при использовании диффузионного метода исследования антибиотического действия препаратов «Ванкомицин» (V) и «Ванкомицин содержащее средство» (VM) на типовые патогенные тест-штаммы Staphylococcus, aureus B-1266, Streptococcus pneumonia B-1033 и Streptococcus pyogenes B-1336 препараты V и VM оказывают выраженное литическое действие.

2. Культивирование штаммов полирезистентных стрептококков и стафилококков в жидкой питательной среде с добавлением препаратов V и VM с концентрацией от 5 до 100 мкг/мл показало значительное снижение численности жизнеспособных клеток в опытных вариантах по сравнению с контролем:

- титр клеток штамма S. epidermidis 1827 MRSE в контроле составлял в среднем

$3,3\times10^9$ КОЕ/мл. При применении в среде культивирования концентрации V и VM 100 мкг/мл численность клеток снижалась еще примерно на порядок и составляла близкие величины для обоих вариантов, в среднем $2,6\times10^3$ КОЕ/мл и $4,8\times10^3$ КОЕ/мл, соответственно;

- численность жизнеспособных клеток штамма S. aureus 1721 в контроле составляла в среднем $4,6\times10^9$ КОЕ/мл, в то время как в опытных вариантах с добавлением антибиотиков V и VM она была значительно меньше, от $2,1\times10^4$ до $1,3\times10^5$ КОЕ/мл, причем прямой зависимости численности клеток от концентрации антибиотиков в среде не наблюдали;

- титр жизнеспособных клеток в контрольных суспензиях составляет для штамма S. pneumonia B-1033 $3,0\times10^8$ КОЕ/мл, для штамма Streptococcus pyogenes B-1336

- $2,7\times10^9$ КОЕ/мл. Заметной зависимости титра штаммов S. pneumonia B-1033 и Streptococcus pyogenes B-1336 от концентраций антибиотиков, используемых в опыте, не отмечено. Не наблюдается также существенной разницы между действием антибиотиков V и VM на тест-штаммы S. pneumonia B-1033 и Streptococcus pyogenes B-1336. Возможно, сходный титр клеток в опытных суспензиях при добавлении в среду разных концентраций антибиотиков, можно объяснить сохранением в КЖ некоторого количества жизнеспособных неделящихся клеток, на которые ванкомицин не действует, ввиду его способности разрушать именно растущие делящиеся клетки в стадии формирования клеточной стенки, и дальнейшее повышение концентрации антибиотика в среде неэффективно.

Наличие некоторой разницы в титрах жизнеспособных клеток, в ряде вариантов десятикратной, при использовании одинаковых концентраций антибиотиков V и VM, может быть объяснено также возможным несоответствием расчетной концентрации антибиотика VM его полученной концентрации в используемом рабочем растворе, возможно, в результате остаточной сорбции на нерастворимом компоненте препарата VM.

В условиях проведенных опытов антимикробное действие исследуемых препаратов «Ванкомицин» и «Ванкомицин содержащее средство» сходно, по проявленной специфичности соответствует литературным данным по антибиотической активности ванкомицина.

Формула изобретения

1. Гемостатическое антибактериальное средство, представляющее собой супрамолекулярный комплекс в виде порошка, содержащее окисленную порошковую целлюлозу и ванкомицин, связанные посредством нековалентных межмолекулярных водородных связей, в котором содержание ванкомицина составляет от 20 до 40 мас. %.

2. Применение средства по п. 1 для остановки диффузных кровотечений из паренхиматозных органов, сосудистых анастомозов.

3. Способ получения гемостатического антибактериального средства по п. 1, заключающийся в том, что готовят механическую смесь из окисленной порошковой целлюлозы и ванкомицина, механическую смесь добавляют в воду при перемешивании, затем перемешивают, полученную суспензию центрифугируют, затем осадок и центрифугат разделяют и высушивают при температуре 50-70°С в течение 6-8 ч, после высушенные центрифугат и осадок смешивают в измельчителе.

4. Способ по п. 3, заключающийся в том, что механическую смесь готовят на измельчителе роторного типа.

5. Способ по п. 3, заключающийся в том, что механическую смесь перемешивают в воде в течение 16-20 ч при температуре 20-25°С.

6. Способ по п. 3, заключающийся в том, что полученную суспензию центрифугируют в течение 15-20 мин при скорости 5500-6000 об/мин.

7. Способ по п. 3, заключающийся в том, что центрифугат высушивают при перемешивании на магнитной мешалке с поддувом воздуха.

8. Медицинское изделие, представляющее собой пасту, содержащее гемостатическое антибактериальное средство по п. 1 и стерильный растворитель.

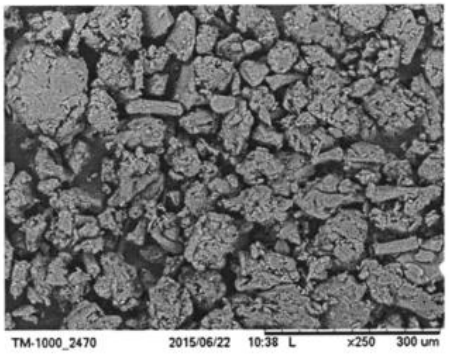
9. Медицинское изделие по п. 8, в котором стерильным растворителем является физиологический раствор.

10. Медицинское изделие по п. 8, в котором стерильным растворителем является дистиллированная вода.

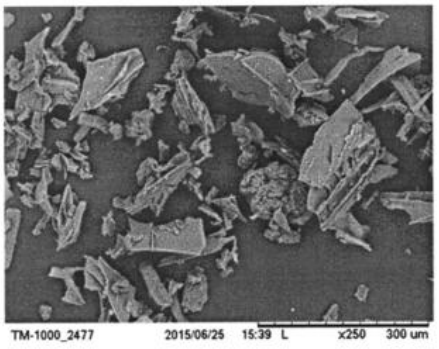
11. Медицинское изделие по п. 8, содержащее от 33,3 до 55,5 мас. % гемостатического антибактериального средства.

12. Медицинское изделие по п. 8, содержащее от 44,4 до 66,6 мас. % стерильного растворителя.

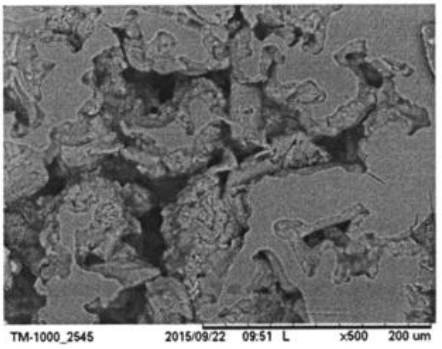
13. Применение медицинского изделия по п. 8 для остановки кровотечений из губчатых, плоских, смешанных костей.



Фиг. 1а



Фиг. 1б



Фиг. 2

14