

В. Ф. Марієвський¹, Є. П. Воронін², І. С. Чекман³, А. І. Гребельник³

Полігексаметиленгуанідину гідрохлорид: перспективний біоцидний засіб

¹ДУ«Інститут епідеміології та інфекційних хвороб
імені Л. В. Громашевського НАМН України», м. Київ

²Інститут хімії поверхні імені О. О. Чуйка НАН України, м. Київ

³Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ

Ключові слова: полігексаметиленгуанідину гідрохлорид, антибіотикорезистентність, біоцидний засіб, дезінфектант, нозокоміальні інфекції

Натепер питання раціональної антибіотикотерапії залишається актуальним. За даними ВООЗ лише 25–50 % хворих одержують адекватну антибактеріальну терапію. Внаслідок недоцільного застосування антибіотиків та дезінфікуючих засобів число резистентних штамів постійно зростає, а полірезистентні збудники інфекційних захворювань мають тенденцію до розповсюдження. Тому надзвичайно актуальним є пошук та створення нових антимікробних препаратів [2, 3, 5, 6, 14].

Майже 70 % інфекцій викликають мікроорганізми, резистентні до одного чи декількох антибіотиків [10]. Лікування інфекційних хвороб, викликаних резистентними мікроорганізмами, є важливою проблемою для охорони здоров'я в усьому світі. При лікуванні таких захворювань значно важче вибрати антибіотикотерапію, особливо емпіричну. Навіть після отримання результатів бактеріологічного діагнозу вибір антибіотика може бути важким завданням для лікаря. Важливо розуміти, що резистентність також впливає на лікування хворих, інфікованих нерезистентними мікроорганізмами [12].

У 2008 році The European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS) визначила високий рівень резистентності грамнегативних штамів у всій Європі:

– 17 % ізолятів *P. aeruginosa* були резистентні до 3 і більше класів антибіотиків;

– 32–78 % штамів *E. coli* були резистентними до амінопеніцилінів, з ко-резистентністю до 4 класів антимікробних засобів;

– 14 % ізолятів *K. pneumoniae* були резистентними до фторхінолонів, цефалоспоринов 3-го покоління та до аміноглікозидів [25].

Незважаючи на актуальність і епідеміологічне значення, стан чутливості збудників нозокоміальних інфекцій до протимікробних препаратів повною мірою не з'ясовано. До збудників внутрішньолікарняних інфекцій (ВЛІ) відносять переважно умовно-патогенні бактерії, що характеризуються множинною стійкістю до антибіотиків [4].

Нозокоміальні інфекції є причиною появи ускладнень серед госпіталізованих пацієнтів та головною причиною смертності [26]. Підвищення рівня нозокоміальних інфекцій пов'язано з появою та розповсюдженням штамів полірезистентних мікроорганізмів, у тому числі й метицилін-резистентного *Staphylococcus aureus* (MRSA) [18].

Значний рівень резистентності мікроорганізмів до антибіотиків потребує пошуку нових сполук з антимікробною дією та розробки на їхній основі нових більш ефективних лікарських засобів.

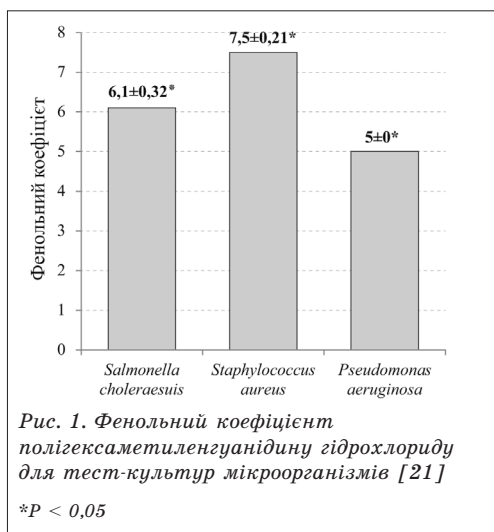
Катіонні біоциди понад півстоліття займають чільне місце серед агентів, які використовують для лікування перехресних інфекцій, що сприяло зниженню рівня внутрішньолікарняних інфекцій [11]. Коректне застосування цих біоцидів відіграє важливу роль у ліквідації інфекцій у лікарнях та стоматологічних клініках [19].

До високомолекулярних катіонних поверхнево-активних речовин групи гуанідинів відноситься полігексаметилен-

гуанідин. Він має широкий спектр дії проти грампозитивних, грамнегативних бактерій, грибів, дріжджів [20] та вірусів, включаючи вірус імунodefіциту людини [15].

Полігексаметиленгуанідину гідрохлорид (ПГМГ-ГХ) – полімер з високою розчинністю у воді, без запаху, кольору [17], значно менше токсичний та шкідливий, ніж інші дезінфектанти, які застосовують для людей і тварин у концентрації $\leq 1\%$ [20]. Щоб продемонструвати його потенційне використання як менш шкідливого протимікробного засобу, ніж наявні, антибактеріальна активність ПГМГ-ГХ була протестована на таких штаммах мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus*, метицилін резистентний золотистий стафілокок (MRSA), *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella choleraesuis* та *Escherichia coli* [21].

Для оцінки дезінфікуючої активності ПГМГ-ГХ визначали фенольний коефіцієнт на мікроорганізмах *S. aureus* ATCC 6538, *Salmonella choleraesuis* ATCC 10708 та *P. aeruginosa* ATCC 15442 у жорсткій воді. Фенольний коефіцієнт ПГМГ-ГХ відносно *P. aeruginosa*, *S. choleraesuis* та *S. aureus* склав 5; 6,1 та 7,5 відповідно [7, 21, 24]. Наведені дані свідчать про те, що ПГМГ-ГХ проявляє виражену дезінфікуючу активність. Ці результати також показали відмінності в бактеріальній стійкості до ПГМГ-ГХ. Як показано на рисунку 1, *P. aeruginosa* виявилася більш стійкою до ПГМГ-ГХ, ніж *S. choleraesuis* та *S. aureus*. Резистентність бактерій до дезінфектантів та антисептиків може залежати від особливостей структури шарів зовнішньої клітинної стінки, яка може виступати як бар'єр, а також від утворення біоплівки [19, 23]. Клітинна стінка *S. aureus* складається переважно з пептидоглікану та тейхоевих кислот, які не є бар'єром для антисептиків та дезінфектантів. Чутливість *S. aureus* до ПГМГ-ГХ може виникнути в зв'язку з тим, що стінка бактерій є легкопроникною для речовини із високою молекулярною масою [19]. Тому грамнегативні бактерії є більш резистентними до антисептиків та дезінфектантів, ніж



грампозитивні, тому що їхня мембрана відіграє роль бар'єра, який зменшує потрапляння багатьох антибактеріальних агентів у цитоплазму [22]. Грамнегативні бактерії, у тому числі й *P. aeruginosa* більш резистентні до багатьох антисептиків та дезінфектантів. Це прояв природної стійкості [16], і тому такі мікроорганізми є особливо небезпечними патогенами.

Висока резистентність грамнегативних мікроорганізмів до антисептиків та дезінфектантів може бути пояснена різницею в складі зовнішньої мембрани, умістом ліпополісахаридів, протеїнів та полісахаридів, а також довжиною фосфоліпідів та їхніх розгалужень порівняно з *S. choleraesuis* та *S. aureus*. Крім того, високій стійкості *P. aeruginosa* сприяє її властивість колонізувати поверхні у вигляді біоплівки [19]. Біоплівка є складною агрегацією мікроорганізмів, що ростуть на твердій поверхні. Вона характеризується структурною неоднорідністю, генетичною різноманітністю, складними взаємодіями між сукупністю мікроорганізмів та позаклітинною «матрицею» полімерних речовин [13]. McDonnell & Russell [19] виявили, що біоплівка може утворювати перешкоди між клітинами всередині біоплівки та дезінфікуючими засобами. Крім того, відбувається хімічна взаємодія між дезінфікуючими речовинами та біоплівкою, а клітини в біоплівці можуть виробляти ферменти деградації, які нейтралізують хімічні речовини.

Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) та мінімальна бактерицидна концентрація (МБК) ПГМГ-ГХ

При концентраціях ПГМГ-ГХ менших за 0,04 % жодного впливу на ріст *MRSA* не було. Однак, при концентраціях, вищих за 0,04 %, відбувалося інгібування росту *MRSA*. Для *E. coli* найменша концентрація дезінфектанту, яка припиняла ріст, складала 0,005 % [21]. Найнижчими концентраціями, які інгібують ріст *MRSA* і *E. coli* були 0,040 % та 0,005 % відповідно, тому ці концентрації можуть визначатися як МІК ПГМГ-ГХ для *MRSA* та *E. coli*. Аліквоти з пробірок, що містять випробовувані організми та ПГМГ-ГХ у концентрації вище МІК ($\geq 0,040$ % для *MRSA* і $\geq 0,005$ % для *E. coli*), засівали в чашки з живильним агаром без ПГМГ-ГХ. При інкубації протягом 48 год при 37 °С ніякого росту не спостерігали, що вказує на бактерицидну дію ПГМГ-ГХ. МБК ПГМГ-ГХ складає 0,005 % для *E. coli* та 0,040 % для *MRSA*, такі самі значення МІК для обох тест-культур [19]. ПГМГ-ГХ призводить до загибелі бактеріальних клітин за тої найнижчої концентрації, за якої проявляє свою дію. Бактерицидного ефекту ПГМГ-ГХ при МБК відносно *MRSA* та *E. coli* було досягнуто через 1,5 хв. Значення МБК для *E. coli* у 8 разів нижче від значення МБК для *MRSA*, це дає можливість припустити, що *E. coli* у 8 разів чутливіша до ПГМГ-ГХ, ніж *MRSA* [21]. Така швидка дія та висока активність ПГМГ-ГХ навіть при застосуванні дезінфектанту в низьких концентраціях свідчить про те, що ПГМГ-ГХ є дуже ефективним дезінфікуючим засобом і може розглядатися як перспективний антимікробний засіб для застосування в клінічній практиці.

Механізм дії ПГМГ-ГХ на бактеріальну клітину

Дані рисунку 2 демонструють механізм дії ПГМГ-ГХ на бактеріальну клітину. До обробки дезінфектантом клітини були неушкодженими, а клітинна оболонка та цитоплазма не були роз'єднаними (рис. 2 а). Клітинна стінка є основною мішенню дії ПГМГ-ГХ. Як показано на рисунку 2 б, ПГМГ-ГХ проникає крізь клітинну оболонку, водночас пошкоджуючи клітинну стінку та мембрану. Це призводить до розриву клітинної стінки та вивільнення цитоплазматичного вмісту [21].

Похідні гуанідину швидко притягуються до негативно зарядженої поверхні бактеріальної клітини, мають здатність сильно та специфічно адсорбуватися на фосфатовмісних сполуках. Цілісність зовнішньої мембрани порушується, а полімери притягуються до внутрішньої мембрани. Відбувається зв'язування похідних гуанідину з фосфоліпідами, що призводить до повної втрати функцій мембрани [11, 19].

Як показано на рисунку 2 б, матеріал усередині клітини осаджується, що свідчить про пряму взаємодію між ПГМГ-ГХ і цитоплазматичними компонентами мікроорганізмів. Проникнення ПГМГ-ГХ усередину цитоплазми може викликати осадження білків і нуклеїнових кислот, викликаючи згортання цитозолу [19].

Полігексаметиленгуанідину гідрохлорид є катіонним антимікробним агентом, бактерицидні функції якого зумовлені властивістю позитивно заряджених молекул дезінфектанту швидко зв'язуватися з цитоплазматичною мембраною, ліпополісахаридними і

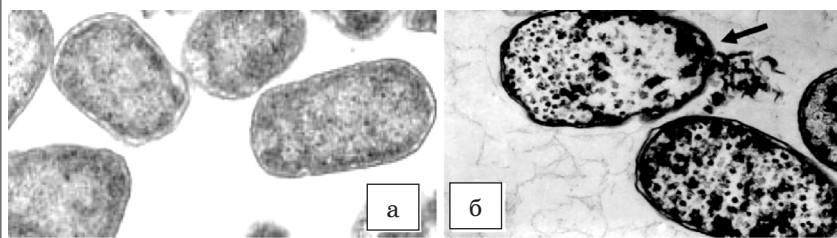


Рис. 2. Ультроструктура клітин *E. coli* за дії полігексаметиленгуанідину гідрохлориду (трансмійна електронна мікроскопія) [21]:

а) *E. coli* (контроль),

б) *E. coli* після 10-хв інкубації з 0,05 % розчином полігексаметиленгуанідину

муреїновими компонентами клітинної стінки. Загибель бактеріальної клітини викликана критичними змінами в місцях контакту з дезінфектантом з подальшим руйнуванням клітинної стінки та лізисом клітин [8, 11].

ПГМГ є перспективним для створення комбінованого антимікробного засобу, який би проявляв виражену антимікробну дію та сорбційні властивості [1]. Одним з інгредієнтів такого комбінованого препарату може бути високодисперсний кремнезем – новий високо-ефективний сорбент, розроблений співробітниками кафедри фармакології та клінічної фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця та науковцями Інституту хімії поверхні імені О. О. Чуйка НАН України.

Серед очікуваних ефектів такої комбінації необхідно відзначити сорбційну активність відносно токсичних продуктів життєдіяльності мікроорганізмів, тканинних метаболітів (піровиноградна

та молочна кислоти, перекисні сполуки, продукти окиснення амінокислот, поліпептиди, ліпіди тощо) і продуктів деградації фібрину [9].

Висновки

Вченими світу проводяться дослідження з вивчення протимікробних властивостей полігексаметиленгуанідину гідрохлориду. Встановлено, що дана сполука проявляє виражену протимікробну активність відносно різних мікроорганізмів.

У науковій літературі відсутні дані про фармакологічні та протимікробні властивості композиту нанодисперсного кремнезему з полігексаметиленгуанідину гідрохлоридом. Розробка технології отримання такого оригінального композиту та вивчення його властивостей сприятиме впровадженню в медичну практику нового лікарського засобу з протимікробними та сорбційними властивостями.

1. Березняков И. Г. Антибактериальные средства: стратегия клинического применения / И. Г. Березняков. – Х. : Константа, 1997. – 200 с.
2. Горчакова Н. А. Клиническая фармакология антибиотиков группы цефалоспоринов / Горчакова Н. А. // *Therapia* – 2008. – № 5 (26). – С. 42–48.
3. Кишони Р. Новая стратегия применения антибиотиков (Новости фармации) / Кишони Р. // *Доктор медицины*. – 2007. – № 5. – С. 59.
4. Салманов А. Г. Резистентність бактерій до антисептиків та дезінфікуючих засобів / Салманов А. Г., Марієвський В. Ф., Хобзей М. К. // *Український медичний часопис* – 2010. – № 6 (80). – С. 51–56.
5. Шостакович-Корецькая Л. Р. Проблема антимикробной резистентности в терапии острых респираторных заболеваний у детей / Шостакович-Корецькая Л. Р. // *Здоровье ребенка*. – 2011. – № 3. – С. 75–80.
6. Цефалоспорины III поколения в лечении внебольничной пневмонии у детей / Юлиш Е. Ю., Чернышова О. А., Сорочка Ю. А. [et al.] // *Соврем. педиатрия*. – 2010. – № 5 (23). – С. 120–125.
7. Beloian A. Disinfectants. In *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 18th edn. Edited by W. Horwitz & G. W. Latimer / Beloian A. // *Jr. Association of Official Analytical Chemists International*. – 2005. – P. 133–146.
8. Broxton P. Binding of some polyhexamethylene biguanides to the cell envelope of *Escherichia coli* ATCC 8739 / Broxton P., Woodcock P. M. & Gilbert P. // *Microbios*. – 1984. – V. 41. – P. 15–22.
9. Chaloupka K. Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications / Chaloupka K. // *Trends Biotechnol.* – 2010. – V. 28, № 11. – P. 580–588.
10. Esposito S. Antimicrobial treatment for Intensive Care Unit (ICU) infections including the role of the infectious disease specialist / Esposito S., Leone S. // *Int J Antimicrob Agents*. – 2007. – V. 29. – P. 494–500.
11. Gilbert P. Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet / Gilbert P., Moore, L. E. // *J. Appl Microbiol.* – 2005. – V. 99 – P. 703–715.
12. The global impact of drug resistance / Howard D. H., [et al.] // *Clin Infect Dis*. – 2003. – V. 15, № 36 (Suppl 1). – P. 4–10.
13. Characterization of a filamentous biofilm community established in a cellulose-fed microbial fuel cell / Ishii S., Shimoyama T., Hotta Y., Watanabe K. // *BMC Microbiol.* – 2008. – V. 8. – P. 6–18.
14. Kardas P. Blinded comparison of 13 common pediatric antibiotic suspensions / Kardas P., Muras M. // *Wiad. Lek.* – 2005. – V. 58, № 1–2. – P. 15–20.
15. Polybiguanides, particularly polyethylene hexamethylene biguanide, have activity against human immunodeficiency virus type 1 / Krebs F. C., Miller S. R., Ferguson // *Biomed Pharmacother.* – 2005. – V. 59. – P. 438–445.
16. Kumar A. Bacterial resistance to antibiotics: active efflux and reduced uptake / Kumar A., Schweizer H. P. // *Adv Drug Deliv Rev* – 2005 – V. 57. – P. 1486–1513.

17. Kuznetsov Y. I. Physicochemical aspects of metal corrosion inhibition in aqueous solutions / Kuznetsov Y. I. // Russ. Chem. Rev. – 2004. – V. 73. – P. 75–87.
18. Nosocomial infections due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus*: relationships with antibiotic use and cost drivers / Mauldin P. D., Salgado C. D., Durkalski V. L. & Bosso J. A. // Ann Pharmacother. – 2004. – V. 42. – P. 317–326.
19. McDonnell G. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance / McDonnell G., Russell A. D. // Clin Microbiol Rev. – 1999. – V. 12. – P. 147–179.
20. Muller G. Effect of selected wound antiseptics on adult articular cartilage (bovine sesamoid bone) in the presence of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* / Muller G., Kramer A. // J Orthop Res. – 2005. V. 23. – P. 127–133.
21. Polyhexamethylene guanidine hydrochloride-based disinfectant: a novel tool to fight methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and nosocomial infections / Oulé M. K., Azinwi R., Bernier A. M. [et al.] // J. Med. Microbiol. – 2008 – V. 57. – P. 1523–1528.
22. A family of Gram-negative outer membrane factors that function in the export of proteins, carbohydrates, drugs and heavy metals from Gram-negative bacteria / Paulsen I. T., Park J. H., Choi P. S., Saier M. H. // FEMS Microbiol. Lett. – 1997. – V. 156. – P. 1–8.
23. Russell A. D. Mechanisms of bacterial resistance to biocides / Russell A. D. // Int Biodeterior Biodegradation. – 1995. – V. 36. – P. 247–265.
24. Springthorpe S. La de'sinfection des surfaces et de l'e'quipement / Springthorpe S. // J. Can. Dent Assoc. – 2000. – V. 66. – P. 558–560.
25. The European Antimicrobial Resistance Surveillance System annual report 2008. Доступний за посиланням: http://www.rivm.nl/earss/result/Monitoring_reports/#tcm:61-25397
26. WHO. Prevention of Hospital-Acquired Infections: a Practical Guide, 2nd edn, document WHO/CDS/CSR/EPH/2002/12. P. 1–64. Geneva: World Health Organization.

В. Ф. Мариевский, Е. Ф. Воронин, И. С. Чекман, А. И. Гребельник

Полигексаметиленгуанидина гидрохлорид: перспективное биоцидное средство

В этой обзорной статье рассматривается перспектива использования полигексаметиленгуанидина гидрохлорида как биоцидного средства. Полигексаметиленгуанидина гидрохлорид – антимикробное биоцидное средство группы гуанидинов. Описана бактерицидная активность против *S. aureus*, *P. aeruginosa* и *S. choleraesuis*, и механизм действия дезинфектанта на бактериальную клетку, его эффективность против основных возбудителей нозокомиальных инфекций. В наших будущих исследованиях планируется разработка комплексного антимикробного средства, содержащего полигексаметиленгуанидина гидрохлорид и нанодисперсный кремнезем, которое будет обладать как антибактериальными, так и сорбционными свойствами. Приведены перспективы изучения полигексаметиленгуанидина гидрохлорида в составе композита с нанодисперсным кремнеземом.

Ключевые слова: полигексаметиленгуанидина гидрохлорид, антибиотикорезистентность, биоцидное средство, дезинфектант, нозокомиальные инфекции

V. F. Marievsky, E. F. Voronin, I. S. Chekman, A. I. Grebelnyk

Polyhexamethylene guanidine hydrochloride as a perspective biocidal medication

In the review article the use of polyhexamethylene guanidine hydrochloride as a perspective biocidal and effectiveness medication against major pathogens of nosocomial infections was discussed. Polyhexamethylene guanidine hydrochloride (PHMGH) is an antimicrobial biocide of the guanidine family. Bactericidal activity against *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *Salmonella choleraesuis* was described. The phenol coefficient values determined with *S. aureus*, *Salmonella choleraesuis* and *P. aeruginosa* were 7.5, 6.1 and 5, respectively. PHMGH killed MRSA and *E. coli* at concentrations as low as 0.04 and 0.005% (w/v), respectively, within 1.5 min. The mode of action of PHMGH was elucidated by transmission electron microscopy: the cell envelope was broken, resulting in cell content leakage into the medium. PHMGH can be used as an odourless, colourless, non-corrosive and harmless disinfectant for hospital and household facilities. There is a lack of data on the pharmacological and antimicrobial properties of composite nanosilica and polyhexamethylene guanidine hydrochloride. In our further research is planned to develop a comprehensive antimicrobial agent – a composite nanosilica and polyhexamethylene guanidine hydrochloride, which will have both anti-bacterial properties and sorption activity. It has been reviewed the perspective of studying composite nanosilica and polyhexamethylene guanidine hydrochloride.

Key words: polyhexamethylene guanidine hydrochloride, antimicrobial resistance, biocidal medication, disinfectant, nosocomial infections

Надійшла: 27.01.2014 р.

Контактна особа: Гребельник Анна Ігорівна, аспірант, кафедра фармакології та клінічної фармакології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, буд. 34, просп. Перемоги, м. Київ, 03057. Тел.: +38 067 276 14 43. Електронна пошта: angrad2007@mail.ru