

© Черник В. І., Зубарева І. М., Вінніков А. І.

УДК 477.6:616.523

Черник В. І., Зубарева І. М., Вінніков А. І.

ЧУТЛИВІСТЬ ДО ЛІКУВАЛЬНИХ ФАГІВ СТАФІЛОКОКІВ, ВИДІЛЕНИХ ВІД ВАГІТНИХ

Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара (м. Дніпропетровськ)

microviro@rambler.ru

Дане дослідження виконано у межах держбюджетної теми «Структурно-функціональні особливості природних мікробіоценозів та механізм біологічної дії мікробних препаратів», № державної реєстрації 0115U002385.

Вступ. Стафілококи – одні з найбільш розповсюджених збудників уражень людини. Особливу загрозу цей мікроорганізм представляє у пологових будинках, де відбувається передавання цих бактерій від персоналу до немовлят, які в свою чергу заражають матерів стафілококами, що вегетують у них в носі. Встановлена не тільки висока вірогідність інфікування новонароджених та породіль внутрішньолікарняними штамами стафілококу, але й інтенсивне винесення їх у родину новонароджених, у результаті чого спостерігається висока захворюваність породіль та новонароджених після виписування – в 20 разів вища у порівнянні з пологовими будинками [2,5].

Особливого ризику інфікування стафілококами надає значне поширення серед їх штамів стійкості до антибіотиків. У багатьох клінічних моніторингових дослідженнях по стафілококу показано, що зустрічаються множиннорезистентні штами, стійкі до 5-10 і більш препаратів. За даними деяких дослідників, серед стафілококів, виділених від хворих людей, такі штами зустрічаються частіше ніж в 5-10% випадків [3,4]. Тому виникає потреба у пошуку альтернативних схем терапії стафілококових уражень і серед найбільш перспективних препаратів називають бактеріофаги, до яких стафілококи не мають стійкості [1].

Отже, **метою роботи** було вивчити чутливість до препаратів лікувальних бактеріофагів штамів золотистого стафілококу, що виділені від вагітних.

Завданнями роботи було:

- вивчити видовий спектр виділених штамів стафілококів;
- дослідити чутливість виділених штамів золотистого стафілококу до лікувальних препаратів бактеріофагів.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проводили на базі КЗ «Павлоградський пологовий будинок» ДОР»

Було досліджено біологічний матеріал (назальні змиви) від вагітних жінок, що ставали на облік у пологовому будинку м. Павлоград (n=47). Матеріал відбирали тампоном з носової порожнини. З тампону здійснювали висів на щільне середовище Стафілококовий агар (HiMedia, Індія). Посіви інкубували за температури +37°C 18 годин. Зі зрослих колоній відбирали матеріал для мікроскопічного та культурального

дослідження. Ідентифікацію виділених штамів стафілококів здійснювали відповідно до рекомендацій наказу № 535 від 22.04.1985р. «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» [6]. Для виявлення прояву факторів патогенності у виділених ізолятів стафілококів проводили висів досліджуваного матеріалу на жовтково-сольовий агар та 5% кров'яний агар. Основними диференційно-діагностичними ознаками золотистого стафілокока є позитивна плазмокоагулазна активність, ДНК-азна реакція, і ферментація маніту в анаеробних умовах [3], які визначали відповідно до стандартних методик [6].

Для дослідження чутливості до лікувальних препаратів бактеріофагів використовували препарати «Інтесті-фаг» та «Бактеріофаг стафілококовий рідкий» (Микроген, РФ). Використовували крапельний метод. На поверхню чашки з м'ясо-пептонним агаром наносили суспензію клітин (0,1 мл) досліджуваної культури, що містила 10⁹ КУО/мл, розтирали шпателем рівномірно по всій її площі. Інкубували 30-40 хвилин. Чашку поділяли на два сектори, на які наносили краплями досліджувані препарати (краплі наносили інсуліновим шприцем). Інкубували 24 години. Штам вважали чутливим за умов формування зони повного лізису культури в місці потрапляння краплі фільтрату або при появі в цій ділянці дрібних стерильних п'ятен-колоній бактеріофага [7,8].

Результати досліджень та їх обговорення. З 47 досліджених зразків біологічного матеріалу наявність стафілококів було визначено у 26 зразках, що склало 55,3% і що є високим показником носійства. Видова ідентифікація (**рис. 1**) дозволила встановити, що з 26 ізолятів, ідентифікованих як стафілококи, 12 належали до виду *Staphylococcus aureus* і 10 – до виду *S. epidermidis*, 3 – до виду *S. saprophyticus* і 1 ідентифіковано як *Staphylococcus spp.*

Визначено, що плазмокоагулазу продукували всі штами *S. aureus* і жоден з ізолятів коагулазонегативних стафілококів. Ліпазу та лецитіназу продукували 83,3% виділених штамів *S. aureus*, до продукції гемолізинів здатними були 91,7% його штамів. Зони гемолізу були від 2 до 8 мм. З коагулазонегативних стафілококів здатними до продукції гемолізинів виявилися лише 30% штамів *S. epidermidis* і жодного серед інших виділених коагулазонегативних стафілококів. З останніх продукція ліпази та лецитіна-

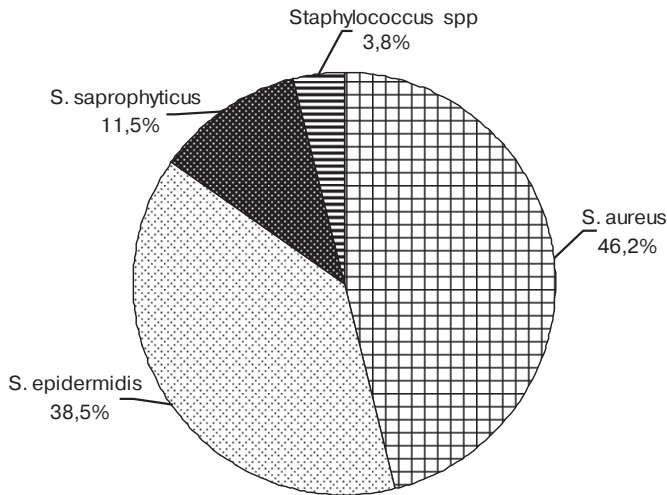


Рис. 1. Видовий спектр виділених штамів стафілококів.

зи була виявлена для *Staphylococcus spp.*, та для менше ніж 60% *S. epidermidis* та *S. saprophyticus*.

Для всіх виділених ізолятів досліджували прояв факторів патогенності (рис. 2).

На чутливість до лікувальних препаратів фагів вивчали лише виділені штами золотистого стафілококу, що мали активний прояв факторів патогенності. Кожен з 12 штамів тестували на чутливість до фагів з препаратів інтесті-бактеріофаг та стафілококовий бактеріофаг рідкий.

Результати вивчення чутливості виділених ізолятів до дії бактеріофагів з лікувальних препаратів дозволили встановити (рис. 3), що всі виділені ізоляти

у тій чи іншій мірі були чутливі до препарату стафілококовий бактеріофаг рідкий та більшість – до препарату Інтесті-фаг, що, вірогідно, може бути пояснено відсутністю специфічного фага у препараті.

У дослідженнях із усіма виділеними ізолятами спостерігали утворення зон лізису. Найбільш ефективний лізис спостерігали для фагів з препарату стафілококовий бактеріофаг рідкий, який давав зони повного лізису культури у місцях нанесення препарату. Інтесті-фаг викликав повний лізис культури у 5 випадках (71,4%) та слабкий лізис з формуванням окремих бляшок на газоні культури у 2 випадках (28,6%). Отже, використання стафілококового бактеріофагу є більш ефективним.

Для лікувальних цілей застосовують переважно препарати фагів, активних проти золотистого стафілокока, вірогідно саме тому більшу ефективність проявив спеціалізований стафілококовий фаг, що містить декілька різних вірусів, до яких чутливий цей мікроорганізм. Натомість інтесті-фаг містить обмежену групу стафілококових фагів, а отже, велика вірогідність того, що потрібного для лізису кожної конкретної культури серед них не буде [9, 10].

Висновки

1. Частота виявлення назального носійства стафілококів серед вагітних склала 55,3%. Серед виділених штамів як *Staphylococcus aureus* було ідентифіковано 46,2%, *S. epidermidis* – 38,5%, *S. saprophyticus* – 11,5% та *Staphylococcus spp.* – 3,8%.

2. Визначено, що плазмокоагулазу продукували всі штами *S. aureus* і жоден з ізолятів коагулаzone-

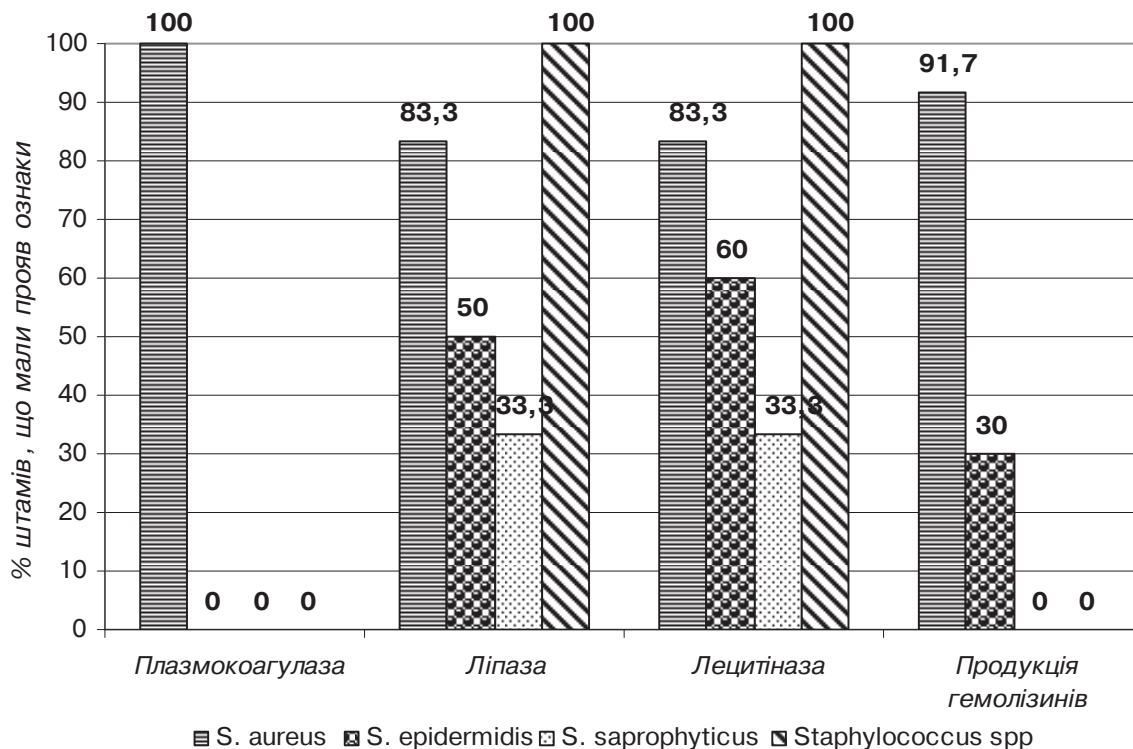


Рис. 2. Частота прояву факторів патогенності ізолятами стафілококів.

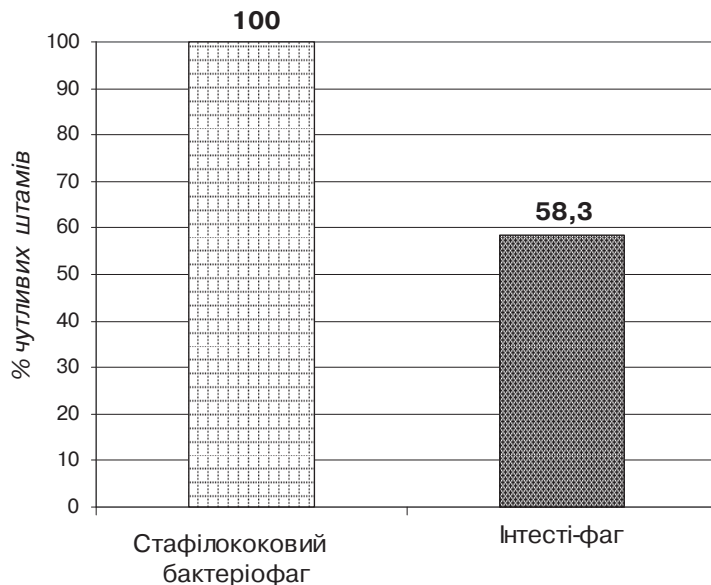


Рис. 3. Чутливість виділених штамів *S. Aureus* до лікувальних препаратів фагів.

гативних стафілококів. Ліпазу та лецитіназу продукували 83,3% виділених штамів *S. aureus*, до продукції гемолізинів здатними були 91,7% його штамів. З коагулазо-негативних стафілококів лише 30% штамів *S. epidermidis* продукували гемолізину. До продукції ліпази та лецитінази була здатні *Staphylococcus spp.*, та менше ніж 60% *S. epidermidis* та *S. saprophyticus*.

3. Всі виділені штами *S. aureus* були чутливі до дії стафілококового бактеріофага рідкого та 58,3% штамів до дії інтесті-фага.

Перспективи подальших досліджень. Дослідження серед вагітних жінок частоти виявлення стафілококів та їх біологічних властивостей дає необхідну інформацію для розробки заходів профілактики поширення цих мікроорганізмів та для запобігання розвитку ускладнень вагітності. Знання про чутливість до фагів у перспективі можуть бути використані для підбору схем раціональної терапії стафілококових уражень у вагітних у разі неможливості або неефективності застосування антибіотиків.

Література

- Акимкин В. Г. Бактериофаги: исторические и современные аспекты их применения, опыт и перспективы / В. Г. Акимкин, О.С. Дарбеева, В. Ф. Колков // Клиническая практика. – 2010. – № 4. – С. 48-54.
- Карабак В. И. Микробиологический мониторинг за возбудителями нозокомиальных инфекций (на примере отделений реанимации и интенсивной терапии) / В. И. Карабак // Антибиотики и химиотерапия. – 2000. – № 3. – С. 20-23.
- Коротяев А. И. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология / А. И. Коротяев, С. А. Бабищев. – СПб: Медицина, 2008. – С. 409-416.
- Макушенко Р. С. Видовий склад та чутливість до антибіотиків оксацилінрезистентних штамів стафілококів / Р. С. Макушенко, Л. В. Авдеева, Я. Ю. Мачерет // AML. – 2008. – № 1-2. – С. 14-19.
- Маянский А. Н. Микробиология для врачей / А. Н. Маянский. – Нижн. Новгород: Святая, 1999. – 400 с.
- Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений: приказ № 535. – [чинний від 22.04.1985р.]. – М.: МОЗ СССР, 1985. – 65с.
- Поліщук В. П. Посібник з практичних занять з курсу «Загальна вірусологія» / В. П. Поліщук, І. Г. Будзанівська, Т. П. Шевченко. – К.: Фітосоціоцентр, 2005. – 204 с.
- Справочник по применению бактериальных и вирусных препаратов / под ред. С. Г. Дзагурова, Ф. Ф. Резепова. – М: Медицина, 1995. – 116 с.
- Matsuzaki S. Bacteriophage therapy: a revitalized therapy against bacterial infectious diseases / S. Matsuzaki, M. Rashel, J. Uchiyama [et al.] // J. Infect. Chemother. – 2005. – № 11. – P. 211-219.
- Paul V. D. Lysis-deficient phages as novel therapeutic agents for controlling bacterial infection / V. D. Paul, S. Sundarajan, S.S. Rajagopalan [et al.] // BMC Microbiol. – 2011. – Vol. 31-11. – P. 195.

УДК 579:61

ЧУТЛИВІСТЬ ДО ЛІКУВАЛЬНИХ ФАГІВ СТАФІЛОКОКІВ, ВИДІЛЕНИХ ВІД ВАГІТНИХ

Черник В. І., Зубарева І. М., Вінніков А. І.

Резюме. Мета. Вивчити чутливість до препаратів лікувальних бактеріофагів штамів золотистого стафілококу, що виділені від вагітних. Методи. Бактеріологічні – для виділення та ідентифікації бактерій та крапельний метод – для дослідження чутливості до бактеріофагів. Результати. Встановлено, що частота назального носійства стафілококів серед вагітних 55,3%. Серед стафілококів виділено представників видів *S. aureus* – 46,2%, *S. epidermidis* – 38,5%, *S. saprophyticus* – 11,5% та *Staphylococcus spp.* – 3,8%. Ліпазу та лецитіназу продукували понад 80% виділених штамів *S. aureus*, *Staphylococcus spp.* та менше ніж 60% *S. epidermidis* та *S. saprophyticus*. До продукції гемолізинів здатними були 91,7% штамів *S. aureus* та 30% штамів *S. epidermidis*. Всі виділені штами *S. aureus* були чутливі до дії стафілококового бактеріофага рідкого та 58,3% штамів до дії інтесті-фага. Висновки. При дослідженні назального носійства стафілококу серед вагітних було встановлено домінування *S. aureus* (46,2% штамів). Всі виділені його штами мали активний прояв факторів патогенності. Дослідження чутливості штамів *S. aureus* до лікувальних препаратів бактеріофагів показало, що значно більш ефективним був полівалентний препарат стафілококовий бактеріофаг рідкий, що містить специфічні протистафілококові фаги. Чутливими до нього виявилися всі виділені штами *S. aureus*.

Ключові слова: стафілокок, видовий спектр, фактори патогенності, чутливість до лікувальних бактеріофагів, вагітність.

УДК 477.6: 616.523

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ЛЕЧЕБНЫМ ФАГАМ СТАФИЛОКОККОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ БЕРЕМЕННЫХ

Черник В. И., Зубарева И. М., Винников А. И.

Резюме. Цель. Изучить чувствительность к препаратам лечебных бактериофагов штаммов золотистого стафилококка, выделенных от беременных. Методы. Бактериологические – для выделения и идентификации бактерий и капельный метод – для исследования чувствительности к бактериофагам. Результаты. Установлено, что частота назального носительства стафилококков среди беременных составила 55,3%. Среди стафилококков выделены представители видов *S. aureus* – 46,2%, *S. epidermidis* – 38,5%, *S. saprophyticus* – 11,5% и *Staphylococcus spp.* – 3,8%. Липазу и лецитиназу продуцировали более 80% выделенных штаммов *S. aureus*, *Staphylococcus spp.* и менее 60% *S. epidermidis* и *S. saprophyticus*. К продукции гемолизина были способны 91,7% штаммов *S. aureus* и 30% штаммов *S. epidermidis*. Все выделенные штаммы *S. aureus* были чувствительны к действию стафилококкового бактериофага жидкого и 58,3% штаммов к действию Интести-фага. Выводы. При изучении назального носительства стафилококка среди беременных было установлено доминирование *S. aureus* (46,2% штаммов). Все выделенные его штаммы показали активное проявление факторов патогенности. Исследование чувствительности штаммов *S. aureus* к лечебным препаратам бактериофагов показало, что значительно более эффективным был поливалентный препарат стафилококковый бактериофаг жидкий, содержащий специфические противостафилококковые фаги. Чувствительными к нему были все выделенные штаммы *S. aureus*.

Ключевые слова: стафилококк, видовой спектр, факторы патогенности, чувствительность к лечебным бактериофагам, беременность.

UDC 477.6: 616.523

SENSITIVITY TO THERAPEUTIC PHAGES OF STAPHYLOCOCCI, ISOLATED FROM PREGNANT

Chernik V. I., Zubareva I. M., Vinnikov A. I.

Abstract. Staphylococci are one of the most common pathogens, caused lesions of human. Special threat this microorganisms represents in hospitals, where the transfer of bacteria from the staff to the babies, latter infect mothers and staphylococci vegetate in their nose. The installed not only a high probability of infection of newborns and mothers by nosocomial strains of staphylococci, but intensive making their newborn into the family, resulting in a high incidence observed mothers and infants, even after discharge. Special offers of staphylococci infection is risk of widespreading of antibioticresistance among strains. Therefore there is a need to find alternative strategies against staphylococcal lesions, and among the most promising drugs there are the bacteriophages, for which staphylococci have not resistance. The aim of research was to study the sensitivity of *Staphylococcus aureus* strains, isolated from pregnant women, to bacteriophages drugs. The objectives of the work were to study the species range of selected strains of staphylococci; explore the sensitivity of isolated strains of *Staphylococcus aureus* to bacteriophage drugs. Methods. Bacteriological – for isolation and identification of bacteria and drop method – to study the sensitivity to bacteriophages. It was investigated the biological material (nasal washings) of pregnant women (n = 47) were registered in the maternity of town Pavlohrad. To study the sensitivity to preparations used the bacteriophage drugs “Intesti-phage” and “Bacteriophage staphylococcal liquid”. Results. It was established, that the incidence of nasal carriage of staphylococci among pregnant was 55.3%. Among the isolated staphylococci *S. aureus* was dominant – 46,2%, *S. epidermidis* – 38,5%, *S. saprophyticus* – 11,5% and *Staphylococcus spp.* – 3,8%. Lecitinase and lipase produced more than 80% selected strains of *S. aureus*, *Staphylococcus spp.* and less than 60% of *S. epidermidis* and *S. saprophyticus* isolates. Able to produce hemolysins were 91.7% of *S. aureus* strains and 30% of *S. epidermidis* strains. All isolated strains of *S. aureus* were sensitive to staphylococcal bacteriophage liquid and 58.3% of strains – to intesti-phage. The most effective lysis observed for phage of preparation “staphylococcal bacteriophage liquid”, which gave complete lysis zone. Intesti-phage lysis full culture were confirmed in 5 cases (71.4%) and weak lysis with the formation of individual plaques on the lawn culture in 2 cases (28.6%). Consequently, the use staphylococcal bacteriophage is more efficient. Study the frequency of detection of staphylococci among pregnant women and biological properties of microbial culture provides the necessary information to develop preventive measures against spread of these microorganisms and to prevent the development of pregnancy complications. Knowledge of the sensitivity to phages in prospects can be used for the rational therapy schemes of staphylococcal lesions in pregnancy in case of failure or ineffectiveness of antibiotics use. Conclusions. In the study of nasal carriage of staphylococci among pregnant was found dominance of *S. aureus* (46,2% of strains). All strains had marked his active expression of pathogenicity factors. Study of sensitivity of *S. aureus* strains to the bacteriophage drugs showed that polyvalent staphylococcal bacteriophage liquid, containing specific antistaphylococcal phages, was significantly more effective. All selected strains of *S. aureus* were sensitive to it.

Keywords: staphylococci, species range, pathogenicity factors, sensitivity to bacteriophages drugs, pregnancy.

Рецензент – проф. Громова А. М.

Статья надійшла 10.11.2015 року