

DOI 10.29254/2077-4214-2018-4-1-146-204-208

УДК 615.28:579.861.2:579.61:616-078

¹Деркач С. А., ¹Куцай Н. М., ¹Городницька Н. І., ²Габишева Л. С.

**ПОРІВНЯЛЬНА АКТИВНІСТЬ АНТИСИНЬОГНІЙНИХ АНТИБІОТИКІВ
ТА БАКТЕРІОФАГІВ ВІДНОСНО ПОЗАЛІКАРНЯНИХ ШТАМІВ
PSEUDOMONAS AERUGINOSA**

¹ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова
Національної академії медичних наук України» (м. Харків)
²Харківський національний медичний університет (м. Харків)

el-shevtsova@ukr.net

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота виконана на базі ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України» в рамках «Розробка імунних препаратів для лікування та профілактики синьогнійної інфекції», № державної реєстрації 0114U000245 (2017-2019).

Вступ. Не зважаючи на досягнення мікробіології та практичної медицини, проблеми синьогнійної інфекції залишаються актуальними і різноплановими, включають питання діагностики, визначення патогенного потенціалу збудника, вибору ефективної тактики лікування, удосконалених засобів профілактики, тощо.

Ступінь агресивності різних штамів *P. aeruginosa* має широкий діапазон і залежить від цілого ряду генетично зумовлених та фенотипових властивостей [1,2,3]. Особливе значення псевдомонади відіграють як раньова інфекція та в якості збудника внутрішньолікарняних гнійно-запальних захворювань [4,5,6].

Широке розповсюдження синьогнійна паличка набула завдяки особливостям своєї екології – відсутності вимогливості щодо органічних речовин для життєдіяльності, здатності до персистенції у некультівуючому стані та у складі бактеріальних біоплівки, широкому діапазону стійкості до різних факторів навколишнього середовища: антибіотиків, бактеріофагів, дезінфектантів, антисептиків [5,7].

Чіткого аналізу зумовленої псевдомонадами захворюваності в Україні немає, хоча значення проблеми лікування таких хворих є вельми актуальним. Одним із важливих завдань у боротьбі з синьогнійною інфекцією залишається пошук ефективних засобів лікування – визначення препаратів вибору (антибіотиків та бактеріофагів) для стартової терапії хворих у кожному регіоні і, навіть, у конкретному лікувально-профілактичному закладі, та профілактика (розробка ефективних імунопрепаратів та вакцин для груп ризику – медичного персоналу госпіталів, реанімаційних, хірургічних, опікових відділень, хворих перед плановими хірургічними втручаннями, бійців АТО, тощо).

Основним засобом лікування синьогнійної інфекції залишається антибіотикотерапія. При цьому слід відзначити, що в умовах швидкого зростання антибіотикорезистентності, арсенал антибіотиків, ефективних по відношенню до *P. aeruginosa*, стрімко зменшується. Як літературні дані, так і результати наших

досліджень, показали відсутність антибіотиків, до яких були чутливими 100% штамів [4,5,8].

Ще один напрямок у боротьбі з синьогнійною інфекцією – застосування специфічних бактеріофагів. Історія їх застосування почалась ще з 30-х років, хактеризувалась, згідно літературних даних, як вражаючими успіхами, так і заявами про недостатню ефективність. Цьому є цілий ряд пояснень, які стали можливими у результаті наукових досліджень в різних галузях, особливо в біохімії, генетиці, молекулярній біології. В сучасних умовах, коли монопольне положення антибіотиків в комплексі протимікробних засобів ставиться під сумнів, все більшого значення набувають наукові дослідження, направлені на підвищення ефективності бактеріофаготерапії [9,10,11].

Мета даних досліджень – підвищення ефективності боротьби з синьогнійною інфекцією шляхом визначення перспективності застосування сучасних антибіотиків та бактеріофагу.

Об'єкт і методи дослідження. Ідентифіковано та вивчено 54 позалікарняних (вилучених від амбулаторних хворих та обстежених в перші 2 доби при госпіталізації в клінічні відділення) штами *P. aeruginosa*.

Штами були вилучені із різних біотопів хворих (верхніх дихальних шляхів – мазки з носоглотки, мокротиння; шкіри та м'яких тканин – із пустул, абсцесів, раньове відокремлюване; сечостатеви органів – із сечі, секрету передміхурової залози, відокремлюваного уретри; кишковоки – із випорожнень хворих з синдромом дисбактеріозу). Приготування суспензії мікроорганізмів із визначеною концентрацією мікробних клітин проводили за допомогою електронного приладу Denci-La-Meter (PLIVA-Lachema) за шкалою Mc Farland згідно з інструкцією до приладу.

Чутливість штамів до антибіотиків визначали диско-дифузійним методом (ДДМ) на середовищі Мюллера-Хінтона з використанням готових комерційних сертифікованих дисків (HiMedia, Індія) та шляхом визначення мінімальної пригнічуючої концентрації (МПК) згідно діючих нормативних документів [12].

Для експериментальних досліджень ми використовували комерційні препарати бактеріофагів: «Синьогнійний бактеріофаг» (ФДУП «НВО «Мікроген», м. Перм) та «Пиобактеріофаг» (ФДУП НВО «Мікроген» МОЗ РФ, м. Нижній Новгород). Визначення чутливості до специфічних бактеріофагів проводили крапельним методом [13].

Отримані результати досліджень оброблено методом варіаційної статистики за допомогою програ-

ми MS Excel 2000, Biostat з розрахунком стандартної похибки долі (s_p). Оцінка різниці відносних показників проводилась за допомогою критерію χ^2 . Результати вважали вірогідними, якщо рівень значущості був 95% ($p < 0,05$), що прийнято при оцінці результатів біологічних досліджень [14,15,16].

Результати досліджень та їх обговорення. Порівнюючи отримані дані з результатами попередніх досліджень перш за все слід зазначити, що серед позалікарняних штамів *Pseudomonas aeruginosa* число полірезистентних штамів було достовірно меншим ($\chi^2 < 0,05$).

Найбільшою активністю по відношенню до досліджених позалікарняних штамів *Pseudomonas aeruginosa* володіли імipенем, ципрофлоксацин, цефтазидим, частота чутливості до яких слала 64,8%, 64,8%, 53,7% відповідно. Активність амікацину та гентаміцину була нижчою – чутливими до них були 33,3% та 38,9% відповідно. Найменшою активністю володів цефтріаксон, чутливими до якого були лише 18,5% штамів (табл. 1).

Аналіз антибіотикочутливості вилучених із різних біотопів амбулаторних хворих псевдомонад показав, що найбільший рівень полірезистентності був характерним для штамів – збудників захворювань сечо-статевої системи (64,3%), найменшим (22,2%) – у штамів із випорожнень при дисбактеріозах (рис. 1).

Отримані нами дані по вивченню фагочутливості *Pseudomonas aeruginosa* в більшості співпадають з даними літератури і свідчать про широкий діапазон показників чутливості циркулюючих штамів псевдомонад (рис. 2). Достовірної різниці в показниках фаголітичної активності препаратів бактеріофагів – «Синьогнійного» та «Піобактеріофагу», не виявлено ($\chi^2 > 0,05$).

Найбільшу чутливість до бактеріофагів було виявлено у штамів, вилучених із носоглотки – 57,1% та кишковика – 61,1%, найбільш стійкими були культури, вилучені від хворих з хронічними захворюваннями сечо-статевої сфери – 25,3%.

Ефективність літичної дії фагів на клітини – мішені залежить від певних умов і потребує врахування цілою ряду особливостей.

Для підвищення ефективності фаготерапії важливо створення виробничих колекцій високовірulentних регіональних штамів фагів, а для більш локального застосування, особливо при внутрішньогоспітальних інфекціях, зумовлених *P. aeruginosa*, перспективним є отримання адаптованих бактеріофагів.

Проведені в нашій лабораторії експерименти по адаптації фагів шляхом пасажів на чутливих та малочутливих штамів псевдомонад, дозволили підвищити їх літичну активність на 16,0 – 45,0% [17].

Результати аналізу співвідношення показників антибіотико- та фагочутливості позалікарняних штамів *P. aeruginosa* наведені у таблиці 2.

Узагальнюючи отримані результати досліджень як антибіотико-, так і фагочутливості регіональних штамів *P. aeruginosa*, можна підсумувати наступне: близько 13% штамів були полірезистентними (стійкими до трьох і більше антибіотиків, рекомендованих МОЗ для лікування синьогнійної інфекції), але володіли чутливістю до бактеріофагів; 46,3% – чутливих і до антибіотиків і до бактеріофагів, а майже кожний 5-й штам – 24,0% – був стійким як до антибіотиків, так і до бактеріофагів.

Повної картини захворюваності, зумовленої *P. aeruginosa*, немає, так як бактеріологічне обстеження проводилося не скрізь. Ще більш прихованими є дані про внутрішньогоспітальне розповсюдження штамів псевдомонад. Але навіть ті фрагментарні дані певних досліджень, що є в літературі, підтверджують значну соціально-економічну роль гнійно-запальних захворювань і ускладнень, зумовлених синьогнійною інфекцією. Так, згідно даних Латіної Н.О. [5] в результаті проведеного аналізу за період 2012-2016 років частота виділення *P. aeruginosa* коливалась в

Таблиця 1.

Показники антибіотикочутливості позалікарняних штамів *P. aeruginosa* (n=54)

| Антибіотики | Чутливі | | Помірно-чутливі | | Стійкі | |
|----------------|---------|-----------|-----------------|-----------|--------|------------|
| | n | % ±m | n | % ±m | n | % ±m |
| Гентаміцин | 18 | 33,3±6,41 | 15 | 27,8±6,1 | 21 | 38,9±6,63 |
| Амікацин | 21 | 38,9±6,63 | 25 | 46,3±6,79 | 8 | 14,8±4,83 |
| Цефтріаксон | 10 | 18,5±5,29 | 15 | 27,8±6,10 | 29 | 53,7±6,79 |
| Цефепім | 15 | 27,8±6,10 | 21 | 38,9±6,63 | 18 | 33,3 ±6,41 |
| Цефтазидим | 29 | 53,7±6,79 | 14 | 25,9±5,96 | 11 | 20,4±5,48 |
| Норфлоксацин | 29 | 53,7±6,79 | 14 | 25,9±5,96 | 11 | 20,4±5,48 |
| Ципрофлоксацин | 35 | 64,8±6,5 | 8 | 14,8±4,83 | 11 | 20,4±5,48 |
| Іміпенем | 35 | 64,8±6,5 | 16 | 29,6±6,21 | 3 | 5,60±3,12 |

залежності від біотопу вилучення та характеру захворювання (від 21% при пневмоніях, до 40% – при отитах). У загальній структурі раньових інфекцій синьогнійна паличка займала до 9% та входила у четвірку лідерів – бактерій, які переважно виявлялися при бойових травмах у учасників АТО. Аналіз популяційного складу мікроорганізмів, ізольованих від хворих з різних типів клінічного матеріалу у відділеннях анестезіології та інтенсивної терапії (ВАІТ) Тернопільської університетської лікарні протягом 2012-2015 рр. показав, що майже третину ізолятів (29,7%) становили неферментуючі грам негативні бактерії – *Pseudomonas* та *Acinetobacter*. Найбільша частота

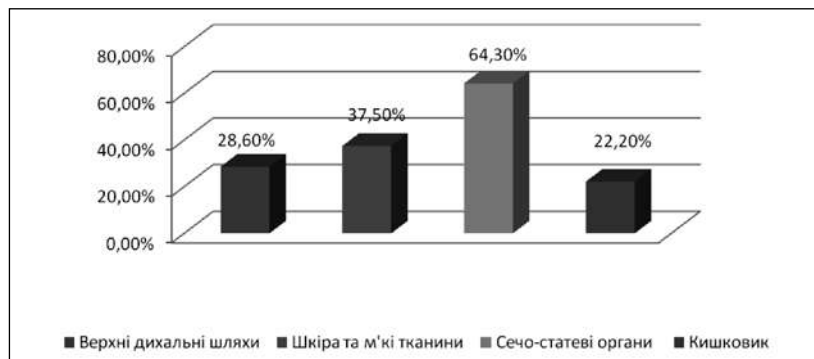


Рис. 1. Щільність вилучених полірезистентних штамів *P. aeruginosa* із різних біотопів хворих (n = 54 штамів).

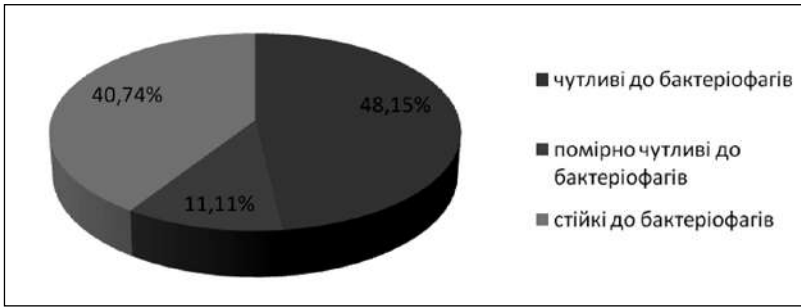


Рис. 2. Показники фагочутливості позалікарняних штамів *P. aeruginosa*.

Таблиця 2.

Результати аналізу співвідношення показників антибіотико- та фагочутливості позалікарняних штамів *P. aeruginosa* (n=54)

| № | Характеристика штамів | n-число штамів | % ± m |
|---|---|----------------|-----------|
| 1 | антибіотико- та фагорезистентні штами | 13 | 24,0±5,82 |
| 2 | антибіотико- та фагочутливі штами | 25 | 46,3±6,79 |
| 3 | антибіотикорезистентні штами, чутливі до бактеріофагів | 7 | 13,0±4,57 |
| 4 | штами, чутливі до антибіотиків, але стійкі до бактеріофагів | 9 | 16,7±5,07 |

та виявлення *P. aeruginosa* була у 2013 році – 41,8% [6]. Більшість досліджень ефективності протисиньогнійних антибіотиків здійснювались, як свідчать дані літератури, відносно нозокоміальних штамів *P. aeruginosa* і підтвердили тенденцію до зростання серед них полірезистентності [4,6,18,19]. Так, наприклад, при визначенні чутливості до антибіотиків бактерій-збудників внутрішньолікарняних інфекцій, які мали місце у відділеннях травматології, реанімації, хірургії, було встановлено, що штами *P. aeruginosa* були чутливі до цефоперазону/ сульбактаму – 75%, до норфлоксацину – 66,7% та були резистентні до ампіциліну, гентаміцину, іміпенему, цефотаксиму – 100% [18].

Взагалі, дані антибіотикочутливості штамів *P. aeruginosa* суттєво різняться в залежності від регіону, біотопу вилучення, від клінічного діагнозу та анамнезу лікування пацієнтів, тощо. Загальним залишається підтвердження тенденції до зростання полірезистентності штамів, що відповідає висновкам, зробленим в результаті проведених нами досліджень.

Висновки. Враховуючи той факт, що в більшості випадків початок лікування різної категорії хворих розпочинається до отримання результатів бактеріологічного дослідження (а в більшості випадків – взагалі без даних бактеріологічного обстеження), вибір антибіотика проводиться імперично з урахуванням локальних даних відносно антибіотикочутливості циркулюючих штамів псевдомонад. Саме тому досить важливим залишається здійснення моніторингу антибіотико- та фагочутливості як в лікувальних закладах (нозокоміальних штамів), так і регіональних, позалікарняних штамів (вилучених із різних біотопів

амбулаторних хворих), що дозволяє визначити антибіотики вибору для ефективної стартової терапії. Згідно отриманих нами даних, для нашого регіону – це іміпенем, цiproфлоксацин, цефтазідим, амікацин.

Відношення до фаготерапії залишається неоднозначним. Основна причина такого стану – відсутність випуску вітчизняних препаратів, які б володіли високою активністю по відношенню до циркулюючих регіональних штамів. Визначення чутливості псевдомонад до досліджених препаратів-бактеріофагів (виробництва Росії) склала близько 50,0% (в залежності від біотопу вилучення).

Перспективи подальших досліджень. Залишається важливим питанням, яке неможливо оцінити однозначно, – доцільність сумісного прийому бактеріофагів та антибіотиків. Адже, після контакту бактерії з антибіотиком змінюється її здатність до розмноження, відбувається перехід планктонних клітин у стан біоплівки – можливі антигенні мутації, що суттєво впливає на ефективність адсорбції та літичної дії фагів.

Напевно, більш доцільним може бути поетапне застосування антибіотиків і бактеріофагів. Для обґрунтування такої рекомендації потрібні клінічні дослідження з проведенням мікробіологічного контролю.

Тим не менше, враховуючи той факт, що фаги можуть лізувати антибіотикорезистентні бактерії, а фагостійкі штами можуть бути чутливими до антибіотиків (що найшло підтвердження у наших дослідженнях), доцільно їх одночасне призначення при тяжкому перебігу захворювання у якості стартової терапії, особливо при відсутності лабораторних даних відносно чутливості збудника до антибіотиків та специфічних фагів.

Безумовно, проблема боротьби з псевдомонадами включає і такий важливий напрямок, як активна та пасивна специфічна профілактика синьогнійної інфекції [20,4]. Незважаючи на те, що проблема синьогнійної інфекції в медицині стоїть перед людством більше століття, значних успіхів в розробці специфічних засобів попередження та лікування псевдомонадів досягти не вдалось. На це знаходяться об'єктивні причини, але слід зазначити, що пошук нових підходів до створення ефективних імунопрепаратів не припиняється і до теперішнього часу.

Література

- Walker HI, Mason ADJr, Raulston GI. Surface Infection with Pseudomonas Aeruginosa. Ann. Surg. 2003;160:297-305.
- Liu PV, Hsieh H. Exotoxins of Pseudomonas aeruginosa. Characteristics of antitoxin A. J. Infect. Dis. 1998;128(4):520-6.
- Cross AS, Sadoff JC, Iglewski BH, Sokol PA. Evidence for the role of toxin A in the pathogenesis of infection with Pseudomonas aeruginosa in humans. Infect. Dis. 2006;142(4):538-46.
- Derkach CA, Kucaj NM, Krilova IA, Gabisheva LS. Antibiotikorezistentnist pozalikarnjanijh shtamiv P. aeruginosa. Zdobutki ta perspektivi u borotbi z infekcijnimi zahvorjuvannjami (mikrobiologija, veterinarija, farmacija): materialy naukovo-praktichnoi konferencii. Harkiv, 18-19 travnja 2017 r.; Harkiv; 2017. s. 88-9. [in Ukrainian].

5. Latina NO, Rol P. *aeruginosa* u rozvitku gnijno-zapalnih procesiv. XV z'izd tovaristva mikrobiologiv Ukraini im. S. M. Vinogradskogo: materiali XV z'izdu tovaristva mikrobiologiv Ukraini im. S. M. Vinogradskogo. Odesa, 11-15 veresnja 2017 r.; Odesa; 2017. s. 205. [in Ukrainian].
6. Klimnjuk SI. Nefermentujuchi gramnegativni mikroorganizmi jak zbudniki vnutrishnogospitalnih infekcij u viddilennjah anesteziologii ta nevidkladnoj terapii. XV z'izd tovaristva mikrobiologiv Ukraini im. S. M. Vinogradskogo: materiali XV z'izdu tovaristva mikrobiologiv Ukraini im. S. M. Vinogradskogo. Odesa, 11-15 veresnja 2017 r.; Odesa; 2017. s. 198. [in Ukrainian].
7. Aleksandrov AD, Anciforova NG, Zhmyrina TI, Moroz AF. Antigenne kompleksy slizi *Pseudomonas aeruginosa*: vydelenie i nekotorye biologicheskie svojstva. Zhurn. mikrobiol. 1984;1:14-9. [in Russian].
8. Derkach SA. Mikrobiologichni aspekti likuvannja gnijno-zapalnih zahvorjuvan. Infekcijni hvorobi. 2015;4(82):5-15. [in Ukrainian].
9. Kovjazina NA. Rozrobotka tverdyh lekarstvennyh form na osnove kompleksnyh polivalentnyh bakteriofagov. Bakteriofagi: Teoreticheskie i prakticheskie aspekty primenenija v medicine, veterinarii i pishhevoj promyshlennosti: materialy mezhdunarodnoj prakticheskoj konferencii. Uljanovsk, Russia, 2013 g.; Uljanovsk UGSHA im. P.A. Stolypina; 2013 g. I. s. 134-40. [in Russian].
10. Aslanov BI. Racionalnoe primenenie bakteriofagov v lechebnoj i protivopepidemicheskoj praktike. Federalnye klinicheskie rekomendacii. M.; 2014. 54 s. [in Russian].
11. Zurabov AJU. Sozdanie otechestvennoj kolekcii bakteriofagov i principy razrobotki lechebno-profilakticheskih fagovih preparatov. Biomedicina. 2012;1:134-8. [in Russian].
12. Nakaz MOZ Ukrainy № 167 Pro zatverdzhennja metodichnih vказivok «Viznachennja chutlivosti mikroorganizmiv do antibakterialnih preparativ» [Internet]. Ministerstvo ohoroni zdorov'ja Ukrainy. Dostupno: <http://mozdocs.kiev.ua/view.php?id=6958>. [in Ukrainian].
13. Akimkin VG, Efimenko NA. Ispolzovanie bakteriofagov v praktike lechenija razlichnyh nozologij hirurgicheskogo i terapevticheskogo profilja: metodicheskie rekomendacii. Moskva; 1998. 32 s. [in Russian].
14. Osnovnye metody laboratornyh issledovanij v klinicheskoj bakteriologii. VOZ, Zheneva. M.; Medicina, 1994. 92 s. [in Russian].
15. Lapach SM, Chubenko AV, Babich PN. Statisticheskie metody v mediko-biologicheskijh issledovanijah s ispolzovaniem Excel. K.: MORION; 2001. 408 s. [in Russian].
16. Glanc S. Mediko-biologicheskaja statistika. M.: Praktika; 1998. 459 s. [in Russian].
17. Derkach SA, Gorodnicka NI, Gabisheva LS. Fagochutlivist pozalikarnjanij shtamiv *Pseudomonas aeruginosa*. Adaptacija fagiv. Teoretichni ta praktichni aspekti rozvitku suchasnoj medicini: materialy mizhnarodnoj nauko-vo-praktichnoj konferencii, Lviv, 22-23 chervnja 2018 r.; Lviv, 2018. s. 92-6. [in Ukrainian].
18. Ckljar TV, Kolomiec AM, Vinnikov AI. Chutlivist do antibiotikov bakterij-zbudnikov vnutrishnolikarnjanij infekcij. XV z'izd tovaristva mikrobiologiv Ukraini im. S. M. Vinogradskogo: materiali XV z'izdu tovaristva mikrobiologiv Ukraini im. S. M. Vinogradskogo, Odesa, 11-15 veresnja 2017 r.; Odesa, 2017. s. 230. [in Ukrainian].
19. Arias-Sanchez FI, Allen RS, Hall AK. Effect of prior exposure to antibiotics on bacterial adaptation to phages. The authors. j. evol. biol. 2018;31:277-86.
20. Derkach SA, Gabisheva LS, Krilova IA. Novi pidhodi do stvorennja imunnih preparativ na osnovi cirkuljujuchijh polirezistentnijh shtamiv. XV z'izd tovaristva mikrobiologiv Ukraini im. S. M. Vinogradskogo: materiali XV z'izdu tovaristva mikrobiologiv Ukraini im. S. M. Vinogradskogo, Odesa, 11-15 veresnja 2017 r.; Odesa, 2017. s. 187. [in Ukrainian].

ПОРІВНЯЛЬНА АКТИВНІСТЬ АНТИСИНЬОГНІЙНИХ АНТИБІОТИКІВ ТА БАКТЕРІОФАГІВ ВІДНОСНО ПОЗАЛІКАРНЯНИХ ШТАМІВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Деркач С. А., Куцай Н. М., Городницька Н. І., Габишева Л. С.

Резюме. Проведено *in vitro* дослідження чутливості позалікарняних штамів *P. aeruginosa* до антибіотиків з антисиньогнійною активністю та специфічних бактеріофагів («Синьогнійний бактеріофаг» та «Пиобактеріофаг»). Найбільшою активністю по відношенню до досліджених позалікарняних штамів *P. aeruginosa* володіли імipенем, ципрофлоксацин, цефтазидим, частота чутливості до яких слала 64,8%, 64,8%, 53,7% відповідно. Чутливість штамів *Pseudomonas aeruginosa* до комерційних препаратів – бактеріофагів складала близько 50% і залежала від біотопу вилучення. 24,0% штамів виявлялися стійкими як до антибіотиків, так і до бактеріофагів, а 13,0% полірезистентних псевдомонад були фагочутливими.

Ключові слова: *Pseudomonas aeruginosa*, позалікарняні штами, антибіотикорезистентність, фагочутливість.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ АНТИСИНЕГНОЙНЫХ АНТИБИОТИКОВ И БАКТЕРИОФАГОВ ОТНОСИТЕЛЬНО ВНЕБОЛЬНИЧНЫХ ШТАММОВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Деркач С. А., Куцай Н. М., Городницкая Н. И., Габишева Л. С.

Резюме. Проведено *in vitro* исследование чувствительности внебольничных штаммов *P. aeruginosa* к антибиотикам с антисинегнойной активностью и специфическим бактериофагам («Синегнойный бактериофаг» и «Пиобактериофаг»). Наибольшей активностью по отношению к исследованным штаммам *P. aeruginosa* владели имипенем, ципрофлоксацин, цефтазидим, частота чувствительности к которым составляла 64,8%, 64,8% и 53,7% соответственно. Чувствительность к коммерческим препаратам – бактериофагам составила около 50% и зависела от биотопа выделения. 24,0% штаммов оказались стойкими как к антибиотикам, так и к бактериофагам, а 13,0% полирезистентных псевдомонад были фагочувствительными.

Ключевые слова: *Pseudomonas aeruginosa*, внебольничные штаммы, антибиотикорезистентность, фагочувствительность.

COMPARATIVE ACTIVITY OF ANTIBIOTICS AND BACTERIOPHAGES AGAINST COMMUNITY-MADE STRAINS OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Derkach S. A., Kutsai N. M., Gorodnitskaya N. I., Gabusheva L. S.

Abstract. The article is sanctified to the study of activity of antibiotics and bacteriophages in relation to community-made strains of *Pseudomonas aeruginosa*.

Pseudomonas aeruginosa, as a typical species of the genus *Pseudomonas*, is known in the territories of all continents, since, on the one hand, this stick is an ordinary inhabitant of reservoirs, various plant substrates, and on the other hand, it exhibits pathogenic properties in relation to various objects of nature, people, warm blooded animals, arthropods, and the like.

Due to the peculiarities of its ecology, the widespread use of the *Pseudomonas* spider was due to the lack of requirements for organic matter for life, the ability to persistence in a non-culturally active state and in the composition of bacterial biofilms, a wide range of resistance to various environmental factors: antibiotics, bacteriophages, disinfectants, and antiseptics.

In spite of the achievement of microbiology and practical medicine, the problems of *Pseudomonas* aerobic infection, both in clinical practice and in veterinary medicine, remain relevant and diverse, include issues of diagnosis, determination of the pathogenic potential of the pathogen, choice of effective treatment tactics, advanced preventive measures, etc.

In modern conditions, when the monopoly position of antibiotics in the complex of antimicrobials is called into question, scientific researches aimed at increasing the efficiency of bacteriophage therapy become of increasing importance.

For experimental studies, we used commercial bacteriophages: «*Pseudomonas* bacteriophage» (FGUP NPO «Microgen», Perm.) and «Piobacteriophage» (FSUE NPO «Microgen» MH RF, Nizhny Novgorod). The sensitivity to specific bacteriophages was determined by the drop method. For the experiment, a suspension of daily agar culture was prepared in an isotonic sodium chloride solution, which was applied to the nutrient agar according rule, after the phage addition.

Most strains of *P. aeruginosa*, which were taken at a concentration of 10^9 to 10^7 CFU / ml for the determination of their sensitivity to the bacteriophages, were assigned to a persistent or weakly sensitive (“-” or “+”, according to the generally accepted evaluation scheme) up to 10^6 – 10^4 CFU / ml – became medium-sensitive (on “++” – “+++”).

Particular importance for adsorption of phage to a bacterial cell (the initial and most important stage of interaction), has the pH value of the medium. It should be in parameters 7-10. Adsorption occurs only on a negatively charged shell of a bacterium of a positively charged phage. In acidic environment, phage acquires a negative charge and repels from target cells.

This should be remembered and during phagotherapy, trying to neutralize the acidic environment of the stomach in the oral application of the drug.

An aim of these researches is an increase of efficiency of fight against *Pseudomonas aeruginosa* infection by determination of perspective of application of modern antibiotics and bacteriophages.

Research object: antibiotic and phagosensitivity of 54 community-made strains of *Pseudomonas aeruginosa*.

Pseudomonas aeruginosa, as a typical species of *Pseudomonas aeruginosa*, withdrawn from the different biotopes of patients.

Research methods: the sensitivity to specific bacteriophages was determined by the drop method. For the experiment, a suspension of daily agar culture was prepared in an isotonic sodium chloride solution, which was applied to the nutrient agar according rule, after the phage addition.

Antibiotic susceptibility studied by disc diffusion method to 8 antibiotics: to the gentamicin, ampicillin, cephtriaxone, cephazolin, ceftazidime, norfloxacin, ciprofloxacin, imipenem and by determination of them minimum repressing concentration.

Results it was registered by a statistical method with the use of indexes of p and χ^2 .

Results and discussions. It is conducted in of vitro research of sensitiveness of community-made strains of *P. aeruginosa* to the antibiotics with activity against pseudomonads and specific bacteriophages («*Pseudomonas* bacteriophage» and «Piobacteriophage»).

By most activity in relation to the investigational of *P. aeruginosa* owned imipenem, ciprofloxacin, ceftazidime frequency of sensitiveness to that was 64,8%, 64,8%, 53,7% accordingly.

Activity of ampicillin and gentamicin was below – sensible to them were 33,3% and 38,9% accordingly. The smallest activity was owned by cephtriaxone, sensible to that were only 18,5% strains ($p < 0,05$).

The sensitiveness of community-made strains of *Pseudomonas aeruginosa* to commercial preparations – bacteriophages laid down about 50% and depended on the biotope of exception. 24,0% strains appeared proof both to the antibiotics and to the bacteriophages, and 13,0% polyresistant pseudomonads there were phagosensitive. No significant difference in the activity of the investigated phages was detected ($\chi^2 > 0,05$).

The antibiotics of choice for starting therapy are imipenem, ciprofloxacin, ceftazidime. For the increase of efficiency of phagotherapy it is desirable to create collection of regional strains – bacteriophages for producing of home preparations.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*, community-made strains, antibiotic resistance, phagosensitivity.

Рецензент – проф. Лобань Г. А.

Стаття надійшла 30.08.2018 року