

УДК 579.61:616-093/-098

## ЧУТЛИВІСТЬ ШТАМІВ СТАФІЛОКОКІВ, ЗБУДНИКІВ ГНІЙНО-ЗАПАЛЬНИХ ІНФЕКЦІЙ, ДО КОМЕРЦІЙНИХ ПРЕПАРАТІВ- БАКТЕРІОФАГІВ

Деркач С.А., Воронкіна І.А., Коцар О.В., Крилова  
І.А., Головенькіна Н.А.\*, Головахіна Л.М.\*\*

ДУ «Інститут мікробіології та імунології  
ім. І.І. Мечникова НАМН України»

\*Харківська міська клінічна багатопрофільна лі-  
карня №17

\*\*Обласна дитяча інфекційна клінічна лікарня  
voronkina2008@ukr.net

Широке розповсюдження умовно-патогенної мікрофлори з високою резистентністю до антибіотиків зумовлює пошук нових підходів до лікування хворих з гнійно-запальними захворюваннями [1]. Одним із перспективних напрямків є «реанімація» та удосконалення фаготерапії. За даними Лазаревої Є.Б. та Крилова В.Н. чутливість мікроорганізмів до бактеріофагів у деяких випадках перевищує чутливість до антибіотиків. Крім цього, фаготерапія не має протипоказань, через те інтерес до застосування бактеріофагів у останні роки повертається [2, 3].

Фагова терапія була вперше розроблена ще на початку ХХ століття. З метою з'ясування можливості застосування фагів для лікування та профілактики інфекційних захворювань багато уваги приділялось вивченню фагів проти патогенних бактерій: дизентерійних, брюшнотифозних, дифтерійної палички. З початком ери антибіотиків у 40-х роках на Заході вивчення бактеріофагів було майже припинено. Однак, у Східній Європі за останні 50 років проведені чисельні клінічні дослідження стосовно фагової терапії. У останні роки вивчення бактеріофагів перетворилось у самостійну область біології. Це, на думку багатьох вчених, надає оптимізму по відношенню боротьби з інфекціями, викликаних антибіотикорезистентними мікроорганізмами [4].

Аналіз опублікованих результатів досліджень різних авторів показує, що терапевтичний ефект від лікування бактеріофагами в середньому складає 50%, тому що їх призначення відбувається без визначення чутливості вилучених штамів до препарату, суміш фагів відбирають проти штамів, вилучених у певному регіоні, які можуть бути неактивними при використанні в іншому регіоні [5, 6]. Для створення високоактивних препаратів бактеріофагів слід включати в колекцію штамів-продуцентів фагів як можна більше різних культур мікроорганізмів, виділених із великої кількості

джерел, які мають великий географічний розкид [7, 8].

На території України виробництво лікарських препаратів бактеріофагів не проводиться, але імпортовані із Росії, як моно-, так комплексні фаги, широко реалізуються в аптечній мережі більшості великих міст України.

Дані відносно чутливості циркулюючих на території України штамів стафілококів, виділених з різних біотопів хворих, до імпортованих із Росії препаратів бактеріофагів залишаються нез'ясованими.

**Мета нашої роботи** – визначення чутливості *S. aureus* та коагулазонегативних стафілококів (CNS), виділених із різних біотопів хворих на гнійно-запальні захворювання, до препаратів-бактеріофагів.

### Матеріали і методи

Проведено аналіз чутливості до антибіотиків та бактеріофагів 175 штамів *S. aureus* та 120 штамів CNS (*S. cohnii*, *S. warneri* і *S. epidermidis*), виділених від хворих із різного клінічного матеріалу та клінічно здорових людей (працівників медичного закладу, студентів медичного університету). Серед обстежених були хворі з гнійно-запальними захворюваннями шкіри та підшкірної клітковини (фурункульоз, карбункульоз, гідраденіт, абсцес, флегмона шкіри), з проявами синдрому дисбактеріозу кишечника, зумовленого стафілококом, з ЛОР-патологією (отит, гайморит, фронтит, тонзиліт, фарингіт), з гнійно-запальними процесами нижніх відділів сечостатевого тракту (цистит, уретрит, простатит).

Відбір матеріалу для досліджень проводили згідно з діючими нормативними документами [9, 10].

Ідентифікацію мікроорганізмів здійснювали за морфологічними, тинкторіальними, культуральними, біохімічними властивостями загальноприйнятими методами [9-11].

Визначення чутливості до бактеріофагів («Стафілококкового бактеріофага» («Биомед», м. Пермь), «Секстафага» («Биомед», м. Пермь), «Піобактеріофага» (ФДУП НВО «Микроген» МОЗ РФ, м. Уфа) проводили крапельним методом [10].

Отримані результати досліджень оброблено методом варіаційної статистики за допомогою програми MS Excel 2000, Biostat з використанням стандартної похибки доли ( $s_p$ ) та критерію  $\chi^2$  [12, 13].

### Результати та обговорення

Аналіз чутливості мікроорганізмів до фагів *in vitro* показав різний рівень літичної активності цих протимікробних засобів (табл.1). Так, під дією стафілококкового бактеріофагу зливний лізис (CL) спостерігався у (5,6±1,7) % штамів, напівзливний (SCL) у (8,0±2,0) %. До піобактеріофага відсоток штамів у яких спостерігався зливний лізис склав (17,1±2,8) %, напівзливний – (20,0±3,0) %.

Таблиця 1.- Чутливість *S. aureus*, виділених від хворих на гнійно-запальні захворювання до літичної дії препаратів-бактеріофагів

Ступінь лізису	<i>S.aureus</i> , n=175					
	стафілококовий бактеріофаг		секстафаг		піобактеріофаг	
	n	%±Sp	n	%±Sp	n	%±Sp
1	2	3	4	5	6	7
CL*	10	5,6±1,7	15	8,6±2,1	30	17,1±2,8
SCL	14	8,0±2,0	18	10,3±2,3	35	20,0±3,0
+++	14	8,0±2,0	25	14,3±2,6	29	16,6±2,8
++	26	14,6±2,7	41	23,4±3,2	41	23,4±3,2
+	57	32,4±3,5	43	24,6±3,3	22	12,6±2,5
-	54	30,9±3,5	33	18,8±3,0	18	10,3±2,3

\*Примітки: CL – зливний лізис; SCL – напівзливний лізис; +++ – окремі негативні колонії у кількості більше 20; ++ – окремі негативні колонії у кількості від 10 до 20; + – окремі негативні колонії у кількості до 10; - – відсутність лізису; n – абсолютне число штамів

Терапевтичний ефект від дії бактеріофагу спостерігається, якщо зона лізису культури визначається на +++, SCL та CL. Враховуючи той факт, що високою чутливістю до дії бактеріофагів (CL) володіла дуже незначна кількість штамів, ми віднесли до розряду “фагочутливі” всі штами, які мали показники лізису CL, SCL та +++, до «помірно-чутливих» - штами з зоною лізису на «++» та «+», до стійких – ізоляти, в яких лізис був відсутній.

Виходячи із вищезазначеного, чутливими до стафілококового бактеріофагу були (21,6±3,1) % штамів, до секстафагу - (33,2±3,6) %. Найбільш активним стосовно *S. aureus* виявився піобактеріофаг. Чутливість до даного препарату була достовірно вищою ( $\chi^2 < 0,05$ ) ніж до стафілококового бактеріофагу та секстафагу. Питома вага ізолятів, які мали високі показники лізису під дією цього фага склала (53,7±3,8) % (рис.1).

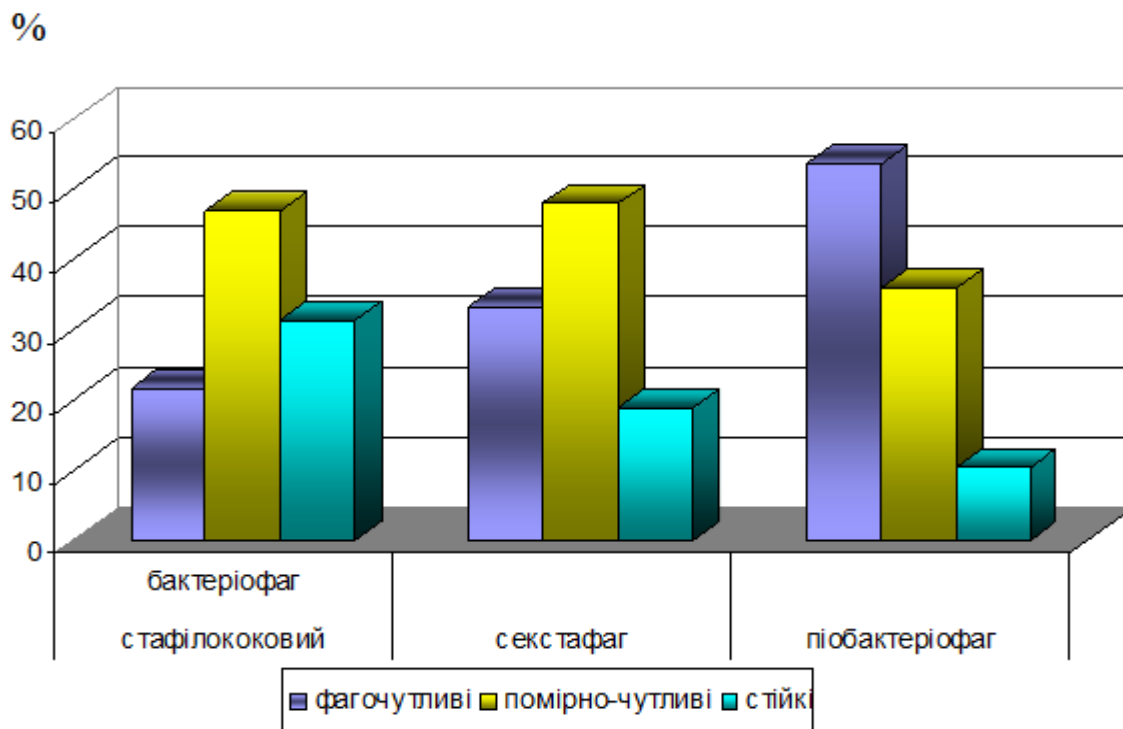


Рис. 1. Питома вага *S. aureus*, з різним рівнем фагочутливості до досліджених препаратів-бактеріофагів

Найменш активним стосовно *S. aureus* виявився стафілококовий бактеріофаг. Питома вага штамів, у яких лізис був відсутній, склала (31,4±3,6) %.

Таким чином встановлено, що активність комерційних препаратів-бактеріофагів (стафілококового бактеріофагу та секстафагу) відносно вивчених штамів *S. aureus* перебуває майже на одному рівні, більш активним виявився піобактеріофаг ( $\chi^2 < 0,05$ ).

Крім штамів *S. aureus*, не менш важливу етіологічну роль відіграють CNS, питома вага яких серед збудників гнійно-запальних захворювань збільшується з кожним роком. Ми вважали актуальним визначення фагочутливості таких штамів. Для досягнення поставленої мети був проведений аналіз фагочутливості 120 штамів CNS, виділених із різного клінічного матеріалу від хворих з гнійно запальними

захворюваннями.

Для аналізу ефективності різних препаратів-бактеріофагів стосовно CNS ми також зробили розподіл

даних штамів на фагочутливі, помірно-чутливі та стійкі, як і у групі *S. aureus*. Отримані дані відображені на рис. 2.

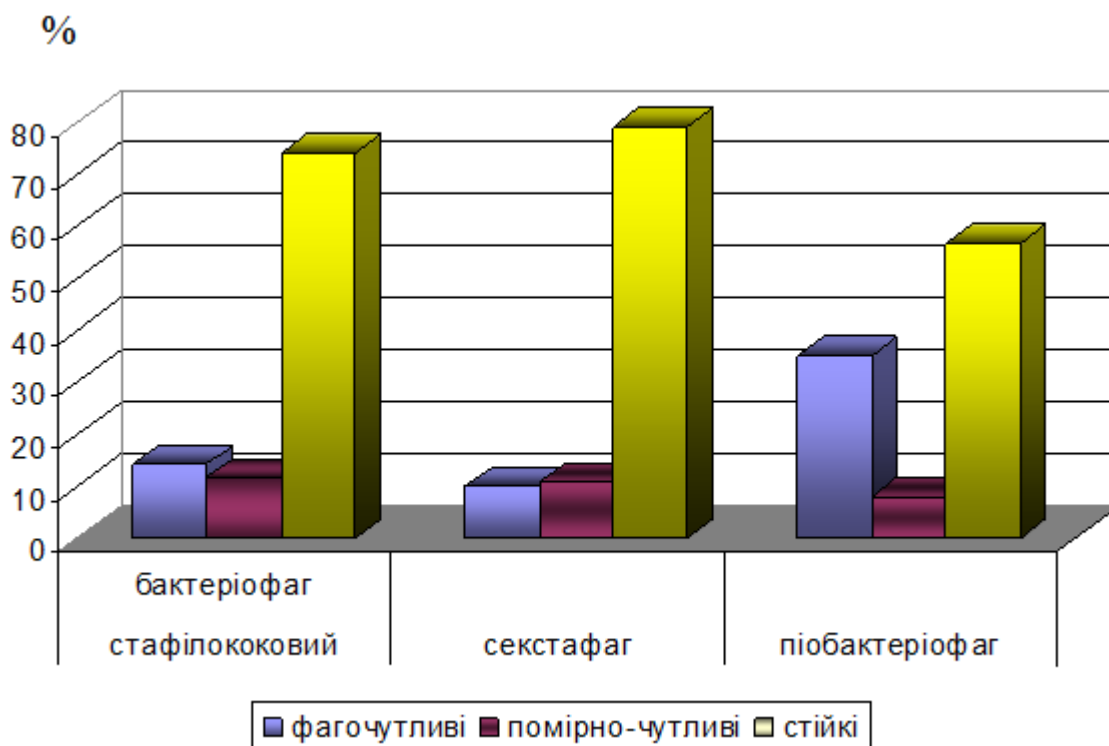


Рис. 2. Питома вага CNS, з різним рівнем чутливості до досліджених препаратів-бактеріофагів

Серед CNS достовірно вищою чутливістю була до піобактеріофагу (35,2 % фагочутливих штамів) ( $\chi^2 < 0,05$ ), як і у випадку з *S. aureus*. Показники фагочутливості до стафілококового бактеріофагу та секстафагу достовірно не відрізнялись і були відповідно (14,2 ± 3,2) %, (10,0 ± 2,7) % ( $\chi^2 > 0,05$ ).

При порівнянні фагочутливості *S. aureus* і CNS (рис. 1, 2) слід відзначити, що найбільша кількість стійких штамів до всіх бактеріофагів (чутливість до яких було досліджено) виявлена серед CNS ( $\chi^2 < 0,05$ ).

Достовірно вища кількість чутливих штамів виявлена серед *S. aureus* до секстафагу та піобактеріофагу.

Біологічні властивості мікроорганізмів можуть змінюватись під дією різних факторів, у тому числі і в залежності від біотопу паразитування. Тому нами проведено порівняльне вивчення фагочутливості вилучених штамів *S. aureus* із таких біологічних ніш, як кишечник, носоглотка, сечостатева система та раневі поверхні. Фагочутливими також вважали штамів з ступенем лізису CL, SCL та на «+++» (табл.2).

Таблиця 2.-Питома вага фагочутливих штамів *S. aureus*, вилучених із різних біотопів

Препарат-бактеріофаг	<i>S. aureus</i> , n=175							
	кишечник n=65		носоглотка n=40		сечостатева система n=20		гнійні інфекції шкіри n=50	
	n	%±s <sub>p</sub>	n	%±s <sub>p</sub>	n	%±s <sub>p</sub>	n	%±s <sub>p</sub>
стафілококовий бактеріофаг	11	16,9±4,7	6	15,0±5,7	1	5,0±5,0	10	20,0±5,7
секстафаг	20	30,8±5,8	7	17,5±6,1	7	35,0±10,9	19	38,0±6,9
піобактеріофаг	34	52,3±6,2	27	67,5±7,8	12	60,0±11,2	21	42,0±7,0

Аналізуючи отримані результати перш за все треба визначити, що рівень фагочутливості мав широкий діапазон значень незалежно від біотопу виділення мікроорганізму.

Лізуюча активність специфічних бактеріофагів по відношенню до стафілококів, виділених з фекалій, характеризувалась різними показниками і знаходилась в межах (16,9-52,3) %. Найбільша кількість фагочутливих штамів *S. aureus* була до піобактеріофага (52,3±6,2)%.

Як видно з представлених матеріалів, штамів *S. aureus*, виділені з носоглотки, подібно до штамів попередньої групи також характеризувались досить різними показниками фагочутливості. Так, чутливість до стафілококового бактеріофага та секстафага знаходилась майже на одному рівні: (15,0±5,7) та (17,5±6,1) % відповідно. Відсоток фагочутливих штамів *S. aureus*, виділених з носоглотки, до піобактеріофага був (67,5±7,8) % ( $\chi^2 < 0,05$ ).

Серед штамів стафілококів, виділених із сечової системи, чутливим до стафілококового бактеріофагу був лише один штам - (5,0±5,0)%. Достовірно найбільша кількість фагочутливих золотавих стафілококів, виділених з даного біотопу, виявлена під дією піобактеріофага.

Стосовно *S. aureus*, виділених з відокремлюваного шкіри, найбільша кількість чутливих штамів була також до піобактеріофага.

## Висновки

Таким чином, незалежно від біотопу вилучення, найбільш активним фагом, відносно *S. aureus*, був піобактеріофаг, що може свідчити про більшу схожість (по морфологічним, антигенним та генетичним характеристикам) штамів стафілококів, циркулюючих у нашому регіоні, з тими штамми, які були реципієнтами фагів, включеними до препарату «Піобактеріофаг».

Отже, найбільш перспективним із вивчених препаратів бактеріофагів для лікування стафілококових захворювань різного походження у Харківському регіоні є «Піобактеріофаг» (виробництва ФДУП НВО «Микроген» МОЗ РФ, м. Уфа).

Застосування з лікувальною метою комерційних препаратів бактеріофагів є перспективним напрямком і при дотриманні певних умов може бути альтернативою антибіотикотерапії (при наявності полірезистентності у збудника чи протипоказань до застосування хворому антибіотиків). Головним напрямком підвищення ефективності фаготерапії є створення вітчизняних фагопрепаратів з постійним поповненням колекції та оновленням наборів високовірulentних фагів, адаптованих до циркулюючих штамів стафілококів.

## References

1. Microbiological study of the principle of creating complex of preventive antimicrobial properties on the formation of antibiotic resistance [Text] / N. Filimonov [et al.] // Journal of Pharmacy. - 2005. - № 1 (41). - S. 69-72.
2. Lazarev, EB Effectiveness of bacteriophages in the complex treatment of patients with burn injury [Text] / EB Lazarev, SV Smirnov, VB Khvatov // Antibiotics and chemotherapy. - 2001. - № 1 - pp. 10-14.
3. Krylov, VN Phage therapy / V. Krylov // Chemistry and Life. - 2002. - № 3. - Pp. 11-15.
4. The use of bacteriophages as the concept of curative and preventive medicine [Text] / EE Karabelesh [et.] // Actual problems of transport medicine. - 2008. - № 1 (11). - S. 135-139.
5. Wentzel, RP Nosocomial Infection [Text] / RP Wentzel. - Moscow: Medicine, 1990. - 345.
6. Darbeeva, OS Experience in the use of adapted bacteriophage preparations in a hospital urology [Text] / OS Darbeeva, LM's May, TS Perepanova // Biologics. - 2002. - № 1. - Pp. 13-17.
7. Prospects for the use of diagnostic and therapeutic drugs bacteriophage in medicine [Text] / A. Voronkov [et al.] // Journal of Dnipropetrovsk University. Biology. Medicine. - 2012. - T. 2., Vol. 3. - S. 20-25.
8. Prospects for the use of bacteriophages for therapeutic and prophylactic [Text] / AD Yafaev, LP Zuev, AV Lyubimov, BI Aslan // Infection control in health care settings. - St. Petersburg, 1998. - S. 55-61.

9. Guidelines for the use of standardized microbiological (bacteriological) methods in clinical diagnostic laboratories [Text] / Application number 1 to the order of the USSR Ministry of Health number 535 of 22 April 1985 - 45 c.

10. Guidelines for the microbiological diagnosis of diseases caused by enterobacteria [Text] / SD Teterenova, VA Kimssso, M. Hooks, MS Premuhina. - Moscow, 1984. - 142 p.

11. Hult, D. Identification bakteriy Burgi [Text] / A. Hult, N. Krieg, P. Sneath [translation. from English. GA Zavarzin]. - Academic Press, 2001. - 800.

12. Basic laboratory techniques in clinical bacteriology [Text] / WHO, Geneva. -M. : Medicine, 1994. - 92.

13. Lapach, SM Statistical methods in biomedical studies using Excel [Text] / SM Lapach, AV Tschubenko, P. Babich. - K.: "MORION", 2001 - 408 p.

14. Glantz, S. Biomedical Statistics [Text] / Per. from English. - M.: Practice, 1998. - 459 p.

## УДК 579.61:616-093/-098

### ЧУТЛИВІСТЬ ШТАМІВ СТАФІЛОКОКІВ, ЗБУДНИКІВ ГНІЙНО-ЗАПАЛЬНИХ ІНФЕКЦІЙ, ДО КОМЕРЦІЙНИХ ПРЕПАРАТІВ-БАКТЕРІОФАГІВ Деркач С.А., Воронкіна І.А., Коцар О.В., Крилова І.А., Головенькіна Н.А.\*, Головахіна Л.М.\*\*

Широке розповсюдження умовно-патогенної мікрофлори з високою резистентністю до антибіотиків зумовлює пошук нових підходів до лікування хворих з гнійно-запальними захворюваннями. Одним із перспективних напрямків є «реанімація» та удосконалення фаготерапії. Дані відносно чутливості циркулюючих на території України штамів стафілококів, виділених з різних біотопів хворих, до імпортованих із Росії препаратів бактеріофагів залишаються нез'ясованими. Проведене нами дослідження визначення фагочутливості *S. aureus* та CNS до стафілококового бактеріофагу, секстафагу та піобактеріофагу показав різний рівень літичної активності цих протимікробних засобів. Найбільш перспективним із вивчених препаратів бактеріофагів для лікування стафілококових захворювань у Харківському регіоні виявився піобактеріофаг.

**Ключові слова:** стафілокок, гнійно-запальні захворювання, бактеріофаги

## УДК 579.61:616-093/-098

### ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ШТАММОВ СТАФИЛОКОККОВ, ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ, К КОММЕРЧЕСКИМ ПРЕПАРАТАМ-БАКТЕРИОФАГАМ Деркач С.А., Воронкина И.А., Коцарь О.В., Крылова И.А., Головенькина Н.А.\*, Головахина Л.М.\*\*

Широкое распространение условно-патогенной микрофлоры с высокой резистентностью к антибиотикам обуславливает поиск новых подходов к лечению больных с гнойно-воспалительными заболеваниями. Одним из перспективных направлений является «реанимация» и усовершенствование фаготерапии. Данные относительно чувствительности циркулирующих на территории Украины штаммов стафилококков, выделенных из разных биотопов больных, к импортированным из России препаратам бактериофагов остаются невыясненными. Проведенное нами исследование по определению фагочувствительности *S. aureus* и CNS к стафилококковому бактериофагу, секстафагу и пиобактериофагу показало различную литическую

активность этих противомикробных средств. Наиболее перспективным из изученных препаратов бактериофагов для лечения стафилококковых заболеваний в Харьковском регионе является пиобактериофаг.

**Ключевые слова:** стафилококк, гнойно-воспалительные заболевания, бактериофаги

**579.61:616-093/-098**

**SUSCEPTIBLE STRAINS OF STAPHYLOCOCCI,  
AGENTS CHRONIC INFLAMMATORY INFECTION  
HAVE ACCESS TO COMMERCIAL PREPARATIONS  
OF BACTERIOPHAGE**

**Derkach SA, Voronkina IA, Kotsar OV Krylov**

**IAGolovenkina NA \* Golovahina LM \*\***

The wide spread of pathogenic microorganisms with a high

resistance to antibiotics causes the search for new approaches to the treatment of patients with purulent-inflammatory diseases. One promising area is the "resuscitation" and the improvement of phage therapy. Data on the sensitivity of the circulating on the territory of Ukraine strains of staphylococci isolated from various habitats of patients to drugs imported from Russia bacteriophages remain outstanding. We conducted a study to determine fag's sensitivity *S. aureus* and CNS to staphylococcal bacteriophage, sekstafags and piobakteriofags showed lytic activity of various antimicrobial agents. The most promising of the drugs studied bacteriophages to treat staphylococcal disease in the Kharkov region is piobakteriofag.

**Key words:** *Staphylococcus aureus*, pyoinflammatory diseases, bacteriophage