

## ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

© Коцар О.В., Кочнєва О.В., Долгова Т.С., Малюченко А.Ю., 2016  
УДК 579.861.2:578.347:57.085.2  
DOI

О.В. Коцар, О.В. Кочнєва, Т.С. Долгова, А.Ю. Малюченко

## АЛЬТЕРНАТИВНИЙ ЗАСІБ САНАЦІЇ РЕЗИДЕНТНИХ НОСІЇВ ЗОЛОТИСТОГО СТАФІЛОКОКА

Харківський національний медичний університет

*Роль золотистого стафілокока в етіологічній структурі гнійно-запальних інфекцій має особливе значення. Актуальною проблемою залишається вибір способу боротьби з бактеріоносіями. Одним з альтернативних шляхів є використання бактеріофагів. У ході дослідження була визначена чутливість штамів *Staphylococcus aureus*, вилучених від студентів-медиків Харківського національного медичного університету (ХНМУ), до дії бактеріофагів різних виробників. Чутливість визначали диско-дифузійним методом до таких бактеріофагів: стафілофаг (ФДУП «НВО «Микроген» МОЗ РФ, випуск м. Перм), піофаг (ФДУП «НВО «Микроген» МОЗ РФ, випуск м. Нижній Новгород) і стафілококовий бактеріофаг (фармацевтичний завод «Біофарм», м. Біла Церква, Україна). Результати дослідження показали, що більш ніж половина виділених штамів *S. aureus*, ( $68,75 \pm 6,69$ ) %, були чутливими до стафілофага українського виробництва, до піофага та стафілофага російського виробника встановлена низька чутливість – ( $45,83 \pm 7,19$ ) та ( $22,90 \pm 6,06$ ) % відповідно.*

**Ключові слова:** бактеріоносії, *Staphylococcus aureus*, бактеріофаги.

Стафілококи залишаються одним з основних збудників гнійно-запальних захворювань різної локалізації [1]. Останні роки спостерігається розповсюдження грам-позитивних мікроорганізмів, резистентних до багатьох препаратів, що ускладнює лікування гнійно-запальних інфекцій та є однією з основних проблем сучасної медицини. Рівень резистентності до деяких препаратів у ряді випадків буває настільки високим, що вони втрачають свою клінічну значимість. Особливе місце серед збудників займають метицилінрезистентні стафілококи.

На основі багатоцентрових досліджень, проведених у США і більшості країн Європи та Росії, було підтверджено глобальне зростання метицилінрезистентних штамів стафілококів (MRSA), особливо нозокоміальних [2, 3]. Однак реальний рівень поширення MRSA-штамів у регіонах і в конкретних закладах в цілому залишається нез'ясованим. Моніторинг за циркуляцією штамів не

лише нозокоміальних, а і позалікарняних, являється важливим завданням сучасної медицини, в тому числі і серед майбутніх медичних працівників [4].

За даними вчених, майже 40 % людей є постійними носіями *S. aureus* на слизовій оболонці верхніх дихальних шляхів. Важливе клінічне значення бактеріоносійства зумовлюється типовістю процесу транслокації стафілокока з шкірних покривів та слизової оболонки у внутрішнє середовище організму власника з розвитком широкого спектру захворювань (від легких ступенів ураження шкіри до загрозливих для життя станів: пневмонія, сепсис, синдром токсичного шоку) [5, 6].

Актуальною залишається розробка методів санації резидентних стафілококових носіїв з метою профілактичних і лікувальних заходів при виникненні інфекції верхніх дихальних шляхів. Для санації доцільно застосовувати ліки, які б, з одного боку, стимулювали місцевий імунітет і природну колонізаційну резистентність слизової оболонки макроорганізму, з іншого – знижали вірулентні властивості мікроорганізму, тим самим підвищуючи ефективність лікарської дії.

Використання антибактерійних препаратів з метою санації майже завжди має негативні сторони, супроводжується зміною реактивності організму та порушенням видового складу нормальної мікрофлори. Альтернативні пошуки препаратів антибактерійної дії проводилися завжди. Для профілактики та лікування гнійно-септичних захворювань у 20-30-ті роки минулого століття досить успішно використовували бактеріофаги, однак з появою антибіотиків їх застосування припинили. Враховуючи безпечність застосування фагових препаратів, сучасні лікарі знов повернулись до їх використання.

На сьогодні в Україні для санації бактеріоносіїв використовують комерційні бактеріофаги як українського, так і російського виробництва. Але вивчення лізуючої активності бактеріофагів різних виробників відносно штамів *S. aureus*, циркулюючих на території України, не проводилось. Публікації вітчизняних авторів з аналізу терапевтичної ефективності тих чи інших серій бактеріофагів також відсутні.

Метою роботи було визначення чутливості штамів *S. aureus*, вилучених від студентів-медиків ХНМУ, до дії бактеріофагів різних виробників.

### Матеріали і методи

Наукову роботу проводили на базі бактеріологічної лабораторії ХНМУ. В ході дослідження було обстежено 248 студентів віком від 19 до 23 років. Об'єктом вивчення були клінічні ізоляти стафілококів, вилучені із слизу зів'я і носа студентів-медиків.

У роботі були використані мікробіологічні методи ізоляції та ідентифікації вилучених від носіїв мікроорганізмів, згідно з діючими нормативними документами МОЗ України [7]. Клінічні штами стафілококів ідентифікували відповідно з рекомендаціями 12-го видання «Визначення бактерій Берджі» за комплексом культуральних і біохімічних властивостей (STAPHY test 16, Lachema, Чехія) [8].

Чутливість виділених культур золотистого стафілокока до оксациліну досліджували за допомогою методу стандартних дисків. Облік результатів проводили згідно з наказом № 167 [9]. Після порівняння отриманих результатів досліджувані штами відносили до метицилінрезистентних (MRSA) та метицилінчутливих (MSSA).

Чутливість виділених штамів *S. aureus* до бактеріофагів визначали на середовищі Мюллера-Хінтона (HiMedia, Індія) крапельним методом [10]. Приготування суспензій мікроорганізмів із визначеною концентрацією мікробних клітин проводили за допомогою електронного приладу Densi-La-Meter (PLIVA-Lachema a.s., Чехія) по шкалі McFarland згідно з інструкцією до приладу. Після інкубації при 37 °С протягом 18-20 год визначали ступінь лізису стафілококів: CL – зливний лізис; SCL – напівзливний лізис; +++ – окре-

мі негативні колонії у кількості >20; ++ – окремі негативні колонії у кількості від 10 до 20; + – окремі негативні колонії у кількості до 10, - – відсутність лізису [10]. У наших дослідженнях вважали показниками високої чутливості зони лізису CL та SCL, інші зони лізису – стійкими. Чутливість штамів стафілокока визначали до стафілофага (ФДУП «НВО «Микроген» МОЗ РФ, м. Перм), піофага (ФДУП «НВО «Микроген» МОЗ РФ, м. Нижний Новгород) та до стафілококового бактеріофага (фармацевтичний завод «Біофарм», м. Біла Церква, Україна).

### Результати досліджень та їх обговорення

У ході проведеного дослідження було встановлено, що кількість виділених штамів золотистого стафілокока серед обстежених студентів складає 19,35 %, серед них виявлено 6,25% штамів MRSA, що узгоджується з даними літератури [11].

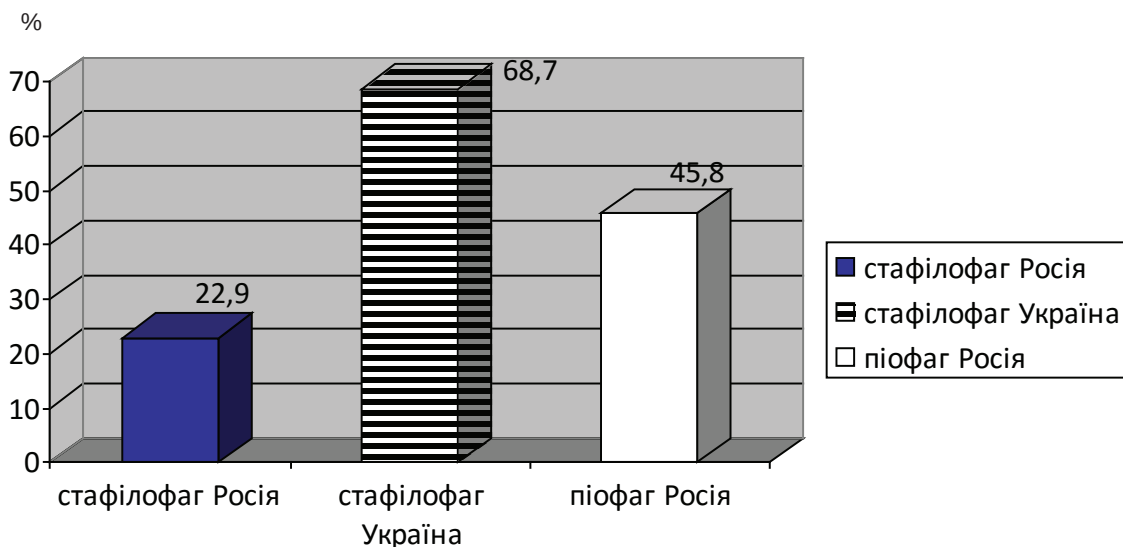
Кількість циркулюючих штамів MSSA майже в 15 разів більше, ніж штамів MRSA ( $p < 0,05$ ) (табл. 1).

Таблиця 1

Частка штамів MSSA та MRSA, виділених від студентів-медиків

Чутливість до метициліну	<i>S. aureus</i> , n=48	
	n	M±m, %
MRSA	3	6,25±3,49
MSSA	45	93,75±3,49

Далі було проведено визначення фагочутливості штамів *S. aureus* до різних серій бактеріофагів. Препарати стафілофага і піофага мали різну активність у межах від 22,9 до 68,7 % (мал. 1).

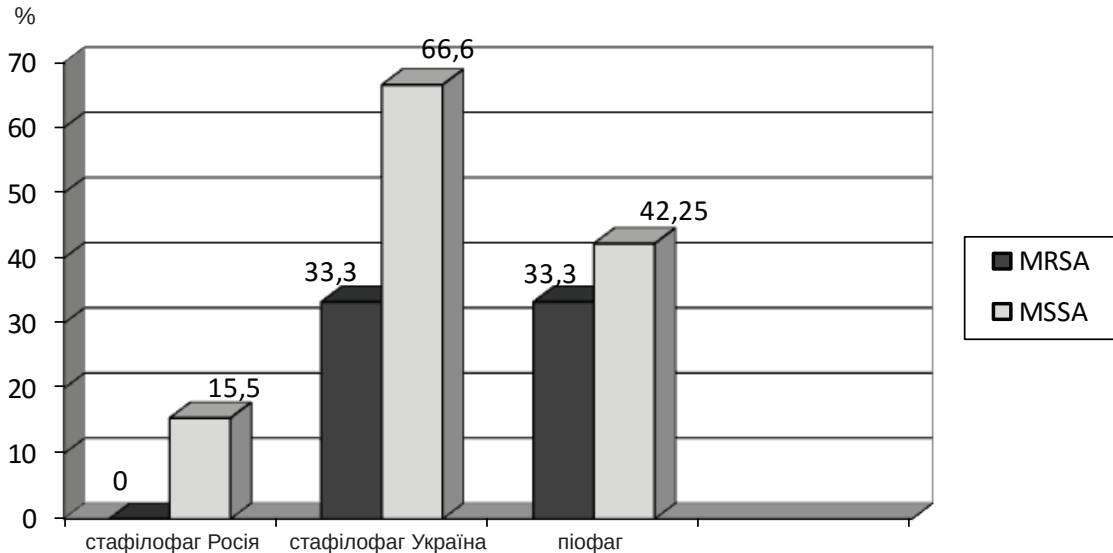


Мал. 1. Рівень чутливості штамів *S. aureus* до бактеріофагів.

## ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Встановлено, що більш ніж половина штамів *S. aureus*, ( $68,75 \pm 6,69$ ) %, були чутливими до стафілофага українського виробництва, до піофага – ( $45,83 \pm 7,19$ ) % і тільки ( $22,9 \pm 6,06$ ) % ізолятів мали чутливість до російського стафілофага.

Наступним етапом дослідження було визначення фагочутливості штамів MRSA та MSSA до дії комерційних бактеріофагів (мал. 2).



Мал. 2. Рівень чутливості штамів MRSA та MSSA до дії бактеріофагів.

Порівняльний аналіз фагочутливості штамів, виділених від студентів-медиків, показав, що штами MRSA мали низькі показники чутливості – 33,3 %, в той час у штамів MSSA виявлені високі показники фагочутливості (від 42,2 до 66,6 %) .

Аналізуючи дані проведених досліджень, встановлено, що частота циркуляції штамів золотистого стафілокока серед майбутніх медичних працівників складає 19,4 %. Кількість штамів MRSA серед студентів дорівнює ( $6,25 \pm 3,49$ ) %, що менше від циркулюючих MSSA штамів ( $93,75 \pm 3,49$ ) % ( $p < 0,05$ ).

Результати дослідження показали, що фагочутливість штамів *S. aureus* визначалась у межах від 22,9 до 68,7 %. Чутливість штамів MRSA до піофага та стафілофага українського виробництва не мала різниці й складала 33,3 %. Чутливість штамів MSSA до піофага визначалась на рівні ( $42,25 \pm 7,36$ ) %, до стафілофага російського виробництва – ( $15,50 \pm 5,40$ ) %, до стафілофага українського виробництва – ( $66,60 \pm 7,03$ ) %.

Таким чином, активність бактеріофагів відносно штамів *S. aureus*, виділених від студентів-медиків, досить різноманітна. Найбільш ефективним виявився бактеріофаг – стафілофаг українського виробництва. Пояснити високу чутливість штамів *S. aureus* до дії бактеріофагів можна тим, що препарат був отриманий зі штамів, які циркулюють на території України.

Безумовно, дія бактеріофага на мікробні клітини не обмежується тільки літичним ефектом. Якщо літичного ефекту так і не відбулося внаслідок взаємодії бактерії з фагом, то в мікробних клітинах відбуваються інші зміни: вони більш доступні для фагоцитозу (опсонізуюча дія бактеріофага), фіксують комплемент (амбоцепторна дія), здатні на раптову аглютинабельність (аглютинувальна дія), втрачають вірулентність і токсичність.

Видатний науковець Д'Ерель характеризував значення бактеріофага для імунітету: «Він збуджує організм, постраждалий від інфекції, до опору; він утворює лізини з опсонізуючим ефектом, він сприяє розвитку фагоцитозу та відкриває шлях до розвитку антибактерійного імунітету» [12]. Отже, дія бактеріофага може здійснюватись у двох формах: стерилізуюча (літична) та імунізуюча.

### Висновки

1. Використання бактеріофагів у практичній медицині має перевагу над антибіотиками за рахунок їх високої специфічності та відсутності побічної дії. Комерційні бактеріофаги можна рекомендувати як альтернативний засіб санації бактеріоносіїв з попереднім визначенням фагочутливості штамів, виділених від пацієнтів.

2. Обмежене коло використання антибіотиків, ефективних для лікування стафілококових інфекцій, особливо спричинених штамми MRSA, сприяє перспективному використанню бактеріофагів для санації носіїв.

Перспективним напрямком подальшого дослідження є вивчення механізмів формування резистентності штамів *S. aureus* до бактеріофагів різного походження.

### Література

1. Способ санации бактерионосителей *S. aureus* / Л.П. Потехина, Т.М. Уткина, О.Л. Карташова, А.Ф. Зверев // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 5. – С. 2-7.
2. Павлова И.Ж. Биологические свойства *S. aureus*, выделенных из различных локусов бактерионосителей / И.Ж. Павлова, Ю.С. Хомич // Вестник Челябинского государственного университета. – 2013. – № 7 (298). – С. 66-67.
3. Изучение антибактериального действия наночастиц меди и железа на клинические штаммы *S. aureus* / И.В. Бабушкина, В.В. Бородулин, Г.В. Коршунов, Д.М. Пучиньян // Саратовский мед. журн. – 2010. – Т. 6, № 1. – С. 9-14.
4. Хараева З.Ф. Особенности внутрибольничных штаммов *Staphylococcus aureus* / З.Ф. Хараева, Б.О. Балахова, Р.Р. Белим-готова // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 11(6). – С. 1316-1318.
5. Сидоренко С.В. Клиническое значение антибиотикорезистентных грамположительных микроорганизмов / С.В. Сидоренко // Инфекции и антимикробная терапия. – 2003. – Т. 5, № 2. – С. 48-54.
6. Страчунский Л.С. Внебольничные MRSA – новая проблема антибиотикорезистентности / Л.С. Страчунский, Ю.А. Белькова, А.В. Дехнич // Клиническая микробиологическая антимикробная химиотерапия. – 2005. – Т. 7, № 1. – С. 32-46.
7. Медицинская микробиология: Учебная литература для студ. мед. вузов / под ред. В.И. Покровского, О.К. Поздеева. – М., 1999. – С. 74-76.
8. Хулт Д. Определитель бактерий Берджи / Д. Хулт, Н. Криг, П. Снит [пер. с англ. Г.А. Заварзин]. – М.: Мир, 2001. – 800 с.
9. Основные методы лабораторных исследований в клинической бактериологии / ВОЗ, Женева. – М.: Медицина, 1994. – 92 с.
10. Методические указания по микробиологической диагностике заболеваний, вызываемых энтеробактериями / С.Д. Теренова, В.А. Килессо, Ю.М. Крюков, М.С. Премухина. – М., 1984. – 142 с.
11. Формирование распространенности MRSA штаммов у больных с гнойно-воспалительными заболеваниями / Г.Д. Гасретова, О.М. Синькова, Т.Г. Харсеева, А.Ю. Миронов // Клин. лабор. диагностика. – 2013. – № 4. – С. 33-36.
12. Аспекты применения препаратов бактериофагов в лечении гнойных ран / О.А. Ерещенко, Л.С. Стрельников, Г.И. Кабачный, О.П. Стрилец // Биотехнология. Биомедицинская инженерия и технология современных социальных практик: Материалы науч.-практ.конф., 3-5 апр. 2009 г. – Курск, 2009. – С. 40.

### ALTERNATIVE WAYS OF SANATION RESIDENT CARRIER STAPHYLOCOCCUS AUREUS

O.V. Kotsar, O.V. Kochneva, T.S. Dolhova, A.Yu. Maluchenko

**SUMMARY.** *The role of Staphylococcus aureus in the etiological structure of inflammatory infections is particularly important. The actual problem is the choice of a method of controlling bacteria carriers. One alternative way is the use of bacteriophages. The study was determined the sensitivity of Staphylococcus aureus strains, isolated from medical students of Kharkiv National Medical University, to the action of bacteriophages from various productions. This sensitivity was defined disc diffusion method by bacteriophages such as: stafilofag (FSUE NPO "Microgen" MH RF c. Perm), piofag (FSUE NPO "Microgen" MH RF c. Nizhny Novgorod) and staphylococcal bacteriophage (Pharmaceutical Factory "Biofarm" Bila Cerkva, Ukraine). The results showed that more than half of the isolates *S. aureus* (68,75±6,69)% were sensitive to the stafilofag Ukrainian production to the piofag and stafilofag Russian production are low sensitivity (45,83±7,19) % and (22,9±6,06) %, accordingly.*

**Key words:** *bacillicarriers, Staphylococcus aureus, bacteriophages.*

Отримано 18.04.2016 р.