

УДК 616.9-053:616.34-07

**ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА
ЧУТЛИВОСТІ МІКРООРГАНІЗМІВ,
ВИЛУЧЕНИХ ВІД ХВОРИХ ДІТЕЙ ДО
ПРЕПАРАТІВ - БАКТЕРІОФАГІВ**

¹Деркач С.А., ¹Коцар О.В., ¹Воронкіна І.А.,
²Габишева Л.С., ³Коробкова І.В.

¹ДУ “Інститут мікробіології та імунології
ім. І.І. Мечникова АМН України”, ²Харківський
національний медичний університет, ³залізнична
СЕС

Ідея фаготерапії є досить давньою. Вперше її запропонував канадець Д'Єрель в 1917 році. Досліджене ним явище лізису бактерій, назване феноменом бактеріофагії, було підтверджене величезною кількістю дослідів та прикладів практичного використання фагів для успішного лікування цілого ряду захворювань [1]. Значний інтерес відносно нового відкриття виявили учені та медики більшості країн світу. Перспектива практичного застосування бактеріофагів для боротьби з інфекційними захворюваннями була підтверджена цілим рядом відомих вчених та лікарів. Однак, після відкриття пеніциліну у 40-х роках, домінуючою стала ідея пошуку все нових антибіотиків, а вивчення проблем фаготерапії відступила на задній план. Тільки в останні роки наступила черга знову повернутися до можливості використання фагів, як природних факторів боротьби з патогенними та умовно - патогенними бактеріями.

Основною причиною ренесансу фаготерапії є той факт, що система захисту населення від бактеріальних інфекцій, яка базувалась на вакцинації та використанні антибіотиків, повільно але впевнено втрачає свою ефективність [2]. Все більше з'являється бактерій з множинною антибіотикорезистентністю, яка формується в короткий період, навіть до нових антибактеріальних препаратів [3,4,5,6,7].

Не слід недооцінювати і побічний ефект від широкого застосування антибіотиків як на організм хворого, так і в плані екологічного та епідеміологічного

благополуччя. [8,9,10,11]. Ера антибіотикотерапії все помітніше втрачає свої позиції, що змушує активізувати пошук заміни антибіотиків. Найбільш популярною ідеєю в сучасний період є відродження фаготерапії. На Заході вже організовано велику кількість фаготерапевтичних компаній, патентуються ідеї, іде полювання за терапевтичними фагами і їх депонуванням, а для підготовки майбутнього споживача розпочалась реклама в мас-медіа.

Аналізу сучасного стану такої проблеми та перспективності фаготерапії присвячена наукова робота доктора біологічних наук, професора В.Н. Крилова [2]. Наведений ним показник терапевтичного ефекту готових заводських сумішей бактеріофагів в середньому складає 50%. Одною із головних причин цього явища автор називає інерційність системи оновлення складу сумішей фагів у препаратах, бо вони формуються із штамів, вилучених в тих регіонах, де налагоджений випуск даних препаратів і використовуються кілька років (до десяти і більше). В значній мірі певна частина фагів при цьому уже втратила ефективність із-за нових резистентних варіантів штамів бактерій, циркулюючих на тій чи іншій території.

В Україні випуску комерційних препаратів, до складу яких входили б бактеріофаги, немає, але офіційна реєстрація, право на реалізацію в аптечній мережі мають ряд бактеріофагів, що експортуються із Росії.

Вивчення лізуючої активності таких препаратів відносно циркулюючих на території України патогенних та умовно – патогенних штамів мікроорганізмів не проводилось. Публікації вітчизняних авторів з аналізу терапевтичної ефективності тих чи інших серій бактеріофагів також відсутні.

Матеріали і методи

В експерименті була вивчена фагочутливість 268 штамів мікроорганізмів, вилучених із різних біотопів табл. 1.

Таблиця 1. Вид мікроорганізмів (%), вилучені із різних біотопів, які були вивчені на фагочутливість

| вид мікроорганізму | епітопи вилучення | | | | | | | |
|--------------------|-------------------|------|----------------|------|----------------|------|--------------------|------|
| | носоглотка | | кишечник | | шкіра, рани | | мочестатеві органи | |
| | абс. число, шт | % | абс. число, шт | % | абс. число, шт | % | абс. число, шт | % |
| S. aureus | 26 | 34,2 | 10 | 15,1 | 16 | 24,2 | 10 | 16,7 |
| S. epidermalis | 10 | 13,1 | 0 | 0 | 10 | 15,1 | 10 | 16,7 |
| K. pneumoniae | 10 | 13,1 | 16 | 24,2 | 10 | 15,1 | 10 | 16,7 |
| P. aeruginosa | 10 | 13,1 | 10 | 15,1 | 10 | 15,1 | 10 | 16,7 |
| Proteus spp | 10 | 13,1 | 10 | 15,1 | 10 | 15,1 | 10 | 16,7 |
| E. coli | 10 | 13,1 | 20 | 30,3 | 10 | 15,1 | 10 | 16,7 |

Були використані комерційні серії монофагів та комплексних (полівалентних) бактеріофагів: стафілококовий, клебсіельозний, секстафаг (ФДУП “НВО “Мікроген” МОЗ РФ випуск м. Перм), піофаг (ФДУП “НВО “Мікроген” МОЗ РФ випуск м. Нижній

Новгород). Піобактеріофаг уявляє собою суміш фаголізатів проти збудників бактеріальних інфекцій таких як стафілокок, стрептокок, ешеріхії, протей, псевдомонади та клебсієли. Секстафаг має такий самий видовий склад, але іншого виробника.

Полівалентні бактеріофагі застосовуються, при інфекціях, викликаних декількома збудниками та в тому випадку, коли лікування монофагом не приводить до одужання. Визначення фагочутливості проводили згідно методики крапельним методом [12]. Для досліду готували завис добової агарової культури у ізотонічному розчині хлориду натрію, яку наносили газоном на поживний агар, після підсихання наносили краплю фага. Після інкубації при 37°C протягом 18-20 годин визначали ступінь лізису ентеробактерій: CL – зливний лізис; SCL – напівзливний лізис; +++ - окремі негативні колонії у кількості >20; ++ - окремі негативні колонії у кількості від 10 до 20; + - окремі негативні колонії у кількості до 10, --відсутність лізису. Відсутність літературних даних про фагочутливість вилучених на території Харківській області штамів бактерій спонукала нас провести порівняльне вивчення дії різних комерційних препаратів бактеріофагів, які реалізуються на даній території з урахуванням епітопів вилучення патогенних та умовно – патогенних мікроорганізмів. Отримані результати були узагальнені у вигляді таблиць. Враховуючи той факт, що високою чутливістю до дії бактеріофагів (CL) володіло дуже незначна кількість штамів, ми віднесли до розряду “фагочутливі” всі штами, які мали показники лізису як CL, так і SCL. Як видно із даних, наведених у таблиці 2, рівень фагочутливості мав широкий діапазон значень і залежав від виду мікроорганізму і від серії препарату. Так, стафілококові культури були достовірно більше чутливі до дії піобактеріофагу (≈70% штамів), чим до моно та секстафагу. (≈30% штамів). Досліджені штами клебсіелл, протейної палочки та псевдомонад мали однакову, досить невисоку чутливість до всіх серій препаратів фагів, а кишкова палочка була більш чутливою до піобактеріофагу (≈35% штамів), чим до коліпротейного фагу (≈10%). Враховуючи той факт, що біологічні властивості мікроорганізмів можуть змінюватись під дією різних факторів, у тому числі і в залежності від епітопу паразитування було проведено порівняльне вивчення фагочутливості вилучених штамів із таких середовищ, як носоглотка, шкіра, раневі поверхні, кишечник, сечостатева система (таблиця 3).

Як показали узагальнені результати, найбільш чутливими до дії фагів були штами *S. aureus*, вилучені із носоглотки та шкіри, менше – із кишечнику. Клебсієли навпаки, були більш чутливі до дії фагів, якщо місцем їх заселення був кишечник. Штами *Ps. aeruginosa* і *Proteus*, вилучені із мазків шкіри, ранової поверхні були більш чутливими до дії фагових препаратів, а *E. coli* мала високу резистентність незалежно від епітопу вилучення. Враховуючи той факт, що в медичній практиці далеко не завжди лікар, призначаючи бактеріофаги, має дані про чутливість його до збудника, а іноді і про природу мікроорганізмів (відсутність бактеріологічного обстеження), нами схематично показана в діаграмі доцільність використання в таких випадках тих чи інших препаратів бактеріофагів, виходячи із їх імовірної активності.

Слід зробити висновок, що більшість циркулюючих в даному регіоні штамів умовно – патогенних бактерій (незалежно від виду та епітопу вилучення) володіють низькою чутливістю до комерційних серій бактеріофагів. Але певна частина штамів, вилучені із різних епітопів відрізняються досить високою фагочутливістю.

Використання бактеріофагів існуючих комерційних серій без попереднього визначення чутливості до них вилучених від хворого штамів мікроорганізмів є необґрунтованим.

Одним із напрямків зміни стереотипів роботи з бактеріофагами є постійний пошук високоурентних фагів, адаптація їх до циркулюючих на кожній окремій території бактерій, періодичне оновлення колекції окремих складових фагів, тощо.

Задача створення фагових колекцій, детальне дослідження властивостей фагів і розробка нової концепції фаготерапії являється одною із найбільш актуальних проблем в загальній системі захисту населення від бактеріальних інфекцій.

Література

1. Сутин И. А. Бактериофаги и их применение в медицинской практике: Медгиз, 1958. –117с.
2. Крилов В.Н. Фаготерапия. //Химия и жизнь.- 2002.- №3. -С11-15.
3. Дудкевич Б., Лісецькі П. Резистентність окремих внутрішньо лікарняних патогенів до антибіотиків. //Лабораторна діагностика.-2002.-№3.-С15-21.
4. Шапиро А.В., Покас Е.В. Антибиотики их воздействие на возбудителей оппортунистических и назокомиальных инфекций. //Лабораторна діагностика.-2002.-№3.-С23-28.
- 5.Кавалец М. Антибиотики - бомба замедленного действия. //Лабораторна діагностика.-2002.-№3.-С29-35.
- 6.Данилейченко В.В., Корнійчук О.П., Немченко О.О. і співав.. Чутливість до хіміотерапевтичних препаратів грам негативних бактерій, виділених при гнійно-запальних процесах протягом 2005-2007 років. //Biomedical and Anthropology 2008.-№11-С23-27.
- 7.А.П. Воловец, С.П. Кривоустов Подходы к рациональной антибактериальной терапии инфекции органов дыхания у детей. //Новости медицины и фармации.-2008.-№236.-С7-18.
- 8.Бондаренко В.М., Боев Б.В., Лыкова Е.А., Воробьев А.А. Дисбактериозы желудочно-кишечного тракта. //Рос. гастроэнтерол. журн.-1998.-№ 1.-С66-69.
- 9.Анохіна Г.А., Скопиченко С.В. Сучасні аспекти мікроекологічного дисбалансу, профілактика та лікування. //Журнал практичного лікаря.-2001.-№3.-С29-33.
- 10.Ардатская М.Д., Дубинин А.В., Минушкин О.Н. Дисбактериоз кишечника: Современные аспекты изучения проблемы, принципы диагностики и лечения. //Терапевтический архив.-2001.-№2.-С67-72.
- 11.Руководство для врачей: Метод. Указания по микробиологической диагностике заболеваний, вызываемых энтеробактериями”, №04723/3, МЗ СССР, Энтеробактерии: /Голубева И.В., Килессо В.А., Киселева Б.С. и соавт.- Москва, 1984г.-20с.

Таблиця 2. Чутливість штамів мікроорганізмів (незалежно від епітопу вилучення) до дії різних комерційних препаратів бактеріофагів (%±m)

| Назва мікроорганізму | Кількість штамів, шт. | монофаг | | | | | | секстафаг | | | | | | піобактеріофаг | | | | | |
|-----------------------|-----------------------|----------------------|----------|---------|----------|--------|----------|-----------|----------|---------|----------|--------|----------|----------------|----------|---------|----------|--------|----------|
| | | Висока | | Середня | | Низька | | Висока | | Середня | | Низька | | Висока | | Середня | | Низька | |
| <i>S. aureus</i> | 62 | 10 | 16,1±1,2 | 11 | 17,8±1,2 | 41 | 6,6±0,7 | 15 | 24,2±1,1 | 7 | 11,2±1,2 | 40 | 64,5±1 | 32 | 51,7±0,9 | 10 | 16,1±1,2 | 20 | 32,2±1 |
| <i>S. epidermalis</i> | 30 | 3 | 10,0±1,8 | 1 | 3,3±1,8 | 26 | 86,7±0,7 | 2 | 6,7±1,8 | 1 | 3,3±1,8 | 27 | 90,0±1,8 | 4 | 13,3±1,7 | 1 | 3,3±1,8 | 25 | 83,3±0,7 |
| <i>K. pneumoniae</i> | 46 | 10 | 21,7±1,3 | 6 | 13,0±1,4 | 30 | 65,2±0,8 | 15 | 32,7±1,2 | 1 | 2,2±1,5 | 30 | 65,2±0,9 | 14 | 30,4±1,2 | 1 | 2,1±1,5 | 31 | 67,3±0,8 |
| <i>P. aeruginosa</i> | 40 | дослід не проводився | | | | | | 9 | 22,5±1,4 | 5 | 12,5±1,5 | 26 | 65,0±0,9 | 10 | 25,0±1,4 | 1 | 2,5±1,6 | 29 | 72,5±0,8 |
| <i>Proteus spp</i> | 40 | 1 | 2,5±1,6 | 0 | 0 | 39 | 97,5±0,2 | 4 | 10,0±1,5 | 1 | 2,5±1,6 | 35 | 87,5±0,5 | 4 | 10,0±1,5 | 1 | 2,5±1,6 | 35 | 87,5±0,5 |
| <i>E. coli</i> | 50 | 3 | 6,0±1,4 | 0 | 0 | 47 | 94,0±0,3 | 15 | 30,0±1,2 | 1 | 2,0±1,4 | 34 | 68,0±0,8 | 9 | 18,0±1,3 | 10 | 20,0±1,3 | 31 | 62,0±0,8 |

Таблиця 3. Фагочутливість бактерій, вилучених із різних епітопів

| Штами мікроорганізмів | Кількість штамів, шт | Епітопи вилучення | Монофаг | | Секстафаг | | Піюфаг | |
|-----------------------|----------------------|-------------------|---------------|----------|-----------|----------|--------|----------|
| | | | n | %±m | n | %±m | n | %±m |
| S. aureus | 10 | кишечник | 1 | 10,0±3,2 | 2 | 20,0±3,0 | 5 | 50,0±2,3 |
| | 26 | носоглотка* | 7 | 27,0±1,7 | 6 | 23,0±1,7 | 18 | 69,2±1,1 |
| | 10 | ссс** | 0 | 0 | 1 | 10,0±3,2 | 2 | 20,0±3,0 |
| | 16 | шкіра | 2 | 12,5±2,4 | 6 | 37,6±1,6 | 7 | 43,7±1,5 |
| S. epidermalis | 10 | носоглотка | 1 | 10,0±3,2 | 0 | 0 | 2 | 20,0±3,0 |
| | 10 | ссс | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 10 | шкіра | 2 | 20,0±3,0 | 2 | 20,0±3,0 | 2 | 20,0±3,0 |
| K. pneumoniae | 16 | кишечник | 8 | 50,0±1,8 | 7 | 43,7±1,9 | 6 | 37,5±1,6 |
| | 10 | носоглотка | 0 | 0 | 5 | 50,0±2,3 | 0 | 0 |
| | 10 | ссс | 0 | 0 | 1 | 10,0±3,2 | 4 | 40,0±2,6 |
| | 10 | шкіра | 2 | 20,0±3,0 | 2 | 20,0±3,0 | 4 | 40,0±2,6 |
| P. aeruginosa | 10 | кишечник | Дані відсутні | | 3 | 30,0±2,8 | 2 | 20,0±3,0 |
| | 10 | носоглотка | Дані відсутні | | 0 | 0 | 1 | 10,0±3,2 |
| | 10 | ссс | Дані відсутні | | 0 | 0 | 1 | 10,0±3,2 |
| | 10 | шкіра | Дані відсутні | | 4 | 40,0±2,6 | 6 | 60,0±2,1 |
| Proteus spp | 10 | кишечник | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 10,0±3,2 |
| | 10 | носоглотка | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 10 | ссс | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 10,0±3,2 |
| | 10 | шкіра | 1 | 10,0±3,2 | 4 | 4,0±2,1 | 3 | 30,0±2,8 |
| E. coli | 20 | кишечник | 3 | 15,0±2,1 | 7 | 41,1±1,7 | 4 | 20,0±2,0 |
| | 10 | носоглотка | 0 | 0 | 5 | 50,0±2,3 | 4 | 40,0±2,6 |
| | 10 | ссс | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | шкіра | 0 | 0 | 1 | 10,0±3,2 | 1 | 10,0±3,2 |

носоглотка* – верхні дихальні шляхи, ссс** – сечостатева система.

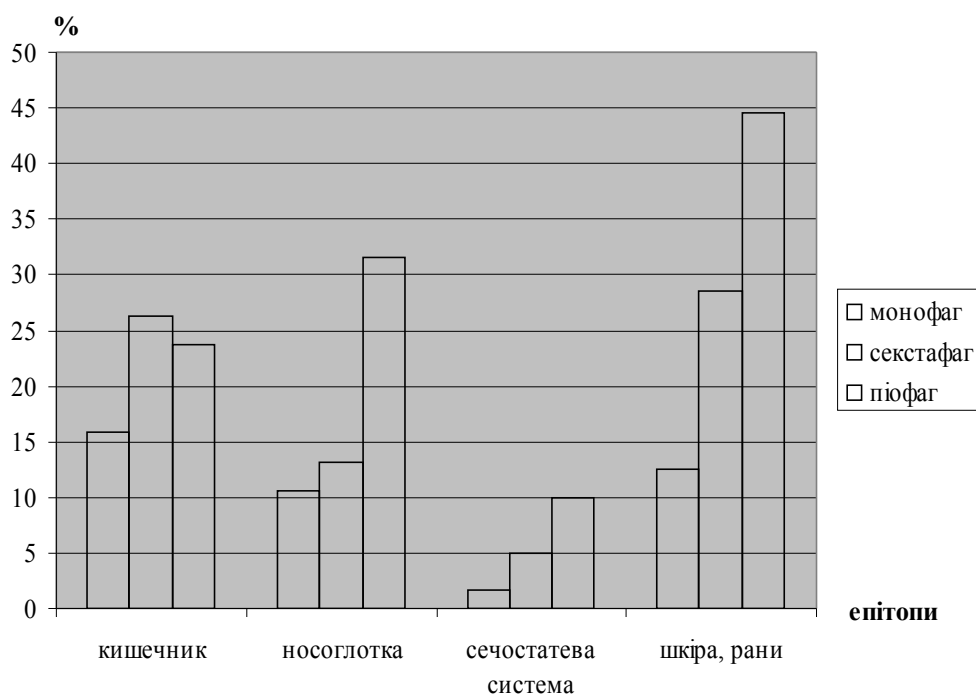


Рис. Фагочутливість штамів різних мікроорганізмів, в залежності від епітопу їх вилучення висновки

УДК 616.9-053:616.34-07

**ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА
ЧУТЛИВОСТІ МІКРООРГАНІЗМІВ,
ВИЛУЧЕНИХ ВІД ХВОРИХ ДІТЕЙ ДО
ПРЕПАРАТІВ - БАКТЕРІОФАГІВ**

**Деркач С.А., Коцар О.В., Воронкіна І.А.,
Габишева Л.С., Коробкова І.В.**

Проведено вивчення фагочутливості штамів УПМ, вилучених із різних епітопів хворих дітей до дії комерційних серій препаратів бактеріофагів. Показано, що в середньому 50-70% циркулюючих штамів були фагочутливими.

Ключові слова: фаготерапія, бактеріофагі, фагочутливість.

УДК 616.9-053:616.34-07

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ
МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ
БОЛЬНЫХ ДЕТЕЙ К ПРЕПАРАТАМ –
БАКТЕРИОФАГАМ**

**Деркач С.А., Коцар Е.В., Воронкина И.А.,
Габишева Л.С., Коробкова И.В.**

Проведено изучение фагочувствительности 268 штамов УПМ, выделенных из разных епитопов больных детей к действию комерционных серий препаратов бактериофагов. Показано, что в среднем 50-70% циркулирующих штамов были фагочувствительными.

Ключевые слова: фаготерапия, бактериофаги, фагочувствительность.

UDC 616.9-053:616.34-07

**COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF
GERMS SENSITIVE EXUDED FROM
DISEASED CHILDREN TO ACTION FROM
COMMERCIAL SERIES BACTERIOPHAGIES
MEDICINES**

**Derkach S.A., Kotsar E.V., Voronkina I.A.,
Gabisheva L.S., Korobkova I.V.**

Comparison of study phagosense of stains exuded from different epitops from diseased children to action from commercial series of bacteriophagies medicines. It had been stated that in owerage 50-70% circulate stains were phagosensitive.

Key words: phagoterapia, bacteriophagies, phage susceptibility.