

© Деркач С.А., 2015  
УДК 616-002.3-093/-098  
DOI

С.А. Деркач

## МІКРОБІОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ЛІКУВАННЯ ГНІЙНО-ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України (Харків)



*Проаналізовано результати різнопланових досліджень (антибіотико- та фагорезистентності, здатності до плівкоутворення) MRSA та MSSA позалікарняних штамів-збудників гнійно-запальних процесів. Визначені напрямки удосконалення діагностики та лікування гнійно-запальних захворювань.*

**Ключові слова:** гнійно-запальні захворювання, антибіотикорезистентність, фагочутливість, MRSA та MSSA штами, біоплівки.

Захворювання, що спричиняються бактерійними та вірусними чинниками, продовжують займати одне з перших місць у світі як за чисельністю, так і за тяжкими наслідками для хворих. Кожен день у світі від інфекційних захворювань гине 50 тисяч людей. Ще більш вражаючі показники дитячої смертності: щорічно гине 12 млн дітей віком до 14 років, з них 9 млн від інфекційних захворювань [1, 2].

Слід зазначити, що цій проблемі приділяється досить уваги, а наукові дослідження останніх років суттєво поглибили знання про біологічні властивості збудників, їх генетичні характеристики та адаптивну мінливість, про здатність персистенції на біотичних та абіотичних

об'єктах у складі біоплівок та створення асоціацій патогенних, умовно-патогенних бактерій з представниками нормофлори тощо.

Значного розвитку набула фармакотерапія та імунорекція цілого ряду інфекційних процесів. Але проблеми як діагностики, так і лікування гнійно-запальних захворювань залишаються і на сьогодні актуальними і різноплановими.

Окремої уваги потребує аналіз причин формування хронічного перебігу захворювань інфекційного ґенезу та відпрацювання алгоритму їх виявлення і корекції.

Якщо взяти узагальнений підхід до діагностики та лікування хворих із запальними захворюваннями шкіри, верхніх дихальних шляхів, сечостатевої системи, з дисфункцією кишечника тощо, його можна охарактеризувати таким чином: хворий звертається до лікаря (дільничного, або педіатра, рідше – до профільного спеціаліста), який, візуально оглянувши його, призначає антибактерійну терапію на 7-14 днів, після чого, як правило, пацієнт лікується в домашніх умовах, досягає клінічного видужання (нормалізації температури, зменшення або зникнення гострих симптомів хвороби). Якщо виникає рецидив захворювання, або й побічні прояви антибіотикотерапії (алергічні реакції, розвиток дисбактеріозу кишечника, нефротоксичні реакції тощо), лікування розпочинають інші лікарі-фахівці. Кожен із них намагається зробити «ремонт» у своєму куті згідно зі своєю спеціалізацією. При цьому порушується головний принцип – лікувати не хворобу, а хворого, не стільки наслідки, як причину.

Надмірне нераціональне застосування антибіотиків, особливо широкого спектру дії, без визначення чутливості до них конкретного збудника, помилкові дози і тривалість їх прийому, забезпечують розвиток опортуністичних інфекцій, формують стійкість до антибіотиків, провокують метаболічні порушення, токсичні реакції, пов'язані з органотропною дією хіміотерапевтичних препаратів [3-5].

Терапевтичне застосування антибіотиків повинно відповідати ряду правил, одне з яких – правило відпо-

відності [5]. Це значить, що слід враховувати особливість інфекційного захворювання, біотоп ураження, наявність конкретних відомостей про збудника та його антибіотикочутливість. Згідно з висловлюванням провідних вчених інфекціоністів, «виявлення збудника, яких би зусиль воно не коштувало, завжди виправдане результатом лікування» [5].

На жаль, у нашій країні сучасний стан лабораторної діагностики в більшості випадків не забезпечує швидку, достовірну та всебічну інформацію відносно етіологічно-значимого збудника інфекційного захворювання.

Ми проаналізували проблеми і результати власних досліджень задля обґрунтування напрямків удосконалення антибактерійної терапії гнійно-запальних захворювань.

Матеріалом для дослідження був слиз із носоглотки, вміст пустилу, фурункулів, трофічних виразок, сеча, випорожнення, штами мікроорганізмів, отримані згідно з договорами про науково-практичне співробітництво з міськими клінічними лікарнями та ДУ «Харківський обласний лабораторний центр Держсанепідслужби України».

Дослідження проводили в лабораторії екологічного та епідеміологічного моніторингу ДУ «ІМІ НАМНУ». Відбір матеріалу для досліджень проводили згідно з діючими нормативними документами [6].

Ідентифікацію мікроорганізмів здійснювали за морфологічними, тинкторіальними, культуральними, біохімічними властивостями загальноприйнятими методами [6, 7].

Визначення антибіотикочутливості та ідентифікацію метицилінорезистентних штамів стафілококів здійснювали диско-дифузійним методом з використанням дисків з антибіотиками згідно з Наказом МОЗ України № 167 [8].

Інформацію про наявність полірезистентності досліджених штамів отримували за допомогою комп'ютерної програми WHONET 5,1 [9].

Для експериментальних досліджень використовували комерційні препарати бактеріофагів: «Стафилококковий бактериофаг» («Биомед», г. Пермь, РФ), «Секстафаг» («Биомед», г. Пермь, РФ) та «Пиобактериофаг» (ФДУП НВО «Микроген» МЗ РФ, м. Нижний Новгород).

Вивчення чутливості до специфічних бактеріофагів проводили крапельним методом [10]. Для дослідів готували завис добової агарової культури в ізотонічному розчині хлориду натрію, яку наносили газоном на поживний агар, після підсихання наносили краплю фага. Після інкубації при 35 °С протягом 18-20 год визначали ступінь лізису стафілококів: 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 [11].

Визначення біоплівкоутворюючих властивостей стафілококів проводили методом культуральних планшетів, запропонованим D. Christensen. В якості фарбника використовували 0,1 % генціан-фіолетовий, оптичну щільність біоплівок вимірювали при довжині хвилі 630 нм за допомогою мікропланшетного рідера «Multiskan EX» (тип 355) [12, 13].

Отримані дані оброблені методом варіаційної статистики за допомогою програми MS Excel 2000 Biostat-4, з використанням стандартної похибки ( $S_p$ ) та критерію  $\chi^2$  [14].

В останні роки світовою тенденцією є зростання ролі умовно-патогенної мікрофлори (УПМ) у виникненні ряду захворювань, особливо гнійно-запальних з хронічним перебігом. У попередніх дослідженнях нами були проаналізовані результати бактеріологічного обстеження таких хворих. Ідентифікація 349 штамів, вилучених із різних біотопів амбулаторних та госпіталізованих хворих з гнійно-запальними захворюваннями (обстежених в перші дві доби знаходження у стаціонарі, що виключало внутрішньолікарняне інфікування), дозволило визначити етіологічне значення різних видів бактерій (мал. 1).

Було показано, що роль провідного збудника поза-лікарняних гнійно-запальних інфекцій відіграють стафілококи (41,0 % – *S. aureus*; 32,2 % – коагулазонегативні стафілококи (CNS)) [15, 16].

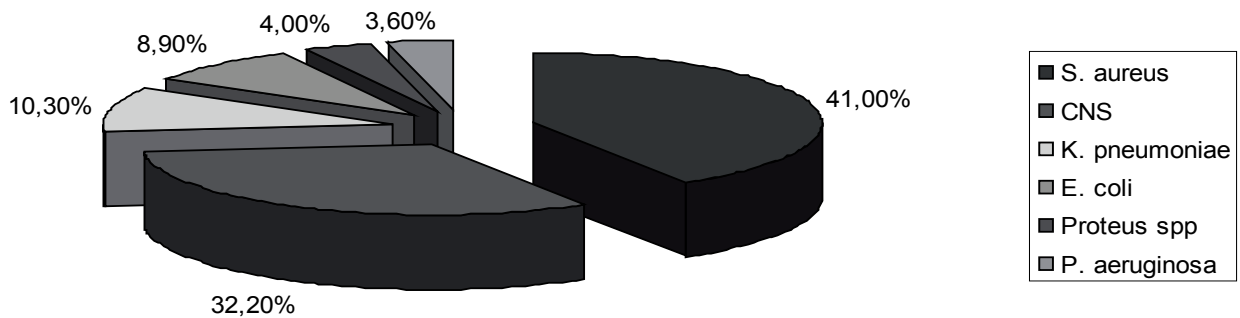
У такій ситуації особливе значення має стрімке зростання антибіотикорезистентності циркулюючих штамів стафілококів, особливо до  $\beta$ -лактамних антибіотиків, які найчастіше застосовуються при лікуванні стафілокової інфекції.

Маркером резистентності стафілокока до  $\beta$ -лактамів є його стійкість до метициліну і оксациліну. Терміни «метицилінорезистентність» і «оксацилінорезистентність» є повними синонімами.

Згідно з Наказом МОЗ України № 167, штами стафілококів, резистентні до оксациліну, вважаються стійкими до усіх  $\beta$ -лактамних антибактерійних препаратів. При цьому для лікування застосовують антибіотики інших класів, попередньо визначаючи чутливість до них кожного вилученого штаму-збудника [8].

Результати проведеного вивчення антибіотикорезистентності вилучених метицилінорезистентних (MRSA) та метициліночутливих (MSSA) штамів стафілокока наведені в таблиці 1.

Аналіз отриманих даних свідчить про наявність достовірно вищої резистентності до всіх класів антибіотиків серед MRSA штамів ( $\chi^2 < 0,05$ ), що співпадає з даними наших попередніх та інших аналогічних досліджень, які проводились як в Україні, так і за кордоном.



Мал. 1. Частка штамів УПМ, виділених із різних біотопів позалікарняних хворих з гнійно-запальними захворюваннями.

Таблиця 1

Показники антибіотикорезистентності (% ± s<sub>p</sub>) позалікарняних MRSA та MSSA штамів

Антибіотик	MRSA (n=16)		MSSA (n=31)	
	абс. число	% ± s <sub>p</sub>	абс. число	% ± s <sub>p</sub>
оксацилін	16	100,0±0,0	0	0
амоксиклав	9	56,3±12,4	0	0
цефоперазон/сульбактам	4	25,0±10,8	1	3,2±3,2
цефтриаксон	8	50,0±12,5	3	9,7±5,3
цефтазидим	9	56,3±12,4	5	16,1±6,6
цефотаксим	9	56,3±12,4	3	9,7±5,3
гентаміцин	7	43,8±12,4	3	9,7±5,3
амікацин	9	56,3±12,4	8	25,8±7,9
азитроміцин	11	68,8±11,6	10	32,3±8,4
лінкоміцин	12	75,0±10,8	7	22,6±7,5
ципрофлоксацин	2	12,5±8,3	-	-
норфлоксацин	3	18,8±9,8	-	-
ломефлоксацин	1	6,3±6,1	-	-
моксифлоксацин	5	31,3±11,6	2	6,5±4,4
ванкоміцин	-	-	-	-

Порівнюючи показники резистентності до кожного з антибіотиків MRSA та MSSA штамів, слід відзначити, що MSSA штами зберігають чутливість до фторхінолонів різних поколінь, дещо менше – до цефалоспоринів та аміноглікозидів, у той час як серед MRSA штамів, циркулюючих у позалікарняних умовах, намітилась тенденція до зменшення такої чутливості (близько половини штамів були резистентними до аналогічних антибіотиків).

Виявлені нами диско-дифузійним методом (ДДМ) достовірно вищі показники чутливості досліджених штамів стафілококів до цефалоспоринів (порівняно з чутливістю до оксациліну) можуть бути пояснені тим, що гранична метицилінорезистентність стафілококів пов'язана, здебільшого, з гіперпродукцією β-лактамаз типу А, яка відрізняється значно слабшою здатністю гідролізувати цефалоспорины, ніж оксацилін. У процесі ж лікування

цефалоспоринами MRSA зумовлених інфекцій індукується синтез цефалоспориноз і формується резистентність до антибіотиків цього класу. Саме тому за наявності у збудника оксацилінорезистентності застосовувати інші β-лактамі препарати недоцільно [8, 17, 18].

Оскільки при визначенні метицилінорезистентності ДДМ не враховується гетерогенність популяції і наявність клонів з пограничною резистентністю (BS-штами), виникають певні труднощі з диференціацією істинно метицилінорезистентних штамів.

В дисертаційній роботі Коцар О.В., виконаній на базі нашої лабораторії, були використані різні методи виявлення істинно метициліностійких штамів стафілокока – скринінг на агарі з оксациліном, визначення мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) оксациліну та молекулярно-біологічним методом (ПЛР-детекція гену *tes A*) [16].

Отримані результати свідчать про наявність генетично-зумовленої метицилінорезистентності у 14,9 % штамів стафілококів, вилучених із різних біотопів позалікарняних хворих на гнійно-запальні захворювання.

Інформація про наявність полірезистентності досліджених нами штамів була отримана за допомогою комп'ютерної програми WHONET 5.1 [9]. Аналіз профілів стійкості дає можливість використовувати тести антибіотикорезистентності як внутрішньовидовий маркер штаму, дозволяє ідентифікувати однорідні штами збудників і виділити закономірності їх циркуляції. Такий аналіз є досить точним, адже зіставлення штамів проводиться з урахуванням конкретних зон затримки росту (в мм), при цьому будується фенотип

(або антибіотикотип) для кожної культури. Профіль резистентності бактерій відображує набір притаманних і набутих генів резистентності конкретної клональної популяції.

При створенні профілю нами підібрані антибіотики різних груп, резистентність до яких має різні генетичні механізми. Сформований для типування штамів стафілококів профіль резистентності виглядав таким чином: G (гентаміцин), L (лінкоміцин), Z (азитроміцин), C (цефтриаксон), I (ципрофлоксацин). При інтерпретації профілю велика літера означає резистентність штаму до антибіотика або помірну чутливість, □ – чутливість стафілокока до антибіотика. Отримані нами профілі представлені у таблиці 2.

Таблиця 2

Профілі резистентності MRSA та MSSA штамів

MRSA (n=16)			MSSA (n=31)		
профіль	абс. число	% ± s <sub>p</sub>	профіль	абс. число	% ± s <sub>p</sub>
G□□□	3	18,7±9,7	□□□□	4	12,9±6,0
□□□□	3	18,7±9,7	G□Z□□	3	9,7±5,3
GLZ□□	1	6,2±6,0	GLZCI	1	3,2±3,2
□LZ□□	1	6,2±6,0	GL□□□	3	9,7±5,3
□LZ□□	1	6,2±6,0	□LZ□□	4	12,9±6,0
G□□□□	2	12,5±8,3	□□□□	1	3,2±3,2
GLZC□	2	12,5±8,3	G□□□□	2	6,4±4,4
G□Z□□	1	6,2±6,0	GLZC□	2	6,4±4,4
GL□□□	1	6,2±6,0	GL□□□	1	3,2±3,2
G□ZCI	1	6,5±6,2	G□Z□□	2	6,4±4,4
			G□Z□□	1	3,2±3,2
			G□□□□	3	9,7±5,3
			□□□□	3	9,7±5,3
			□LZ□□	1	3,2±3,2

Штами MRSA мали 10 антибіотикограм, MSSA – 14. Питома вага полірезистентних штамів (стійких до 3 груп антибіотиків і більше) склала відповідно серед MRSA штамів 37,5 %, серед MSSA – 19,4 % ( $\chi^2 < 0,05$ ). При цьому встановлено, що мала місце значна профільна різноманітність антибіотикостійкості, що вказує на відсутність циркуляції у позалікарняних умовах епідемічно пов'язаних між собою полірезистентних штамів стафілококів.

Величезну увагу на сьогодні викликає вивчення біоплівки, оскільки здатність бактерій до їх формування розглядається як фактор патогенності, що забезпечує виживання бактерій і перехід до хронічного перебігу інфекцій. Вже чітко доведено, що більше 99 % бактерійних популяцій існують в природних екосистемах не у вигляді вільно плаваючих планктонних клітин, які можна вилучати традиційними бактеріологічними

методами, а у вигляді специфічно організованих, прикріплених до субстрату біоплівок, виникнення яких являє собою складний, чітко регульований біологічний процес [19-21].

Термін «біоплівка» визначений таким чином – це мікробне співтовариство, яке складається з клітин, що прикріплені до поверхні або один до одного, вмонтовану в матриці синтезованих ними позаклітинних полімерних речовин, із зміненним фенотипом, параметрами росту і експресії специфічних генів [19, 20]. До складу біоплівок можуть входити бактерії одного виду або співтовариства із багатьох видів патогенних, умовно-патогенних і непатогенних мікроорганізмів [13, 19].

Створення бактерійних біоплівок зумовлює хронічне ураження більшості органів (верхніх дихальних шляхів, легень, серця, нирок, шкіри, органів травлення). Серед

усіх інфекційних уражень близько 65-80 % спричинюють бактерії, здатні до формування біоплівки. Саме тому вивчення екологічних закономірностей виникнення і розвитку мікробних співтовариств (біоплівок) є ключовим моментом подальшого розвитку медичної мікробіології [20, 21].

Особлива роль патогенних стафілококів у формуванні хронічних гнійно-запальних захворювань зумовлена здатністю до персистенції у структурованих біоплівках на абіотичних (суглобові протези, катетери, штучні клапани серця, судинні протези тощо) та біотичних поверхнях (слизові оболонки, ендотелій внутрішніх органів, ранові поверхні тощо) [19-21].

В літературі наявні чисельні дані відносно структурно-функціональних особливостей біоплівок Gr+ та Gr- бактерій, досліджені стадії їх формування, генетичний контроль і наявність автоіндукторної регуляції виникнення і руйнування біоплівок, визначений вплив різних біоцидів на активність бактерій в біоплівках тощо.

Але більшість вчених схильні констатувати, що на сьогодні надійні засоби боротьби з біоплівками відсутні і ця проблема потребує подальшого різнопланового вивчення.

Стаціонарне лікування антибіотиками здатне знищити лише планктонні форми даної бактерії, в той час як іміобілізовані в біоплівку патогени здатні вижити і розмножуватися після припинення терапії.

В біоплівках бактерії захищені від екологічних загроз, до яких належать біоциди, антибіотики, антитіла, поверхнево активні речовини, бактеріофаги, фагоцити. Концентрація антибіотиків, здатна забезпечити бактерицидний ефект щодо мікроорганізмів, структурованих у біоплівку, може бути в 10-100 разів вищою (залежно від природи антибіотика), ніж для планктонних форм даної бактерії [20].

Особливо важливо підкреслити, що найбільшу стійкість до антибактерійних препаратів було експериментально виявлено по відношенню до так званих «старих» біоплівок (6-13-денних), що вказує на неефективність тривалого призначення антибіотиків при хронічному перебігу гнійно-запальних захворювань.

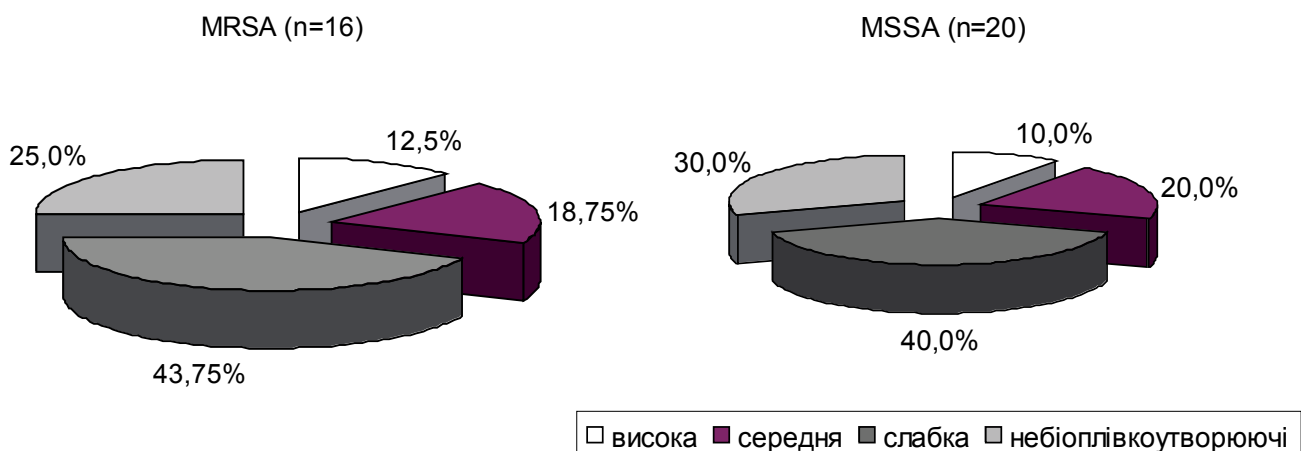
На сьогодні описано ряд факторів, що відповідають за резистентність біоплівок до антибактерійних препаратів [22]. До них належать:

- інактивація антибіотиків позаклітинними полімерами чи ферментами;
- сповільнення метаболізму і зменшення швидкості росту мікроорганізмів в умовах лімітування живильних речовин у біоплівці, внаслідок чого антибіотик дифундує із біоплівки швидше, ніж здатний на них подіяти;
- експресія можливих генів резистентності;
- виникнення в біоплівці під впливом антибіотиків мікроорганізмів-персистентів.

Останнім часом активно вивчається такий важливий напрямок наукових досліджень, як пошук шляхів руйнування біоплівок або запобігання їх формуванню різними бактеріями та їх асоціаціями. Цілий ряд факторів, що відповідають за резистентність біоплівок до антибіотиків, уже визначені й описані в літературі, але більшість питань залишається нез'ясованими.

Комплексне вивчення здатності до біоплівкоутворення різних штамів стафілококів (залежно від виду, біотопу вилучення, наявності генетичнозумовленої чи фенотипової метицилінорезистентності, під дією різних асептиків, антибіотиків, мікробних лізатів) стало завданням виконуваної нами НДР і дозволило отримати перші результати.

Вивчено біоплівкоутворюючі властивості вилучених від позалікарняних хворих MRSA (n=16) та MSSA (n=20) штамів. Отримані дані ілюстровані на малюнку 2.

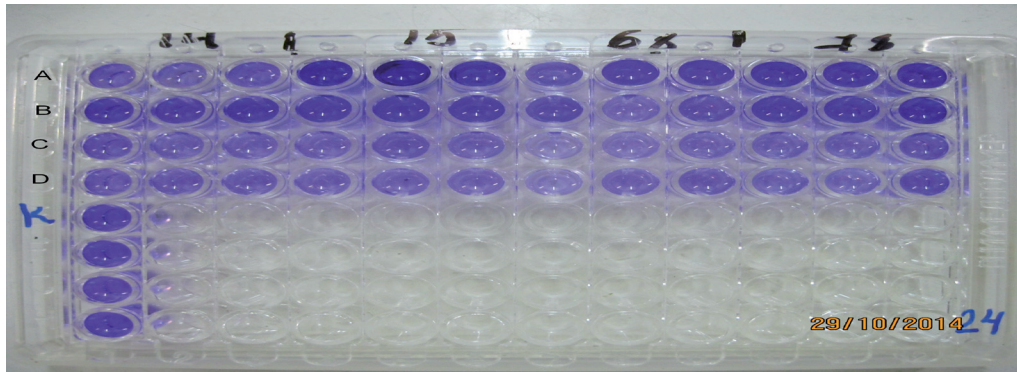


Мал. 2. Відносна щільність MRSA та MSSA штамів з різною здатністю до біоплівкоутворення.



Визначено, що із 16 MRSA 2 штами (12,5 %) мали високу здатність до біоплівкоутворення (ОЩ 0,25-0,4 ОД), 3 штами (18,75 %) – середню (ОЩ 0,12-0,24 ОД), 7 штамів (43,75 %) – виявили слабку здатність до утворення

біоплівки (ОЩ <0,12 ОД), 4 штами (25,0 %) – біоплівки не утворювали взагалі (достовірної різниці порівняно з контрольною лункою не виявлено,  $\chi^2 > 0,05$ ) (мал. 3).



Мал. 3. Наявність біоплівки штамів *S. aureus*.

MSSA штами також мали різну здатність до біоплівкоутворення. 30 % штамів було віднесено до небіоплівкоутворювальних, 40 % – до штамів зі слабкою здатністю до біоплівкоутворення, 20 % – із середніми показниками ОЩ, 10 % володіли високою біоплівкоутворювальною активністю. За результатами досліджень достовірної різниці в здатності до біоплівкоутворення між MRSA та MSSA штамми не виявлено ( $\chi^2 > 0,05$ ).

Безумовно, для переконливих висновків потрібні додаткові дослідження у цьому напрямку.

Широке розповсюдження умовно-патогенної мікрофлори з високою резистентністю до антибіотиків зумовлює пошук нових підходів до лікування хворих. Одним із перспективних напрямків є «реанімація» фаготерапії та вдосконалення таких антимікробних засобів, як бактеріофаги.

Історія відкриття і терапевтичного застосування бактеріофагів охоплює період з початку ХХ століття, але тільки зараз через високу смертність від інфекцій, що не піддаються антибіотикотерапії і, практично, тупикову перспективу створення нових антибіотиків, відбувається ренесанс фаготерапії.

В Росії вивчення фагів і застосування їх з лікувально-профілактичною метою не припинялось з 30-х років минулого століття, про що свідчать численні публікації. Неефективність фагової терапії минулого століття пов'язують з невдачею у селекції високовірulentних фагів, використання монофагів при інфекціях, які були викликані декількома збудниками, появою резистентних штамів бактерій, помилками у відношенні титру препаратів, інактивацією бактеріофагів у рідинах організму, вивольненням ендотоксинів при масивному лізисі бактерій, що може призвести до токсичного шоку, недостатньою

надійністю бактеріологічних досліджень при ідентифікації збудника та визначення його фагочутливості, відсутністю належного обліку як позитивних, так і негативних результатів фаготерапії [23].

У країнах Заходу тільки в останні роки організовано цілий ряд фаготерапевтичних компаній, патентуються ідеї, створюються колекції терапевтичних фагів, ведеться пропагандистська робота серед лікарів і пацієнтів [23, 24].

Слід відзначити, що вчені США, Канади, Німеччини намагаються розробити генно-інженерні фаги з додатковими генами, щоб не здійснювати постійне оновлення колекцій штамів і щоразу проводити клінічні дослідження з новим складом комерційних сумішей бактеріофагів [23].

На території України має місце широке застосування імпортованих з Росії як моно-, так і комплексних препаратів бактеріофагів, які реалізуються в аптечній мережі більшості великих міст країни. Будь-які науково-практичні розробки, здатні дати оцінку ефективності тих чи інших видів та серій фагів, що використовуються на території України, практично відсутні.

Особливо актуальним є вивчення фаголітичної активності існуючих препаратів відносно антибіотикостійких метицилінорезистентних штамів стафілокока.

Нами визначена фагочутливість *S. aureus*, виділених з різних біотопів хворих на гнійно-запальні захворювання, до комерційних препаратів бактеріофагів. Показанням до застосування бактеріофагів є наявність лізису культури, яка визначається як CL, SCL та на «+++». Саме тому до розряду «фагочутливих» нами віднесено всі ізоляти, які мали ці показники лізису, до «помірно-чутливих» – штами із зоною лізису на «++» та «+», до

стійких – ізоляти, в яких лізису не було. Як свідчать наведені дані, стійкими до різних препаратів бактеріофагів

було (14,9-21,3) % досліджених штамів, ще близько 30,0 % – володіли помірною чутливістю (табл. 3).

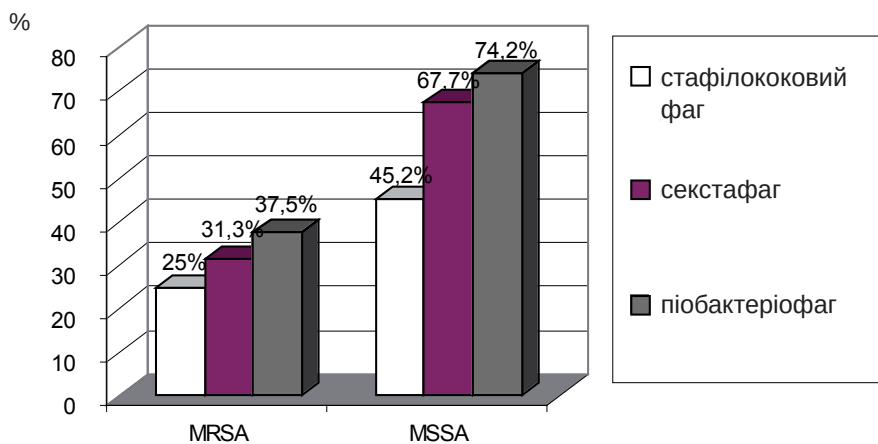
Таблиця 3

Результати визначення чутливості вилучених штамів стафілокока до літичної дії препаратів-бактеріофагів (n=47)

Ступінь лізису	Стафілококовий бактеріофаг		Секстафаг		Піобактеріофаг	
	n	%±s <sub>p</sub>	n	%±s <sub>p</sub>	n	%±s <sub>p</sub>
Фагочутливі:						
CL	3	6,4±3,6	6	12,8±4,9	9	19,1±5,7
SCL	10	21,3±6,0	12	25,5±6,4	14	29,8±6,7
+++	5	10,6±4,5	8	17,0±5,5	6	12,8±4,9
Помірно-чутливі:						
++	4	8,5±4,1	3	6,4±3,6	7	14,9±5,2
+	15	31,9±6,8	10	21,3±6,0	4	8,5±4,1
Фагостійки:						
–	10	21,3±6,0	8	17,0±5,5	7	14,9±5,2

Активнішими до *S. aureus* виявилися комплексні препарати «Секстафаг» і «Піобактеріофаг» ( $\chi^2 < 0,05$ ). При цьому чутливими хоча б до одного із препаратів були не менш 60,0 % штамів, а одночасно чутливими до всіх трьох видів препаратів були 12 штамів (25,5 %).

Оскільки MRS штамів володіють високою резистентністю до антибіотиків, ми вважали доцільним визначення фагочутливості таких штамів. Результати порівняльного визначення чутливості штамів MRSA та MSSA до препаратів бактеріофагів відображені на малюнку 4.



Мал. 4. Показники фагочутливості MRSA та MSSA штамів до препаратів-бактеріофагів.

Отримані результати свідчили про наявність достовірно меншої чутливості досліджених штамів MRSA порівняно з MSSA. При цьому слід відзначити, що від 25,0 до 37,5 % із них були чутливими до літичної дії хоча б одного з препаратів-бактеріофагів.

Отже, фаготерапія гнійно-запальних захворювань, зумовлених метицилінорезистентними штамми стафілокока, може бути ефективною, хоча потребує по-

переднього визначення чутливості штаму-збудника до конкретних препаратів фагів.

Ефективність літичної дії фагів на клітини-мішені залежить від ряду умов і потребує врахування ряду особливостей. Перш за все це специфічність дії конкретного фагу до своєї бактерії (стафілококовий фаг – стафілокок; клебсієльозний фаг – клебсієльозна паличка і т. д.). Не менш важливим є співвідношення дози фага і концен-

трації бактерій. Якщо фагів мало, вони не поспівають інфікувати всі клітини-бактерії до настання стаціонарної фази. Отже, при визначенні чутливості лабораторним шляхом у зоні «стерильної плями» буде фіксуватися наявність нелізованих колоній, що затрудняє інтерпретацію результату. При цьому слід зазначити, що адсорбція фагу відбувається і на бактерії в стаціонарній фазі, і на мертві клітини, а лізис мікроорганізмів можливий лише у фазі логарифмічного росту.

Велике значення має швидкість дифузії, яка залежить від щільності агару та його складу (присутність солей натрію, кальцію, магнію, марганцю, амінокислот: триптофану, золейцену, метіоніну та ін.) [11].

Особливе значення для адсорбції фагу на бактерійну клітину (початковий і найбільш важливий етап взаємодії) має рН середовища. Воно повинно знаходитись у параметрах 7-10. Адсорбція відбувається лише на негативно заряджену оболонку бактерії позитивно зарядженого фагу. В кислому середовищі фаг набуває негативного заряду і «відштовхується» від клітини-мішені.

Про це слід пам'ятати і при фаготерапії. При місцевому застосуванні фагів не слід обробляти ранову поверхню асептиками, які мають рН 5-6, а кисле середовище, характерне для гнійно-запаленої ділянки, бажано нейтралізувати содовим розчином (або іншим лужним розчином), оскільки слиз і гнійні виділення перешкоджають проникненню фага до бактерій.

При вживанні фагів *per os* потрібно враховувати наявність кислого середовища шлунка (навіть до прийому їжі, за наявності подразників, умовного рефлексу, залишкової кислотності тощо). Найбільш доцільним є введення препарату безпосередньо до кишки у вигляді мікроклізм, хоча на практиці це має місце лише у дітей раннього віку, чим, можливо, пояснюється значно вища ефективність у них фаготерапії.

Бактеріофаг володіє антигенними властивостями і викликає утворення специфічних антифагових антитіл, здатних інактивувати фаг. Це потрібно враховувати при повторному (або довготривалому) призначенні фаготерапії.

Дія бактеріофага на бактерії не обмежується одним літичним ефектом. Згідно з даними літератури, якщо в результаті взаємодії фагу з бактеріями не відбувається лізис останніх, то нерідко виявляються інші ефекти: бактерії стають значно більше доступні фагоцитозу (опсонізуюча дія бактеріофагу); вони активно фіксують комплемент (амбоцепторна дія), здатні на раптову аглютинабельність (аглютинуюча дія), втрачають вірулентність і токсичність [25, 26].

Таким чином, дія бактеріофагу може здійснюватись у двох формах: стерилізуюча (літична) та імунізуюча. Саме цим можна пояснити такі непоодинокі факти, як

наявність вираженого терапевтичного ефекту при лікуванні бактеріофагами, до яких бактерії мали незначну чутливість при визначенні *in vitro*.

Доцільність сумісного прийому хворим бактеріофагів та антибіотиків складно оцінити однозначно. Адже після контакту бактерії з антибіотиком змінюється її здатність до розмноження, формується перехід планктонних клітин у стан біоплівки, що суттєво впливає на ефективність адсорбції та літичної дії фагів. Напевно, більш виправданим може бути поетапне застосування бактеріофагів (4-5 днів) і антибіотика (наступні 4-5 днів).

Для обґрунтування такої рекомендації потрібні клінічні дослідження з проведенням мікробіологічного контролю. Але здатність фагів лізувати антибіотикорезистентні бактерії, в той час як фагостійкі можуть бути чутливими до антибіотиків (що найшло підтвердження і у наших дослідженнях), робить можливим їх одночасне призначення хворим з тяжким перебігом захворювання як стартової терапії або за відсутності лабораторних даних відносно чутливості збудника до антибіотиків та специфічних фагів.

Взагалі фаготерапію не слід розглядати як панацею, хоча вона може відіграти важливу роль для збереження конкретних життів та зменшити цілий ряд ускладнень, які виникають при антибіотикотерапії, особливо при вагітності, в неонатальному періоді, за наявності протипоказань до прийому антибіотиків, в умовах зростання мультирезистентності більшості бактерій-збудників.

Важливу роль у фізіологічних, біохімічних, імунологічних процесах відіграють мікроорганізми, що населяють слизові оболонки, особливо кишкового тракту. Специфічна дія мікробної флори зумовлює їх участь в етіології та патогенезі гнійно-запальних захворювань різної локалізації. Наявність дисбактеріозу негативним чином впливає на функціональний стан не лише органів травлення, а і всього організму [27-30].

Нині під дисбактеріозом кишечника розуміють клініко-лабораторний синдром, що виникає при ряду захворювань і клінічних ситуацій, який характеризується зміною якісного і/або кількісного складу нормофлори з розвитком метаболічних та імунних порушень, що супроводжується у частини пацієнтів клінічними симптомами [27, 31].

Слід зауважити, що відношення до даного терміну серед лікарів і вчених буває діаметрально протилежним: одні повністю відхиляють необхідність виявлення дисбіозу і його корекції, інші розглядають дисбактеріоз як окремий діагноз і необхідність його лікування усіма доступними засобами. Але ніхто не може заперечити той факт, що наявність синдрому дисбактеріозу кишечника має місце практично у всіх хворих з хронічним перебігом захворювань різної етіології, а лікування основного за-



хворювання створює додаткові проблеми і супроводжується низкою ускладнень, основним з яких є посилення дисбіозу в кишечнику [32].

У ранньому віці інфікування УПМ (*S. aureus*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida*) формує не лише дисбіозні прояви (діарею, атопічні дерматити, авітамінози, метаболічні порушення), а й імунологічну толерантність, яка блокує в подальшому ефективну імунологічну відповідь макроорганізму при зустрічі (інфікуванні) аналогічним збудником.

Майже у 70 % клінічно здорових людей на слизовій оболонці носоглотки виявляється хоча б один представник УПМ (*S. aureus*, *S. pyogenes*, *H. influenzae* та ін.). Здатність таких штамів до плівкоутворення коливається від 56,0 до 58,3 % [33]. Саме наявність такої потенційної можливості до переходу планктонних клітин у стан біоплівки (при певних умовах) слугує основою для хронізації запальних процесів.

Колективний імунітет біоплівки кишечника практично зводить на нівець можливість корекції дисбактеріозів при застосуванні лише пробіотиків (біфідобактерії, лактобацили, ентерококи) [34].

Саме тому, при призначенні лікування важливо враховувати не тільки результати мікробіологічного дослідження випорожнень, а й інші дані про пацієнта: анамнез, характер пологів, вигодовування, перенесені захворювання, антибіотикотерапію, наявність анатомічних особливостей (загин або перетяжка жовчного міхура, дискінезія жовчовивідних шляхів, доліхосигма), запальних захворювань порожнини рота, верхніх дихальних шляхів, гастрити, цукровий діабет тощо.

Під дією терапевтичних, не завжди обґрунтованих заходів, включно із самолікуванням, відбувається селекція найбільш стійких патогенів, формуються відповідні мікробні асоціації, які створюють біоплівки, що надійно захищають бактерії-збудники від антибактерійних препаратів і факторів захисту макроорганізму.

В результаті бактеріологічних досліджень мікрофлори кишечника хворих на ГКІ (з різними інтервалами, включаючи віддалені наслідки), позалікарняних хворих з гнійно-запальними захворюваннями шкіри та м'яких тканин (абсцеси, фурункульоз, піодермія), верхніх дихальних шляхів (ангіна, хронічний тонзиліт, фарингіт), сечостатевого тракту (пієлонефрит, цистит, вульвовагініт), із захворюваннями шлунково-кишкового тракту неінфекційного ґенезу, нами були виявлені дисбіозні зміни різного ступеня у 90 % обстежених [35-39].

Суттєвість змін нормобіоценозу кишечника значною мірою визначає клінічні прояви захворювань, тому особливе значення має корекція таких проявів. Була запропонована і успішно апробована схема поетап-

ного застосування бактеріофагів, ентеролу, дуфалаку, фітосорбентів на фоні дотримання дієти, пребіотиків та еубіотиків з урахуванням необхідності комплексного підходу до індивідуальних особливостей організму та причини виникнення дисбактеріозу.

Відсутність єдиного, науково-обґрунтованого підходу та протокольних рекомендацій щодо корекції порушеного мікробного пейзажу – одна з причин застосування клініцистами методу «проб і помилок». Ця проблема залишається складною і на сьогодні.

### Висновки

1. На сьогодні питання вибору адекватної високоєфективної антибактерійної терапії гнійно-запальних захворювань залишається актуальним. Особливо важливою є проблема зростання антибіотикорезистентності, розповсюдження в позалікарняних умовах MRS штамів, фагостійких і здатних до персистенції у складі біоплівок.

2. При порівняльному вивченні антибіотикочутливості негоспітальних штамів *S. aureus* виявлено достовірно вищу резистентність MRSA до всіх класів антибіотиків ( $\chi^2 < 0,05$ ). Зберігається 100 % чутливість MRSA до ванкомицину, на рівні 70,0-93,0 % – до фторхінолонів, дещо менша (близько 50,0 %) – до аміноглікозидів, що робить ці антибіотики препаратами вибору при лікуванні хворих на MRSA-інфекцію.

3. Аналіз отриманих профілів резистентності (за програмою WHONET) вказує на відсутність циркуляції у позалікарняних хворих епідемічно пов'язаних між собою полірезистентних штамів стафілокока (штами MRSA мали 10 антибіотикограм, MSSA – 14). Частка полірезистентних штамів склала відповідно 37,5 % серед MRSA та 19,4 % – серед MSSA ( $\chi^2 < 0,05$ ).

4. Здатність до біоплівкоутворення (при експериментальному вивченні) виявлена майже у 70,0 % штамів *S. aureus*. Достовірної різниці у здатності до біоплівкоутворення між вивченими MRSA та MSSA штамми не виявлено ( $\chi^2 > 0,05$ ).

5. Досліджені штами *S. aureus* володіли різною чутливістю до комерційних препаратів-бактеріофагів (від 25,0 до 74,2 %). MRSA штами виявили достовірно більшу фагорезистентність порівняно з MSSA, хоча від 25,0 до 37,5 % (у т.ч. полірезистентних до антибіотиків) все ж таки володіли високою або середньою чутливістю хоча б до одного із препаратів бактеріофагів.

### Рекомендації

1. Організація дієвого моніторингу за розповсюдженням антибіотикорезистентних штамів-збудників гнійно-запальних захворювань (у т.ч. MRS штамів) на регіональному рівні, у закладах охорони здоров'я різного профілю і серед амбулаторних хворих спільними зусиллями мікробіологів, науковців і клініцистів.

2. При виборі схеми лікування хворого враховувати не лише результати бактеріологічного аналізу (видова характеристика вилученої мікрофлори та її чутливість до антибактерійних препаратів), але й дані анамнезу, особливо при хронічному перебігу захворювань, визначення глибини дисбіозних порушень і застосування заходів для їх корекції.

3. З метою обмеження необґрунтованого призначення антибіотиків (особливо широкого спектру дії) забезпечити можливість визначення антибіотикочутливості (бажано сучасними експрес-методами) до конкретного збудника та керуватися рекомендованими у відповідних протоколах показаннями до їх застосування.

4. Проведення широкого науково-експериментального дослідження впливу різних факторів (антибіотиків у різних дозах і при різних комбінаціях, бактеріофагів, асептиків, пребіотиків, еубіотиків тощо) на формування (або навпаки – на руйнування) біоплівки.

При виборі антибактерійної терапії враховувати активність препаратів не лише до планктонних культур бактерій, але й до залучених у біоплівку.

5. В умовах зростання полірезистентності штамів-збудників поставити на порядок денний можливість удосконалення та підвищення ефективності фаготерапії, для чого створити колекцію високовірулентних, адаптованих до циркулюючих в регіонах (і, навіть, в різних профільних лікувальних закладах) штамів фагів з перспективою виробництва вітчизняних препаратів бактеріофагів.

6. При реформуванні системи охорони здоров'я, яке стоїть нині на порядку денному в нашій країні, необхідно переглянути ряд нормативних документів, положень, звітної документації тощо, з метою оптимізації лабораторної роботи (відміна багатьох малоінформативних, нераціональних мікробіологічних досліджень, заміна рутинних, до того ж високо затратних лабораторних методів обстежень сучасними), для чого підвищити матеріально-технічне забезпечення лабораторних підрозділів наукових центрів і органів охорони здоров'я.

### Література

1. Глобальная стратегия ВОЗ по сдерживанию устойчивости к противомикробным препаратам [Электронный ресурс] Режим доступа: [http://www.who.int/drugresistance/WHO\\_Global\\_Strategy\\_Russian.pdf](http://www.who.int/drugresistance/WHO_Global_Strategy_Russian.pdf)
2. Никулин А.А. Обзор Британского общества по антимикробной химиотерапии (BSAC) по диагностике и лечению инфекций, вызванных метициллинорезистентными штаммами *Staphylococcus aureus* (MRSA) во внебольничных условиях / А.А. Никулин, А.В. Дехнич // Клини. микробиол. антимикроб. химиотерапия. – 2010. – Т. 12, № 1. – С. 4-22.
3. Thaker P.D. Set a Microbe to Kill a microbe / P.D. Thaker // JAMA. – 2003. – Vol. 290, N 24. – P. 3183-3185.

4. Hardy K.J. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the critically ill / K.J. Hardy, P.M. Hawkey, F. Gao // Br. J. Anaesthesia. – 2004. – Vol. 92, N 1. – P. 121-130.

5. Сучасні антибіотики та принципи раціональної антибіотикотерапії (частина II) / [В.С. Копча, М.А. Андрейчин, Ж.О. Ребенок та ін.] // Інфекційні хвороби. – 2012. – № 1. – С. 64-75.

6. Методические указания по применению унифицированных микробиологических (бактериологических) методов исследования в клинико-диагностических лабораториях / Приложение № 1 к приказу МЗ СССР № 535 от 22 апреля 1985 г. – 45 с.

7. ГОСТ 10.444.1 – 84 (СТСЭВ 3833 – 82). Приготовление растворов, реактивов, красок, индикаторов и питательных сред, применяемых в микробиологическом анализе; введ. 1985-07-01. – М.: Медицина, 1985. – 17 с.

8. Наказ МОЗ України № 167 Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» [Електронний ресурс] / МОЗ України. – Режим доступу: <http://mozdocs.kiev.ua>.

9. Микробиологический мониторинг и эпидемиологический анализ антибиотикорезистентности микроорганизмов с использованием компьютерной программы WHONET: методические рекомендации / [Л.П. Зуева, М.С. Поляк, Е.Н. Колосовская и др.]. – СПб, 2005. – 72 с.

10. Методические указания по микробиологической диагностике заболеваний, вызванных энтеробактериями / С.Д. Тетеренова, В.А. Кимссо, Ю.М. Крюков, М.С. Премухина. – Москва, 1984. – 142 с.

11. Шевякова О.И. Бактериофаг: учебное пособие для врачей / О.И. Шевякова. – Москва, 1972. – 182 с.

12. Adherence of Coagulase-Negative Staphylococci to Plastic Tissue Culture Plates: a Quantitative Model for the Adherence of Staphylococci to Medical Devices / [G.D. Christensen, W.A. Simpson, J.J. Younger et al.] // J. Clin. Microbiol. – 1985. – Vol. 22, N 6. – P. 996-1006.

13. Лямин А.В. Методы выявления биопленок в медицине: возможности и перспективы / А.В. Лямин, Е.А. Боткин, А.В. Жестков // Клини. микробиол. антимикроб. химиотерапия. – 2012. – Т. 14, № 1. – С. 17-22.

14. Лапач С.М. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.М. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – К.: «МОРИОН», 2001 – 408 с.

15. Моніторинг метицилінрезистентності стаціонарних та поліклінічних штамів стафілококів / [С.А. Деркач, І.А. Воронкіна, О.В. Коцар та ін.] // Довкілля і здоров'я: матеріали наук.-практ. конф., 27-28 квітня 2011 р. – Тернопіль, 2011. – С. 34-35.

16. Коцар О.В. Біологічна характеристика ізолятів метицилінстійких *S. aureus*, вегетуючих в різних екологічних нішах хворих на гнійно-запальні процеси: Дисс. ... канд. мед. наук / О.В. Коцар. – Харків, 2013. – 24 с.

17. Sadeghian, S. Detection of bacterial, methicillin resistance, and  $\beta$ -lactamase genes found in wound swabs by multiplex polymerase chain reaction / S. Sadeghian, T.R. Neyestani, J.P. Burnie // Acta Medica Iranica – 2004. – Vol. 42, N 1. – P. 19-25.

18. Богун Л.В. Резистентность микроорганизмов, обусловленная бета-лактамазами, и способы её преодоления / Л.В. Богун // Новости медицины и фармации. – 2007. – № 19. – С. 15-21.

19. Хмель И.А. Биопленки бактерий и связанные с ними трудности медицинской практики (обзор литературы) 7,8,9 [Электронный ресурс] / Режим доступа : [www.img.ras.ru/files/PUBLIC/Add\\_mat/Biofilms.doc](http://www.img.ras.ru/files/PUBLIC/Add_mat/Biofilms.doc)

20. Микробные биопленки / Н.В. Белобородова, И.Т. Байрамов [Электронный ресурс] / Режим доступа : <http://dental-hygiene.ru>

21. Kluytmans J. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks / J. Kluytmans, A. Belkum, H. Verbrugh // *Clin. Microbiol.* – 1997. – Vol. 10, N 3. – P. 505-520.

22. Antibiotic resistance of bacterial biofilms / [N. Hoiby, Th. Bjarnsholt, M. Givskov et al.] // *Intern. J. Antimicrob. Agents.* – 2010. – N 35. – P. 322-332.

23. A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*; a preliminary report of efficacy / [C.H. Wright, A. Hawkins et al.] // *Clin. Otolaryngology.* – 2009. – Vol. 34, Issue 4. – P. 349-357.

24. Карабелеш Е.Е. Применение бактериофагов как концепция лечебного и профилактического направления в медицине / Е.Е. Карабелеш, С.А. Ткаченко, С.М. Панкратов, О.И. Демедюк // *Актуальные проблемы транспортной медицины.* – 2008. – № 1 (11). – С. 135-139.

25. Kutter E. Phage therapy: bacteriophages as antibiotic / E. Kutter [Электронный ресурс] // Режим доступа: <http://www.t4.phage2.elwha.evegrem.edu>. 1–22.

26. Лазарева Е.Б. Бактериофаги для лечения и профилактики инфекционных заболеваний / Е.Б. Лазарева // *Антибиотики и химиотерапия.* – 2003. – Т. 48, № 1. – С. 36-40.

27. Копча В.С. Корекція мікробіоценозу при лікуванні гострих кишкових інфекцій / В.С. Копча, С.А. Деркач // *Інфекційні хвороби.* – 2008. – № 2. – С. 31-37.

28. Шишкина Т.А. Состояние микробиоценоза желудочно-кишечного тракта и его коррекция у часто болеющих детей: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук / Т.А. Шишкина. – М., 2005. – 22 с.

29. Снегирева Н.Ю. Нарушение микробиоценоза и функциональные изменения органов дыхания у детей с рецидивирующими респираторными инфекциями: подходы к коррекции: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук / Н.Ю. Снегирева. – Иваново, 2009. – 26 с.

30. Христин Т.Н. Микробиоценоз кишечника: механизмы развития, клиника дисбиоза и возможная коррекция его нарушений / Т.Н. Христин // *Сучасна гастроентерологія.* – 2010. – № 1 (51). – С. 86-91.

31. Удосконалення лікування хворих на гострі кишкові інфекції і корекція дисбіозу кишечника / [В.С. Копча, С.А. Деркач, О.М. Ситник, В.С. Киличава] // *Інфекційні хвороби.* – 2013. – № 2. – С. 60-66.

32. Козько В.М. Мікробіологічні аспекти гострих кишкових інфекцій / В.М. Козько, А.В. Бондаренко // *Інфекційні хвороби.* – 2007. – № 2. – С. 5-11.

33. Исследование ассоциаций бактерий в микробиоценозе слизистой носоглотки практически здоровых людей / Е.Е. Беляева, Г.Б. Ермолина, В.В. Кибчикова, В.А. Никифоров // *Вестник*

Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. – 2012. – №2(3). – С. 20-24.

34. Честнова Т.В. Современные представления о физико-химических особенностях существования бактерий в составе биопленок / Т.В. Честнова, Н.В. Серегина // *Общественное здоровье и здравоохранение, профилактическая и клиническая медицина: XXXV науч.-практ. конф. профессорско-преподавательского состава.* – Тул ГУ, 2009. – С. 138.

35. Корекція мікрофлори кишечника дітей після захворювань, асоційованих з порушенням біоценозу / [С.А. Деркач, А.І. Носатенко, І.А. Воронкіна та ін.] // *Інфекційні хвороби.* – 2009. – № 1. – С. 34-40.

36. Антибіотикорезистентність позагоспітальних ізолятів *S. aureus*, вилучених із кишечника / [І.А. Воронкіна, С.А. Деркач, І.А. Крилова та ін.] // *Інфекційні хвороби.* – 2011. – № 3. – С. 51-55.

37. Воронкіна І.А. Особливості біологічних властивостей бактерійних збудників гострої кишкової інфекції у дітей та нові підходи до ідентифікації ентеробактерій: Дисс. ...канд. мед. наук / І.А. Воронкіна. – Харків, 2009. – 22 с.

38. Особливості складу мікробного біоценозу кишок дітей при інфекційних і неінфекційних захворюваннях / [А.І. Носатенко, С.А. Деркач, І.А. Воронкіна та ін.] // *Інфекційні хвороби.* – 2007. – № 2. – С. 12-15.

39. Крылов В.Н. Фаготерапия с точки зрения генетики бактериофага. Надежды, перспективы, проблемы безопасности, ограничения / В.Н. Крылов // *Генетика.* – 2001. – Т. 37, № 7. – С. 869-887.

## MICROBIOLOGICAL ASPECTS OF PURULENT-INFLAMMATORY DISEASES TREATMENT

S.A. Derkach

*SUMMARY. Results of diverse studies (antibiotic- and phagoresistance, the ability to biofilm formation) MRSA and MSSA strains of community-acquired pathogens inflammatory processes. Directions of improving diagnosis and treatment of purulent-inflammatory diseases are determined.*

**Key words:** *purulent-inflammatory diseases, antibiotic resistance, phagosensitivity, MRSA and MSSA strains, biofilm.*

Отримано 26.10.2015 р.