

УДК 579.61

DOI: 10.47928/1726-9946-2020-20-1-40-45

Оценка чувствительности к бактериофагам штаммов, выделенных у детей с врожденными пороками челюстно-лицевой области

*Хараева З.Ф. – академик АМАН, Виссарионов В.А., Мустафаев М.Ш., Блиева Л.З.,
Барокова Е.Б., Мустафаева С.М., Дышекова С.А.*

В последнее время значительно возросло количество внутрибольничных инфекций, вызванных различными условно-патогенными возбудителями, в частности бактериями рода *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Haemophilus*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*. Все эти бактериальные культуры являются причиной хирургических инфекций, гнойно-септических заболеваний детей и взрослых. Летальность при этих инфекциях, особенно у ослабленных больных и детей раннего возраста, достигает 36 % [3, с. 88].

Учитывая высокую антибиотикорезистентность бактерий, обнаружение сочетаний устойчивости к дезинфицирующим средствам и антисептикам, поиск более безвредных средств борьбы с возбудителями инфекционно-воспалительных заболеваний становится первостепенным [2, с. 14; 4, с. 50].

В настоящее время возросло число исследований бактериофагочувствительности и актуальность их практического использования. Фаги являются достойной альтернативой антибиотикам, ко многим из которых у болезнетворных бактерий все чаще обнаруживается устойчивость [2, с. 14]. По литературным данным наилучший результат по фаголизису демонстрирует стафилококковый бактериофаг [7, с. 68]. Бактериофаги используются в клинической практике одновременно с антибактериальными препаратами. Комплексное использование фаготерапии и антибиотикотерапии при ассоциированных инфекциях, вызванных полирезистентными штаммами *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*, дало эффективные результаты [6, с. 503]. Назначение поливалентного бактериофага безопасно для пациентов с аллергическими реакциями на антибиотики и хорошо переносится больными [1, с. 52; 9, с. 11]. Однако рецепторный фенотип бактерий изменчив и чувствительность к бактериофагам у клинических изолятов постоянно изменяется.

Воспалительные процессы в органах и тканях челюстно-лицевой области у больных с врожденными пороками развития челюстей, связаны не только с нарушением их анатомии, но, в первую очередь, с преобладанием определенных видов патогенной микрофлоры. Для антимикробной обработки слизистых при подготовке планового оперативного вмешательства и после операции применяют различные медикаментозные и немедикаментозные методы. Выбор методов воздействия зависит от клинической ситуации и должен быть выбран на основании результатов бактериологического исследования пациентов.

Таким образом, актуальной целью данного исследования была оценка чувствительности клинических штаммов стафилококков и стрептококков, выделенных из зева, носа и полости рта детей с врожденными дефектами челюстно-лицевой области, к поливалентному пибактериофагу – «Секстафаг» и моновалентным бактериофагам.

Материалы и методы исследования. Чувствительность к бактериофагам определяли у 36 выделенных и идентифицированных штаммов *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus salivarius*, из которых 12 штаммов относились к виду *Staphylococcus aureus*, 9 штаммов – *Staphylococcus epidermidis*, 8 штаммов – *Streptococcus pyogenes* и 7 штаммов – *Streptococcus salivarius*.

Исследованные бактериальные культуры были выделены со слизистой ороназофарингеальной области детей с врожденными пороками челюстно-лицевой области (15 детей в возрасте от 5 месяцев до 1 года в дооперационный период). Клинические штаммы *Staphylococcus aureus* были выделены из носа – 7 штаммов, из зева – 3 штамма, слизистой полости рта – 2 штамма. Бактерии отнесенные к виду *Staphylococcus epidermidis* были выделены со слизистой носа – 5 штаммов, из зева – 3 штамма, слизистой полости рта – 1 штамм. *Streptococcus pyogenes* были выделены из носа – 3 штамма, из зева – 5 штаммов. Бактерии вида *Streptococcus salivarius* были выделены из носа – 4 штамма, из полости рта – 3 штамма.

В исследовании использовали коммерческие препараты бактериофагов – поливалентный фиобактериофаг – «Секстафаг» (ФГУП НПО «Микроген», РФ), стафилококковый и стрептококковый бактериофаги (ФГУП НПО «Микроген», РФ).

Исследуемые штаммы бактерий выращивали в пробирках с мясо-пептонным бульоном. Посев на чашки Петри проводили методом «газона». По 1 мл жидкой бактериальной культуры наносили на поверхность мясо-пептонного агара в чашку Петри при помощи стерильной пипетки. Препараты бактериофагов капали на соответствующие сектора чашки. Чувствительность к бактериофагам определяли по наличию или отсутствию зоны лизиса микроорганизмов в области контакта с препаратом [8, с. 873].

Статистическую обработку проводили с помощью программы Statistica 6.0.

Результаты исследования и их обсуждение. Секстафаг широко применяется для профилактики и лечения заболеваний, вызванных различными возбудителями внутрибольничных инфекций. Основа этого препарата – фильтрат фаголизатов (очищенная смесь разрушенных фагом клеток, содержащая вирусные частицы) наиболее распространенных бактерий: стафилококков, стрептококков, синегнойной и кишечной палочки, протеев и клебсиелл. Благодаря такому составу препарат обладает широким спектром направленного антибактериального действия и может использоваться при различных гнойно-септических заболеваниях, включая инфекции, вызванные микробными ассоциациями [5, с. 15].

Бактериофаг стафилококковый – стерильный фаголизат бактерий штаммов *Staphylococcus spp.*, а также бактериофаг стрептококковый – стерильный фаголизат бактерий штаммов *Streptococcus spp.*

Обнаружено, что 7 штаммов бактерий *Staphylococcus aureus* оказались чувствительными к стафилококковому бактериофагу, что составило 58,3%. Из которых 4 штамма золотистого стафилококка (33,3%) были выделены из носа, 2 штамма (16,7%) были выделены из зева, 1 штамм (8,3%) был выделен из полости рта.

К секстафагу чувствительность проявили 10 штаммов *Staphylococcus aureus* (83,3%). Из которых 6 штаммов стафилококков (50,0%) были выделены из носа, 3 штамма (25,0%) были выделены из зева, 1 штамм (8,3%) был выделен из полости рта. При этом отме-

чалось, что 4 штамма *Staphylococcus aureus*, выделенных из носа, оказались восприимчивыми и к стафилококковому бактериофагу и к поливалентному секстафагу. Также чувствительность к стафилококковому бактериофагу и к секстафагу одновременно проявили по 1 штамму *Staphylococcus aureus*, выделенных из зева и полости рта (таблица 1).

Таблица 1

Чувствительность *Staphylococcus aureus* к различным бактериофагам

Название бактериофага (БФ)	Исследуемые бактериальные культуры <i>Staphylococcus aureus</i>		
	Штаммы, выделенные из носа (7 штаммов)	Штаммы, выделенные из зева (3 штамма)	Штаммы, выделенные из полости рта (2 штамма)
БФ стафилококковый	4 штамма (33,3%)	2 штамма (16,7%)	1 штамм (8,3%)
Секстафаг	6 штаммов (50,0%)	3 штамма (25,0%)	1 штамм (8,3%)

Восприимчивость к бактериофагам у штаммов *Staphylococcus epidermidis*, оказалась немного ниже, 5 штаммов проявили чувствительность к стафилококковому бактериофагу, что составило 55,5%. Из которых 3 штамма *Staphylococcus epidermidis* (33,3%) были выделены из носа, 2 штамма (22,2%) были выделены из зева, при этом ни 1 штамм, выделенный из полости рта не проявил чувствительность к стафилококковому бактериофагу.

К поливалентному секстафагу восприимчивы оказались только 4 штамма (44,4%) *Staphylococcus epidermidis*. Из них 2 штамма (22,2%) бактерий этого вида были выделены из носа, 1 штамм (11,1%) был выделен из зева и 1 штамм (11,1%) был выделен из полости рта. Одновременно чувствительность к стафилококковому бактериофагу и к секстафагу проявили по 1 штамму из выделенных из носа и зева (таблица 2).

Таблица 2

Чувствительность *Staphylococcus epidermidis* к различным бактериофагам

Название бактериофага (БФ)	Исследуемые бактериальные культуры <i>Staphylococcus epidermidis</i>		
	Штаммы, выделенные из носа (5 штаммов)	Штаммы, выделенные из зева (3 штамма)	Штаммы, выделенные из полости рта (1 штамм)
БФ стафилококковый	3 штамма (33,3%)	2 штамма (22,2%)	–
Секстафаг	2 штамма (22,2%)	1 штамм (11,1%)	1 штамм (11,1%)

Исследование фагочувствительности стрептококков дало следующие результаты, 7 штаммов *Streptococcus pyogenes* проявили восприимчивость к стрептококковому бактериофагу, что составило 87,5%. Из которых 3 штамма (37,5%) бактерий *Streptococcus pyogenes* были выделены из зева, а 4 штамма (50,0%) были выделены из полости рта.

Всего 5 штаммов *Streptococcus pyogenes* оказались чувствительными к поливалентному секстафагу (62,5%), из которых 2 штамма (25,0%) были выделены из зева, 3 штамма

(37,5%) были выделены из полости рта. Восприимчивость и к стрептококковому бактериофагу и к поливалентному секстафагу проявили 2 штамма стрептококков этого вида, выделенных из зева и 3 штамма, выделенных из полости рта (таблица 3).

Таблица 3

Чувствительность *Streptococcus pyogenes* к различным бактериофагам

Название бактериофага (БФ)	Исследуемые бактериальные культуры <i>Streptococcus pyogenes</i>	
	Штаммы, выделенные из носа (3 штамма)	Штаммы, выделенные из полости рта (5 штаммов)
БФ стафилококковый	3 штамма (37,5%)	4 штамма (50,0%)
Секстафаг	2 штамма (25,0%)	3 штамма (37,5%)

Более устойчивыми к бактериофагам были бактериальные культуры вида *Streptococcus salivarius*, 5 штаммов из них проявили восприимчивость к стрептококковому бактериофагу (71,4%), из которых 3 штамма (42,9%) были выделены из зева и 2 штамма (28,6%) были выделены из полости рта.

4 штамма *Streptococcus salivarius* оказались чувствительными к поливалентному секстафагу (57,1%), из которых 1 штамм (14,3%) был выделен из носа и 3 штамма (42,9%) были выделены из полости рта. Одновременно чувствительность и к стрептококковому бактериофагу и к секстафагу проявили 3 штамма бактерий этого вида, из которых 1 штамм был выделен из зева, а 2 штамма были выделены из полости рта (таблица 4).

Таблица 4

Чувствительность *Streptococcus salivarius* к различным бактериофагам

Название бактериофага (БФ)	Исследуемые бактериальные культуры <i>Streptococcus salivarius</i>	
	Штаммы, выделенные из зева (4 штамма)	Штаммы, выделенные из полости рта (3 штамма)
БФ стафилококковый	3 штамма (42,9%)	2 штамма (28,6%)
Секстафаг	1 штамм (14,3%)	3 штамма (42,9%)

По результатам проведенных исследований было выявлено, что бактериальные культуры *Staphylococcus aureus*, выделенные из ороназофарингеальной области детей с врожденными пороками челюстно-лицевой области проявили довольно высокую чувствительность к бактериофагам, в особенности к секстафагу. Чувствительность к бактериофагам у штаммов *Staphylococcus epidermidis* была не высокая. Штаммы, выделенные из различных источников, не значительно отличались по восприимчивости к стафилококковому бактериофагу и к поливалентному пиобактериофагу. Бактериальные штаммы стрептококков проявили большую восприимчивость к стрептококковому бактериофагу.

Выводы:

1. Наибольшую чувствительность к поливалентному бактериофагу «Секстафаг» проявили бактериальные культуры *Staphylococcus aureus*.

2. Исследованные штаммы *Staphylococcus epidermidis* были более восприимчивы к стафилококковому бактериофагу.

3. Бактериальные штаммы стрептококков *Streptococcus pyogenes* и *Streptococcus salivarius* оказались более чувствительными к стрептококковому бактериофагу, чем к секстафагу.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ, мнемо-код 0669-2020-0008.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Акимкин В.Г., Дарбеева О.С., Колков В.Ф.* Бактериофаги: исторические и современные аспекты их применения: опыт и перспективы // Клиническая практика. 2010. 4. С. 48–54.
2. Бактериофаги – вирусы бактерий: учебное пособие / автор – составитель *Н.В. Иконникова*. Минск: ИВЦ Минфина, 2017. 41 с.
3. *Ворошилова Н.Н., Боговазова Г.Г., Казакова Т.Б.* Изучение клинической эффективности препаратов бактериофагов при лечении энтеральных и гнойно воспалительных заболеваний // Актуальные вопросы разработки и применения иммунобиологических и фармацевтических препаратов: Материалы Всероссийской конференции. Уфа. 2000. С. 87–94.
4. *Додова Е.Г., Горбунова Е.А., Аполихина И.А.* Постантибиотиковая эра: бактериофаги как лечебная стратегия // Медицинский совет. 2015. № 11. С. 49–53.
5. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения «Секстафаг®» Пиобактериофаг поливалентный, № ЛС-001049 от 2005. С. 12–23.
6. *Каттер Э., Сулакулидзе А.* Бактериофаги. Биология и практическое применение. М.: Научный мир, 2012. 640 с.
7. *Кряжев Д.В., Беляева Е.В., Борискина Е.В., Ермолина Г.Б., Никифорова В.А., Носова Т.В., Соловьева И.В., Шкуркина И.С.* Чувствительность к антибиотикам, дезинфектантам бактериофагам экзотрофов коагулазонегативных стафилококков, выделенных в детском стационаре // Медицинский альманах. Эпидемиология. Сентябрь 2017. № 4 (49). С. 66–69.
8. *Мидленко В.И., Шевалаев Г.А., Ефремов И.М.* Чувствительность к препаратам бактериофагов возбудителей осложнений у больных после травм и оперативных вмешательств на опорно-двигательном аппарате // Фундаментальные исследования. 2013. № 9 (часть 5). С. 871–874.
9. *Степанова Н.Р., Геворкян М.А.* Бактериофаги: аспекты применения в акушерстве и гинекологии // Медицинский совет. 2015. № 9. С. 10–14.

ABSTRACT

Bacteriophage are used in clinical practice along with antibiotics. It is known that in many cases phage drugs are superior to other antibacterial drugs in their activity against antibiotic-resistant pathogens. Bacteriophages do not cause toxic or allergic side effects and have no contraindications. The use of bacteriophage preparations stimulates the activation of adaptive and innate immune factors, so phage therapy is particularly effective in the treatment of chronic inflammatory diseases against the background of immunosuppressive States. Bacteriophages do not interfere with the implementation of the therapeutic effect of other drugs (antibiotics, probiotics, synbiotics) and are not sensitive to their effects. The paper evaluates the sensitivity of different types of staphylococci and streptococci

to specific bacteriophages, as well as to sextaphage – polyvalent piobacteriophage. In the course of research, it was found that bacterial cultures of *Staphylococcus aureus* showed a fairly high sensitivity to sextaphage, to which 83,3% (10 strains) of the total number of studied strains of this species were susceptible. Sensitivity to bacteriophages in *Staphylococcus epidermidis* strains was low. Bacterial strains of *Streptococcus pyogenes* showed greater susceptibility to streptococcal phage than to sextaphage. 87,5% of the strains were susceptible to streptococcal bacteriophage. Bacterial cultures of *Streptococcus salivarius* showed moderate susceptibility to bacteriophages.

Keywords: staphylococcus, streptococcus, staphylococcal bacteriophage, streptococcal bacteriophage, sextaphage.

Kabardino-Balkar State University named after H.M. Berbekov, Nalchik; medfak1@mail.ru

© Z.F. Kharaeva,
V.A. Vissarionov,
M.Sh. Mustafaev,
L.Z. Blieva,
E.B. Barokova,
S.M. Mustafaeva,
S.A. Dysheкова, 2020

АННОТАЦИЯ

Бактериофаги используются в клинической практике одновременно с антибактериальными препаратами. Часто фаги по активности превосходят антибиотики в отношении большого числа антибиотикорезистентных возбудителей. Они не вызывают побочных токсических и аллергических реакций и не имеют противопоказаний. Использование препаратов бактериофагов стимулирует активизацию различных факторов врожденного и приобретённого иммунитета, поэтому фаготерапия особенно эффективна при лечении хронических воспалительных заболеваний на фоне иммунодепрессивных состояний. Они не блокируют действия других препаратов и устойчивы к их воздействию. В работе проведена оценка чувствительности разных видов стафилококков и стрептококков к специфическим бактериофагам, а также к секстафагу – поливалентному пиобактериофагу. В ходе исследований было выявлено, что бактериальные культуры *Staphylococcus aureus* проявили довольно высокую чувствительность к секстафагу, к которому оказались восприимчивы 83,3% (10 штаммов) от общего числа исследованных штаммов этого вида. Чувствительность к бактериофагам у штаммов *Staphylococcus epidermidis* была невысокая. Бактериальные штаммы *Streptococcus pyogenes* проявили большую восприимчивость к стрептококковому фагу, чем к секстафагу. 87,5% штаммов были чувствительны к стрептококковому бактериофагу. Бактериальные культуры *Streptococcus salivarius*, проявили умеренную восприимчивость к бактериофагам.

Ключевые слова: стафилококки, стрептококки, стафилококковый бактериофаг, стрептококковый бактериофаг, секстафаг.

Кабардино-Балкарский государственный университет, Нальчик; medfak1@mail.ru

© З.Ф. Хараева,
В.А. Виссарионов,
М.Ш. Мустафаев,
Л.З. Блиева,
Е.Б. Барокова,
С.М. Мустафаева,
С.А. Дышекова, 2020