

УДК 617-022-08:615.370.96

**ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ПРЕПАРАТАМ БАКТЕРИОФАГОВ
ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ
ПОСЛЕ ТРАВМ И ОПЕРАТИВНЫХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ
НА ОПОРНО-ДВИГАТЕЛЬНОМ АППАРАТЕ**

Мидленко В.И., Шевалаев Г.А., Ефремов И.М.

ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет», Ульяновск, e-mail: shga63@rambler.ru

Проведен анализ чувствительности возбудителей инфекционных осложнений у больных после травм и оперативных вмешательств на опорно-двигательном аппарате к препаратам бактериофагов. Чувствительность определяли к коммерческим препаратам бактериофагов – поливалентному пиобактериофагу «Секстафаг», стафилококковому и синегнойному бактериофагам. Фагочувствительность определяли методом «стекающая капля», по наличию или отсутствию зоны лизиса микробов в области контакта с препаратом. При отсутствии чувствительности выделенного микробного агента к поливалентному пиобактериофагу, определяли его чувствительность к специфическому фагу. По результатам исследований общее количество штаммов бактерий, чувствительных к поливалентному пиобактериофагу «Секстафаг», составило 67,8% от общего количества исследуемых культур микроорганизмов. При этом чувствительность *Staphylococcus aureus* к препарату «Секстафаг» составила 81,3%, а коагулазонегативных стафилококков (КОС) – 14%.

Ключевые слова: хронический остеомиелит, послеоперационные инфекционные осложнения, бактериофаги

**THE SUSCEPTIBILITY TO PREPARATIONS OF BACTERIOPHAGES
OF PATHOGENS OF COMPLICATION IN PATIENTS AFTER TRAUMA
AND SURGERY OF THE LOCOMOTION SYSTEM**

Midlenko V.I., Shevalaev G.A., Efremov I.M.

Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, e-mail: shga63@rambler.ru

We have done the analysis of the susceptibility of pathogens of Infectious complication in patients after trauma and surgery of the locomotion system of preparations of bacteriophages. The susceptibility was determined to commercial preparations of bacteriophages – polyvalent piobacteriophage «Sekstafag», Staphylococcal and Pseudomonas bacteriophages. The susceptibility was determined by the method «dripping», according to the presence or absence of zones of lysis of microbes in contact with the drug. The susceptibility to specific bacteriophages was determined if there was the absence of susceptibility of the selected microbial agent to polyvalent piobacteriophage. According to the research of the total bacterial strains, susceptible to polyvalent piobacteriophage «Sekstafag», was 67,8% of the studied cultures of microbes. In this case, the susceptibility of *Staphylococcus aureus* to the preparation «Sekstafag» was 81,3%, and coagulase-negative staphylococci (CBS) – 14%.

Keywords: chronic osteomyelitis, postoperative infectious complications, bacteriophages

В 40-х годах двадцатого века были созданы и внедрены в клиническую практику бактериальные вирусы – бактериофаги, хорошо зарекомендовавшие себя при лечении инфекционных осложнений в хирургии и травматологии.

Бактериофаги представляют собой вирусы, избирательно поражающие бактериальные клетки. Антибактериальный эффект препаратов бактериофагов обусловлен внедрением генома фага в бактериальную клетку с последующим его размножением и лизисом инфицированной клетки. Вышедшие во внешнюю среду в результате лизиса бактериофаги повторно инфицируют и лизируют другие бактериальные клетки, действуя до полного уничтожения патогенных бактерий в очаге воспаления [8].

Однако с развитием химической промышленности, разработкой и внедрением новых антибиотиков и антисептиков интерес к ним значительно снизился [7].

В настоящее время, в связи с ростом антибиотикорезистентности основных

возбудителей инфекционных осложнений у больных хирургического и травматолого-ортопедического профиля, появлением новых полирезистентных штаммов микробов, поиск и разработка новых эффективных препаратов с высокой антибактериальной активностью продолжается [3, 4].

На сегодняшний день, в научной литературе имеются сообщения о применении бактериофагов при лечении инфекционных заболеваний и осложнений различной этиологии [1, 11–14], а также хирургических инфекций [9, 10].

Отмечен ряд положительных качеств применения бактериофагов: бактериофаги высоко специфичны при лечении инфекций, не подавляют нормальную микрофлору и не нарушают естественный баланс внутренней среды организма, т.е. фаготерапия является этиотропной и специфической; бактериофаги не имеют противопоказаний к применению: их можно назначать беременным, кормящим матерям и детям любого возраста, включая недоношенных; бактериофаги

могут использоваться не только для лечения, но и для профилактики бактериальных инфекций; бактериофаги не вызывают развития резистентности микроорганизмов; бактериофаги оказывают стимулирующее влияние на гуморальное и клеточное звенья иммунитета; бактериофаги не обладают токсическим, аллергическим и тератогенным эффектами; бактериофаги эффективны в монотерапии, но также могут применяться в комбинации с другими препаратами, в т.ч. с антибиотиками и пробиотиками [5, 6].

Однако, по данным Б.И. Асланова (2009), применение бактериофагов при отсутствии фагочувствительности к ним выделенного микробного агента, возбудителя инфекционно-воспалительного процесса, может способствовать усилению или развитию антибиотикорезистентности у данного микроорганизма [2]. Помимо этого, в научной литературе отмечен риск развития реакции обострения Яриша–Гексгеймера, которая развивается в результате высвобождения большого количества токсинов, при массивной гибели микробов при внутривенном введении препарата бактериофага [7].

Цель исследования: изучить чувствительность возбудителей инфекционных осложнений у больных после травм и оперативных вмешательств на опорно-двигательном аппарате к препаратам бактериофагов.

Материалы и методы исследования

Для изучения чувствительности микробных агентов, возбудителей инфекционных осложнений у больных после травм и оперативных вмешательств на опорно-двигательном аппарате, проанализированы результаты бактериологических исследований (in vitro) проб материала, взятых из свищей и гнойно-некротических ран у 48 госпитальных больных (мужчин – 29, женщин – 19, средний возраст –

48,2 ± 13,8 лет), проходивших стационарное лечение в ГУЗ «Ульяновский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи».

У 33 (68,8%) больных диагностирован хронический остеомиелит, у 4 (8,3%) – инфекция области хирургического вмешательства после металлоостеосинтеза закрытого перелома, у 2 (4,2%) – инфекция области хирургического вмешательства после операции на мягких тканях, у 4 (8,3%) – глубокая инфекция области хирургического вмешательства после эндопротезирования крупных суставов, у 5 (10,4%) – открытые переломы длинных трубчатых костей нижних конечностей, осложненные инфекционно-воспалительным процессом. Свищи зафиксированы у 23 больных (47,9%), гнойные раны – у 25 (52,1%).

Посев материала производили на стандартные питательные среды, с последующим изучением чувствительности к антибиотикам выделенных штаммов микроорганизмов диско-диффузионным методом в соответствии с методическими указаниями МУК 4.2.1980-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам».

Чувствительность к бактериофагам определяли у 59 выделенных и идентифицированных штаммов микроорганизмов. Из них 53 (89,8%) были отнесены к грамположительным, 6 (10,2%) – к грамотрицательным микроорганизмам. Чувствительность определяли к коммерческим препаратам бактериофагов – поливалентному пиобактериофагу (ПБ) «Секстафаг», стафилококковому и синегнойному бактериофагам. Фагочувствительность определяли методом «стекающая капля», по наличию или отсутствию зоны лизиса микробов в области контакта с препаратом. При отсутствии чувствительности выделенного микробного агента к поливалентному бактериофагу, определяли его чувствительность к специфическому фагу.

Результаты исследования и их обсуждение

По результатам исследований общее количество штаммов бактерий, чувствительных к поливалентному пиобактериофагу, составило 67,8% от общего количества исследуемых культур микроорганизмов (табл. 1, 2).

Таблица 1

Чувствительность возбудителей инфекционных осложнений у больных после травм и оперативных вмешательств на опорно-двигательном аппарате к препарату «Секстафаг»

Штаммы	Грамположительные кокки				Коагулазонегативные стафилококки (hominis / capitis / saprophyticus / haemolyticus)
	Staphylococcus aureus	Staphylococcus epidermidis	MSSE	MRSE	
Кол-во	27 (21)	5 (5)	5 (1)	2 (0)	2(1)/3(0)/1(0)/1/(0)
Всего	46 (28)				

П р и м е ч а н и е. В скобках указано количество бактерий, чувствительных к поливалентному пиобактериофагу.

ПБ лизировал 57,6% штаммов грамположительных бактерий. Наибольшая чувствительность выявлена у штаммов *St.aureus*, которая составила 81,3% от общего количества выделенных культур данного

вида. ПБ лизировал 75% штаммов бактерий рода *Enterococcus spp.* Меньшая чувствительность выявлена у КОС, которая составила 14,3% от общего количества этих микроорганизмов. ПБ лизировал все штаммы

бактерий MRSA. Три штамма стафилококков, не чувствительных к ПБ, лизировались специфическим стафилококковым бактериофагом (табл. 3). Только 50% штаммов бактерий синегнойной палочки лизировались ПБ и синегнойным бактериофагом (табл. 4).

офагом (табл. 3). Только 50% штаммов бактерий синегнойной палочки лизировались ПБ и синегнойным бактериофагом (табл. 4).

Таблица 2

Чувствительность микрофлоры, выделенной от больных с инфекционными осложнениями, к препарату «Секстафаг»

Грамотрицательные палочки	Грамположительные кокки			
	Энтеробактерии		Стрептококки	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Streptococcus piogenes</i>
6 (3)	1 (1)	1(1)	4(3)	1(1)
6 (3)	2 (2)		5 (4)	

Пр и м е ч а н и е . В скобках указано количество бактерий, чувствительных к поливалентному пиобактериофагу.

Таблица 3

Чувствительность стафилококковых штаммов, выделенных от больных с инфекционными осложнениями, к препарату «Секстафаг» и стафилококковому бактериофагу

Грамположительные кокки	Тип бактериофага		
	Поливалентный пиобактериофаг	Стафилококковый бактериофаг	
	N (%)	N (%)	P
<i>Staphylococcus aureus</i> (n = 32)	26 (81,3)	21 (65,6)	$\chi^2 = 1,28$; P = 0,25
Коагулазонегативные стафилококки (n = 14)	2 (14,3)	6 (42,9)	$\chi^2 = 1,58$; P = 0,83
Общее количество стафилококковых штаммов (n = 46)	28 (60,9)	27 (58,7)	$\chi^2 = 0,05$; P = 0,81

Таблица 4

Чувствительность *Pseudomonas aeruginosa*, к препарату «Секстафаг» и синегнойному бактериофагу

Тип микроорганизма	Тип бактериофага		
	Поливалентный пиобактериофаг	Синегнойный бактериофаг	
	N (%)	N (%)	P
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n = 6)	3 (50)	3 (50)	$\chi^2 = 0,33$; P = 0,57

Достоверных различий в чувствительности стафилококковых штаммов к поливалентному пиобактериофагу и стафилококковому бактериофагу не выявлено.

По данным Н.И. Габриэлян и соавт. (2011) фагочувствительность стафилококков (золотистого и коагулазоотрицательных) составляет 69%, в то же время И.Н. Хайруллин (2004) сообщает о чувствительности 92,8% стафилококков и 81,8% синегнойной палочки. Однако, по данным Б.И. Асланова и соавт. (2009), только 48,4% штаммов синегнойной палочки чувствительны к препаратам бактериофагов.

Таким образом, в результате проведенного исследования выявлена чувствительность возбудителей инфекционных осложнений у больных после травм и оперативных вмешательств на опорно-двигательном аппарате к поливалентному пиобактериофагу, которая составила 67,8% от общего количества исследуемых культур микроорганизмов.

Выводы

1. Поливалентный пиобактериофаг лизировал 61% штамм стафилококков. При этом чувствительность золотистого

стафилококка – 81,3%, коагулазоотрицательных – 14,3%.

2. Поливалентный фиобактериофаг лицировал 50% штаммов бактерий синегнойной палочки.

Список литературы

1. Арефьева Н.А. Сравнительное изучение влияния способов лечения на состояние местного иммунитета слизистых оболочек носа больных хроническим риносинуситом // *Фундаментальные исследования*. – 2007. – № 4. – С. 51–53.
2. Асланов Б.И. Бактериофаги как факторы формирования госпитальных штаммов и средства борьбы с внутрибольничными инфекциями / Б.И. Асланов, Л.П. Зуева, В.Ю. Хорошилов // *Инфекции в хирургии*. – 2009. – № 1. – С. 25–29.
3. Габриэлян Н.И. Исследование антибиотико- и фагочувствительности нозокомальных штаммов микробов, выделенных от пациентов трансплантологической клиники // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. – 2011. – № 3. – С. 26–32.
4. Гординская Н.А. Резистентность основных возбудителей инфекции в отделении гнойной остеологии // *Вопросы травматологии и ортопедии*. – 2012. – № 2. – С. 14–17.
5. Зурабов А.Ю. Создание отечественной коллекции бактериофагов и принципы разработки лечебно-профилактических фаговых препаратов // *Биомедицина*. – 2012. – № 1. – С. 134–138.
6. Красильников И.В. Применение бактериофагов: краткий обзор современного состояния и перспектив развития / И.В. Красильников, К.А. Лыско, А.К. Лобастова // *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. – 2011. – № 2. – С. 33–37.
7. Курбангалеев С.М. Гнойная инфекция в хирургии. – М.: Медицина, 1985. – 272 с.
8. Лабинская А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. – М.: Медицина, 1978. – 395 с.
9. Лахно В.М. Применение поливалентного фиобактериофага при хирургическом лечении нагноения послеоперационных ран в экстренной хирургии / В.М. Лахно, В.Н. Бордуновский // III Национальный конгресс по профилактической медицине и валеологии (28–31 мая 1996 г.). – СПб., 1996. – С. 92–93.
10. Хайруллин И.Н. Роль микрофлоры хирургического отделения в развитии послеоперационных осложнений хирургических ран и их коррекция с помощью бактериофагов: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Казань, 2004. – 77 с.
11. Ширева Ю.В. Оптимизация применения бактериофагов в терапии аэробного вагинита / Ю.В. Ширева, Т.И. Карпунина, О.В. Белоусова // *Медицинский альманах*. – 2009. – № 4. – С. 126–128.
12. Чандра-Д'Мелло Р. Методика комбинированного использования озон- и бактериофаготерапии в комплексном лечении хронических аднекситов // *Медицинский альманах*. – 2009. – № 4. – С. 140–142.
13. Kutateladze M. Bacteriophages as potential new therapeutics to replace or supplement antibiotics / M. Kutateladze, R. Adamia // *Trends in Biotechnology*. – 2010. – Vol. 28 (12). – P. 591–595.
14. Monk A.B. Bacteriophage applications: where are we now? / A.B. Monk, C.D. Rees, P. Barrow et al. // *Lett Appl. Microbiol.* – 2010. – Vol. 51, (4). – P. 363–369.

References

1. Aref'eva N.A., Aznabaeva L.F., Voroshilova N.N., Sul-tanov N.M., *Fundamental'nye issledovaniya – Basic research*, 2007, no. 4, pp. 51–53.
2. Aslanov B.I., Zuev L.P., Khoroshilov V.Y., *Infekcii v hirurgii – Infection in surgery*, 2009, no. 1, pp. 25–29.
3. Gabrijeljan N.I., Gorskaja E.M., Spirina T.S., Prudnikova S.A., Romashkina L.Ju., *Vestnik transplantologii i iskusstvennyh organov – Journal of Transplantation and Artificial Organs*, 2011, no. 3, pp. 26–32.
4. Gordinskaja N.A., Sabirova E.V., Abramova N.V., Dudareva E.V., Mitrofanov V.N., *Voprosy travmatologii i ortopedii – Questions of traumatology and orthopedics*, 2012, no. 2, pp. 14–17.
5. Zurabov A.Ju., Karkishhenko N.N., Popov D.V., Zhilenkov E.L., Popova V.M., *Biomedicina – Biomedicine*, 2012, no. 1, pp. 134–138.
6. Krasil'nikov I.V., Lysko K.A., Lobastova A.K., *Sibirskij medicinskij zhurnal (g.Irkutsk)*. – *Siberian Journal of Medicine (Irkutsk)*, 2011, no 2, pp. 33–37.
7. Kurbangaleev S.M. *Gnojnaja infekcija v hirurgii* [Purulent infection in surgery]. Moscow, Medicina Publ., 1985. 272 p.
8. Labinskaja A.S. *Mikrobiologija s tehnikoj mikrobiologicheskikh issledovanij* [Microbiology of the technique of microbiological research]. – Moscow, Medicina Publ., 1978. 395 p.
9. Lahno V.M., Bordunovskij V.N. *Trudy III Nacional'nogo kongressa po profilakticheskoj medicine i valeologii* (Proc. III National Congress on Preventive Medicine and valeologii). St. Petersburg, 1996, pp. 92–93.
10. Hajrullin I.N. *Rol' mikroflory hirurgicheskogo otdelenija v razviii posleoperacionnyh oslozhnenij hirurgicheskikh ran i ih korrekcija s pomoshh'ju bakteriofagov* (The role of microflora in the surgical department in the development of postoperative complications of surgical wounds and their correction with bacteriophages). Kazan, 2004. 77 p.
11. Shireva, Ju.V., Karpunina T.I., Belousova O.V., *Medicinskij al'manah – Medical almanac*, 2009, no. 4, pp. 126–128.
12. Chandra-D'Mello R., Grechkanov G.O., Nikishin N.N., Peretjagina N.S., *Medicinskij al'manah – Medical almanac*, 2009, no. 4, pp. 140–142.
13. Kutateladze M., Adamia R., *Trends in Biotechnology*, 2010, Vol. 28 (12), p. 591–595.
14. Monk A.B., Rees C.D., Barrow P., Hagens S., Harper D.R., *Lett Appl. Microbiol.*, 2010, Vol. 51, (4), p. 363–369.

Рецензенты:

Смолякина А.В., д.м.н., профессор кафедры госпитальной хирургии, анестезиологии, реаниматологии, урологии, травматологии и ортопедии, Институт медицины, экологии и физической культуры, ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск;

Островский В.К., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей и оперативной хирургии с топографической анатомией и курсом стоматологии, Институт медицины, экологии и физической культуры, ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск.

Работа поступила в редакцию 09.10.2013.