

*А.А. Якушенко*

**ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИСЕПТИКАМ И ПОЛИВАЛЕНТНОМУ  
ПИБАКТЕРИОФАГУ «СЕКСТАФАГ®» ИЗОЛЯТОВ СТАФИЛОКОККОВ,  
ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ С АКНЕ**

*Научные руководители: канд. мед. наук, доц. Т.А. Канашкова,  
канд. мед. наук, доц. А.П. Музыченко\**

*Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии,*

*\*Кафедра кожных и венерических болезней*

*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

*A.A. Yakushenko*

**SENSITIVITY TO ANTISEPTICS AND POLYVALENT BACTERIOPHAGE  
«SEXTAPHAGE» OF STAPHYLOCOCCI ISO LATES FROM ACNE PATIENTS**

*Tutors: PhD, associate professor T.A. Kanashkova,*

*PhD, associate professor A.P. Musychenko\**

*Department of Microbiology, Virology, Immunology,*

*\*Department of Skin and Venereal Diseases*

*Belarusian State Medical University, Minsk*

**Резюме.** Проведено исследование чувствительности стафилококков, выделенных из элементов угревой сыпи у пациентов с акне, к поливалентному пибактериофагу «Секстафаг®» и к антисептикам терапевтического назначения (хлоргексидину, мукосанину, бетадину). Выявлены различия в фагочувствительности различных видов стафилококков.

**Ключевые слова:** акне, стафилококки, антисептики, бактериофаг.

**Resume.** In this study, the phage sensitivity to the polyvalent pyobacteriophage "Sextaphage®" and antimicrobial susceptibility to therapeutic antiseptics (chlorhexidine, mucosanine, betadine) of staphylococcal strains isolated from acne elements were assessed. Phage sensitivity testing showed varying degree of susceptibility by different staphylococcal species.

**Keywords:** acne, staphylococci, antiseptics, bacteriophage.

**Актуальность.** Вульгарные угри, или акне, – хроническое заболевание сальных желез и волосяных фолликулов, представляющее собой непростую проблему. Необходимость освещения и обсуждения этого заболевания диктуется масштабами заболеваемости, особенностями возрастного контингента пациентов, рецидивирующим, часто осложняющимся течением [4].

Дерматоз поражает от 70 до 80% подросткового и молодого населения и около 11% взрослого населения старше 25 лет, причем у половины женщин и еще чаще у мужчин угревая болезнь протекает в тяжелой форме [3, 6]. Угревая сыпь даже легкой степени тяжести на видимых участках кожи значительно снижает самооценку, вызывает тревогу, депрессию, дисморфофобию. Сложившаяся ситуация приводит к длительному психогенному напряжению, истощению адаптационных механизмов организма и повышению секреции стрессовых гормонов. Создаётся замкнутая патогенетическая цепь [1, 2, 5].

Изучение чувствительности стафилококков, выделенных из воспалительных элементов пациентов с акне, позволяет выявить средства, способные подавить рост и

жизнедеятельность микроорганизма, тем самым повысить эффективность терапии акне.

**Цель:** определить чувствительность стафилококков, выделенных из элементов угревой сыпи пациентов с различными формами акне, к антисептикам терапевтического назначения и поливалентному фиобактериофагу «Секстафаг®».

**Задачи:**

1. Произвести забор материала из пустул пациентов с акне, приготовить микропрепараты, микроскопировать.
2. Выполнить посевы материала на ЖСА и кровяной агар для выделения культур, оценить лецитиназную и гемолитическую активность.
3. Провести видовую идентификацию выделенных культур стафилококков.
4. Определить чувствительность изолятов стафилококков к антисептикам и к поливалентному бактериофагу «Секстафаг®», оценить перспективу практического использования полученных результатов.

**Материалы и методы.** Материал для исследования – содержимое пустул пациентов с акне, находившихся на стационарном лечении и на консультативном приёме в Минском городском клиническом кожно-венерологическом диспансере. Материал забирали стерильными ватными тампонами, доставляли на кафедру микробиологии, вирусологии, иммунологии в транспортных пробирках.

Далее из материала готовили микропрепараты, окрашивали по Граму, микроскопировали для ориентировочной оценки состава микрофлоры и выполняли посевы на ЖСА и кровяной агар для выделения культур. Через 24 и 48 часов инкубации оценивали характер роста, массивность обсеменения материала, гемолитическую и лецитиназную активность выделенных культур.

Видовую идентификацию стафилококков проводили на базе клинко-диагностической лаборатории Минской городской клинической инфекционной больницы на анализаторе Vitek-2.

Для изучения антисептико- и фагочувствительности выделенных стафилококков использовали суточные культуры, выращенные на скошенном МПА, суспендированные в триптиказо-соевом бульоне (ТСБ) и стандартизованные по МакФарланд до  $10^6$  КОЕ/мл.

Чувствительность к антисептикам определяли суспензионным методом в 96-луночных планшетах по методике, разработанной в лаборатории внутрибольничных инфекций НИЧ БГМУ, в соответствии с Инструкцией по применению: в лунки вносили заранее приготовленные 2-кратные разведения антисептиков в ТСБ от 1:2 до 1:256 от рабочей концентрации и по 0,1 мл суспензий стафилококков. Индикацию роста исследуемых культур выполняли с применением редокс-индикатора.

Для оценки активности антисептиков использовали показатель максимального ингибирующего разведения (МИР) – разведение антисептического средства от его исходной рабочей концентрации, при котором отмечается задержка роста тест-культуры.

Чувствительность к бактериофагу определяли двумя методами: «фаговой дорожки» и суспензионным.

Метод «фаговой дорожки».

Приготовленные суспензии культур стафилококков вносили в чашки Петри с МПА в объёме 0,1 мл и рассеивали шпателем по всей поверхности среды. Чашки подсушивали в термостате в течение 15-20 минут, затем вносили по 2 капли бактериофага (0,1 мл), немного наклонив чашку, чтобы капли стекали к противоположному краю среды. Изолят считается чувствительным при отсутствии роста культуры бактерий в зоне нанесения бактериофага.

Суспензионный метод.

В пробирки с 4,5 мл ТСБ вносили по 0,5 мл лекарственного препарата «Секстафаг® Пиобактериофаг поливалентный» с активностью по Аппельману (согласно инструкции производителя) – не менее  $10^{-5}$ , получая, таким образом, активность фага  $10^{-6}$ . Готовили 5 дополнительных 10-кратных разведений фага (до титра  $10^{-11}$ ) и добавляли суспензию культуры стафилококка в объёме 0,1 мл во все пробирки. Таким образом, соотношение бактерии/фага на 1 см<sup>2</sup> плотной среды и на 1 мл ТСБ с титром фага  $10^{-6}$  было примерно одинаковым. Учёт производили через 24, 48, 72 часа и на 5 сутки инкубации. Изолят считали чувствительным при отсутствии помутнения в бульоне.

**Результаты и их обсуждение.** При микроскопическом исследовании фиксированных препаратов, окрашенных по Граму, у всех пациентов обнаружены многочисленные Грам+ кокки.

У 1, 2 и 4 пациентов обнаружены ассоциации грам+ кокков с полиморфными грам-вариабельными палочками, предположительно пропионибактериями.

У пациента 3 в мазке обнаружены лейкоциты, эпителиальные клетки и адгезированные на них микроорганизмы, что свидетельствует об остром воспалении.

Все выделенные культуры стафилококков проявляли высокую чувствительность к хлоргексидину, мукосанину и бетадину; МИР всех антисептиков были значительно выше их рабочих концентраций. При этом, хлоргексидин и мукосанин были более активными по отношению ко всем изолятам (МИР – 64-128) по сравнению с бетадином (МИР – 16-32) (таблица 1).

**Табл.1.** Чувствительность к антисептикам

Исследованные изоляты стафилококков	Значения МИР антисептивов		
	хлоргексидин	мукосанин	бетадин
1. <i>S.aureus</i>	128	64	32
2. <i>S.aureus</i>	128	64	32
3. <i>S.caprae</i>	128	128	16
4. <i>S.haemolyticus</i>	128	128	16
5. <i>S.hominis sp. hominis</i>	128	128	16
6. <i>S.haemolyticus</i>	128	128	16

При изучении чувствительности к бактериофагу методом «фаговой дорожки» чувствительных изолятов стафилококков выявлено не было. Результаты суспензионного метода представлены в таблице 2.

**Табл.2.** Чувствительность к бактериофагу

Исследованные стафилококков изоляты	Лизис бактерий при разведении фага			
	18-24 часа	48 часов	3 сутки	5 сутки
1. <i>S.aureus</i>	нет	нет	$10^{-6}$	$10^{-7}$
2. <i>S.aureus</i>	$10^{-6}$	$10^{-9}$	$10^{-11}$	$10^{-11}$
3. <i>S.caprae</i>	$10^{-8}$	$10^{-11}$	$10^{-11}$	$10^{-11}$
4. <i>S.haemolyticus</i>	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-9}$	$10^{-11}$
5. <i>S.hominis sp. hominis</i>	нет	нет	нет	$10^{-6}$
6. <i>S.haemolyticus</i>	нет	нет	нет	нет

Как видно из таблицы, при использовании суспензионного метода уже через 24 часа инкубации наблюдался лизис стафилококков в пробирках с посевами изолятов 2 (*S.aureus*), 3 (*S.caprae*), 4 (*S.haemolyticus*) и разведениями фага  $10^{-6}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-6}$ , соответственно, в остальных пробирках отмечался рост бактерий.

В последующие сроки наблюдения (2, 3 и 5 сутки) продолжался активный лизис изолятов 2, 3, 4, вплоть до конечного разведения фага  $10^{-11}$ , что свидетельствует о его активной репродукции в культурах чувствительных бактерий.

Изолят 1 (*S.aureus*) был менее чувствительным к бактериофагу, 5 (*S.hominis sp. hominis*) и 6 (*S.haemolyticus*) – практически полностью устойчивы.

#### **Выводы:**

1. В содержимом пустул пациентов с акне преимущественно обнаруживаются ассоциации пропионибактерий с различными видами стафилококков – представителями нормальной микрофлоры кожи.

2. Изоляты стафилококков, выделяемые из содержимого пустул, высокочувствительны к антисептикам (хлоргексидину, мукосанину, бетадину), при этом чувствительность коагулазоотрицательных стафилококков несколько выше по сравнению с *S.aureus*.

3. Поливалентный пибактериофаг «Секстафаг» проявляет бактериолитическую активность в отношении стафилококков, выделяемых из пустул при угревой сыпи, в том числе в отношении *S.aureus*. *S.hominis sp. hominis* и *S.haemolyticus* менее чувствительны.

4. Суспензионный метод определения чувствительности к бактериофагу является более чувствительным и информативным по сравнению с методом «фаговой дорожки».

#### **Литература**

1. Активность секретируемых антимикробных пепидов, иммуноглобулины и микробиота кожи при акне [Текст]\* / В.Г.Арзумян, С.А.Масюкова, А.Ю.Сергеев и др. // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2017. – № 1. – С.88-93.

2. Анализ микробиоты кожных покровов человека [Текст]\* / Е.А.Соболь, А.М.Морозов, С.В.Жуков и др. // Вестник новых медицинских технологий. – 2021. – № 6. – С.76-85.

3. Белькова, Ю.А., Петрунин, Д.Д. О местном применении антибактериальных препаратов в терапии акне[Текст]\* / Ю.А.Белькова, Д.Д.Петрунин // Вестник дерматологии и венерологии. – 2010. – № 3. – С.75-84.

4. Васильева, Е.С. Угревая болезнь: клинико-иммуно-микробиологические аспекты [Текст]\* / Е.С.Васильева // Косметология и пластическая хирургия. – 2008. – Том 16, № 8. – С.572-573.

5. Виноградова, Е.Ю., Журавлев, Н.А. Влияние пропионибактерий на развитие угревой болезни [Текст]\* / Е.Ю.Виноградова, Н.А. Журавлев // Альманах молодой науки. – 2022. – № 1. – С.36-37.

6. Микробиоценоз кожи у больных угревой болезнью и пути его коррекции [Текст]\* / Я.Ф.Кутасевич, И.А.Маштакова, А.Н.Багмет и др. // Украинский журнал дерматологии, венерологии, косметологии. – 2003. – №1. – С.43-47.