

КОМПЛЕКСНЫЙ ПРЕПАРАТ НА ОСНОВЕ АНТИБИОТИКА, КЛАСТЕРНОГО СЕРЕБРА И БАКТЕРИОФАГА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗВАННЫХ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, В ТОМ ЧИСЛЕ MRSA-ШТАММАМИ



В.Г. Пугачев, О.Д. Тотменина

ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия

Резюме. Проблемы бактериальных инфекций в медицине и ветеринарии требуют тщательного изучения и быстрого решения. Из-за постоянного, а в ряде случаев нерационального применения антибиотиков, эффективность их воздействия на организм заметно падает, кроме того, устойчивость к антибактериальным препаратам неуклонно растет, появляются антибиотикорезистентные штаммы, которые не поддаются общепринятому медикаментозному лечению. Беспрецедентный рост устойчивости патогенных бактерий к антибиотикам требует создания новых лекарственных средств для борьбы с ними. Одним из способов повышения эффективности антибактериальной терапии является применение комбинированных препаратов. Комбинированные лекарственные формы обеспечивают повышение терапевтического эффекта и не должны быть токсичными для организма. Для преодоления резистентности микроорганизмов, снижения нагрузки антибиотиков на организм, нами предложен комплексный препарат на основе антибиотика, кластерного серебра и специфического бактериофага для лечения инфекционных заболеваний, вызванных *S. aureus*, в том числе MRSA-штаммов. Каждый компонент уже хорошо зарекомендовал себя при лечении инфекционных заболеваний, вызываемых патогенными микроорганизмами. Но при использовании этого комплексного препарата появилась возможность снизить количество антибиотика и избавиться от антибиотикорезистентных и фагоустойчивых форм бактерий. В результате исследования показана эффективность применения комплексного препарата на бактериях *S. aureus* MRSA, при снижении количества антибиотика в такой композиции в 2–4 раза по сравнению с использованием только антибиотика. Эффективность препарата, содержащего 10 мкг/мл гентамицина, 7 мкг/мл кластерного серебра и 10⁶ БОЕ/мл бактериофага, на бактериях *S. aureus* MRSA в суспензии сравнима с эффективностью гентамицина с концентрацией 40 мкг/мл. Для бактерий *S. aureus* 209 и *S. aureus* ssp., с пониженной резистентностью к антибиотикам, использование двухкомпонентных композиций (антибиотик + кластерное серебро; антибиотик + бактериофаг) также дает возможность снизить концентрацию антибиотика в 2–3 раза. Необходимо отметить, что увеличение количества кластерного серебра в 4–5 раз при постоянном количестве анти-

Адрес для переписки:

Пугачев Владимир Георгиевич
630559, Россия, Новосибирская область, р.п. Кольцово,
ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора.
Тел.: 8 (383) 336-60-10, 8 (383) 363-47-00, доб. 2808.
E-mail: pugachev@vector.nsc.ru

Contacts:

Vladimir G. Pugachev
630559, Russian Federation, Novosibirsk region, Koltsovo,
State Research Centre of Virology and Biotechnology "Vector".
Phone: +7 (383) 336-60-10, +7 (383) 363-47-00, add. 2808.
E-mail: pugachev@vector.nsc.ru

Для цитирования:

Пугачев В.Г., Тотменина О.Д. Комплексный препарат на основе антибиотика, кластерного серебра и бактериофага для лечения инфекционных заболеваний, вызванных *Staphylococcus aureus*, в том числе MRSA-штаммами // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 2. С. 383–390. doi: 10.15789/2220-7619-ACP-3667

Citation:

Pugachev V.G., Totmenina O.D. A combination preparation based on antibiotic, cluster silver and bacteriophage for treatment of infectious diseases caused by *Staphylococcus aureus* and *S. aureus* MRSA // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2023, vol. 13, no. 2, pp. 383–390. doi: 10.15789/2220-7619-ACP-3667

биотика усиливает бактерицидные свойства полученных препаратов. Повторное внесение дозы препарата позволяет добиться значительного снижения концентрации патогенных микроорганизмов в исследуемой суспензии. Данный препарат не имеет ограничений в зависимости от состояния и степени резистентности микроорганизма.

Ключевые слова: *Staphylococcus aureus*, бактериофаг, антибиотики, кластерное серебро, антибиотикорезистентность, фаговая терапия.

A COMBINATION PREPARATION BASED ON ANTIBIOTIC, CLUSTER SILVER AND BACTERIOPHAGE FOR TREATMENT OF INFECTIOUS DISEASES CAUSED BY *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AND *S. AUREUS* MRSA

Pugachev V.G., Totmenina O.D.

State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

Abstract. The problems of bacterial infections in medicine and veterinary medicine require careful study and rapid solution. Due to continuous and, in some cases, irrational use of antibiotics, the efficiency of their effect on host has been noticeably decreasing; moreover, resistance to antibacterial drugs is steadily growing, antibiotic-resistant strains emerge, which are not amenable to conventional medical treatment. The unprecedented rise of pathogenic bacteria resistance to antibiotics requires generation of new drugs to combat them. One of the ways to increase the effectiveness of antibiotic therapy is to use combination drugs. Combination dosage forms provide an increased therapeutic effect and should not be toxic to the body. To overcome the microbial resistance reducing host burden of antibiotics, we proposed a combination preparation based on antibiotic, cluster silver and specific bacteriophage for treatment of infectious diseases caused by *S. aureus*, including MRSA strains. Each component has already proven in the treatment of pathogen-caused infectious diseases. But while using this combination agent, it became possible to reduce the amount of antibiotic and get rid of antibiotic-resistant and phage-resistant forms of bacteria. The study showed the effectiveness of the combination preparation on *S. aureus* MRSA bacteria, while reducing the amount of antibiotics in proposed composition by 2–4 times compared to use of antibiotic alone. The efficacy of the preparation containing was as follows: 10 µg/ml gentamicin, 7 µg/ml cluster silver and 10⁶ BOV/ml bacteriophage, on *S. aureus* MRSA bacteria in suspension is comparable to the effectiveness of gentamicin with a concentration of 40 µg/ml. For *S. aureus* 209 and *S. aureus* ssp. bacteria with reduced resistance to antibiotics, the use of two-component compositions (antibiotic + cluster silver; antibiotic + bacteriophage) also allowed to reduce the antibiotic concentration by 2–3 times. It should be noted that with a constant amount of antibiotic, increasing the amount of cluster silver by 4–5 times, there is a rise in bactericidal properties of the resulting preparations. Repeated introduction of drug dose allows to achieve a marked decrease in level of pathogenic microorganisms in the suspension studied. This drug has no limitations depending on the state and degree of microbial resistance.

Key words: *Staphylococcus aureus*, bacteriophage, antibiotics, cluster silver, antibiotic resistance, phage therapy.

Введение

Существует целый ряд заболеваний, вызываемых бактериями *Staphylococcus aureus*. Наиболее распространенными заболеваниями, причиной которых может стать золотистый стафилококк, являются заболевания желудочно-кишечного тракта, верхних дыхательных путей, кожные болезни, раневые инфекции, а также пневмонии при внутрибольничных инфекциях. Среди факторов патогенности стафилококков выделяют как структурные компоненты клеток — капсула, белки клеточной стенки, так и секретируемые молекулы — экзотоксины, экзоферменты.

Существенным является возможное взаимодействие между *Staphylococcus aureus* и респираторными вирусами в дыхательных путях.

Долгое время препаратами для лечения инфекций, вызванных *S. aureus*, оставались бета-

лактамы антибиотики. Однако в последнее время все чаще выявляется золотистый стафилококк, устойчивый к этой группе препаратов (в том числе MRSA (methicillin-resistant *S. aureus*) — бактерии, устойчивые к метициллину) [3]. Устойчивость микроорганизмов к бета-лактамам препаратам в одних случаях объясняется продукцией бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС), а в других — с наличием специфического белка ПСБ2а (пенициллинсвязывающего белка). Кроме того, низкую эффективность терапии хронических бактериальных инфекций можно объяснить образованием ими биопленок, которые препятствуют проникновению антибиотиков. К настоящему времени достоверно доказана роль микробных биопленок в возникновении и развитии ряда широко распространенных заболеваний. К ним относятся инфекции, связанные с катетеризацией

сосудов, вызванные *S. aureus* и другими грамположительными микроорганизмами; инфекции сердечных клапанов и суставных протезов, вызываемые стафилококками; пародонтит, обусловленный рядом микроорганизмов полости рта; инфекции мочевых путей, обусловленные *Escherichia coli*, и другими патогенами; инфекции среднего уха, причиной которых может быть, например, *Haemophilus influenzae*; инфекционные осложнения муковисцидоза, вызываемые *Pseudomonas aeruginosa* и др. Все эти заболевания с трудом поддаются терапии, имеют высокую частоту рецидивов, некоторые из них могут явиться причиной летальных исходов [6]. Поэтому стоит задача разработки новых препаратов для медицины и ветеринарии. Изучаются возможности использования комбинированных препаратов. Цель комбинированной антибиотикотерапии — достижение синергидного и аддитивного эффектов и расширение спектра антибиотической активности.

Препараты антибактериального действия на основе бактериофагов (БФ) — перспективное направление лечения широкого спектра бактериальных инфекции у животных и человека. Достоинство таких препаратов заключается в высокой специфичности фагов, чувствительности к ним патогенной микрофлоры, эффективность в терапии хронических инфекций, особенно ассоциированных с образованием бактериальных биопленок, сочетаемости со всеми видами традиционной антибактериальной терапии, отсутствии противопоказаний к фагопрофилактике и фаготерапии, отсутствии аллергических реакций, низкой токсичности, отсутствии влияния на нормальную бактериальную флору кишечника и препараты пробиотиков, что дает возможность для их совместного применения [2]. Бактериофаги стимулируют активизацию факторов специфического и неспецифического иммунитета, что усиливает их эффективность в терапии хронических инфекций [4, 8].

Антибактериальная активность ионов серебра обусловлена его взаимодействием с мембраносвязанными и ДНК-связанными белками, что приводит к нарушению функционирования бактерии. Также ионы серебра способствуют образованию активных форм кислорода, что приводит к процессу окисления [5]. Установлено усиление бактерицидного эффекта в результате комплексного воздействия на *S. aureus* раствора коллоидного серебра и неомицина [1]. Использование наночастиц серебра в комплексе с бактериофагом и антибиотиком дает возможность снизить концентрацию последнего без потери антибактериальной активности [4].

В связи с высоким распространением MRSA-штаммов, когда лечение рекомендованными

антибиотиками оказывается неэффективным, альтернативным средством может быть комплексный препарат, где действие антибиотика усиливается такими компонентами как бактериофаги, ионы металлов, муколитики или бактериоцины.

Наша стратегия создания новых антибактериальных препаратов заключалась в использовании комбинации вирулентного БФ, препарата, усиливающего его эффективность, — кластерного серебра (КлС) и антибиотика широкого спектра действия, применение которых не вызывает появления устойчивых форм бактерий *S. aureus* на суспензионной культуре и биопленках [9, 10].

Материалы и методы

Объектами исследования были три штамма бактерий *S. aureus* из коллекции ГНЦББ «Вектор»: *S. aureus* 209; *S. aureus* spp.; *S. aureus* MRSA; штамм бактериофага С-47, специфичный к *S. aureus*.

В работе были использованы антибиотики — гентамицин (ГМН) производства «Биолот» и цефтазидим (ЦАЗ) производства АО «Рафарма», набор дисков индикаторных с антибиотиком ООО «НИЦФ», препарат КлС отечественного производства ООО НПЦ «Вектор-Вита». Питательные среды — Invitrogen™ LB Broth base, Difco™ LB Agar.

Чувствительность бактерий к антибиотическим препаратам определяли диско-диффузионным методом, а минимальную подавляющую концентрацию (МПК) препаратов в суспензионной культуре — методом серийных разведений в бульоне [7].

Суспензию бактерий для экспериментов готовили разведением «ночной» культуры, выращенной в LB-бульоне, до необходимых концентраций. Суспензию бактерий и опытные образцы культивировали на качалке при 37°C, 160 об/мин. Отбор проб осуществляли через 3 и 24 ч. Для определения концентрации бактерий делали десятикратные разведения образцов и высевали на чашки Петри с LB-агаром, которые инкубировали в термостате на 37°C, 24 ч. Для определения концентрации БФ использовали метод агаровых слоев по Грациа.

Все эксперименты проводили в трех повторностях. Статистическую обработку проводили на компьютере с использованием критерия Стьюдента.

Рабочие концентрации подготовленных препаратов:

- А — 7,5 мкг/мл ГМН + 7 мкг/мл КлС + 10⁶ БОЕ/мл БФ;
- В — 10 мкг/мл ГМН + 1,7 мкг/мл КлС + 10⁶ БОЕ/мл БФ;

- С — 10 мкг/мл ГМН + 7 мкг/мл КлС + 10^6 БОЕ/мл БФ;
- D — 10 мкг/мл ГМН + 10 мкг/мл КлС + 10^6 БОЕ/мл БФ;
- E — 20 мкг/мл ГМН + 3,5 мкг/мл КлС + 10^6 БОЕ/мл БФ;
- F — 10 мкг/мл ГМН + 3,5 мкг/мл КлС + 10^6 БОЕ/мл БФ;
- G — 5 мкг/мл ГМН + 3,5 мкг/мл КлС + 10^6 БОЕ/мл БФ;
- H — 5 мкг/мл ГМН + 1,7 мкг/мл КлС + 5×10^5 БОЕ/мл БФ;
- M — 2 мкг/мл ГМН + 0,8 мкг/мл КлС + 2×10^5 БОЕ/мл БФ;
- K — 20 мкг/мл ЦАЗ + 3,5 мкг/мл КлС + 10^6 БОЕ/мл БФ.

Результаты

Частое и бесконтрольное использование антибиотиков приводит к возникновению множественной устойчивости бактерий к препаратам, снижению эффективности антибактериальной терапии, необходимости применения комбинации известных лекарственных средств, обладающих синергидным действием.

Предложен для использования трехкомпонентный препарат, обладающий бактерицидным действием в отношении патогенных микроорганизмов *S. aureus*, показана возможность

соединения компонентов, имеющих принципиально разные механизмы антимикробного действия, для снижения дозы антибиотика при сочетанном использовании их с КлС и БФ.

Исследовали влияние препарата и отдельных его компонентов на динамику роста патогенных бактерий.

В экспериментах показано, что внесение БФ С-47 к суспензионным культурам *S. aureus* 209; *S. aureus* spp., *S. aureus* MRSA приводит к развитию фаговых частиц, урожай фага достигает 10^8 – 10^9 БОЕ/мл, при этом остаются устойчивые бактерии, способные к инфекции, в количестве 10^5 – 10^6 КОЕ/мл.

Показано, что внесение КлС в количестве от 3,5 до 10 мкг/мл к суспензионным культурам *S. aureus* 209; *S. aureus* spp., *S. aureus* MRSA с концентрацией 10^4 – 10^6 КОЕ/мл бактериостатического и бактерицидного эффекта не оказывает. Динамика роста подобна контрольным образцам.

Исследование антибиотической устойчивости бактерий *S. aureus* диско-диффузионным методом показало, что штаммы *S. aureus* 209 и *S. aureus* spp. чувствительны ко всем использованным антибиотикам — оксациллин 1 мкг, ванкомицин 30 мкг, цефтазидим (ЦАЗ) 30 мкг, эритромицин 15 мкг, бензилпенициллин 10 ЕД, гентамицин (ГМН) 10 мкг, ципро-

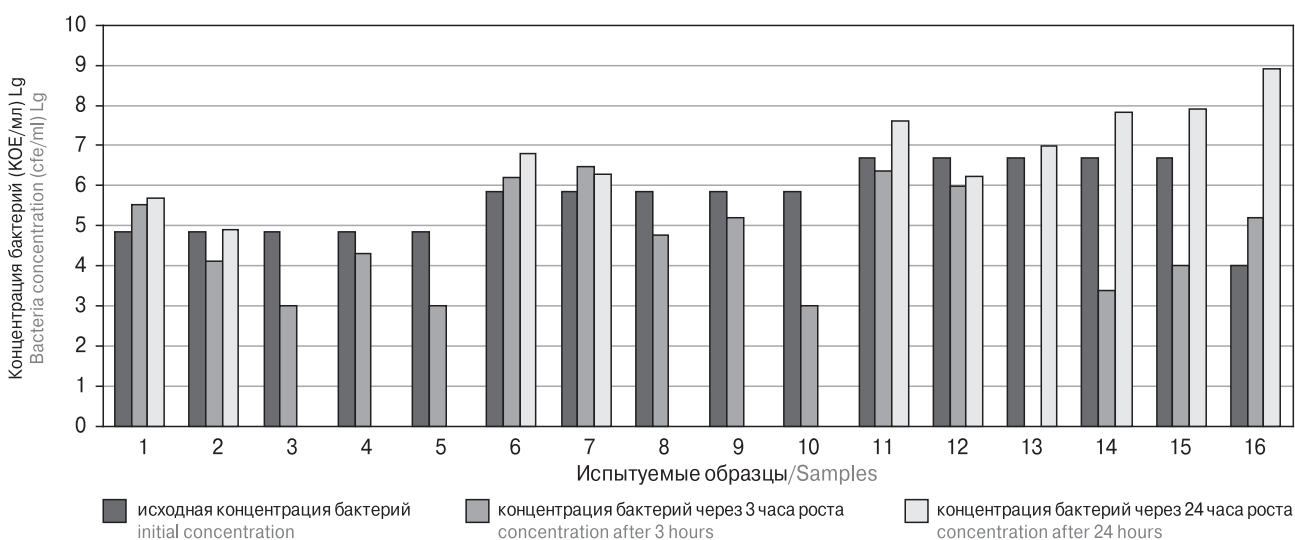


Рисунок 1. Динамика роста *Staphylococcus aureus* MRSA в присутствии препаратов

Figure 1. *Staphylococcus aureus* MRSA growth dynamics exposed to the investigational preparation

Примечание. Образцы: 16 — контроль, исходная концентрация бактерий 10^4 КОЕ/мл; 1–5 с исходной концентрацией бактерий 7×10^4 КОЕ/мл; образцы 6–10 с исходной концентрацией 7×10^5 КОЕ/мл; образцы 11–15 с исходной концентрацией 5×10^6 КОЕ/мл. К образцам 1, 6, 11 добавлен препарат А; к образцам 2, 7, 12 — препарат В; к образцам 3, 8, 13 — препарат С; к образцам 4, 9, 14 — препарат D; к образцам 5, 10, 15 — препарат E.

Note. Samples: 16 — control, initial concentration 10^4 CFE/ml; 1–5 initial concentration 7×10^4 CFE/ml; 6–10 initial concentration 7×10^5 CFE/ml; 11–15 initial concentration 5×10^6 CFE/ml. Preparation A was added to samples 1, 6, 11; preparation B was added to samples 2, 7, 12; preparation C was added to samples 3, 8, 13; preparation D was added to samples 4, 9, 14; preparation E was added to samples 5, 10, 15.

флоксацин 5 мкг, клиндамицин 2 мкг, левофлоксацин 5 мкг, тогда как *S. aureus* MRSA проявляет чувствительность лишь к ванкомицину и ГМН.

Для суспензионной культуры *S. aureus* MRSA с концентрацией 10^4 – 10^6 КОЕ/мл количество ГМН от 10 до 30 мкг/мл не является бактерицидным, а для бактерии *S. aureus* 209; *S. aureus* spp. в количестве до 10^6 КОЕ/мл концентрации ГМН от 5 до 7,5 мкг/мл являются бактерицидными, выше 10^6 КОЕ/мл — бактериостатическими.

На основании полученных данных предложен комплексный препарат на основе антибиотика, КлС и БФ С-47 для лечения инфекционных заболеваний, вызванных *S. aureus*, в том числе MRSA-штаммов.

Подготовили разные варианты препаратов и апробировали их на штаммах бактерий *S. aureus*.

Исследование показало, что при обработке суспензии бактерий *S. aureus* MRSA с концентрациями от 10^3 до 5×10^4 КОЕ/мл, препаратами А, В, С, D, Е уже через 3 ч наблюдается бактерицидный эффект. Через 24 ч жизнеспособные бактерии в суспензии отсутствуют.

Препараты А, В оказывают бактериостатический эффект на суспензионную культуру с концентрацией бактерий от 7×10^4 до 5×10^6 КОЕ/мл (рис. 1). Увеличение количества как антибиотика, так и КлС оказывает бактерицидный эффект на бактерии с концентрацией от 7×10^4 до 5×10^5 КОЕ/мл (рис. 1, образцы 3, 4, 5, 8, 9, 10) в течение 24 ч. Бактериостатический эффект наблюдается и при использовании более высокой

концентрации бактерий (рис. 1, образцы 11–15).

Исследования показывают, что увеличение количества КлС от 1,7 до 10 мкг/мл при постоянной концентрации ГМН 10 мкг/мл позволяет снижать концентрацию бактерий *S. aureus* MRSA до нулевых значений (рис. 2).

Показано, что бактерицидный эффект достигается обработкой суспензионной культуры *S. aureus* 209 с концентрацией 10^4 – 10^5 КОЕ/мл препаратами F, G, H, а бактериостатический — препаратом М. Для бактерий в более высокой концентрации — 10^6 КОЕ/мл — бактерицидным действием обладает лишь препарат F (рис. 3).

Для *S. aureus* spp. получены аналогичные результаты: бактерицидный эффект установлен при обработке суспензионной культуры *S. aureus* spp. с концентрацией 10^4 – 10^5 КОЕ/мл препаратами F, G, H, а бактериостатический — препаратом М. Для бактерий в более высокой концентрации — 10^6 КОЕ/мл — бактерицидным действием обладают препараты F, G.

Исследования бактерицидного действия препарата и комбинации отдельных его компонентов показали, что в отношении суспензионной культуры *S. aureus* MRSA с концентрацией 10^4 – 10^5 КОЕ/мл высокой эффективностью обладает предложенный трехкомпонентный препарат, в отличие от двухкомпонентных композиций, например ГМН + КлС или ГМН + БФ, поскольку только в этом случае наблюдается устойчивый бактерицидный эффект.

Для суспензионных культур *S. aureus* 209 и *S. aureus* spp. с концентрацией 10^4 – 10^5 КОЕ/мл показана возможность использования двух-

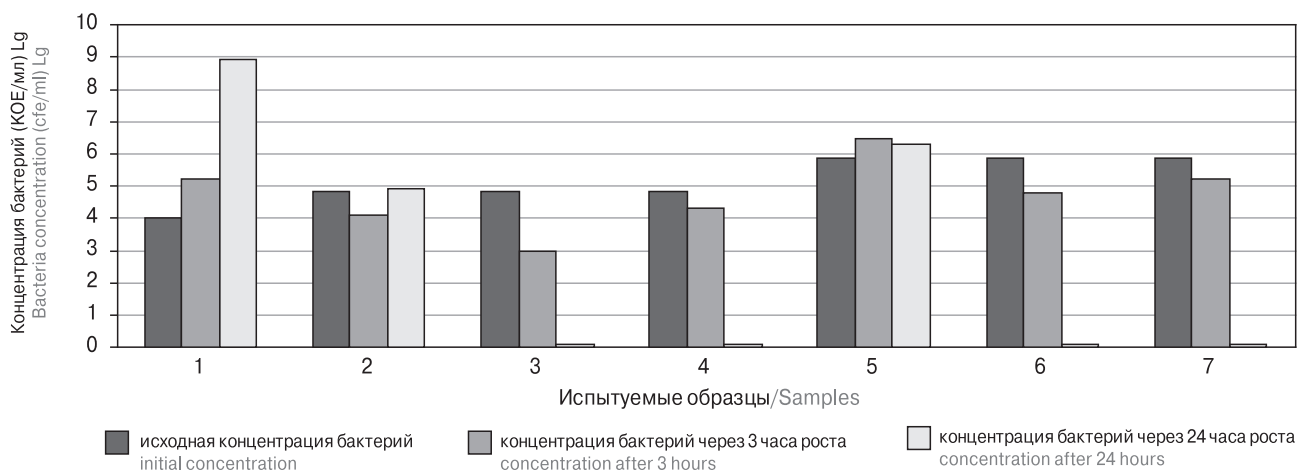


Рисунок 2. Бактерицидное действие препарата на *S. aureus* MRSA в зависимости от количества кластерного серебра

Figure 2. Combination preparation-related bactericidal action against *S. aureus* MRSA based on silver amount

Примечание. Образцы: 1 — контроль; 2–4 с исходной концентрацией 7×10^4 КОЕ/мл; 5–7 с исходной концентрацией 7×10^5 КОЕ/мл. К образцам 2, 5 — добавлен препарат В; к образцам 3, 6 — препарат С; к образцам 4, 7 — препарат D.

Note. Samples: 1 — the control; 2–4 initial concentration 7×10^4 CFE/ml; 5–7 initial concentration 7×10^5 CFE/ml. Preparation B was added to samples 2, 5; preparation C was added to samples 3, 6; preparation D was added to samples 4, 7.

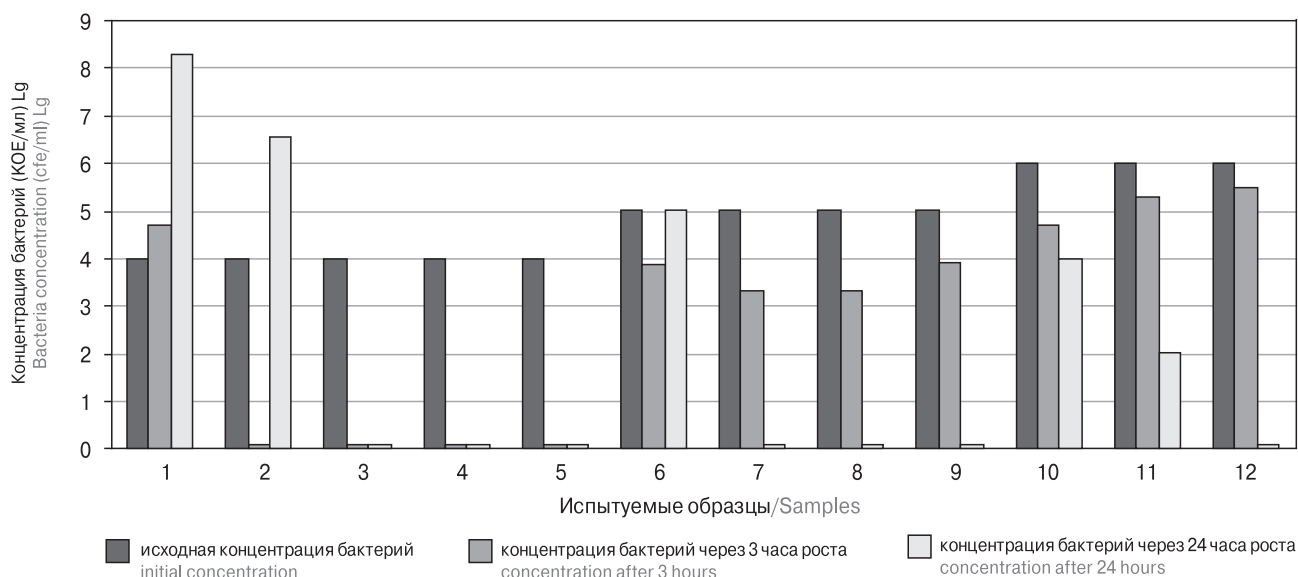


Рисунок 3. Динамика роста *S. aureus* 209 в присутствии препаратов

Figure 3. *S. aureus* 209 growth dynamics exposed to the combination preparation

Примечание. Образец 1 — контроль; образцы 2–5 с исходной концентрацией 10^4 КОЕ/мл; образцы 6–9 с исходной концентрацией 10^5 КОЕ/мл; образцы 10–12 с исходной концентрацией 10^6 КОЕ/мл. К образцам 2, 6 добавлен препарат М; к образцам 3, 7, 10 — препарат Н; к образцам 4, 8, 11 — препарат Г; к образцам 5, 9, 12 — препарат Ф.

Note. Samples: 1 — the control; 2–5 initial concentration 10^4 CFE/ml; 6–9 initial concentration 10^5 CFE/ml; 10–12 initial concentration 10^6 CFE/ml. Preparation M was added to samples 2, 6; preparation H was added to samples 3, 7, 10; preparation G was added to samples 4, 8, 11; preparation F was added to samples 5, 9, 12.

компонентных композиций, например антибиотик + КлС, антибиотик + БФ, в связи с пониженной резистентностью данных микроорганизмов. Показано, что использование ЦАЗ в сочетании с КлС или БФ при концентрациях патогенов 10^4 – 10^5 КОЕ/мл дает результат подобный использованию препарата антибиотик + КлС + БФ. Но при увеличении концентрации бактерий использование трехкомпонентного препарата остается единственным возможным вариантом.

Подобные результаты получены в работе с *S. aureus* 209 и *S. aureus* ssp. при использовании препарата К, содержащего ЦАЗ: 20 мкг/мл ЦАЗ + 3,5 мкг/мл КлС + 10^6 БОЕ/мл БФ. Двухкомпонентные смеси готовили в соответствии с используемыми препаратами: 20 мкг/мл ЦАЗ + 3,5 мкг/мл КлС; 20 мкг/мл ЦАЗ + 10^6 БОЕ/мл БФ. При внесении одного антибиотика показано снижение концентрации бактерий на два порядка через 24 ч инкубирования, что соответствует воздействию трехкомпонентного препарата через 3 ч. Через 24 ч инкубирования в образцах, обработанных препаратами (двух- и трехкомпонентные композиции) живые бактерии отсутствовали.

Необходимо отметить, что препараты, приготовленные на основе разных антибиотиков, обладают стабильным, пролонгированным действием.

В работе показано, что повторное внесение дозы препарата позволяет добиться снижения концентрации патогенных микроорганизмов в исследуемой суспензии. При использовании препаратов А и С на суспензии бактерий *S. aureus* MRSA с исходной концентрацией $2,6 \times 10^5$ КОЕ/мл показано, что однократное внесение препарата оказывает бактериостатический эффект — в суспензии остается 10^4 – 10^5 КОЕ/мл, повторная обработка приводит к снижению концентрации бактерий до нуля. Следовательно, даже для бактерий *S. aureus* MRSA возможно использование препарата с минимальным количеством антибиотика (7–10 мкг/мл), чтобы достичь бактерицидного эффекта.

Анализ экспериментальных данных показал возможность эффективной борьбы с метициллинрезистентными бактериями — *S. aureus* MRSA. Обработка бактерий *S. aureus* MRSA с концентрацией до 10^6 КОЕ/мл препаратами, содержащими 10–20 мкг/мл ГМН, приводит к их гибели, тогда как использование только антибиотика в таком же количестве не влияет на рост бактерий. При увеличении концентрации бактерий данные препараты оказывают бактериостатический эффект. При обработке *S. aureus* 209 и *S. aureus* ssp. препаратом, содержащим 2 мкг/мл ГМН отмечается бактериостатический эффект, а от 5 до 10 мкг/мл — бактерицидный. Для бактерий с более высокой кон-

центрацией — выше 10^6 КОЕ/мл рекомендуется использовать препарат, содержащий: 10 мкг/мл ГМН + 3,5 мкг/мл КлС + 10^6 БОЕ/мл.

Обсуждение

Таким образом, предложенный комплексный препарат позволяет снижать дозу используемого антибиотика в 2–4 раза без потери эффективности и подавлять развитие антибиотикорезистентных и фагоустойчивых форм *S. aureus*.

1. В ходе исследований показана эффективность применения трехкомпонентного препарата — антибиотик + КлС + БФ — для достижения бактерицидного действия на суспензионной культуре *S. aureus* MRSA, причем количество антибиотика в такой композиции можно снизить в 2–3 раза по сравнению с использованием только антибиотика.

2. Для суспензионных культур *S. aureus* 209 и *S. aureus* ssp. показана возможность использования двухкомпонентных композиций —

антибиотик + КлС; антибиотик + БФ, в связи с пониженной резистентностью данных микроорганизмов, что также дает возможность снизить концентрацию антибиотика.

3. Необходимо отметить, что при постоянном количестве антибиотика, увеличивая количество кластерного серебра в 4–5 раз, наблюдается усиление бактерицидных свойств полученных препаратов.

4. Данный препарат не имеет ограничений в зависимости от состояния и степени резистентности микроорганизма.

5. Повторное внесение дозы препарата позволяет добиться значительного снижения концентрации патогенных микроорганизмов в исследуемой суспензии.

Данный препарат можно рекомендовать для использования при закрытом промывном дренаже для тяжелых форм гнойно-септических заболеваний, лечения кожных заболеваний и инфекций верхних дыхательных путей.

Работа была выполнена в рамках ГЗ4/19 «Применение вирусов для решения задач биотехнологии».

Список литературы/References

- Афони́на И.А., Краева Л.А., Ценева Г.Я. Характеристика чувствительности *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans* к противомикробным препаратам и коллоидному серебру. // *Инфекция и иммунитет*. 2011, Т. 1, № 2. С. 177–180. [Afonina I.A., Kraeva L.A., Tseneva G.Y. Characteristic of sensitivity of staphylococcus aureus and candida albicans to antibacterial preparations and colloidal silver. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2011, vol. 1, no. 2, pp. 177–180. (In Russ.)]
- Асланов Б.И., Зуева Л.П., Кафтырева Л.А., Бойцов А.Г., Акимкин В.Г., Долгий А.А., Брусина Е.Б., Дроздова О.М. Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике. Федеральные клинические рекомендации. М., 2014. 39 с. [Aslanov B.I., Zueva L.P., Kaftyreva L.A., Boytsov A.G., Akimkin V.G., Dolgiy A.A., Brusina E.B., Drozdova O.M. Rational use of bacteriophages in therapeutic and antiepidemic practice. Federal clinical guidelines. Moscow, 2014. (In Russ.)]
- Божкова С.А., Полякова Е.М., Краснова М.В. Преодоление устойчивости к гентамицину у метициллинорезистентных штаммов стафилококка // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2017. № 8, Ч. 1. С. 97–103. [Bozhkova S.A., Polyakova E.M., Krasnova M.V. The breaking of resistance to gentamycin in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Mezhdunarodnyi zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy = International Journal of Applied and Fundamental Research*, 2017, no. 8, pt 1, pp. 97–103. (In Russ.)]
- Патент № 2672869 Российская Федерация, МПК А61К 35/76 (2015.01); А61К 33/38 (2006.01); А61К 47/06 (2006.01); А61Р 31/04 (2006.01). Антибактериальное средство на основе бактериофага: № 2017142076; заявлено 2017.12.01; опубликовано 2018.11.20. / Пугачев В.Г., Тотменина О.Д. Патентообладатель: ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. 14 с. [Patent No. 2672869 Russian Federation, Int. Cl. A61K 35/76 (2015.01); A61K 33/38 (2006.01); A61K 47/06 (2006.01); A61P 31/04 (2006.01). Antibacterial agent based on bacteriophage. No. 2017142076; application: 2017.12.01; date of publication 2018.11.20 / Pugachev V.G., Totmenina O.D. Proprietor: Federalnoe byudzhetnoe uchrezhdenie nauki "Gosudarstvennyy nauchnyy tsentr virusologii i biotekhnologii "Vektor" Federalnoy sluzhby po nadzoru v sfere zashchity prav potrebitel'ey i blagopoluchiya cheloveka (FBUN GNTS VB "Vektor" Rospotrebnadzora). 14 p.]
- Шкиль Н.А., Бурмистров В.А., Соколов М.Ю. Антимикробные свойства, фармакотоксикологические характеристики и терапевтическая эффективность препарата арговит при желудочно-кишечных болезнях телят // *Научный журнал КубГАУ*. 2011. № 68 (04). 11 с. [Shkil N.A., Burmistrov V.A., Sokolov M.Yu. Antimicrobial properties, pharmacotoxicological characteristics and therapeutic efficacy of argovit in gastrointestinal diseases of calves. *Nauchnyi zhurnal KubGAU = KubGAU Scientific Journal*, 2011, no. 68 (04), 11 p. (In Russ.)]
- Харсеева Г.Г., Фролова Я.Н., Миронов А.Ю. Биопленки патогенных бактерий: биологические свойства и роль в синхронизации инфекционного процесса // *Успехи современной биологии*. 2015. Т. 135, № 4. С. 346–354. [Kharseeva G.G., Frolova Ya.N., Mironov A.Yu. Biofilms of pathogenic bacteria: biological properties and their role in chronization of inflammatory process. *Uspekhi sovremennoi biologii = The Successes of Modern Biology*, 2015, vol. 135, no. 4, pp. 346–354. (In Russ.)]
- Методические указания по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. МУК 4.12.1890-04. М., 2004. 65 с. [Guidelines for determining the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs. MUK 4.12.1890-04. Moscow, 2004. 65 p. (In Russ.)]
- Miroshnikov K.A., Kulikov E.E., Darbeeva O.S., Lysko K.A., Ignat'ev G.M. [Genetic and molecular principles for the selection of *Pseudomonas* and *Staphylococcus* therapeutic bacteriophages]. *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.*, 2014, vol. 50, no. 3, pp. 338–344. (In Russ.)

9. Morones-Ramirez J.R., Winkler J.A., Spina C.S., Collins J.J. Silver enhances antibiotic activity against gram-negative bacteria. *Sci. Transl. Med.*, 2013, vol. 5, no. 190: 190ra81. doi: 10.1126/scitranslmed.3006276
10. Ruden S., Hilpert K., Berditsch M., Wadhvani P., Ulrich A.S. Synergistic interaction between silver nanoparticles and membrane-permeabilizing antimicrobial peptides. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2009, vol. 53, no. 8, pp. 3538–3540. doi: 10.1128/AAC.01106-08

Авторы:

Пугачев В.Г., ведущий научный сотрудник отдела биофизики и экологических исследований ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия;

Тотменина О.Д., научный сотрудник отдела биофизики и экологических исследований ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия.

Authors:

Pugachev V.G., Senior Researcher, State Research Centre of Virology and Biotechnology “Vector” of Rospotrebnadzor, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation;

Totmenina O.D., Researcher, State Research Centre of Virology and Biotechnology “Vector” of Rospotrebnadzor, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation.

Поступила в редакцию 08.02.2023
Принята к печати 09.03.2023

Received 08.02.2023
Accepted 09.03.2023