

shown the principle opportunity of improving the diphtheria vaccine by combining the native purified diphtheria toxoid and adjuvant of bacterial origin made from the microbial mass of the toxigenic strain *C. diphtheriae* by various physical factors. Vaccination of animals with investigated diphtheria bacterial antigenic preparations of different degree of purification (disintegrate, soluble antigenic complexes, filtrate, gel-chromatographic fractions) together with native purified diphtheria toxoid leads to stimulation of humoral antitoxic immunity. Sequential purification of the microbial disintegrator by physical methods (centrifugation, filtration, preparative liquid gel chromatography), or adequate dilution of antigenic preparations, effectively eliminate the skin reactions to vaccination with experimental *C. diphtheriae* antigen preparations and preservation of adjuvant effect. Prepared *C. diphtheriae* surface antigen agents obtained by different physical factors are biological platforms for the further development of advanced combined diphtheria vaccines.

**Key words:** diphtheria vaccine, bacterial diphtheria antigen, physical factors, ultrasound, electromagnetic radiation of ultrahigh frequency, laser irradiation.

*Рецензент – проф. Лобань Г. А.  
Стаття надійшла 27.07.2018 року*

DOI 10.29254/2077-4214-2018-3-145-256-259

УДК 579.61

*Скляр Т. В., Лаврентьєва К. В., Кременчуцька П. Є., Лихолат О. А., Джу́жа Д. О.*

## **ОСОБЛИВОСТІ СТІЙКОСТІ ДО АНТИБІОТИКІВ МІКРООРГАНІЗМІВ У СКЛАДІ МІКРОФЛОРИ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ У ХВОРИХ НА ГЕПАТИТ В**

**Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара (м. Дніпро)**

**polinakrr@yandex.ru**

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Дослідження виконано у межах науково-дослідної теми: перспективні для використання людиною біологічні властивості мікроорганізмів – компонентів природних і штучних біоценозів (номер державної реєстрації 0118U003277), що виконується на кафедрі мікробіології, вірусології та біотехнології Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара.

**Вступ.** Протягом двох останніх десятиліть відзначається істотне збільшення випадків захворювання на хронічні гепатити, це обумовлено покращенням діагностики, адже лише в минулому столітті ідентифіковано вірус гепатиту С, а 1990 році вдалося розшифрувати структуру вірусу гепатиту Е, G, D [1]. За різними даними на земній кулі носіїв вірусу гепатиту В від 400 мільйонів до 2 мільярдів людей, із них 40% – переносять гострий гепатит у субклінічний формі, у 10-25 % випадків хронічне носійство гепатиту В призводить до тяжких захворювань печінки, а 2 мільйони людей щорічно помирають від гепатиту В. Діти що переохворіли гострим гепатитом у 90% виявляються хронічні захворювання печінки. В Україні 2,2 % населення є носіями HBsAg [2].

За даними Центру медичної статистики МОЗ України, захворюваність хронічними гепатитами у середньому по Україні складала у 2005 році 440,7 на 100 тис. населення. Найбільш часто в дитячому віці зустрічаються гепатити вірусної етіології – В, С, D, G та ін. Так, частота поширення гепатиту В досягає 20 – 30%, гепатиту С – 32-43% [3,4].

Відомо, що у хворих на гепатит В в порожнині товстої кишки (ПТК) створюються сприятливі умови для розвитку дисбіотичних зсувів, активації умовно патогенних мікроорганізмів і прояву їх агресивних властивостей. Це зумовлено зміною середовища проживання мікроорганізмів у товстій кишці внаслідок порушень функціонального стану печінки, жовчовиділення, морфофункціональних розладів шлунку, підшлункової залози і кишок, порушень секретор-

но-ферментативної діяльності шлунково-кишкового тракту (ШКТ) [5].

Актуальність гепатиту В зумовлена високим рівнем захворюваності, складністю патогенезу, недостатньою ефективністю лікування, тяжкими наслідками хвороби [6].

**Метою роботи** було вивчення складу мікрофлори товстого кишечника людей хворих на гепатит В.

**Об'єкт і методи дослідження.** Проведена діагностика за допомогою імуноферментного аналізу на виявлення гепатиту В. Діагностику проводили за допомогою тест-системи ІФА-HBsAg. Набір призначений для виявлення поверхневого антигену вірусу гепатиту В (HBsAg) в сироватці або плазмі крові людини «in vitro» методом твердофазного імуноферментного «сендвіч»-аналізу. Діагноз вірусного гепатиту В підтверджувався виявленням у сироватці крові HBsAg та Anti-HBc IgM методом ІФА [7].

Для поставленої задачі було залучено 45 чоловік віком від 18 до 57 років, які були поділені на 3 групи:

- група – люди віком від 18 до 30 років (n=12);
- група – люди віком від 30 до 45 років (n=20);
- група – люди віком від 45 до 57 років (n=13).

Після цього проводили бактеріологічне дослідження мікрофлори товстого кишечника людей хворих на гепатит В для виявлення умовно-патогенної аеробної та анаеробної мікрофлори та визначення ступеню дисбіозу [8].

На наступному етапі визначали чутливість до антибактеріальних препаратів виділених штамів умовно-патогенних бактерій методом дифузії в агарі [9].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням програми Microsoft Excel.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Визначено, що серед 45 обстежених осіб у 35 (78%) було виявлено гепатит В. Дослідження стану мікробіоценозу товстої кишки проведено у 35 пацієнтів хворих на гепатит В. Проведені мікробіологічні дослідження вмісту товстої кишки у хворих на гепатит В показали наявність змін якісного та кількісного складу мікрофлори у 100,0 % хворих (**рис. 1**).

На **рисунку 1** представлено, що серед досліджених хворих переважали пацієнти з субкомпенсованою формою дисбіозу (53,8 %). Дисбіотичні порушення, головним чином, були обумовлені різким зниженням чисельності основних симбіонтів товстокишкового мікробіоценозу та зростанням концентрації умовно-патогенної мікрофлори.

Згідно з **таблицею**, зниження рівня біфідобактерій спостерігалось у 24 (68 %) пацієнтів ( $p < 0,05$ ), знижена концентрація лактобактерій виявлена у 30 (85 %) пацієнтів ( $p < 0,001$ ).

В процесі дослідження були виділені умовно-патогенні ентеробактерії родів *Klebsiella* (11 штамів), *Proteus* (7 штамів), гемолітична (9 штамів) та лактозонегативна (8 штамів) *E. coli*. Майже у третини хворих їх концентрація сягала  $\lg 7,5 - \lg 8,9$  КУО/г. У 35 % обстежених був підвищений рівень дріжджоподібних грибів роду *Candida*.

Результати нашого дослідження співпадають з результатами обстеження хворих дорослих на хронічний гепатит В авторів Псахіс І.Б., Маковська Т.Е. [10].

### Відхилення у складі мікрофлори товстого кишечника у хворих на гепатит В

Мікроорганізми (показники титру)	Частота виявлених порушень (%)	Середні показники титру бактерій ( $M \pm m$ ) (КУО/г)	
		У хворих на гепатит В	Контроль
Bifidobacterium ( $< \lg 8,0$ КУО/г)	68,5	6,35 $\pm$ 0,24**	9,58 $\pm$ 0,57
Lactobacillus ( $< \lg 6,0$ КУО/г)	85,7	2,88 $\pm$ 0,21*	6,93 $\pm$ 0,29
Candida ( $\geq \lg 4,0$ КУО/г)	35,5	1,59 $\pm$ 0,26	3,2 $\pm$ 0,3
УПЕ ( $\geq \lg 5,0$ КУО/г)	22,4	1,63 $\pm$ 0,35	4,3 $\pm$ 0,3

**Примітки:**

УПЕ – умовно-патогенні ентеробактерії;

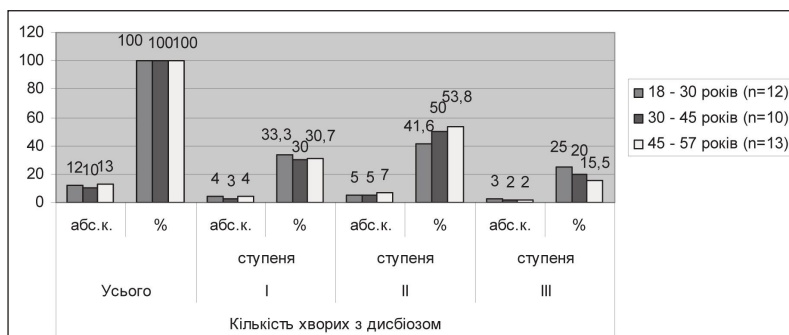
\* –  $p < 0,001$  у порівнянні з контролем;

\*\* –  $p < 0,05$  у порівнянні з контролем.

Їх дослідження показали, що у всіх 38 спостережуваних пацієнтів відзначалися тією чи іншою мірою вираженості порушення біоценозу товстого кишечника. Так, дисбіоз 1-го ступеня був зареєстрований у 12 (30,8%) хворих, 2-го ступеня – у 23 (59%), 3-го ступеня – у 4 (10,2%). Порушення біоценозу у обстежених пацієнтів з супроводжуваним зменшенням кількості біфідобактерій і лактобактерій, а також збільшенням вмісту умовно-патогенної флори.

На наступному етапі роботи нами було досліджено чутливість виділених штамів умовно-патогенних бактерій до антибіотиків: оксациліну, цефтазидіму, цефепіму, амікацину, доксицикліну, нетілміцину, ципрофлоксацину.

Результати визначення чутливості досліджених штамів клебсіел та про-



**Рис. 1.** Стан мікробіоценозу товстої кишки у хворих на гепатит В.

тея виділених від хворих на гепатит В з дисбіотичними порушеннями кишечника, до антибіотичних препаратів представлені на **рисунку 2**.

Штами роду *Klebsiella* виявились найбільш чутливими до ципрофлоксацину (73%), амікацину (54%), а стійкими до оксациліну (91%), доксицикліну (73%).

Виділені штамми роду *Proteus* характеризувались досить високою стійкістю до оксациліну (100%), доксицикліну (86%), нетілміцину (57%); чутливими до ципрофлоксацину (72%), цефепіму та цефтазидіму (по 57% культур).

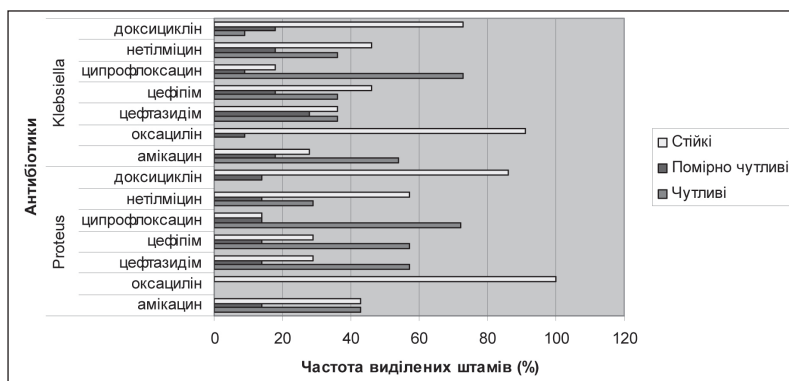
**Таблиця.**

Результати визначення чутливості досліджених лактозонегативних штамів *E. coli* та гемолітичних штамів *E. coli* виділених від хворих на гепатит В та з дисбіотичними порушеннями кишечника, до антибіотичних препаратів представлені на **рисунку 3**.

Лактозонегативні штамми *E. coli* чутливі до амікацину і цефтазидіму (по 75% культур), цефепіму та ципрофлоксацину (по 62,5% культур). Найбільшою стійкістю характеризувались виділені бактерії до оксациліну (75%) та доксицикліну (62,5%).

Гемолітичні *E. coli* виявились чутливими до препаратів ципрофлоксацин (78%), цефепім (67%), нетілміцин, цефтазидім і амікацин (по 56% культур). Стійкі штамми гемолітичної *E. coli* до оксациліну (89%) та доксицикліну (78%).

Отже, дослідження мікрофлори у хворих на гепатит В показали наявність дисбіотичних порушень кишечника, що пов'язані із зниженням рівня біфідобактерій і лактобактерій, та збільшенням концентрації умовно-патогенних ентеробактерій родів *Klebsiella*, *Proteus*,



**Рис. 2.** Чутливість до антибіотиків штамів роду *Klebsiella* та штамів роду *Proteus*.

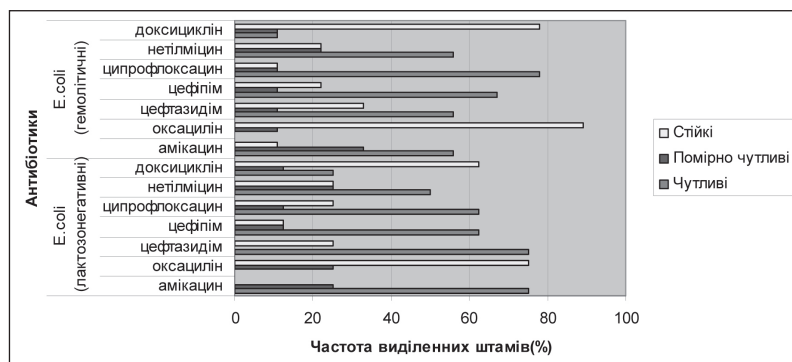


Рис. 3. Чутливість до антибіотиків лактозонегативних та гемолітичних штамів *E. coli*.

гемолітичної та лактозонегативної *E. coli*, дріжджо-подібних грибів роду *Candida*.

**Висновки**

1. Встановлено, що при проведенні імуноферментного аналізу із 45 пацієнтів у 35 (78%) був виявлений вірус гепатиту В.

2. Показано ступінь дисбіотичних порушень товстого кишечника у хворих на гепатит В: в групі віком 18 – 30 років дисбіоз I ступеня мали 33% осіб, II ступеня – 42%, III ступеня – 25%; в групі віком 30 – 45 років дисбіоз I ступеня мали 30% осіб, II ступеня – 50%, III ступеня – 20%; в групі віком 45 – 57 років дисбіоз I ступеня – 31% осіб, II ступеня – 54%, III ступеня – 15%.

**Література**

1. Kucherenko NP. Mikrobiocenoz товstoy kishki u hvorih na virusnij gepatit. Materiali naukovo-praktichnoy konferencii i plenumu Asocіacii infekcionistiv Ukraini. 2010. s. 115-6. [in Ukrainian].
2. Ershova IB. Osobennosti kishhechnogo mikrobiocenoza pri virusnyh gepatitah i vozmozhnosti ego korrekcii. Aktual'naya infektologiya. 2014;2(3):7-11. [in Russian].
3. Bilibina AF. Kishhechnye zabolovaniya cheloveka. Moskva; 2006. s. 71-5, 66-70. [in Russian].
4. Bondarenko VM, Boev BV, Lykova EA, Vorob'ev AA. Disbakterioz zheludochno-kishhechnogo trakta. Ross. zhurn. gastroenterol., gepatol., koloproktol. 2005;7(1):66-70. [in Russian].
5. Zajcev IA, Zaplotnaya AA. Hronicheskiy virusnyj gepatit V. Kiev: 2006. 112 s. [in Russian].
6. Tolokonskaya NP, Pokrovskaya IV, Hohlova NI. Ocenka mikrobiocenoza organizma v klinicheskoy diagnostike ostryh virusnyh gepatitov. Byulleten' SO RAMN. 2010;1(5):88-95. [in Russian].
7. Instruksiya z vikoristannya «HBsAg-skrin-BEST» Test-sistema Imunofерментна dlya viyavlennya ta pidtverdzhennya vmistu poverhnevoogo antigenу virusu gepatitu B. [in Ukrainian].
8. Nakaz MOZ Ukraini № 535 MZSRSR "Pro unifikaciyu mikrobiologichnih (bakteriologichnih) metodiv doslidzhennya vzhivanih u kliniko-diagnostichnih ustanovah". 2004. s. 7-10. [in Ukrainian].
9. Vznachennya chutlivosti mikroorganizmiv do antibakterial'nih preparativ. Nakaz Ministerstva ohoroni zdorovya Ukraini № 167. s. 18-21. [in Ukrainian].
10. Psahis IB, Makovskaya TE. Sovremennyye vozmozhnosti i perspektivy ispolzovaniya probiotikov gruppyi samoeliminiruyuschihся antagonistov v terapii infektsionnyh zabolovaniy. Zdorov'ye rebenka. 2014;5:134-8. [in Russian].

**ОСОБЛИВОСТІ СТИЙКОСТІ ДО АНТИБІОТИКІВ МІКРООРГАНІЗМІВ У СКЛАДІ МІКРОФЛОРИ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ У ХВОРИХ НА ГЕПАТИТ В**

Скляр Т. В., Лаврентьева К. В., Кременчуцька П. Є., Лихолат О. А., Джужа Д. О.

**Резюме.** Визначено, що серед 45 обстежених осіб у 35 (78%) було виявлено гепатит В. Проведені мікробіологічні дослідження вмісту товстої кишки у хворих на гепатит В показали наявність змін якісного та кількісного складу мікрофлори у 100,0% хворих. При дисбіотичних порушеннях спостерігалось зниження рівня біфідобактерій та лактобактерій. Також в процесі дослідження були виділені умовно-патогенні ентеробактерії родів *Klebsiella* (11 штамів), *Proteus* (7 штамів), лактозонегативні (8 штамів) та гемолітичні (9 штамів) *E. coli*. При дослідженні антибіотикочутливості штамів умовно-патогенних бактерій, виділених від хворих на гепатит В із дисбіотичними порушеннями кишечника, встановлено, що найчутливішими представниками роду *Klebsiella* та роду *Proteus* виявились до ципрофлоксацину (73% і 72% культур, відповідно); лактозонегативні штами *E. coli* – до амікацину і цефтазидіму (по 75% культур), цефепіму і ципрофлоксацину (по 62% культур); штами гемолітичної *E. coli* – до ципрофлоксацину і цефепіму (78% і 67% культур, відповідно). Найстійкішими виділені штами умовно-патогенних бактерій були до оксациліну і доксицикліну. Так, оксацилін пригнічував ріст штамів роду *Klebsiella* в 9% випадків, лактозонегативної кишкової палички – у 25%, гемолітичної кишкової палички – в 11% випадків і був абсолютно неефективним відносно штамів роду *Proteus*. До доксицикліну стійкими виявились 73% штамів роду *Klebsiella*, 86% штамів роду *Proteus*, 62% штамів лактозонегативної і 78% – гемолітичної *E. coli*.

**Ключові слова:** гепатит В, дисбіоз кишечника, антибіотики.

## ОСОБЕННОСТИ УСТОЙЧИВОСТИ К АНТИБИОТИКАМ МИКРООРГАНИЗМОВ В СОСТАВЕ МИКРОФЛОРЫ ЖЕЛУДОЧНО–КИШЕЧНОГО ТРАКТА У БОЛЬНЫХ ГЕПАТИТОМ В

Скляр Т. В., Лаврентьева Е. В., Кременчуцкая П. Е., Лихолат А. А., Джужа Д. О.

**Резюме.** Определено, что среди 45 обследованных лиц у 35 (78%) было выявлено гепатит В. Проведенные микробиологические исследования содержимого толстой кишки у больных гепатитом В показали наличие изменений качественного и количественного состава микрофлоры в 100,0% больных. При дисбиотических нарушениях наблюдалось снижение уровня бифидобактерий и лактобактерий. Также в процессе исследования были выделены условно-патогенные энтеробактерии родов *Klebsiella* (11 штаммов), *Proteus* (7 штаммов), лактозонегативные (8 штаммов) и гемолитические (9 штаммов) *E. coli*. При исследовании антибиотикочувствительности штаммов условно-патогенных бактерий, выделенных от больных гепатитом В с дисбиотическими нарушениями кишечника, установлено, что чувствительными представители рода *Klebsiella* и рода *Proteus* оказались к ципрофлоксацину (73% и 72% культур, соответственно); лактозонегативные штаммы *E. coli* – к амикацину и цефтазидиму (по 75% культур), цефепиму и ципрофлоксацину (по 62% культур); штаммы гемолитической *E. coli* – к ципрофлоксацину и цефепиму (78% и 67% культур, соответственно). Устойчивыми выделенные штаммы условно-патогенных бактерий были к оксациллину и доксициклину. Так, оксациллин подавлял рост штаммов рода *Klebsiella* в 9% случаев, лактозонегативной кишечной палочки – в 25%, гемолитической кишечной палочки – в 11% случаев и был совершенно неэффективным в отношении штаммов рода *Proteus*. К доксициклину устойчивыми оказались 73% штаммов рода *Klebsiella*, 86% штаммов рода *Proteus*, 62% штаммов лактозонегативные и 78% – гемолитической *E. coli*.

**Ключевые слова:** гепатит В, дисбиоз кишечника, антибиотики.

## ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY OF OPPORTUNISTIC PATHOGENIC INTESTINAL MICROFLORA FOR DYSBIOSIS IN PATIENTS WITH HEPATITIS B

Sklyar T. V., Lavrentieva K. V., Kremenchucka P. E., Lykholat O. A., Dzhuzha D. O.

**Abstract.** Microbiological analysis of the intestinal microflora for dysbiosis in patients with hepatitis B (n=35) was conducted. Changes in qualitative and/or quantitative composition of the intestinal microflora were observed in each patient in the experimental group. Among representatives of indigenous microflora, a significant reduction in the number of bifidobacteria was noted in 68%, lactobacilli – in 85% of patients with hepatitis B. Excess of titers of lactose-negative *E. coli* strains was observed in 22% cases, and yeast-like fungi *Candida* – in 35% cases. Opportunistic pathogenic enterobacteria were present in 77% of the clinical samples. The representatives of *Klebsiella* genus were found in 31% of patients with hepatitis B, *Proteus* genus – 20%, hemolytic *E. coli* strains – in 26% of the patients. In this study of antibiotic susceptibility of opportunistic pathogenic enterobacteria strains isolated from hepatitis B patients with dysbiotic intestinal disorders, it was found that representatives of the genera *Klebsiella* and *Proteus* were the most sensitive to ciprofloxacin (73% and 72% of cultures, respectively); lactose-negative *E. coli* strains – to amikacin and ceftazidime (75% of cultures), cefepime and ciprofloxacin (62% of cultures); hemolytic *E. coli* strains – to ciprofloxacin and cefepime (78% and 67% of cultures, respectively). The most resistant of isolated strains were oxacillin and doxycycline. Oxacillin inhibited the growth of *Klebsiella* strains in 9% of cases, lactose-negative *E. coli* strains – in 25%, hemolytic *E. coli* strains – in 11% of cases and was ineffective against to *Proteus* strains. 73% of *Klebsiella* strains, 86% of *Proteus* strains, 62% of lactose-negative *E. coli* strains and 78% of hemolytic *E. coli* strains were resistant to doxycycline.

**Key words:** hepatitis B, intestinal microflora, antibiotics.

Рецензент – проф. Лобань Г. А.

Статья надійшла 21.08.2018 року