

ОСОБЛИВОСТІ МІЖМІКРОБНИХ ВЗАЄМОВІДНОСИН В БІОЦЕНОЗАХ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОГО ТРАКТУ

Н.І. Скіяр

Інститут мікробіології та імунології імені І.І. Мечникова АМН України, м. Харків

РЕЗЮМЕ

Метою дослідження було вивчення особливостей міжмікробних взаємовідносин у біоценозах слизових оболонок шлунку та дванадцятипалої кишки при запально-виразковій патології гастроудоденального тракту. Визначено наявність антагоністичних властивостей у 74 штамів умовно-патогенної мікрофлори (*A. viridans*, *Bacillus* spp, *Corynebacterium* spp, *Pseudomonas* spp, *Staphylococcus* spp та ін.). Встановлено, що, на відміну від монокультур, стимулюючий вплив на швидкість розкладу сечовини проявляли складні асоціації уреазопозитивних мікроорганізмів, які перебували в біоптатах слизових оболонок (визначення тканинної урези), а також сконструйовані мікробні асоціації, що включали представників виділеної мукозної мікрофлори. Показано, що антибіотикочутливість мікроорганізмів в складних мікробних асоціаціях та окремих асоціантів суттєво відрізнялась: останні проявляли більш високу чутливість до протимікробних препаратів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: міжмікробні взаємовідносини, мікробний антагонізм, асоціації, уреазы, антибіотикочутливість, гастроудоденальна патологія, біоценози

Сучасні погляди на мікробний світ спрямовані на перехід від традиційних уявлень про бактерії як окремі одноклітинні організми до розгляду мікробних спільнот як цілісних структур, які регулюють свої реакції в залежності від зміни умов оточуючого середовища. Встановлено, що персистенція мікроорганізмів у складних біоценозах дає останнім певні переваги, які підвищують їх життєстійкість [1].

Мікробіоценози слизових оболонок шлунку та дванадцятипалої кишки (ДПК) привертають увагу дослідників насамперед присутністю в них мікроерофільних бактерій *Helicobacter pylori* (*H.pylori*), які, згідно домінуючим на сьогоднішній день поглядам, відіграють провідну роль в розвитку гастроудоденальної патології [2, 3]. Одним з найбільш важливих факторів у вірулентності хелікобактерів є уреазы, яка не тільки сприяє збереженню мікроаерофілів у кислому середовищі шлунку, але й забезпечує колонізацію вказаними бактеріями слизових оболонок [4, 5]. З літературних джерел та результатів наших попередніх досліджень відомо, що хелікобактери персистують в переважній більшості сумісно з іншими умовно-патогенними бактеріями та дріжджеподібними грибами [6, 7]. Постійне співіснування мікроорганізмів при такому тісному контакті припускає різні форми взаємодії асоціантів на метаболічному та генетичному рівнях.

В літературі є повідомлення про вивчення взаємовідносин бактерій, що виділялись у мікробіоценозах слизових оболонок шлунку та дванадцятипалої кишки у хворих на виразкову хворобу. Так, *in vitro* визначено антагоністичну активність у окремих мікроорганізмів – стафілококів, ентеробактерій, псевдомонад по відношенню до інших представників умовно-патогенної

мікрофлори [6].

На підставі визначення антагоністичних властивостей по відношенню до *Helicobacter pylori*, показана можливість застосування у комплексній терапії хелікобактерасоційованих захворювань гастроудоденального тракту пробіотичних штамів лакто- та біфідобактерій, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces boulardii* [8-10].

Дослідження міжмікробних взаємовідносин між асоціантами гастроудоденальних біоценозів проводились тільки у відношенні вивчення антагоністичних властивостей супутньої мукозної мікрофлори та штамів-пробіотиків, тобто визначення продукції тест-штамами речовин, що пригнічують ріст та розмноження представників мікробної спільноти. Повідомлень про інші види взаємодії між асоціантами мікробних угруповань вказаного біотопу, зокрема впливу на ферментативну активність, чутливості до протимікробних препаратів, в доступній літературі нами не знайдено.

Метою дослідження було вивчення особливостей міжмікробних взаємовідносин у представників мікробіоценозів слизових оболонок шлунку та дванадцятипалої кишки при запально-виразковій патології гастроудоденального тракту шляхом визначення антагоністичних властивостей асоціантів, уреазної активності, чутливості до протимікробних препаратів.

Робота виконана в рамках НДР «Вивчити показники імунологічної реактивності та визначити можливості імунокорекції у хворих на виразкову хворобу шлунку та дванадцятипалої кишки, асоційовану з *Helicobacter pylori*» АМН України, № держ. реєстрації 0100U000405 та дисертаційної роботи на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук «Взаємовідносини

асоціантів мукозної мікрофлори шлунку та дванадцятипалої кишки у хворих на запально-виразкову патологію гастроуденального тракту».

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єктом досліджень були 322 біоптати слизових оболонок шлунку та дванадцятипалої кишки, відібрані при проведенні стандартної фіброгастроуденоскопії з прицільною біопсією від 109 хворих на запально-виразкову патологію гастроуденального тракту до початку антибіотикотерапії.

161 біоптат досліджено на наявність та активність тканинної уреазу за допомогою швидкого уреазного тесту, де в якості субстрату використовувалось середовище Крістенсена з додаванням протимікробних речовин [2].

З 161 біоптату, дослідженого мікробіологічними методами, виділено 61 штамп *H. pylori* та 433 штами супутньої умовно-патогенної мікрофлори. Виділення та ідентифікацію штамів бактерій проводили згідно „Визначника бактерій Берджи”, 1997, грибів – по „Визначнику патогенних і умовно патогенних грибів”, 2001 за стандартними методиками. Виділення штамів *H. pylori* проводили за методикою, описаною раніше [7]. Уреазну активність визначали в монокультурах та в асоціаціях на середовищі Крістенсена.

В якості тест-культур використовувались референс-штами бактерій (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (F-49), *Escherichia coli* ATCC 25922 (F-50), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (F-51)), дріжджеподібних грибів роду *Candida* (*C. albicans* ATCC 885/653, *C. tropicalis* ВКПГУ 547/у), одержані з Філії Національного музею мікроорганізмів ІМІ ім. І.І. Мечникова.

Вивчення антагоністичної активності між асоціантами в межах окремого мікробіоценозу в 120 біоптатах проводили методом прямого сумісного культивування на твердих поживних середовищах [11]. Антагоністичні властивості 280 штамів мікроорганізмів, виділених при гастроуденальній патології, визначали до референс-штамів та 20 штамів циркулюючої мікрофлори (хелікобактери, стафілококи,

стрептококи, ентерококи, мікрококи, коринебактерії, ентеробактерії, неферментуючі грамнегативні палички, кандиди) методом відстроченого антагонізму (метод перпендикулярних штрихів). Тест-штами вважались нечутливими при зоні затримки росту 0-4 мм, малочутливими – зона 5-10 мм та високочутливими при зоні, більшій ніж 10 мм [12].

Чутливість мікроорганізмів до протимікробних препаратів вивчали диско-дифузійним методом Bauer-Kirbi з використанням готових комерційних дисків (НИЦФ, Санкт-Петербург, Росія та OXOID Ld, England) [13].

Синхронізація культур перед постановкою дослідів досягалася одноразовим впливом низької температури (4°C) впродовж 30 хвилин [14].

Досліди проводили в трьох-, чотирьох-повторюваннях. Результати аналізували статистично за допомогою комп'ютерних програм Microsoft Excel 2000 та "Biostat-4" з проведенням кореляційного аналізу та використанням параметричних критеріїв середнього значення (M) та його стандартного відхилення (m). Оцінку достовірності різниці між порівнюваними показниками визначали за допомогою критерію Стьюдента, яка вважалась статистично значимою при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Результати вивчення антагоністичних взаємовідносин в межах окремих мікробіоценозів показали, що між асоціантами у (88,3±5,3)% випадків взаємний інгібуючий вплив був відсутній. Мікробні угруповання, в яких один з представників мав антагоністичні властивості по відношенню до інших штамів, характеризувались незначним видовим складом біоценозу – (2,5±0,4) компоненти проти (4,1±0,6) у індиферентних мікробних спільнотах ($p < 0,01$).

Антагоністичні властивості по відношенню до референс-штамів та тест-культур, які найбільш часто виділялись з біоптатів слизових оболонок при гастроуденальній патології, встановлено у 74 штамів (26,4% від загальної кількості), які були віднесені до 11 родів мікроорганізмів (табл.1).

Таблиця 1

Характеристика антагоністичної активності штамів умовно-патогенної мікрофлори, виділеної з біоптатів слизових оболонок шлунку та ДПК при запально-виразковій патології гастроуденального тракту

Мікроорганізми	Кількість досліджених штамів	З них проявляли антагоністичну активність		% тест-культур (n=25), що по відношенню до антагоністів виявились		
		Абс.	%	Нечутливи ми	Малочутли вими	Високочут ливими

<i>Aerococcus viridans</i>	2	2	100,0	28,0±4,3	36,0±6,0	36,0±4,8
<i>Bacillus ssp</i>	15	12	80,0	26,4±6,6	26,8±7,2	46,8±8,9
<i>Citrobacter freundii</i>	2	2	100,0	85,3±2,3	14,7±2,3	0
<i>Corynebacterium ssp</i>	15	10	66,7	84,8±10,7	10,4±3,2	4,8±1,8
<i>E.coli</i>	6	6	100,0	75,0±12,1	8,0±5,6	17,0±5,6
<i>Enterococcus ssp</i>	10	5	50,0	78,0±8,5	16,0±5,7	6,0±2,8
<i>Klebsiella ssp</i>	4	4	100,0	70,7±11,9	12,0±6,9	17,3±5,7
<i>Lactobacillus ssp</i>	2	1	50,0	88,0±0,0	12,0±0,0	0
<i>Morganella morganii</i>	3	3	100,0	64,0±11,3	20,0±5,7	16,0±4,0
<i>Pseudomonas ssp</i>	12	8	66,7	73,6±10,4	4,8±1,8	21,6±6,8
<i>Staphylococcus ssp</i>	36	21	58,3	83,6±4,1	8,0±2,0	8,4±3,3
Всього	107	74	69,2	68,9±7,5	15,3±4,2	15,8±3,9

До штамів хелікобактерів, мікрококів, стрептококів, кандид, неферментуючих грамнегативних паличок (крім псевдомонад) всі тест-культури виявились стійкими. Антагоністичні властивості в різній мірі були притаманні всім дослідженим штамам ентеробактерій (табл. 1), але найбільш активними виявились морганели та кишкові палички (подавляли життєдіяльність 7 видів тест-об'єктів). Найбільші зони затримки росту спостерігались навколо спороутворюючих грампозитивних аеробних паличок та аерококів, при цьому загальна кількість штамів, які вони інгібували, становила (73,6±8,1)% та (72,0±5,4)% відповідно, що достовірно відрізняється ($p < 0,01$) від середніх значень по всіх досліджених мікроорганізмах – (31,1±4,1)%. Слід відмітити, що спектр антагоністичної дії різних штамів *Bacillus ssp* та *A. viridans* охоплював усі взяті в досліді тест-культури, в т.ч. хелікобактери, ентерококи, псевдомонади, які виявились стійкими до інших досліджених антагоністів. Вказане узгоджується з даними літератури про високу антимікробну дію біологічно активних речовин, які продукуються представниками вказаних родів мікроорганізмів [10, 15, 16].

Як відомо, одним з методів виявлення *H.pylori* є реєстрація специфічної уреазної активності біоптатів слизових оболонок шляхом постановки біохімічного (швидкого уреазного) тесту [2]. У наших дослідженнях визначення ферментації сечовини 161 біоптатом слизових оболонок гастродуоденального тракту показало наявність уреазу, в межах чутливості лабораторного тесту, у 85 зразках (52,8%) впродовж 1-24 годин.

Зазначені особливості були пов'язані з присутністю та кількісними

характеристиками персистенції хелікобактерів (табл. 2). Так, у 68 випадках (89,5%) встановлено кореляційну залежність між концентрацією мікроаерофілів у слизових оболонках та швидкістю прояву позитивного уреазного тесту біоптатів. Крім очікуваних матеріалів, в ряді дослідів одержано алогічні результати, які проявлялись в тому, що при високих значеннях концентрації мікроаерофілів (lg КУО/г біоптату 6,1-7 та вище) позитивний уреазний тест спостерігався через 6-12 годин, а окремі штами *H.pylori* при значних показниках щільності заселення слизових оболонок (4,1-6 lg КУО/г біоптату) давали позитивну реакцію лише через 24 години. До того ж наявність хелікобактерів у 5 зразках в концентрації від 4,1 до 7,0 lg КУО/г біоптату не приводила до накопичення достатньої кількості ферменту для виявлення його в слизових оболонках за допомогою біохімічної реакції.

Одержані результати можливо обумовлені присутністю у слизових оболонках умовно-патогенних мікроорганізмів, що знаходяться в різних асоціативних взаємовідносинах з *H.pylori*. Це допущення підтверджується результатами досліджень, які представлені в табл. 3. Як видно з матеріалів, швидкий уреазний тест був негативний у всіх випадках при виділенні хелікобактерів в складі асоціацій, де продуценти даного ензиму серед супутньої мікрофлори не виявлені. Важливим, на наш погляд, доповненням є дані про те, що в умовах відсутності *H.pylori* ферментація сечовини спостерігалась завдяки персистенції в слизових оболонках умовно-патогенних мікроорганізмів з уреазопозитивними властивостями.

Таблиця 2

Швидкість ферментації сечовини в залежності від концентрації *Helicobacter pylori* у біоптатах слизових оболонок шлунка та дванадцятипалої кишки у хворих на запально-виразкову патологію гастродуоденальної зони

Визначення ферментації сечовини (в годинах)	Кількість біопатів по результатам уреазного тесту		З них з позитивними результатами на <i>H.pylori</i>		Розподілення біопатів по концентрації <i>H.pylori</i> в слизових оболонках (Ig КУО/г біопату) та швидкості ферментації сечовини					Розподіл хелікобактернегативних біопатів по швидкості ферментації сечовини	
	абс. число	(%)	абс. число	(%)	<4-4,0	4,1-5,0	5,1-6,0	6,1-7,0	>7,0	абс. число	(%)
<1 - 1	16	9,9	16	9,9	0	0	3	5	8	0	-
>1 - 3	26	16,2	26	16,2	1	8	8	5	4	0	-
6	21	13,1	20	12,4	0	11	6	2	1	1	0,6
12	5	3,1	5	3,1	1	2	1	0	1	0	-
24	17	10,6	4	2,5	1	2	1	0	0	13	8,1
відсутність	76	47,1	5	3,1	0	3	1	1	0	71	44,1
Всього	161	100,0	76	47,2	3	26	20	13	14	85	52,8

Таблиця 3

Характеристика біопатів слизових оболонок шлунка та дванадцятипалої кишки з позитивним результатом уреазного тесту або бактеріологічним виділенням штаму *H.pylori* у хворих на запально-виразковий захворювання гастродуоденальної зони

Розподіл біопатів по наявності уреаз	Кількість біопатів	З них виділені штами <i>H.pylori</i>	Кількість біопатів, що мали супутню мікрофлору з різними уреазними ознаками		
			З уреазопозитивною мікрофлорою	З уреазонегативною та уреазопозитивною мікрофлорою	З уреазонегативною мікрофлорою
негативні	5	5	0	0	5
позитивні	14	0	1	11	2

Виявлені особливості було перевірено в дослідних *in vitro* шляхом визначення швидкості ферментації сечовини монокультурами уреазопозитивних мікроорганізмів та їх асоціаціями при однаковій кількості мікробних клітин в суспензіях (табл. 4).

Дані, приведені в табл. 4, свідчать про достовірне прискорення розкладу сечовини складними асоціаціями уреазопозитивних

мікроорганізмів у порівнянні з монокультурами. Поєднання взятих в досліді штамів було не випадковим, а визначилось при аналізі видового складу хелікобактерпозитивних мікробіоценозів, виділених з біопатів слизових оболонок шлунка та дванадцятипалої кишки при гастродуоденальній патології.

Таблиця 4

Результати визначення швидкості розкладу сечовини монокультурами та асоціаціями уреазопозитивних мікроорганізмів, виділених з біопатів слизових оболонок шлунка при гастродуоденальній патології

Мікроорганізми	Кількість штамів	Кількість проведених дослідів	Час розкладу сечовини в хвиликах (M±m)			
			Монокультури	2-х-компонентні асоціації	3-х-компонентні асоціації	4-х-компонентні асоціації
<i>H.pylori</i>	5	60	5,0±1,8	4,3±1,2	3,2±0,3*	2,1±0,6**
<i>M. morgani</i>	4	48	41,6±8,0	36,5±4,1	30,4±3,9**	26,9±4,6**
<i>S.aureus</i>	4	48	92,0±11,3	60,6±8,9**	41,4±5,3**	32,8±4,9**
<i>S. epidermidis</i>	5	60	33,6±8,5	26,4±6,8	20,0±6,4*	16,3±2,3**

* – достовірні різниця між порівнюваними показниками (p<0,05);

** – достовірні різниця між порівнюваними показниками (p<0,01).

Імовірно, що визначена синергічна взаємодія бактерій, що є продуцентами уреаз, свідчить про більш високий патогенний потенціал складних мікробних асоціацій, здатних порушувати гомеостаз клітин слизових оболонок і, як наслідок, негативно впливати на перебіг хронічних захворювань шлунка та дванадцятипалої кишки.

Міжмікробні взаємовідносини в біоценозах гастродуоденального тракту важливо було дослідити з точки зору антибіотикочутливості вказаних об'єктів, так як, згідно сучасним поглядам, в комплексному лікуванні деяких видів гастродуоденітів та пептичних виразок обов'язкове застосування протимікробних препаратів [2]. Визначення антибіотикочутливості представників мукозної мікрофлори, які найбільш часто

виділялись при вказаній патології, в монокультурах та в двох-трьохкомпонентних асоціаціях було проведено до препаратів, що входять в схеми ерадикаційної терапії, тобто направлені на

звільнення макроорганізму від персистенції *H. pylori* (табл. 5). Взяті в досліді монокультури мікроорганізмів проявляли чутливість до вказаних антибіотиків.

Таблиця 5

Результати визначення антибіотикочутливості монокультур та асоціацій мікроорганізмів, виділених з біоптатів слизових оболонок шлунка при гастродуоденальній патології

Назва препарату	Значення діаметрів зон затримки росту бактерій в мм (M±m)	
	Монокультури (n=33)	Асоціації (n=99)
Амоксицилін	25,3±1,9	20,7±2,4**
Кларитроміцин	21,8±2,4	15,3±2,0**
Офлоксацин	25,6±2,9	24,4±1,6
Тетрациклін	22,6±3,2	14,1±2,0**
Фуразолідон	23,2±2,5	22,2±1,4
Цефтріаксон	28,6±2,3	27,6±0,4

** – достовірна різниця між порівнюваними показниками (p<0,01).

Дані, приведені в табл. 5, свідчать про зниження вихідної чутливості мікроорганізмів, що перебувають в асоціаціях, до деяких протимікробних препаратів, що проявляється зменшенням діаметрів зон затримки росту. Достовірна різниця (p<0,01) між монокультурами та їх асоціаціями встановлена у відношенні амоксициліну, кларитроміцину та тетрацикліну. Вказані антибіотики входять до числа препаратів, що в першу чергу застосовуються при лікуванні хворих з гастродуоденальною патологією [2]. Слід відмітити, що (82,3±6,9)% досліджених штамів втрачали чутливість до кларитроміцину та тетрацикліну. Можна припустити, що виявлені особливості мають місце при персистенції в патологічно змінених слизових оболонках гастродуоденального тракту асоціацій *H. pylori* та супутньої умовно-патогенної мікрофлори, в яких останні спричиняють розвиток стійкості хелікобактерів до ерадикаційних препаратів. Частково це підтверджується даними [1, 17] відносно зворотної залежності ефективності етіотропної терапії від концентрації патогенних бактерій в осередку запалення.

ВИСНОВКИ

1. У (88,3±5,3)% досліджених мікробіоценозів мукозної мікрофлори шлунка та дванадцятипалої кишки при гастродуоденальній патології виявлено відсутність антагоністичних взаємовідносин в межах окремих мікробних спільнот.

Серед виділених штамів мукозної умовно-патогенної мікрофлори визначено 74 ізоляти, що володіли антагоністичними властивостями до референс-штамів та тест-культур, які найбільш часто виділялись з біоптатів слизових оболонок при

гастродуоденальній патології. Помірну антагоністичну активність проявляли представники родини Enterobacteriaceae, родів *Corynebacterium*, *Enterococcus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*. Найбільшу активність встановлено у 80,0% штамів *Bacillus ssp* та всіх штамів *A. viridans* як по спектру антагоністичної дії, так і по кількості виявлених високочутливих до дії вказаних антагоністів тест-культур.

2. У 89,5% досліджених уреазопозитивних біоптатах слизових оболонок встановлено кореляційну залежність між наявністю та концентрацією хелікобактерів і швидкістю прояву позитивного уреазного тесту. Визначено, що, на відміну від монокультур, стимулюючий вплив на швидкість розкладу сечовини проявляли складні асоціації уреазопозитивних мікроорганізмів, які перебували в біоптатах слизових оболонок (визначення тканинної урези), а також сконструйовані мікробні асоціації, що включали представників виділеної мукозної мікрофлори.

3. Показано достовірне зниження вихідної чутливості мікроорганізмів, що перебували в асоціаціях, до амоксициліну, кларитроміцину та тетрацикліну. У 82,3± 6,9% досліджених штамів визначено появу резистентності до кларитроміцину та тетрацикліну.

Таким чином, приведені дані свідчать про наявність в мікробіоценозах слизових оболонок шлунка та дванадцятипалої кишки складних міжмікробних взаємовідносин, що можуть суттєво впливати на персистенцію асоціантів, зокрема *H. pylori*. Це питання потребує подальшого вивчення з тим, щоб отримані результати могли бути використані при розробці нових схем лікування хворих на запально-виразкову патологію гастродуоденального тракту.

ЛІТЕРАТУРА

1. Грузина В.Д. // Антибиотики и химиотерапия. - 2003. - № 10 (48). - С. 32-39.
2. Исаков В.А., Домарадский И.В. Хеликобактериоз. -М.:ИД Медпрактика-М. - 2003. - 412 с.
3. Щербинина М.Б. // Лікування та діагностика. - 2004. - №3. - С. 16-21.
4. McGee D., Coker C., Testerman T. et. al. // J. Med. Microbiol. - 2002. - Vol. 51. - P. 958-970.
5. Yoshiyama H., Nakazawa T. // Microbes Infect. - 2000. - Vol. 2(1). - P. 55-60.
6. Бондаренко В.М., Червинец В.М., Воробьев А.А. // Журн. микробиол., эпидемиол., иммунобиол. - 2003. - № 4. - С. 11-17.
7. Скляр Н.І., Бабич О.Є. // Буковинський медичний вісник. - 2004. - № 4. - С.51-54.
8. Баженов Л.Г., Бондаренко В.М., Лыкова Е.А., и др. // Журн. микробиол., эпидем., иммунобиол. - 1997. - № 3. - С. 89-91.
9. Салливан А., Норд К. // Клин. микроб. и антимикр. химиотерапия. - 2003. - № 3. - Т. 5 - С. 275-284.
10. Pinchuk I.V., Bressollier P., Verneuil B. et. al. // Antimicrob. Agents and Chemother. - 2001. - Vol. 45. -№ 11. - P. 3156-3161.
11. Глушанова Н.А., Блинов А.И., Бахаев В.В. // Эпидемиол. и инф. болезни. - 2004. - № 6. - С.37-39.
12. Егоров Н.С. Микробы-антагонисты и биологические методы определения антибиотической активности. -М.:Высшая школа. - 1965. - 211 с.
13. Критерии для интерпритации результатов испытаний, основанных на методе Бауэр-Кирби // Серия технических докладов ВОЗ. - Женева. - 1984. - № 873. - С.147-189.
14. Баснакьян И.А. Культивирование микроорганизмов с заданными свойствами. -М.:Медицина. - 1992. - С. 29-59.
15. Смирнов В.В., Сорокулова И.Б., Пинчук И.В. // Мікробіол. журн. - 2001. - № 1. - Т. 63. - С. 72-79.
16. Кременчуцкий Г.Н., Рыженко С.А., Волянский А.Ю. и др. А-бактерин в лечении и профилактике гнойно-воспалительных процессов. -Днепропетровск: „Пороги”. - 2000. - 150 с.
17. Бриан Л.Е. Бактериальная резистентность и чувствительность к химиопрепаратам. -М.:Медицина. - 1984. - 272 с.