

УДК 615.371:578.7

О. С. Воронкова, О. А. Сірокваша, Т. М. Полішко, А. І. Вінніков

Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара

ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ ДІАГНОСТИЧНИХ ТА ЛІКУВАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ БАКТЕРІОФАГІВ У МЕДИЦИНІ

Наведено дані про препарати бактеріофагів, їх особливості та переваги порівняно з іншими терапевтичними засобами. Розкрито історію виробництва фагів, охарактеризовано сучасний стан питання. Наведено дані про застосування фагів у клінічній практиці для лікування, діагностики, моніторингу інфекцій, саніції приміщень і обладнання, проведення науково-дослідницьких робіт. Показано переваги фагових препаратів: діють лише на певні, чутливі до них бактерії, не послаблюють імунітет, не викликають резистентності у бактерій на противагу антибіотикам, добре проникають у тканини організму людини та тварин, не пригнічують ріст нормальної флори, поєднуються із будь-якими лікарськими препаратами.

О. С. Воронкова, Е. А. Сірокваша, Т. Н. Полишко, А. И. Винников

Днепропетровский национальный университет им. Олесь Гончара

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ И ЛЕЧЕБНЫХ ПРЕПАРАТОВ БАКТЕРИОФАГОВ В МЕДИЦИНЕ

Представлены данные о препаратах бактериофагов, их особенностях и преимуществах по сравнению с другими терапевтическими средствами. Раскрыта история производства фагов и современное состояние вопроса. Представлены данные о применении фагов в клинической практике для лечения, диагностики, мониторинга инфекций, санации помещений и оборудования, проведения научно-исследовательских работ. Показаны преимущества фаговых препаратов: действуют только на определенные, чувствительные к ним бактерии, не ослабляют иммунитета, не вызывают резистентности у бактерий в противовес антибиотикам, хорошо проникают в ткани организма человека и животных, не подавляют роста нормальной флоры, сочетаются с любыми лекарственными препаратами.

O. S. Voronkova, E. A. Sirokvasha, T. N. Polishko, A. I. Vinnikov

Oles' Honchar Dnipropetrovsk National University

PERSPECTIVES OF USE OF PHAGE DIAGNOSTIC AND THERAPY DRUG FOR MEDICINE

The data on bacteriophage preparations, their features and benefits in comparison with other therapeutic agents are shown. The matters of phages production history to the present time are described. The data of phages application in clinical practice for the treatment, diagnostics, infections monitoring, sanitation of facilities and equipment, and conducting scientific research are shown. The benefits of phages drug are shown: affect only on specific sensitive bacteria, do not compromise the immunity, as opposed to antibiotics do not cause bacterial resistance, penetrate well into the humans and animals tissues, do not suppress the growth of normal flora and could be combined with any medication.

Вступ

Вітчизняне виробництво бактеріофагів має великий досвід. Засновником фаготерапії можна вважати грузинського мікробіолога Георгія Еліаву, з ініціативи якого створено Інститут дослідження бактеріофагів у Тбілісі. Георгій Еліава – один з учнів першовідкривача бактеріофагів канадського бактеріолога Д'Ереля, який у 1931–1934 рр. неодноразово бував у Тбілісі, брав особисту участь у створенні та оснащенні нового інституту. У 1938 р. Інститут бактеріофагів об'єднали з Інститутом мікробіології та епідеміології під управлінням Наркома охорони здоров'я Грузії, а у 1951 р. його передано групі Інституту вакцин і сироваток Всесоюзного Міністерства охорони здоров'я. За заявками Міністерства охорони здоров'я сотні тисяч зразків патогенних бактерій надсилали в Інститут з усього Радянського Союзу для виділення найефективніших штамів фагів і кращої характеристики їх корисності. Тбіліський інститут бактеріофагів – найвідоміший виробник фагів, який працює і сьогодні, але зараз промислове виробництво бактеріофагів у Грузії не здійснюється. Зараз на теренах СНД працює створене у 1988 р. Науково-виробниче об'єднання «Бактеріофаг» із виробничими майданчиками на території Російської Федерації [18].

Сьогодні виділено та селекціоновано значну кількість специфічних фагів, які лізують патогенні бактерії, у результаті чого створено великі колекції класичних і нових штамів фагів. Вивчено основні біологічні властивості цих фагів (літична активність, антигенні властивості, інтенсивність адсорбції, латентний період внутрішньоклітинного розвитку, врожайність, діапазон літичної активності, специфічність, множинність інфекції, морфологія негативних колоній, морфологія фагових корпускул, тип і розмір нуклеїнової кислоти). Їх порівняльна характеристика дозволяє розробляти як специфічні, так і комплексні фагові препарати для лікування інфекційних уражень, зумовлених бактеріями, і для діагностичного застосування [1; 9].

Мета цієї роботи – оглянути відомості про фагові препарати, можливості їх застосування у медицині.

Препарати бактеріофагів: особливості та переваги, отримання

Через значний рівень резистентності до антибіотиків серед мікроорганізмів фаготерапія вірогідно незабаром стане важливим напрямом боротьби з інфекціями. Прогнозується, що протягом п'яти років виробництво бактеріофагів стане однією з лідируючих галузей фармацевтичної промисловості [2; 7; 11; 13].

Найважливіша властивість бактеріофагів – висока специфічність. Вони вибірково лізують бактерії не тільки певного виду, а навіть їх окремі серологічні групи. Бактеріофаги безпомилково знаходять і знищують тільки ті бактерії, проти яких спрямовано їх дію, не зачіпаючи нормальну мікрофлору організму, не кажучи вже про його власні клітини. Саме цим пояснюється відсутність побічних ефектів і протипоказань до застосування бактеріофагів, що робить особливо привабливим їх використання у педіатричній практиці. Виникнення у бактерій стійкості до антибіотиків не впливає на їх чутливість до бактеріофагів, тому останні часто активні навіть щодо полірезистентної госпітальної мікрофлори. Слід ураховувати специфічність бактеріофагів: кожен вид фага розпізнає як свою мішень тільки ті серотипи бактерій, які мають певні фагоспецифічні рецептори. Тому призначати бактеріофаги необхідно під мікробіологічним контролем чутливості до них даного збудника [4; 8].

Вітчизняна промисловість випускає широкий спектр лікарських бактеріофагів: стафілококовий, стрептококовий, синьогнійний, клебсієльозний, черевнотифозний, дизентерійний, сальмонельозний. Є і їх комбіновані форми: коліпротейний

бактеріофаг, Інтесті-бактеріофаг (містить фаги шигел Флекснера сероварів 1, 2, 3, 4, 6 і Зонне, сальмонел (паратифу А і В, ентеритидіс, тифімуриум, холера-суїс, Оранієнбург), ентеропатогенних груп кишкової палички, протей, стафілококів, синьогнійної палички і патогенних ентерококів); піобактеріофаг комплексний (містить фаги стафілококів, стрептококів, ентерококів, протей, клебсіел пневмонії та оксітока, синьогнійної та кишкової паличок) [3; 18].

Препарати бактеріофагів отримують промислово шляхом накопичення їх біомаси та подальшого очищення. При отриманні біомаси бактеріофагів перевагу віддають використанню способу періодичного динамічного культивування на клітинах популяції штамів продуцентів фагів, що перебувають у стадії експоненціального росту. Встановлено, що лімітувальними для росту біомаси фагів факторами є фаза розвитку та концентрація бактеріальних клітин, ступінь аерації культурального середовища. вміст у середовищі глюкози та вміст амінокислот (валіну, тирозину та кофактора адсорбції – триптофану), а також рівень амінного азоту [5]. Ефективним способом очищення препарату є метод мембранного розділення. Ступінь очищення препарату в цьому разі становить понад 92 %. Ефективність цього способу очищення показана в експериментах гострої та хронічної токсичності при порівнянні очищених і неочищених фаголізатів. Препарати фагів відрізняються найвищим ступенем очищення від бактеріальних метаболітів, що робить їх засобами першого вибору для дітей першого року життя [11; 12].

Діагностичні фагові препарати

У медицині фагові препарати використовують із діагностичною метою для типування мікроорганізмів, тобто для моніторингу розповсюдження певних штамів і сероварів бактерій. Найчастіше для цього використовують набори стафілококових фагів і фагів ентеробактерій [10; 22].

Фаготипування – спосіб визначення приналежності виділеної та ідентифікованої до виду культури до того чи іншого фаговара. Використовують два підходи. Сутність першого полягає у встановленні властивостей, отриманих із лізогенної культури фагів (літичного спектра, антигенної специфічності тощо). Сутність другого, більш поширеного, базується на виявленні спектра чутливості виділеної культури до набору стандартних типових фагів. Якщо фаговар культури відповідає типовому фагу, відбувається її лізис, що виявляється у відсутності росту, у той час як на місці нанесення інших фагів спостерігається суцільний ріст мікробів. Для фаготипування потрібні молода (4–6-годинна) культура досліджуваного штаму, ідентифікованого до виду або підвиду; набір стандартних типових фагів у критичних тест-розведеннях (у максимальному розведенні фага, що викликає повний лізис гомологічної культури); чашки Петрі зі стандартним свіжоприготованим і добре висушеним середовищем. Культуру засівають газоном на чашку із живильним середовищем, дають їй убраться в агар і на поверхню посіву пастерівською піпеткою, штампом-реплікатором або каліброваною петлею наносять типові фаги. На другу добу враховують спектр чутливості культури до фагів і зіставляють зі схемою фаготипування. Результати використовують для епідеміологічного аналізу [6; 10].

Лікувальні препарати фагів

Найчастіше фагів використовують для лікування дисбактеріозів або проти стафілококових уражень. Існують як моно-, так і полівалентні препарати [14]. У вільному доступі є такі лікувальні форми.

Дизентерійний полівалентний бактеріофаг (Дизфаг) – стерильний фільтрат фаголізату збудників бактеріальної дизентерії – *S. flexneri* I, II, III, IV та VI типів та *S. sonnei*. Випускають у формі пігулок із шлунково-резистентним покриттям із ацетилфталілцелюлози, у рідкому вигляді – прозора рідина жовтого кольору різної інтенсивності. Дизентерійний полівалентний бактеріофаг викликає специфічний лізис збудників бактеріальної дизентерії. Призначений для лікування та профілактики бактеріальної дизентерії [3; 17].

Колі-протейний бактеріофаг – фільтрат фаголізатів, активних відносно найпоширеніших ентеропатогенних ешерихій і протея. Препарат – прозора рідина жовтого або зеленого кольору різної інтенсивності. Колі-протейний бактеріофаг застосовують для лікування та профілактики ентероколітів і кольпітів. Із метою лікування ентероколітів препарат застосовують із першого дня захворювання двома чи трьома курсами (залежно від перебігу хвороби) тривалістю 7–10 діб під бактеріологічним контролем. Інтервал між курсами – 3 доби. Із метою профілактики ентероколітів застосовують в осередках інфекції [16; 21].

Бактеріофаг сальмонельозний – імунобіологічний препарат, лікувальна та санувальна дія якого заснована на лізисі сальмонел і близьких до них за антигенною структурою бактерій. Застосовують при сальмонельозі у дітей і дорослих для лікування та санації реконвалесцентів (бактеріоносійство), профілактика сальмонельозів за епідемологічними показаннями. Бактеріофаг сальмонельозний груп ABCDE – препарат рідкий і у таблетках. Препарат являє собою фільтрат фаголізатів, активний відносно найпоширеніших сальмонельозних бактерій: група А – паратиф А; група В – паратиф В, тифімуріум, Гайдельберг; група С – Ньюпорт, інфантіс, холера-суїс, Оранієнбург; група Д – Дублін, ентеритідіс, галінарум; група Е – анатум, Ньюлендс. Видовий склад бактерій, що використовують у виробництві для приготування сальмонельозного бактеріофага, може бути змінений залежно від мікробного пейзажу збудників. Фаг здатний викликати лізис сальмонел перелічених сероваріантів і близьких до них за антигенною структурою бактерій [4; 16; 19]. Застосовують при сальмонельозі у дітей і дорослих для лікування власне сальмонельозу, санації реконвалесцентів (бактеріоносійство) та профілактики сальмонельозів за епідемологічними показаннями [16].

Інтесті-бактеріофаг рідкий – імунобіологічний препарат з антимікробними властивостями, здатний специфічно лізувати бактерії. Застосовується для лікування та профілактики захворювань шлунково-кишкового тракту, викликаних чутливими мікроорганізмами: бактеріальної дизентерії, сальмонельозу, черевного тифу, паратифів, дисбактеріозів, ентероколіту, коліту, диспепсії. Інтесті-бактеріофаг – суміш стерильних фільтратів фаголізатів, активних проти *S. flexneri* I, II, III, IV та VI типів і *S. sonnei*, *S. paratypi* А, *S. paratypi* В, *S. typhimurium*, *S. infantis*, *S. choleraesuis*, *S. oranienburg*, *S. enteritidis*; *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* та *P. mirabilis*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas aeruginosa* [3; 20].

Із характеристик препаратів видно, що найширшим є спектр дії інтесті-бактеріофага. Він здатен лізувати майже всі мікроорганізми, що виділяються із ШКТ. Інші фаги специфічніші відносно родів мікроорганізмів.

Бактеріофаг стафілококовий – імунобіологічний препарат, здатний лізувати стафілококи, виділені при гнійних інфекціях. Застосовується для лікування та профілактики гнійних інфекцій шкіри, слизових, вісцеральних органів, викликаних стафілококами (синусит, отит, ангіна, фарингіт, ларингіт, трахеїт, бронхіт, пневмонія, плеврит, гнійні рани, інфіковані опіки, абсцес, флегмона, фурункул, карбункул, гідраденіт, панарицій, парапроктит, мастит, бурсит, остеомієліт, уретрит, цистит,

пієлонефрит, кольпіт, ендометрит, сальпінгоофорит, гастроентероколіт, холецистит, омфаліт, сепсис), а також при дисбактеріозі кишечника. Препарат є фільтратом фаголізату, активний проти стафілококів найпоширеніших фаготипів, у тому числі проти золотистого стафілокока [18].

Важлива умова ефективної фаготерапії – попереднє визначення фагочутливості збудника (потрібне обов'язкове визначення чутливості до стафілококового бактеріофага штамів, виділених від хворого). Фаг уводиться безпосередньо в осередок інфекції. Тривалість курсу лікування для більшості фагів становить 5–15 діб. Дози та спосіб введення залежать від характеру вогнища інфекції (місцево, у вигляді зрошення, примочок і тампонування; внутрішньошкірно; у порожнини – черевну, плевральну, суглобову; у сечовий міхур через катетер; *per os* і *per rectum*). При рецидивному перебігу захворювання можливе проведення повторних курсів лікування.

Найдоцільніше застосування бактеріофага у випадках, коли інфекція викликана антибіотикостійкими штамми. Можна проводити комбіноване лікування бактеріофагом у поєднанні з антибіотиками. Важливо відзначити, що протипоказань до застосування фагових препаратів немає [15; 16].

Висновок

Фагові препарати мають практичне застосування не лише у медицині як засоби профілактики та лікування бактеріальних захворювань, лікування гнійно-запальних захворювань слизових ока, порожнини рота, профілактики гнійно-запальних ускладнень при опіках, пораненнях, операційних втручаннях; а й у генній інженерії – конструюванні спрямованих змін у геномі ДНК господаря; у харчовій промисловості – застосування у виробництві продуктів харчування з м'яса, птиці, сирів, рослинної продукції тощо; у сільському господарстві – розпилення фагопрепаратів для захисту рослин і врожаю від гниття та бактеріальних захворювань, застосування фагопрепаратів для захисту худоби та птиці від інфекцій і бактеріальних захворювань; у галузі екологічної безпеки – антибактеріальна обробка насіння та рослин, очищення приміщень харчопереробних підприємств, санітарна обробка робочого простору та обладнання, профілактика приміщень лікарень, проведення екологічних заходів [9; 22].

Для багатьох фагів розроблено технологічні режими та умови виготовлення та контролю діагностичних та лікувальних біопрепаратів із селекціонованих ізолятів. Велика кількість препаратів уже розроблена і має належну нормативно-технічну документацію з виготовлення фагових препаратів, дозвіл на використання в медицині, ветеринарії та сільському господарстві. Фагові препарати можуть бути використані для лікування, діагностики та моніторингу інфекції, санації приміщень та обладнання, проведення науково-дослідницьких робіт у галузі медицини, біотехнології (у різних формах, дозах і обсягах).

Фагові препарати мають велику кількість переваг порівняно з іншими засобами боротьби з бактеріями: вони діють лише на певні бактерії, не порушують балансу макроорганізму, постійно еволюціонують, не викликають побічних ефектів, не послаблюють імунітет, не викликають резистентності у бактерій на протипоказань до застосування фагових препаратів немає [15; 16].

Бібліографічні посилання

1. **Дикий І. Л.** Нові аспекти у використанні бактеріофагів / І. Л. Дикий, Н. І. Філімонова, М. М. Елаати // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2010. – N 15. – С. 12–13.
2. **Крылов В. Н.** Фаготерапия с точки зрения генетики бактериофага: надежды, перспективы, проблемы безопасности, ограничения // Генетика. – 2001. – Т. 37, № 7. – С. 869–887.
3. **Крылов В. Н.** Фаготерапия // Химия и жизнь. – 2002. – № 3. – С. 11–15.
4. **Летаров А. В.** Экологические основы рациональной фаговой терапии / А. В. Летаров, А. К. Голумидова, К. К. Тарасян // Acta Naturae. – 2010. – Т. 2, № 1. – С. 66–79.
5. **Abedon S. T.** Phage therapy pharmacology / S. T. Abedon, C. Thomas-Abedon // Curr. Pharm. Biotechnol. – 2010. – Vol. 11. – P. 28–47.
6. **Abedon S. T.** Bacteriophages and Biofilms: Ecology, Phage Therapy, Plaques. – New York : Nova Science Publishers, Hauppauge, 2011. – 131 p.
7. **Abedon S.** Phage therapy pharmacology: Calculating phage dosing // Adv. Appl. Microbiol. – 2011. – Vol. 77. – P. 1–40.
8. **Bacteriophage** therapy for the treatment of infections / A. Gorski, R. Miedzybrodzki, J. Borysowski et al. // Curr. Opin. Investig. Drugs. – 2009. – Vol. 10. – P. 766–774.
9. **Bacteriophages: Biology and Applications** / Ed. E. Kutter, A. Sulakvelidze. – Boca Raton : CRC Press, 2005. – 528 p.
10. **Carter J.** Virology: Principles and applications / J. Carter, V. Saunders. – Chichester : John Wiley & Sons Ltd, 2007. – 382 p.
11. **Curtright A. J.** Phage Therapy: Emergent. Property. Pharmacology / A. J. Curtright, S. T. Abedon // J. Bioanal. Biomed. – Suppl. 6. – P. 2.
12. **Gill J. J.** Phage choice, isolation and preparation for phage therapy / J. J. Gill, P. Hyman // Curr. Pharm. Biotechnol. – 2010. – Vol. 11. – P. 2–14.
13. **Goodridge L. D.** Designing phage therapeutics // Curr. Pharm. Biotechnol. – 2010. – Vol. 11. – P. 15–27.
14. **Harper D. R.** Bacteriophage: Therapeutic use / D. R. Harper, E. Kutter // Encyclopedia of Life Sciences. – Washington : John Wiley & Sons Ltd., 2009. – P. 1–7.
15. **Housby J. N.** Phage therapy / J. N. Housby, N. H. Mann // Drug Discov. Today. – 2009. – Vol. 14. – P. 536–540.
16. **Kutter E.** Phage therapy: Bacteriophages as naturally occurring antimicrobials // Practical Handbook of Microbiology / Ed. E. Goldman, L. H. Green. – Boca Raton : CRC Press, 2008. – P. 713–730.
17. **Kutter E. M.** Bacteriophage therapy: Past and present // Encyclopedia of Microbiology / Ed. M. Schaecter. – Oxford : Elsevier, 2009. – P. 258–266.
18. **Phages** and their application against drugresistant bacteria / N. Chanishvili, T. Chanishvili, M. Tediashvili et al. // J. Chem. Technol. Biotechnol. – 2001. – Vol. 76. – P. 689–699.
19. **Phage** therapy in clinical practice: Treatment of human infections / E. Kutter, D. De Vos, G. Gvasalia et al. // Curr. Pharm. Biotechnol. – 2010. – Vol. 11. – P. 69–86.
20. **Phage** treatment of human infections / S. T. Abedon, S. J. Kuhl, B. G. Blasdel et al. // Bacteriophage. – 2011. – Vol. 1. – P. 66–85.
21. **Summers W. C.** Bacteriophage therapy // Annu. Rev. Microbiol. – 2001. – Vol. 55. – P. 437–451.
22. **The bacteriophages** / Ed. R. Calendar. – Oxford : Oxford University Press, 2006. – 768 p.

Надійшла до редколегії 14.07.2012